

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 886 469**

(51) Int. Cl.:

C07D 401/06 (2006.01)
C07D 403/06 (2006.01)
C07D 413/06 (2006.01)
C07D 209/52 (2006.01)
A61K 31/403 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.04.2015 PCT/US2015/024537**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **15.10.2015 WO15157182**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.04.2015 E 15719041 (4)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.06.2021 EP 3129366**

(54) Título: **Amidas, carbamatos y ureas que contienen carbazol como moduladores de criptocromos**

(30) Prioridad:

07.04.2014 US 201461976350 P

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

20.12.2021

(73) Titular/es:

SYNCHRONICITY PHARMA, INC. (100.0%)
5205 Prospect Road, No. 135-133
San Jose, CA 95129, US

(72) Inventor/es:

BERSOT, ROSS y
HUMPHRIES, PAUL

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 886 469 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

Amidas, carbamatos y ureas que contienen carbazol como moduladores de criptocromos

5 Solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica prioridad de la solicitud provisional de Estados Unidos n.º 61/976.350 presentada el 7 de abril de 2014.

10 Campo técnico

La materia en cuestión divulgada en este documento se refiere, entre otras cosas, derivados de amida, carbamato y urea que contienen carbazol, composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos, métodos para su uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos mediados por criptocromos, y procesos para su producción. También 15 se proporcionan métodos de diagnóstico, detección o supervisión de la progresión de enfermedades dependientes de criptocromos en sujetos que reciben los compuestos y composiciones divulgadas en este documento.

Antecedentes

20 El reloj circadiano es un mecanismo intrínseco de conservación del tiempo que controla los ritmos diarios de muchos procesos fisiológicos, tales como el comportamiento de dormir/levantarse, la temperatura corporal, la secreción de hormonas y el metabolismo (Takahashi, J. S. *et al.* Nat. Rev. Genet. 2008, 9, 764; Green, C. B. *et al.* Cell, 2008, 134, 728; Zhang, E. E. *et al.* Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2010, 11, 764). Los ritmos circadianos se generan de una manera autónoma de las células a través de redes reguladoras transcripcionales de los genes de reloj. En el bucle de retroalimentación central, los factores de transcripción CLOCK y BMAL1 activan la expresión de los genes de periodo (Per1 y Per2) y criptocromo (Cry1 y Cry2). Después de la traducción y la localización nuclear, las proteínas PER y CRY inhiben la función de CLOCK-BMAL1, provocando la expresión génica rítmica mantenida. Muchas rutas fisiológicas están bajo el control del reloj circadiano (Panda, S. *et al.* Cell, 2002, 109, 307), incluyendo la regulación directa de numerosos procesos hepáticos (Rey, G. *et al.* PLoS Biol. 2011, 9, e1000595; Bugge, A. *et al.* Genes Dev. 30 2012, 26, 657).

35 La asincronía circadiana se ha asociado con la sensibilidad alterada a la insulina (Spiegel, K. *et al.* J. Appl. Physiol. 2005, 99, 2008; Spiegel, K. *et al.* Lancet, 1999, 354, 1435), niveles disminuidos de leptina y provoca hiperglucemia, hiperinsulinemia y respuestas de glucosa posprandiales comparable a las de un estado prediabético (Scheer, F. A. *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2009, 106, 4453). Varios estudios de asociación de todo el genoma dieron lugar al descubrimiento de que Cry2 puede ser importante en la regulación de los niveles de glucosa en mamífero (Dupuis, J. *et al.* Nat. Genet. 2010, 42, 105; Liu, C. *et al.* PLoS One, 2011, 6, e21464; Barker, A. *et al.* Diabetes, 2011, 60, 1805).

40 Las concentraciones de glucosa en la sangre son muy rítmicas a causa de cambios en la sensibilidad a la insulina y la capacidad secretora de insulina del páncreas endocrino (Polonsky, K. S. *et al.* N. Engl. J. Med. 1988, 318, 1231). Los ratones mutantes clock^{Δ19} desarrollan hiperglucemia dependiente de la edad y estos animales también desarrollan susceptibilidad a obesidad inducida por la dieta, tienen concentraciones inapropiadamente bajas de insulina (Turek, F. W. *et al.* Science, 2005, 308, 1043) y presentan una bajada más pronunciada en la glucemia en respuesta a tratamiento con insulina, lo que indica que estos animales tienen sensibilidad potenciada a la insulina, enmascarando 45 de este modo su deficiencia de células β (Marcheva, B. *et al.* Nature, 2010, 466, 627). La eliminación específica de hígado de Bmal1 en ratones provoca tolerancia alterada a la glucosa y sensibilidad aumentada a la insulina (Lamia, K. A. *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2008, 105, 15172). Los individuos con diabetes de tipo 2, e incluso sus familiares de primer grado aún no afectados con la enfermedad, presentan ritmicidad alterada en la tolerancia a la glucosa (Boden, G. *et al.* Diabetes, 1999, 48, 2182). Además, la expresión de Per2, Per3 y Cry2 es significativamente menor 50 en seres humanos con diabetes de tipo 2 frente a seres humanos sin la enfermedad (Stamenkovich, J. A. *et al.* Metabolism, 2012, 61, 978). Los genes gluconeogénicos fosfoenol piruvato carboxicinasa (Pck1) y glucosa 6-fosfatasa (G6pc) están controlados por CRY y el regulador genético de Bmal1 REV-ERB (Zhang, E. E. *et al.* Nat. Med. 2010, 16, 1152; Lamia, K. A. *et al.* Nature, 2011, 480, 552; Yin, L. *et al.* Science, 2007, 318, 1786). La gluconeogénesis está fuertemente controlada mediante múltiples mecanismos de señalización y, además, estudios en ratones han revelado 55 que la modulación de Cry1 y Cry2 puede perturbar la gluconeogénesis y regular los niveles glucémicos (Zhang, E. E. *et al.* Nat. Med. 2010, 16, 1152).

60 El documento WO 03/105759A2 divulga la inhibición farmacológica de la función de MYC. El documento WO 2014/039515A2 divulga agentes antifúngicos y usos de los mismos. Jérôme Molette *et al.*, divulgan "Identification and Optimization of an Aminoalcohol-Carbazol Series with Antimalarial Properties" en ACS MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, (2013)1114, vol. 4, n.º 11, páginas 1037 - 1041.

65 En un contexto de monoterapia o politerapia, agentes antidiabéticos orales nuevos y establecidos tienen eficacia no uniforme y limitada. Los tratamientos antidiabéticos orales tienen control glucémico escaso o limitado, o poco cumplimiento por parte del paciente debido a efectos secundarios inaceptables, tales como edema, aumento de peso o incluso complicaciones más graves como hipoglucemias. La metformina, una biguanida sustituida, puede provocar

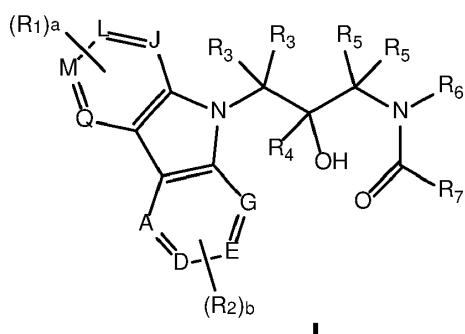
diarrea y malestar gastrointestinal. Finalmente, el edema, el aumento de peso y, en algunos casos, la hepatotoxicidad y la cardiotoxicidad, se han vinculado a la administración de algunos agentes antidiabéticos de tiazolidina-2,4-diona (por ejemplo, rosiglitazona y pioglitazona). La politerapia usando dos o más de los agentes anteriores es común, pero en general da lugar solamente a mejoras paulatinas en el control glucémico.

5 Cry1 y Cry2 también interactúan con el receptor de glucocorticoesteroides (GR) para alterar de forma global la respuesta transcripcional a glucocorticoesteroides (Lamia, K. A. *et al.* Nature, 2011, 480, 552). La pérdida de Cry1 y/o Cry2 provoca intolerancia a la glucosa y niveles constitutivamente altos de corticosterona en circulación, lo que sugiere supresión reducida del eje hipotalámico-pituitaria-suprarrenal acoplado con transactivación aumentada de glucocorticoesteroides en el hígado. Genómicamente, Cry1 y Cry2 se asocian con un elemento de respuesta de glucocorticoesteroides en el promotor Pckl de una manera dependiente de hormonas, y la transcripción inducida por dexametasona del gen Pckl se aumentó extraordinariamente en hígados deficientes de criptocromos. Esto sugiere que los efectos secundarios metabólicos indeseables de los glucocorticoesteroides (por ejemplo, hiperglucemia, resistencia a la insulina y supresión de la función suprarrenal) usados para suprimir la inflamación pueden aliviarse combinándolos con agentes que pueden estabilizar Cry1 y/o Cry2.

Sumario

20 La materia en cuestión en este documento se refiere a compuestos moduladores de criptocromos (Cry), composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos moduladores de Cry y métodos de tratamiento de enfermedades o trastornos relacionados con Cry, tales como, por ejemplo, diabetes, obesidad, síndrome metabólico, síndrome de Cushing y glaucoma, mediante la administración de compuestos moduladores de Cry.

25 En un aspecto, la materia en cuestión divulgada en este documento se refiere a un compuesto de fórmula I:



I

o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

cada uno de A, D, E, G, J, L, M y Q es independientemente nitrógeno o carbono;

30 cada uno de R₁ y R₂, cuando A, D, E, G, J, L, M y Q es carbono, se selecciona independientemente de hidrógeno, halo, ciano, nitro, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, trifluorometoxi, azido, hidroxilo, alcoxi(C₁-C₆), alquilo(C₁-C₆), alquenilo(C₂-C₆), -(C=O)-R₈, -(C=O)-O-R₈, -O-(C=O)-R₈, -NR₈(C=O)-R₁₀, -(C=O)-NR₈R₉, -NR₈R₉, -NR₈OR₉, -S(O)_nNR₈R₉, -S(O)_nalquilo(C₁-C₈), -O-SO₂-R₈, NR₈-S(O)_n, -(CR₈R₉)_dcicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_fheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_f(C=O)(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_f(C=O)(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_fO(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_fO(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_fS(O)_d(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_fS(O)_d(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros;

35 cada uno de R₃ y R₅ se selecciona independientemente de hidrógeno, ciano, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, alquilo(C₁-C₆), alquenilo(C₂-C₆), alquino(C₂-C₆), -(C=O)-R₈, -(C=O)-O-R₈, -(C=O)-NR₈R₉, -S(O)_nNR₈R₉, -S(O)_nalquilo(C₁-C₈), -(CR₈R₉)_dcicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_fheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_f(C=O)(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_fO(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_fO(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_fS(O)_d(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀) y -(CR₈R₉)_fS(O)_d(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros;

40 en la que cada uno de los grupos R₃ está ligado opcionalmente entre sí como un anillo mono- o bicíclico de 4-12 miembros;

45 en la que cada uno de los grupos R₅ está ligado opcionalmente entre sí como un anillo mono- o bicíclico de 4-12 miembros;

R₄ es hidrógeno, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, alquilo(C₁-C₆), alquenilo(C₂-C₆), alquino(C₂-C₆), -(C=O)-R₈, -(C=O)-O-R₈, -(C=O)-NR₈R₉, -(CR₈R₉)_dcicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_fheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_f(C=O)(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_fO(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_fO(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_fS(O)_d(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀) y -(CR₈R₉)_fS(O)_d(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros;

50 en la que R₆ y R₇ están ligados entre sí como un anillo de pirrolidinona, un anillo de imidazolidinona o un anillo bicíclico con puente de 4-12 miembros;

cada uno de R₈, R₉ y R₁₀ se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo(C₁-C₆), -(CR₁₁R₁₂)_acicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_barilo(C₆-C₁₀) y -(CR₁₁R₁₂)_cheterociclico de (4-10) miembros; cualquier átomo de carbono del alquilo(C₁-C₆), el cicloalquilo de (3-10) miembros, el arilo(C₆-C₁₀) y el heterociclico de (4-10) miembros de los anteriores R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁, R₁₂, R₁₃, R₁₄, R₁₅ y R₁₆ está opcionalmente 5 sustituido independientemente con 1 a 3 sustituyentes R₁₄ cada uno seleccionado independientemente de halo, ciano, nitro, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, trifluorometoxi, azido, hidroxilo, -O-R₁₅, alcoxi(C₁-C₆), alquilo(C₁-C₆), alquenilo(C₂-C₆), alquinilo(C₂-C₆), -(C=O)-R₁₁, -(C=O)-R₁₅, -(C=O)-O-R₁₁, -(C=O)-O-R₁₅, -O-(C=O)-R₁₁, -O-(C=O)-R₁₅, -NR₁₁(C=O)-R₁₃, -(C=O)-NR₁₁R₁₂, -(C=O)-NR₁₁R₁₅, -NR₁₁R₁₂, -NR₁₁R₁₅, -NR₁₁OR₁₂, -NR₁₁OR₁₅, -S(O)_aNR₁₁R₁₂, -S(O)_aNR₁₁R₁₅, -S(O)_aalquilo(C₁-C₆), -S(O)_aR₁₅, -O-SO₂-R₁₁, -O-SO₂-R₁₅, -NR₁₁-S(O)_c, -NR₁₅-S(O)_c, -(CR₁₁R₁₂)_ecicloalquilo de (3-10) 10 miembros, -(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_f(C=O)(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₁₁R₁₂)_eO(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_fS(O)_d(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀) y -(CR₁₁R₁₂)_fS(O)_d(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros; cualquier átomo de carbono de alquilo(C₁-C₆), el cicloalquilo de (3-10) miembros, el arilo(C₆-C₁₀) y el heterociclico de 15 (4-10) miembros del anterior R₁₄ está opcionalmente sustituido independientemente con 1 a 3 sustituyentes R₁₆ cada uno seleccionado independientemente de halo, ciano, nitro, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, trifluorometoxi, azido, (CH₂)_eOH, alcoxi(C₁-C₆), alquilo(C₁-C₆), alquenilo(C₂-C₆), alquinilo(C₂-C₆), -(C=O)-R₁₁, -(C=O)-R₁₅, -(C=O)-O-R₁₁, -(C=O)-O-R₁₅, -O-(C=O)-R₁₁, -O-(C=O)-R₁₅, -NR₁₁(C=O)-R₁₃, -(C=O)-NR₁₁R₁₂, -NR₁₁R₁₂ y -NR₁₁R₁₅; cualquier átomo de nitrógeno del heterociclico de (4-10) miembros de los anteriores R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, 20 R₁₀, R₁₄ y R₁₅ está opcionalmente sustituido independientemente con alquilo(C₁-C₆), alquenilo(C₂-C₆), alquinilo(C₂-C₆), -(C=O)-R₁₁, -(C=O)-O-R₁₁, -(C=O)-NR₁₁R₁₂, -(CR₁₁R₁₂)_ecicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_f(C=O)(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀) o -(CR₁₁R₁₂)_f(C=O)(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros; cada R₁₁, R₁₂ y R₁₃ es independientemente hidrógeno o alquilo(C₁-C₆); 25 R₁₅ es -(CR₁₁R₁₂)_ecicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀) o -(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros; a y b es cada uno independientemente 1, 2, 3 o 4; c es 1 o 2; d es 0, 1 o 2; y e, f y g es cada uno independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5.

En algunas realizaciones, cada uno de A, D, E, G, J, L, M y Q es carbono; cada uno de R₁ y R₂ se selecciona independientemente de hidrógeno o halo; R₄ es hidrógeno o alquilo(C₁-C₆) y R₃ y R₅ son hidrógeno.

35 En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I es un enantiómero individual que porta una configuración (R) en C-3, en la que cada uno de A, D, E, G, J, L, M y Q es carbono; cada uno de R₁ y R₂ se selecciona independientemente de hidrógeno o halo; R₄ es hidrógeno o alquilo(C₁-C₆), R₃ y R₅ son hidrógeno.

Otras realizaciones de la materia en cuestión descrita en este documento son compuestos seleccionados del grupo 40 que consiste en:

1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 2-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;
 (1R,4S)-2-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
 (R)-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;
 (R)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (S)-1-((S)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona;
 50 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)piperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)pirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 55 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3,3-difluoropiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3,3-difluoropiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3,3-dimetilpirrolidin-2-ona;
 60 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-dimetilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-etylpirrolidin-2-ona;
 3-ciclopentil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fenilpiperidin-2-ona;
 3-ciclohexil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona;
 65 3-ciclohexil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)piperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-isopropilpirrolidin-2-ona;

3-ciclopentil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-etilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-isopropilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-isopropilpiperidin-2-ona;
 5 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
 10 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4,4-dimetilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-etilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-5-etilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
 15 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-4-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-6-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-6-metilpiperidin-2-ona;
 20 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-isopropilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-4-metilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilpirrolidin-2-ona;
 25 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-4,5-dimetilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilpiperidin-2-ona;
 3-ciclobutil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona;
 3-ciclobutil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)piperidin-2-ona;
 30 30 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fenilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fenilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metoxipiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-difluoropirrolidin-2-ona;
 35 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metoxipiperidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-6-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpiperidin-2-ona;
 40 40 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-ciclopropilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)piperidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)pirrolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-difluoropiperidin-2-ona;
 45 45 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-etilimidazolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona;
 1-ciclohexil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;
 50 50 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fenilimidazolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-isopropilimidazolidin-2-ona;
 1-ciclopentil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;
 1-ciclopropil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;
 1-ciclobutil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;
 55 55 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-ciclobutilimidazolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-ciclopropilimidazolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-isopropilimidazolidin-2-ona;
 3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3,4-dihidroquinazolin-2(1H)-ona;
 3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,4-dihidroquinazolin-2(1H)-ona;
 60 60 (1S,4R)-2-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
 (1S,4R)-2-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
 (1S,4R)-2-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
 (1R,4S)-2-((S)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
 (R)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
 65 65 (S)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
 (R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;

(S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
 (R)-1-((S)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
 (S)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
 (R)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
 5 (S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
 (R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
 (S)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 10 (S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (R)-1-((S)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (S)-1-((S)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 15 (S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 (R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 (S)-1-((S)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 (R)-1-((S)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 20 (S)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 (S)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona;
 (R)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona;
 (S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona;
 y una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

25 En otro aspecto, los compuestos descritos en este documento modulan Cry1 o Cry2. La modulación de Cry1 o Cry2 incluye uno cualquiera de los siguientes: unión a Cry1 o Cry2; inhibición de la modificación de Cry1 o Cry2; alteración de la localización de Cry1 o Cry2; aumento o disminución de la estabilización de Cry1 o Cry2; aumento o disminución de la unión entre Cry1 o Cry2 a una diana; aumento o disminución de la actividad de Cry1 o Cry2; y aumento o disminución de la actividad de una diana de Cry1 o Cry2. Las dianas de Cry1 y/o Cry2 incluyen, aunque sin limitación, Per1, Per2, receptor de glucocorticoesteroides (GR), CLOCK, BMAL1 o una secuencia promotora de CLOCK-BMAL1.

30 En otro aspecto, la materia en cuestión descrita en este documento proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I, o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo, adyuvante o diluyente farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además uno o más agentes terapéuticos adicionales. Ejemplos de agentes terapéuticos adicionales incluyen, aunque sin limitación, inhibidores de DPP-IV tales como sitagliptina, alogliptina, vildagliptina, saxagliptina y linagliptina; agonistas de GLP-1 tales como exenatida, liraglutida y albiglutida; inhibidores de SGLT2 tales como canagliflozina, ertugliflozina y dapagliflozina); metformina; y sulfonilureas tales como gliburida. Otros ejemplos de agentes terapéuticos adicionales incluyen Signifor®, ketoconazol, metirapona, mitotano, etomidato, Korlym®, inhibidores del factor de crecimiento epidérmico, el inhibidor de aldosterona sintasa/11β-hidroxilasa LCI699, y kevoketoconazol (COR-003).

35 En otros aspectos, se proporciona una composición farmacéutica de la presente invención para su uso en el tratamiento de enfermedad o trastorno mediado por Cry en un sujeto, en la que la enfermedad o trastorno mediado por Cry se selecciona del grupo que consiste en diabetes, complicaciones diabéticas tales como neuropatía diabética, retinopatía diabética, nefropatía diabética, formación de cataratas, glaucoma, angiopatía diabética, ateroesclerosis; esteatohepatitis no alcohólica (NASH); esteatosis hepática no alcohólica (NAFLD); asma; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD); síndrome metabólico; síndrome de resistencia a la insulina; obesidad; glaucoma; síndrome de Cushing; depresión psicótica; enfermedad de Alzheimer; dolor neuropático; drogadicción; osteoporosis; cáncer; degeneración macular; y miopatía. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica de la invención para su uso en el alivio de un síntoma de una enfermedad o trastorno mediado por Cry en un sujeto, en la que la enfermedad o trastorno mediado por Cry se selecciona del grupo que consiste en diabetes, complicaciones diabéticas tales como neuropatía diabética, retinopatía diabética, nefropatía diabética, formación de cataratas, glaucoma, angiopatía diabética, ateroesclerosis; esteatohepatitis no alcohólica (NASH); esteatosis hepática no alcohólica (NAFLD); asma; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD); síndrome metabólico; síndrome de resistencia a la insulina; obesidad; glaucoma; síndrome de Cushing; depresión psicótica; enfermedad de Alzheimer; dolor neuropático; drogadicción; osteoporosis; cáncer; degeneración macular; y miopatía.

40 60 Las composiciones farmacéuticas descritas en este documento pueden comprender además uno o más agentes terapéuticos adicionales tales como inhibidores de DPP-IV tales como sitagliptina, alogliptina, vildagliptina, saxagliptina y linagliptina; agonistas de GLP-1 tales como exenatida, liraglutida y albiglutida; inhibidores de SGLT2 tales como canagliflozina, ertugliflozina y dapagliflozina); metformina; sulfonilureas, tales como gliburida; Signifor®, ketoconazol; metirapona; mitotano; etomidato; Korlym®; inhibidores del factor de crecimiento epidérmico; el inhibidor de la aldosterona sintasa/11β-hidroxilasa LCI699; y kevoketoconazol (COR-003).

También se divulga en este documento un método de supervisión de la progresión o pronóstico de una enfermedad o trastorno mediado por Cry en un sujeto que se proporciona, que implica medir una cantidad eficaz de uno o más criptocromos o genes regulados por criptocromos en una primera muestra del sujeto en un primer periodo de tiempo; 5 medir una cantidad eficaz de uno o más criptocromos o genes regulados por criptocromos en una segunda muestra del sujeto en un segundo periodo de tiempo; y comparar la cantidad del uno o más criptocromos o genes regulados por criptocromos detectados en la primera muestra con la cantidad del uno o más criptocromos o genes regulados por criptocromos detectados en la segunda muestra, o con un valor de referencia. Ejemplos de genes regulados por criptocromos incluyen genes que contienen una secuencia E-box en su promotor. Dichos genes incluyen, aunque sin limitación Dbp, Rev-erb alfa, Rev-erb beta, Ror alfa, Ror beta, Ror gamma, Per1, Per2, Per3, Cry1, Cry2, Pck1, G6Pc, Avp, Vip, Cck, SP (sustancia P), AA-Nat, PK2 (procinectina 2), c-Myc, MyoD y Nampt.

La supervisión puede comprender evaluar cambios en el riesgo de desarrollar la enfermedad o trastorno mediado por Cry en el sujeto.

15 Se espera que el momento óptimo para dosificación en seres humanos sea el atardecer, correspondiente al pico de expresión de Cry humana y el final del periodo activo (diurno).

20 El sujeto puede comprender uno que se haya tratado previamente para la enfermedad o trastorno mediado por Cry, uno que no se haya tratado previamente para la enfermedad o trastorno mediado por Cry, o uno que no se haya diagnosticado previamente con la enfermedad o trastorno mediado por Cry. La muestra puede ser sangre completa, suero, plasma, glóbulos, células endoteliales, biopsias de tejido, líquido linfático, líquido ascítico, líquido intersticial, médula ósea, líquido cefalorraquídeo (CSF), líquido seminal, saliva, moco, esputo, sudor u orina.

25 La primera muestra puede cogerse del sujeto antes de tratarlo para la enfermedad o trastorno mediado por Cry y la segunda muestra se coge del sujeto después de tratarlo para la enfermedad o trastorno mediado por Cry. El sujeto puede tratarse con la composición farmacéutica que contiene los compuestos de fórmula I divulgados en este documento. La supervisión puede comprender además seleccionar un tratamiento para el sujeto y/o supervisar la eficacia de un tratamiento para la enfermedad o trastorno mediado por Cry, en la que el tratamiento para la enfermedad 30 o trastorno mediado por Cry comprende intervención quirúrgica, administración de la composición farmacéutica como se define en este documento en solitario o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, intervención quirúrgica después de o precedida por administración de la composición farmacéutica proporcionada en este documento o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, o no tomar ninguna acción más.

35 El valor de referencia puede comprender un valor de índice, un valor derivado de uno o más algoritmos de predicción del riesgo de enfermedad o trastorno mediado por Cry, un valor derivado de un sujeto que no tiene una enfermedad o trastorno mediado por Cry, o un valor derivado de un sujeto diagnosticado con una enfermedad o trastorno mediado por Cry. La medición puede comprender detectar la presencia o ausencia del uno o más criptocromos, cuantificar la cantidad del uno o más criptocromos, clasificar el tipo del uno o más criptocromos y evaluar la capacidad de uno o más criptocromos de unirse a una diana. La diana puede ser Per1, Per2 o una secuencia promotora de CLOCK-BMAL1.

40 Como se divulga en este documento, la enfermedad o trastorno mediado por Cry puede seleccionarse del grupo que consiste en diabetes, complicaciones diabéticas tales como neuropatía diabética, retinopatía diabética, nefropatía diabética, formación de cataratas, glaucoma, angiopatía diabética, ateroesclerosis; esteatohepatitis no alcohólica (NASH); esteatosis hepática no alcohólica (NAFLD); asma; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD); síndrome metabólico; síndrome de resistencia a la insulina; obesidad; glaucoma; síndrome de Cushing; depresión psicótica; enfermedad de Alzheimer; dolor neuropático; drogadicción; osteoporosis; cáncer; degeneración macular; y miopatía.

45 En una realización, en los compuestos de fórmula I divulgados en este documento, A, D, E, G, J, L, M y Q son carbono. En otra realización, en los compuestos de fórmula I, R₁ y R₂ son hidrógeno. En otras realizaciones más, en los compuestos de fórmula I, R₁ y R₂ son flúor y a y b son 1. En otras realizaciones, en los compuestos de fórmula I, R₃ y R₅ son hidrógeno. En otra realización, en los compuestos de fórmula I, R₃, R₄ y R₅ son hidrógeno.

50 El anillo formado por R₆ y R₇ puede estar sustituido exclusivamente con flúor, grupos metilo, grupos etilo, grupos isopropilo, cicloalcanos C3-6 o grupos fenilo.

55 Salvo que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el mismo significado que el comprendido habitualmente por un experto en la materia a la que pertenece esta invención. Aunque pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en este documento en la práctica de la presente invención, a continuación, se describen métodos y materiales adecuados. En caso de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluyendo las definiciones. Además, los materiales, métodos y ejemplos descritos en este documento son ilustrativos únicamente y no están destinados a ser limitantes.

Otros rasgos característicos y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y reivindicaciones.

Breve descripción de los dibujos

- 5 Las figuras 1A-H son una serie de gráficos que muestran la expresión génica central del reloj en ratones después de administración de compuesto 72. Se midió la expresión de ARNm de los genes centrales de reloj Per2 (A y B), Bmal1 (C y D), Cry1 (E y F) y Cry2 (G y H) en intervalos de seis horas sobre 24 horas en los hígados de ratones C57B1/6J DIO (A, C, E, G) o Balb/c (B, D, F, H) tratados con vehículo (H_2O) o compuesto 72. Se determinaron los niveles de transcripto por RT-qPCR y se compararon con vehículo en ZT8 con el periodo oscuro sombreado. Se compararon los niveles de ARNm de los tratados con compuesto 72 para cada punto temporal con el vehículo por ensayo de la t . * < 0,05, ** < 0,01, *** < 0,001, **** < 0,0001.
- 10 Las figuras 2A-D son una serie de gráficos que muestran la expresión de genes gluconeogénicos en ratones después de administración de compuesto 72. Expresión de ARNm de los genes gluconeogénicos Pck1 (PEPCK; A y B), G6Pc (subunidad catalítica de glucosa 6-fosfatasa; C y D) en intervalos de seis horas sobre 24 horas en los hígados de ratones C57B1/6J DIO (A y C) o Balb/c (B y D) tratados con vehículo (H_2O) o compuesto 72. Se determinaron los niveles de transcripto por RT-qPCR y se compararon con vehículo en ZT8 con el periodo oscuro sombreado. Se compararon los niveles de ARNm de los tratados con compuesto 72 para cada punto temporal con el vehículo por ensayo de la t . * < 0,05, ** < 0,01, *** < 0,001, **** < 0,0001.
- 15 15 Las figuras 3A-C son una serie de gráficos que muestran la expresión génica central de reloj en los hígados de ratones ICR después de administración de compuesto 72, compuesto 48, compuesto 9 o compuesto 57. Se midió la expresión de ARNm de los genes centrales de reloj Per2 (A), Bmal1 (B) y Cry2 (C) en los hígados de ratones ICR tratados durante 4 días BID con compuesto 72, compuesto 48, compuesto 9, compuesto 57 o vehículo. Se determinaron los niveles de los ARNm por RT-qPCR en muestras tomadas en ZT6 después de la dosis ZT0 final. Se compararon los niveles de ARNm de los tratados con compuesto 72 para cada punto temporal con el vehículo por ensayo de la t . * < 0,05, ** < 0,01, *** < 0,001, **** < 0,0001.
- 20 20 Las figuras 4 es un gráfico que muestra la expresión del gen Dbp después de tres dosis diarias de compuesto 72 en el pico de expresión de Cry1. Se midió la expresión de ARNm de Dbp en ZT7,5 en sangre completa de ratones db/db después de tres dosis diarias de 100 mg/kg de compuesto 72. Se determinaron los niveles de transcripto por RT-qPCR y se compararon con sangre de ratones tratados con vehículo (kolliphor al 10 %) en ZT7,5. Se compararon los niveles de ARNm de cada tratamiento con compuesto con el vehículo por ensayo de la t (**; $p \leq 0,001$).
- 25 25 Las figuras 5A-D son una serie de gráficos que muestran la expresión génica central del reloj después de una dosis única de compuesto 72 en el pico o mínimo de expresión de Cry1. Se midió la expresión de ARNm de los genes centrales de reloj Per2 (A), Bmal1 (B), Cry1 (C) y Cry2 (D) en ZT7,5 (pico de expresión de Cry1) o ZT17,5 (mínimo de expresión de Cry1) en hígado de ratones C57B1/6J DIO después de una dosis única de 100 mg/kg de compuesto 72. Se determinaron los niveles de transcripto por RT-qPCR y se compararon con hígado de tratados con vehículo (kolliphor al 10 %). Se compararon los niveles de ARNm de los tratados con compuesto 72 para cada punto temporal con el vehículo por ensayo de la t . * < 0,05, ** < 0,01, *** < 0,001, **** < 0,0001.
- 30 30 La figura 6 es una serie de gráficos que muestran el efecto del compuesto 72 en ensayo de tolerancia de glucosa oral (OGTT) en ratones db/db. Se administró compuesto 72 (50 mg/kg, PO) o kolliphor al 10 % (control) como una dosis única en el pico (ZT0) (A) o mínimo (ZT10) (B) de expresión génica de Cry1 y Bmal1.
- 35 35 La figura 7 es un gráfico que muestra el efecto del compuesto 72 sobre el área bajo la curva (ABC) de glucosa en ratones db/db. Se administró compuesto 72 (50 mg/kg, PO) o kolliphor al 10 % (control) como una dosis única en el pico (ZT0) de expresión génica de Cry1 y Bmal1.
- 40 40 Las figuras 8A-C son una serie de gráficos que muestran el efecto del compuesto 72 administrado durante 7 días sobre el metabolismo de la glucosa en ratones db/db. Se administró compuesto 72 (50 mg/kg, PO) o kolliphor al 10 % (control) durante 7 días. A) Niveles de glucosa sanguínea en ayunas; B) ensayo de tolerancia de glucosa oral (OGTT); C) ABC de glucosa.
- 45 45 Las figuras 9A-B son una serie de gráficos que muestran el efecto del compuesto 72 administrado durante 7 días sobre los niveles de insulina en ratones db/db. Se administró compuesto 72 (50 mg/kg, PO) o kolliphor al 10 % (control). A) Niveles de insulina antes (en 0 h) y después de carga de glucosa (en 2 h); B) resistencia a la insulina estimada por evaluación de modelo homeostático (HOMA-IR).
- 50 50 La figura 10 es un gráfico que muestra los niveles de compuestos de compuesto 72 medidos en plasma e hígado aproximadamente 8 horas después de administración de la última dosis (50 mg/kg, PO). La concentración CE₅₀ para el compuesto 72 en el ensayo de Per2 se indica en el gráfico por la línea discontinua.
- 55 55 Las figuras 11A-C son una serie de gráficos que muestran el efecto de dosificaciones crecientes de compuesto 72 (10 mg/kg, 50 mg/kg y 100 mg/kg) sobre el metabolismo de la glucosa en ratones db/db. Se usó kolliphor al 10 % como control de vehículo. A) Niveles de glucosa sanguínea en ayunas; B) OGTT; C) ABC de glucosa.
- 60 60 Las figuras 12A-B son una serie de gráficos que muestran el efecto de dosificaciones crecientes de compuesto 72 (10 mg/kg, 50 mg/kg y 100 mg/kg) sobre los niveles de insulina en ratones db/db. Se usó kolliphor al 10 % como control de vehículo. A) Niveles de insulina antes (en 0 h) y después de carga de glucosa (en 2 h); B) resistencia a la insulina estimada por evaluación de modelo homeostático (HOMA-IR).
- 65 65 La figura 13 es un gráfico que muestra los niveles de compuestos de compuesto 72 medidos en plasma e hígado aproximadamente 8 horas después de administración de la última dosis a dosificaciones crecientes (10 mg/kg, 50 mg/kg y 100 mg/kg). La concentración CE₅₀ para el compuesto 72 en el ensayo de Per2 se indica en el gráfico por la línea discontinua.

Las figuras 14A-C son una serie de gráficos que muestran el efecto de dosificaciones crecientes de compuesto 9 (30 mg/kg, 100 mg/kg y 300 mg/kg) sobre el metabolismo de la glucosa en ratones db/db. Se usó kolliphor al 10 % como control. A) Niveles de glucosa sanguínea en ayunas; B) OGTT; C) ABC de glucosa.

5 Las figuras 15A-B son una serie de gráficos que muestran el efecto de dosificaciones variables de compuesto 9 (30 mg/kg, 100 mg/kg y 300 mg/kg) sobre los niveles de insulina en ratones db/db. Se usó kolliphor al 10 % como control. A) Niveles de insulina antes (en 0 h) y después de carga de glucosa (en 2 h); B) resistencia a la insulina estimada por evaluación de modelo homeostático (HOMA-IR).

10 La figura 16 es un gráfico que muestra los niveles de compuestos de compuesto 9 en plasma e hígado aproximadamente 8 horas después de administración de la última dosis a dosificaciones crecientes (30 mg/kg, 100 mg/kg y 300 mg/kg). La concentración CE₅₀ para el compuesto 9 en el ensayo de Per2 se indica en el gráfico por la línea discontinua.

15 Las figuras 17A-C son un gráfico que muestra el efecto del compuesto 72 sobre el metabolismo de la glucosa en ratones C57/B16J DIO. Se administró compuesto 72 (100 mg/kg, PO), kolliphor al 10 % (control) o rosiglitazona (30 mg/kg) durante 7 días. A) Niveles de glucosa sanguínea en ayunas; B) OGTT; C) ABC de glucosa.

20 Las figuras 18A-B son una serie de gráficos que muestran el efecto del compuesto 72 sobre los niveles de insulina en ratones C57/B16J DIO. Se administró compuesto 72 (100 mg/kg, PO), kolliphor al 10 % (control) o rosiglitazona (30 mg/kg) durante 7 días. A) Niveles de insulina antes (en 0 h) y después de carga de glucosa (en 2 h); B) resistencia a la insulina estimada por evaluación de modelo homeostático (HOMA-IR).

25 La figura 19 es una serie de gráficos que muestran el efecto del compuesto 72 en un modelo de rata de resistencia a la insulina inducida por cortisona. Se administró cortisona (30 mg/kg, SC) con vehículo, compuesto 72 (50 mg/kg, PO) o mifepristona (30 mg/kg, PO) durante 7 días. (A) Niveles de glucosa plasmática en ayunas y (B) niveles de insulina plasmática en ayunas.

30 La figura 20 es un gráfico que muestra el efecto del compuesto 72 (50 mg/kg, PO), administrado durante 7 días sobre HOMA-IR en un modelo de rata de resistencia a la insulina inducida por cortisona. Se administró cortisona (30 mg/kg, SC) con vehículo, compuesto 72 (50 mg/kg, PO) o mifepristona (30 mg/kg, PO) durante 7 días.

35 La figura 21 es un gráfico que muestra el efecto del compuesto 72 sobre la estabilidad térmica *in vitro* del dominio de unión a FAD de CRY1. El tratamiento del dominio purificado de unión a FAD de CRY1 con compuesto 72 provocó un aumento dependiente de la dosis de la temperatura de fusión de la proteína, determinada por un ensayo de fluorimetría diferencial de barrido ("desplazamiento térmico").

40 Las figuras 22A-C son una serie de gráficos que muestran el efecto de dosificaciones crecientes de compuesto 72 (10 mg/kg, 30 mg/kg y 100 mg/kg) sobre el metabolismo de la glucosa en ratones DIO. Se administró compuesto 72 (100 mg/kg, PO), kolliphor al 10 % (control) o rosiglitazona (30 mg/kg) durante 7 días. A) Niveles de glucosa sanguínea en ayunas; B) OGTT; C) ABC de glucosa.

35 Descripción detallada

45 Los rasgos característicos, estructuras o características descritas a lo largo de toda esta memoria descriptiva pueden combinarse de cualquier manera adecuada en una o más realizaciones. Por ejemplo, el uso de las expresiones "realizaciones ejemplares", "realizaciones de ejemplo", "algunas realizaciones" u otras expresiones similares, a lo largo de toda esta memoria descriptiva se refiere al hecho de que un rasgo característico, estructura o característica particular descrita en relación con una realización puede incluirse en al menos una realización descrita en este documento. Por tanto, las veces que aparecen las expresiones "realizaciones ejemplares", "realizaciones de ejemplo", "en algunas realizaciones", "en otras realizaciones" u otras expresiones similares, a lo largo de toda esta memoria descriptiva no todas se refieren necesariamente al mismo grupo de realizaciones, y los rasgos característicos, estructuras o características descritas pueden combinarse de cualquier manera adecuada en una o más realizaciones.

50 Para facilitar la comprensión de esta divulgación, a continuación, se definen varios términos. Los términos definidos en este documento tienen significados normalmente comprendidos por los expertos en las áreas pertinentes a la materia en cuestión descrita en este documento. No se pretende que términos tales como "un/o", "una" y "el/la" se refieran a una entidad singular solamente, sino que incluyen la clase general de la que un ejemplo específico puede usarse para ilustración. La terminología en este documento se usa para describir realizaciones específicas de la materia en cuestión descrita en este documento, pero su uso no delimita la materia en cuestión, excepto en cuanto a lo resumido en las reivindicaciones.

55 Como se usa en este documento, las expresiones "que comprende", "que incluye" o "que tiene" se usan en su sentido no limitante abierto.

60 El término "halo", como se usa en este documento, salvo que se indique de otro modo, significa flúor, cloro, bromo o yodo.

65 El término "alquilo", como se usa en este documento, salvo que se indique de otro modo, incluye radicales hidrocarbonados monovalentes saturados que tienen restos lineales o ramificados.

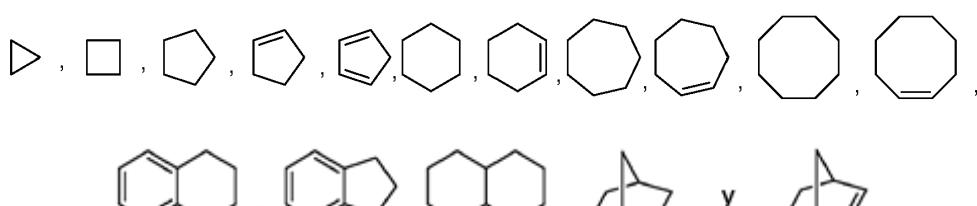
El término "alquenilo", como se usa en este documento, representa grupos de cadena monovalente lineal o ramificada de, salvo que se indique de otro modo, 2 a 6 carbonos que contienen uno o más dobles enlaces carbono-carbono y se exemplifica por etenilo, 1-propenilo, 2-propenilo, 2-metil-1-propenilo, 1-butenilo, 2-butenilo y similares.

El término "alquinilo", como se usa en este documento, representa grupos de cadena monovalente lineal o ramificada de dos a seis átomos de carbono que contienen un triple enlace carbono-carbono y se ejemplifica por etinilo, 1-propinilo y similares.

5 El término "alcoxi", como se usa en este documento, salvo que se indique de otro modo, incluye grupos O-alquilo en los que el alquilo es como se define anteriormente.

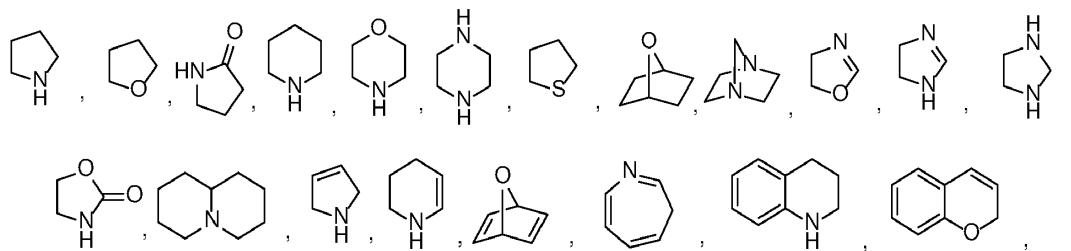
El término "Me" significa metilo, y "Et" significa etilo.

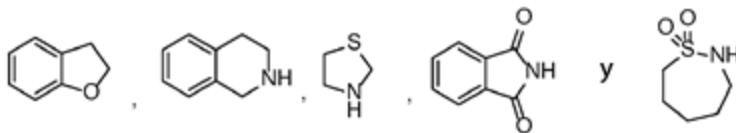
El término "cicloalquilo", como se usa en este documento, salvo que se indique de otro modo, se refiere a un hidrocarburo no aromático, saturado o parcialmente saturado, monocíclico o condensado, espiro o sin condensar bicíclico o trícíclico mencionado en este documento que contiene un total de 3 a 10 átomos de carbono. Ejemplos ilustrativos de cicloalquilo se derivan de, aunque sin limitación, los siguientes:



20 El término "arilo", como se usa en este documento, salvo que se indique de otro modo, incluye un radical orgánico derivado de un hidrocarburo aromático por eliminación de un hidrógeno, tal como fenilo o naftilo.

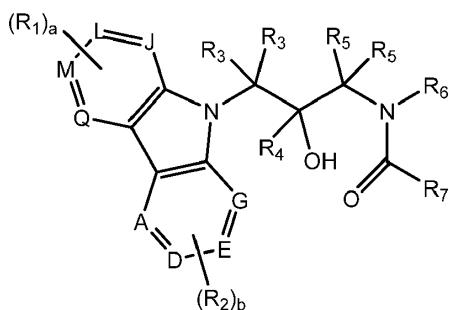
La expresión "heterociclico de (4-12) miembros", como se usa en este documento, salvo que se indique de otro modo, incluye grupos heterocíclicos aromáticos y no aromáticos que contienen de uno a cuatro heteroátomos cada uno seleccionado de O, S y N, en los que cada grupo heterocíclico tiene de 4-12 átomos, en su sistema de anillos, y con la condición de que el anillo de dicho grupo no contenga dos átomos de O o S adyacentes. Los grupos heterocíclicos no aromáticos incluyen grupos que tienen solamente 3 átomos en su sistema de anillos, pero los grupos heterocíclicos aromáticos deben tener al menos 5 átomos en su sistema de anillos. Los grupos heterocíclicos incluyen sistemas de anillos benzocondensados. Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 3 miembros es aziridina, un ejemplo de un grupo heterocíclico de anillo de 4 miembros es azetidinilo (derivado de azetidina). Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 5 miembros es tiazolilo, un ejemplo de un anillo de 7 miembros es azepinilo y un ejemplo de un grupo heterocíclico de 10 miembros es quinolinilo. Ejemplos de grupos heterocíclicos no aromáticos son pirrolidinilo, tetrahidofuranilo, dihidrofuranilo, tetrahidrotienilo, tetrahidropiranilo, dihidropiranilo, tetrahidropiperidinilo, piperidino, morfolino, tiomorfolino, tioxanilo, piperazinilo, azetidinilo, oxetanilo, tietanilo, homopiperidinilo, oxepanilo, tiepanilo, oxazepinilo, diazepinilo, tiazepinilo, 1,2,3,6-tetrahidropiridinilo, 2-pirrolinilo, 3-pirrolinilo, indolinilo, 2H-piranilo, 4H-piranilo, dioxanilo, 1,3-dioxolanilo, pirazolinilo, ditianilo, ditiolanilo, dihidropiranilo, dihidrotienilo, dihidrofuranilo, pirazolidinilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, 3-azabiciclo[3.1.0]hexanilo, 3-azabiciclo[4.1.0]heptanilo, 3H-indolilo y quinolizinilo. Ejemplos de grupos heterocíclicos aromáticos son piridinilo, imidazolilo, pirimidinilo, pirazolilo, triazolilo, pirazinilo, tetrazolilo, furilo, tienilo, isoxazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isotiazolilo, pirrolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, indolilo, bencimidazolilo, benzofuranilo, cinolinilo, indazolilo, indolizinilo, ftauzinilo, piridazinilo, traizinilo, isoindolilo, pteridinilo, purinilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, furazanilo, benzofurazanilo, benzotiofenilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, naftridinilo y furopiridinilo. Los grupos anteriores, que derivan de las listas anteriores, pueden fijarse a C o fijarse a N donde ello sea posible. Por ejemplo, un grupo obtenido a partir de pirrol puede ser pirrol-1-ilo (fijado a N) o pirrol-3-ilo (fijado a C). Además, un grupo obtenido a partir de imidazol puede ser imidazol-1-ilo (fijado a N) o imidazol-3-ilo (fijado a C). El heterociclico de 4-12 miembros puede estar opcionalmente sustituido en cualquier átomo o átomos de carbono, azufre o nitrógeno del anillo con uno o dos oxo, por anillo. Un ejemplo de un grupo heterocíclico en el que 2 átomos en el anillo están sustituidos con restos oxo es 1,1-dioxo-tiomorfolinilo. Otro ejemplo ilustrativo de heterociclico de 4-12 miembros deriva de, aunque sin limitación, los siguientes:





El término "sustituido", como se usa en este documento, significa que uno cualquiera o más átomos de hidrógeno en el átomo indicado se remplaza con una selección de los grupos indicados, con la condición de que no se exceda la valencia normal del átomo indicado, y que la sustitución produzca un compuesto estable. Cuando un sustituyente es ceto (es decir, =O), entonces se remplazan 2 átomos de hidrógeno en el átomo. Los sustituyentes ceto no están presentes en restos aromáticos. Los dobles enlaces del anillo, como se usa en este documento, son dobles enlaces que se forman entre dos átomos adyacentes en el anillo (por ejemplo, C=C, C=N o N=N). Ejemplos no limitantes de dichos grupos incluyen, sin limitación, H, CH₃, NO₂, SO₂N(CH₃)₂, SO₂N(CH₃)SO₂, COOH, COOCH₃, CO(N(CH₃)), alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, aralquilo, cicloalquilo, heterociclico, alquilarilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, alcoxi (es decir, metoxi, etoxi, etc.), alquilcarboniloxi, arilcarboniloxi, alcoxcarboniloxi, ariloxcarboniloxi, carboxilato, alquilcarbonilo, alquilaminocarbonilo, aralquilaminocarbonilo, alquenilaminocarbonilo, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, aralquilcarbonilo, alquenilcarbonilo, alcoxicarbonilo, aminocarbonilo, alquitiocarbonilo, trifluorometilo, pentafluoroetilo, halógeno (es decir, cloro, flúor, bromo, yodo), ciano, tio, amido, éter, éster, hidroxilo, hidroxialquilo, ácidos grasos saturados o insaturados, azido, fosfonamido, sulfonamido, lactama, fosfato, fosfonato, fosfinato, amino (incluyendo alquilamino, dialquilamino, arilamino, diarilamino y alquilarilamino), acilamino (incluyendo alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, carbamoilo y ureido), amidino, imino, guanidino, sulfhidrilo, alquiltio, ariltio, tiocarboxilato, sulfatos, alquilsulfinilo, sulfonilo, sulfamoilo, sulfonamido, nitro, ciano, azido, etc.

La materia en cuestión divulgada en este documento proporciona compuestos de sulfonamida que contienen carbazol que modulan una o más moléculas de criptocromo. Estos compuestos tienen la estructura general expuesta en la fórmula I:



o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que
 cada uno de A, D, E, G, J, L, M y Q es independientemente nitrógeno o carbono;
 cada uno de R₁ y R₂, cuando A, D, E, G, J, L, M y Q es carbono, se selecciona independientemente de hidrógeno, halo, ciano, nitro, -CF₃, -CHF₂, trifluorometoxi, azido, hidroxilo, alcoxi(C₁-C₆), alquilo(C₁-C₆), alquenilo(C₂-C₆), alquinilo(C₂-C₆), -(C=O)-R₈, -(C=O)-O-R₈, -O-(C=O)-R₈, -(C=O)-NR₈R₉, -NR₉, -NR₈OR₉, -S(O)_aNR₈R₉, -S(O)_balquilo(C₁-C₈), -O-SO₂-R₈, NR₈-S(O)_c, -(CR₈R₉)_dcicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_fheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_g(C=O)(CR₈R₉)_harilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_i(C=O)(CR₈R₉)_jheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_kS(O)_l(CR₈R₉)_marilo(C₆-C₁₀), y -(CR₈R₉)_nS(O)_o(CR₈R₉)_pheterociclico de (4-10) miembros;
 cada uno de R₃ y R₅ se selecciona independientemente de hidrógeno, ciano, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, alquilo(C₁-C₆), alquenilo(C₂-C₆), alquinilo(C₂-C₆), -(C=O)-R₈, -(C=O)-O-R₈, -(C=O)-NR₈R₉, -S(O)_aNR₈R₉, -S(O)_balquilo(C₁-C₈), -(CR₈R₉)_dcicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_fheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_g(C=O)(CR₈R₉)_harilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_i(C=O)(CR₈R₉)_jheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_kO(CR₈R₉)_larilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_mO(CR₈R₉)_nheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_oS(O)_q(CR₈R₉)_rarilo(C₆-C₁₀) y -(CR₈R₉)_sS(O)_t(CR₈R₉)_uheterociclico de (4-10) miembros;
 cada uno de los grupos R₃ está ligado opcionalmente entre sí como un anillo mono- o bicíclico de 4-12 miembros;
 cada uno de los grupos R₅ está ligado opcionalmente entre sí como un anillo mono- o bicíclico de 4-12 miembros;
 R₄ es hidrógeno, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, alquilo(C₁-C₆), alquenilo(C₂-C₆), alquinilo(C₂-C₆), -(C=O)-R₈, -(C=O)-O-R₈, -(C=O)-NR₈R₉, -(CR₈R₉)_dcicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_fheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_g(C=O)(CR₈R₉)_harilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_i(C=O)(CR₈R₉)_jheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_kO(CR₈R₉)_larilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_mO(CR₈R₉)_nheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_oS(O)_q(CR₈R₉)_rarilo(C₆-C₁₀) y -(CR₈R₉)_sS(O)_t(CR₈R₉)_uheterociclico de (4-10) miembros;
 en la que R₆ y R₇ están ligados entre sí como un anillo de pirrolidinona, un anillo de imidazolidinona o un anillo bicíclico con puente de 4-12 miembros;
 cada uno de R₈, R₉ y R₁₀ se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo(C₁-C₆), -(CR₁₁R₁₂)_dcicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀) y -(CR₁₁R₁₂)_fheterociclico de (4-10) miembros;

cualquier átomo de carbono del alquilo(C₁-C₆), el cicloalquilo de (3-10) miembros, el arilo(C₆-C₁₀) y el heterociclico de (4-10) miembros de los anteriores R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁, R₁₂, R₁₃, R₁₄, R₁₅ y R₁₆ está opcionalmente sustituido independientemente con 1 a 3 sustituyentes R₁₄ cada uno seleccionado independientemente de halo, ciano, nitro, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, trifluorometoxi, azido, hidroxilo, -O-R₁₅, alcoxi(C₁-C₆), alquilo(C₂-C₆), alquinilo(C₂-C₆), -(C=O)-R₁₁, -(C=O)-R₁₅, -(C=O)-O-R₁₁, -(C=O)-O-R₁₅, -O-(C=O)-R₁₁, -O-(C=O)-R₁₅, -NR11(C=O)-R₁₃, -(C=O)-NR₁₁R₁₂, -(C=O)-NR₁₁R₁₅, -NR₁₁R₁₂, -NR₁₁R₁₅, -NR₁₁OR₁₂, -NR₁₁OR₁₅, -S(O)_dNR₁₁R₁₂, -S(O)_dNR₁₁R₁₅, -S(O)_dalquilo(C₁-C₆), -S(O)_dR₁₅, -O-SO₂-R₁₁, -O-SO₂-R₁₅, -NR₁₁S(O)_c, -NR₁₅S(O)_c, -(CR₁₁R₁₂)_ecicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_f(C=O)(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₁₁R₁₂)_f(C=O)(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_eO(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀) y -(CR₁₁R₁₂)_eO(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros;

5 cualquier átomo de carbono de alquilo(C₁-C₆), el cicloalquilo de (3-10) miembros, el arilo(C₆-C₁₀) y el heterociclico de (4-10) miembros del anterior R₁₄ está opcionalmente sustituido independientemente con 1 a 3 sustituyentes R₁₆ cada uno seleccionado independientemente de halo, ciano, nitro, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, trifluorometoxi, azido, (CH₂)_eOH, alcoxi(C₁-C₆), alquilo(C₁-C₆), alquenilo(C₂-C₆), alquinilo(C₂-C₆), -(C=O)-R₁₁, -(C=O)-R₁₅, -(C=O)-O-R₁₁, -(C=O)-O-R₁₅, -O-(C=O)-R₁₁, -O-(C=O)-R₁₅, -NR₁₁(C=O)-R₁₃, -(C=O)-NR₁₁R₁₂, -NR₁₁R₁₂ y -NR₁₁R₁₅;

10 cualquier átomo de nitrógeno del heterociclico de (4-10) miembros de los anteriores R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₄ y R₁₅ está opcionalmente sustituido independientemente con alquilo(C₁-C₆), alquenilo(C₂-C₆), alquinilo(C₂-C₆), -(C=O)-R₁₁, -(C=O)-O-R₁₁, -(C=O)-NR₁₁R₁₂, -(CR₁₁R₁₂)_ecicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_f(C=O)(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀) o -(CR₁₁R₁₂)_f(C=O)(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros;

15 cada R₁₁, R₁₂ y R₁₃ es independientemente hidrógeno o alquilo(C₁-C₆); R₁₅ es -(CR₁₁R₁₂)_ecicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀) o -(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros;

20 25 a y b es cada uno independientemente 1, 2, 3 o 4; c es 1 o 2; d es 0, 1 o 2; y e, f y g es cada uno independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5.

30 En realizaciones exemplares de los compuestos de fórmula I, cada uno de A, D, E, G, J, L, M y Q es carbono; cada uno de R₁ y R₂ se selecciona independientemente de hidrógeno o halo; R₄ es hidrógeno o alquilo(C₁-C₆) y R₃ y R₅ son hidrógeno.

35 En algunas realizaciones de la materia en cuestión divulgada en este documento, el compuesto de fórmula I es el enantiómero individual que porta una configuración (R) en C-3, en la que cada uno de A, D, E, G, J, L, M y Q es carbono; cada uno de R₁ y R₂ se selecciona independientemente de hidrógeno o halo; R₄ es hidrógeno o alquilo(C₁-C₆) y R₃ y R₅ son hidrógeno.

40 En determinadas realizaciones, el compuesto puede seleccionarse del grupo que consiste en:

40 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 2-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;
 (1*R*,4*S*)-2-((*R*)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
 (*R*)-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;

45 (i) *R*-1-((*R*)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (S)-1-((S)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (R)-1-((*R*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona;

50 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)piperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)pirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)pirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;

55 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-difluoropiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-dimethylpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-dimethylpiperidin-2-ona;

60 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-ethylpirrolidin-2-ona;
 3-ciclopentil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fenilpiperidin-2-ona;
 3-ciclohexil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona;
 3-ciclohexil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)piperidin-2-ona;

65 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-isopropilpirrolidin-2-ona;
 3-ciclopentil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona;

1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-etilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-isopropilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-isopropilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpiperidin-2-ona;
 5 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4,4-dimetilpirrolidin-2-ona;
 10 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-etilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-5-etilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
 15 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-6-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-6-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-isopropilpirrolidin-2-ona;
 20 4-ciclopropil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-4-metilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-etilpirrolidin-2-ona;
 25 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4,5-dimetilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilpiperidin-2-ona;
 3-ciclobutil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona;
 3-ciclobutil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona;
 3-ciclobutil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)piperidin-2-ona;
 30 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fenilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fenilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-difluoropirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3,3-difluoropirrolidin-2-ona;
 35 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metoxipiperidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-6-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpiperidin-2-ona;
 40 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-ciclopropilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)piperidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)pirrolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-difluoropiperidin-2-ona;
 45 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-etilimidazolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona;
 1-ciclohexil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;
 50 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fenilimidazolidin-2-ona;
 1-ciclopentil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-isopropilimidazolidin-2-ona;
 1-ciclobutil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-ciclobutilimidazolidin-2-ona;
 55 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-ciclopropilimidazolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-isopropilimidazolidin-2-ona;
 3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3,4-dihidroquinazolin-2(1H)-ona;
 3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,4-dihidroquinazolin-2(1H)-ona;
 (1S,4R)-2-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
 60 (1S,4R)-2-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
 (1S,4R)-2-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
 (1S,4R)-2-((S)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
 (R)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
 (S)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
 65 (R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
 (S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;

(*R*)-1-((*S*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
 (*S*)-1-((*R*)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
 (*R*)-1-((*R*)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
 (*S*)-1-((*R*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
 5 (*R*)-1-((*R*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
 (*S*)-1-((*R*)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (*R*)-1-((*R*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (*S*)-1-((*R*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (*R*)-1-((*S*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 10 (*S*)-1-((*S*)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (*R*)-1-((*S*)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (*R*)-1-((*R*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (*S*)-1-((*R*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (*S*)-1-((*R*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 15 (*S*)-1-((*R*)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 (*R*)-1-((*R*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 (*S*)-1-((*S*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 (*R*)-1-((*S*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 (*R*)-1-((*R*)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 20 (*S*)-1-((*R*)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona;
 (*R*)-1-((*R*)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona;
 (*S*)-1-((*R*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona;
 y una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

25 La expresión "farmacéuticamente aceptable", como se usa en este documento, se refiere a un material, tal como un vehículo o diluyente, que no anula la actividad biológica o propiedades de los compuestos descritos en este documento, y es relativamente atóxico, es decir, el material puede administrarse a un individuo sin provocar efectos biológicos indeseables o interactuar de una manera perjudicial con ninguno de los componentes de la composición en que está contenido.

30 La expresión "sal farmacéuticamente aceptable", como se usa en este documento, se refiere a sales que retienen la eficacia biológica de los ácidos y bases libres del compuesto especificado y que no son indeseables biológicamente o de otro modo. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I incluyen las sales de adición de ácidos y bases de los mismos. Las sales de adición de ácidos adecuadas se forman a partir de ácidos que forman sales atóxicas. Ejemplos incluyen sales acetato, adipato, arabogalactanosulfonato, ascorbato, aspartato, benzoato, besilato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, borato, camsilato, colato, citrato, edisilato, estolato, esilato, formiato, fumarato, galacturonato, gluceptato, gluconato, glucuronato, glutamato, hexafluorofosfato, hibenzato, hipurato, clorhidrato/cloruro, bromhidrato/bromuro, yodhidrato/yoduro, 3-hidroxi-2-naftoato, 1-hidroxi-2-naftoato, isetonato, lactato, lactobionato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metilsulfato, mucato, napadisilato, naftalato, 2-napsilato, nicotinato, nitrato, oleato, orotato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/hidrogenofosfato/dihidrogenofosfato, sacarato, salicilato, estearato, succinato, sulfosalicilato, tartrato, tosilato, trifluoroacetato y triptofanato.

45 Las sales de bases adecuadas se forman a partir de bases que forman sales atóxicas. Ejemplos incluyen sales de adenina, aluminio, 2-amino-2-metilpropan-1-ol, arginina, betetamina, benzatina, calcio, colina, citosina, dietilamina, diolamina, epolamina, erbumina, etilendiamina, glucosamina, glicina, guanidina, guanina, hidrabamina, lisina, magnesio, meglumina, morfolina, nicotinamida, olamina, ornitina, piperazina, potasio, procaína, prolina, piridoxina, serina, plata, sodio, trolamina, trometamina, tirosina, valina y cinc. Para una revisión sobre sales adecuadas, véase "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" de Stahl y Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 2002).

50 Una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula I puede prepararse fácilmente mezclando juntas soluciones del compuesto de fórmula I y el ácido o base deseada, según lo apropiado. La sal puede precipitar en solución y recogerse por filtración o puede recuperarse por evaporación del disolvente. El grado de ionización en la sal puede variar de completamente ionizada a casi no ionizada.

55 Los compuestos de fórmula I también pueden existir en diversas formas cristalinas, conocidas como polimorfos. Los polimorfos incluyen las diferentes disposiciones de comparación cristalina de la misma composición elemental de un compuesto. Los polimorfos pueden tener diferentes patrones de difracción de rayos X, espectros de infrarrojos, puntos de fusión, densidad, dureza, forma cristalina, propiedades ópticas y eléctricas, estabilidad, solvatos y solubilidad.

60 Diversos factores tales como el disolvente de recristalización, la tasa de cristalización y la temperatura de almacenamiento pueden provocar que domine una sola forma cristalina.

65 Se pretende que "solvato" signifique una forma de solvato farmacéuticamente aceptable de un compuesto especificado que retiene la eficacia biológica de dicho compuesto. Ejemplos de solvatos incluyen compuestos de la invención en combinación con agua, isopropanol, etanol, metanol, dimetilsulfóxido, acetato de etilo, ácido acético o etanolamina. El término "hidrato" se refiere a un solvato donde el disolvente es agua. El término "alcoholato" se refiere a un solvato

donde el disolvente es un alcohol. Los hidratos se forman por la combinación de una o más moléculas de agua con una molécula de la sustancia en que el agua retiene su estado molecular como H₂O. Ejemplos no limitantes de hidratos incluyen monohidratos, dihidratos, etc.

5 Los compuestos de la invención incluyen compuestos de fórmula I como se define en este documento, polimorfos, profármacos e isómeros de los mismos (incluyendo isómeros ópticos, geométricos y tautoméricos), así como compuestos de fórmula I marcados isotópicamente.

10 Los compuestos de la presente invención pueden administrarse como profármacos. Por tanto, determinados derivados de compuestos de fórmula I que pueden tener poca o ninguna actividad farmacológica por sí mismos pueden convertirse, cuando se administran en o sobre el organismo, en compuestos de fórmula I que tienen la actividad deseada, por ejemplo, por escisión hidrolítica. Dichos derivados se denominan "profármacos". Puede encontrarse información adicional sobre el uso de profármacos en "Pro-drugs as Novel Delivery Systems, Vol. 14, ACS Symposium Series (T. Higuchi y W. Stella) y "Bioreversible Carriers in Drug Design", Pergamon Press, 1987 (Ed. E. B. Roche, American Pharmaceutical Association). Los profármacos pueden producirse, por ejemplo, remplazando funcionalidades apropiadas presentes en los compuestos de fórmula I con determinados restos conocidos por los expertos en la materia como "prorrestos" como se describe, por ejemplo, en "Design of Prodrugs" por H. Bundgaard (Elsevier, 1985).

15 20 Algunos ejemplos de dichos profármacos incluyen cuando el compuesto de fórmula I contiene una funcionalidad ácido carboxílico (-CO₂H), un éster del mismo, por ejemplo, remplazo del hidrógeno con alquilo(C₁-C₈); cuando el compuesto de fórmula I contiene una funcionalidad alcohol (-OH), un éter del mismo, por ejemplo, remplazo del hidrógeno con alcanoiloximetilo(C₁-C₈); y cuando el compuesto de fórmula I contiene una funcionalidad amino secundario (-NHR donde R no es H), una amida del mismo, por ejemplo, remplazo de un hidrógeno con alcanoílo(C₁-C₁₀). Ejemplos adicionales de grupos de remplazo de acuerdo con los ejemplos anteriores y ejemplos de otros tipos de profármaco son conocidos por los expertos en la materia.

25 30 Los compuestos de fórmula I contienen uno o más átomos de carbono asimétricos. Debe entenderse que todos los enantiómeros y/o diastereoisómeros correspondientes a los compuestos de fórmula I pueden prepararse por métodos análogos. Todos los isómeros ópticos y estereoisómeros de los compuestos de fórmula I, y mezclas de los mismos, se consideran dentro del alcance de la invención. Con respecto a los compuestos de fórmula I, la invención incluye el uso de un racemato, una o más formas enantioméricas, una o más formas diastereoisoméricas, o mezclas de los mismos. Los compuestos de fórmula I también pueden existir como tautómeros. Esta invención se refiere al uso de todos estos tautómeros y mezclas de los mismos.

35 40 45 Determinados grupos funcionales contenidos dentro de los compuestos de la presente invención pueden sustituirse por grupos bioisósteros, es decir, grupos que tienen requisitos espaciales o electrónicos similares al grupo precursor, pero muestran propiedades fisicoquímicas u otras diferentes o mejoradas. Los ejemplos adecuados son bien conocidos por los expertos en la materia e incluyen, aunque sin limitación, restos descritos en Patini, *et al.* Chem Rev. 1996, 96, 3147-3176 y referencias citadas en ese documento.

50 Se incluyen dentro del alcance de los compuestos de fórmula I reivindicados sales de adición de ácidos o bases farmacéuticamente aceptables en las que el contraión es ópticamente activo, por ejemplo, D-lactato o L-lisina, o racémico, por ejemplo, DL-tartrato o DL-arginina. Los isómeros *cis/trans* pueden separarse por técnicas convencionales bien conocidas por los expertos en la materia, por ejemplo, cromatografía y cristalización fraccionada. Las técnicas convencionales para la preparación/aislamiento de enantiómeros individuales incluyen síntesis quiral a partir de un precursor ópticamente puro adecuado o resolución del racemato (o el racemato de un sal o derivado) usando, por ejemplo, cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC) quiral.

55 60 Los compuestos quirales de la invención (y precursores quirales de los mismos) pueden obtenerse en forma enantiomérica y/o diastereoisomericamente enriquecida usando cromatografía, típicamente HPLC, en una resina asimétrica con una fase móvil que consiste en un hidrocarburo, típicamente heptano o hexano, que contiene de un 0 a 50 % de isopropanol, típicamente de un 2 a un 20 % y de un 0 a un 5 % de un alquilamina, típicamente un 0,1 % de dietilamina. La concentración del eluido produce la mezcla enriquecida. Mezclas de enantiómeros y/o diastereoisómeros pueden separarse por técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia. Véase, por ejemplo, "Stereochemistry of Organic Compounds" por E. L. Eliel (Wiley, Nueva York, 1994).

65 Los compuestos de fórmula I pueden marcarse isotópicamente, en los que uno o más átomos se remplazan por átomos que tienen el mismo número atómico, pero una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que se encuentra normalmente en la naturaleza. Ejemplos de isótopos adecuados para su inclusión en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, tales como ²H y ³H, carbono, tales como ¹¹C, ¹³C y ¹⁴C,

cloro, tales como ^{36}Cl , flúor, tales como ^{18}F , yodo, tales como ^{123}I y ^{125}I , nitrógeno, tales como ^{13}N y ^{15}N , oxígeno, tales como ^{15}O , ^{17}O y ^{18}O , fósforo, tales como ^{32}P , y azufre, tales como ^{35}S . Determinados compuestos de fórmula I marcados isotópicamente, por ejemplo, los que incorporan un isótopo radiactivo, son útiles en estudios de distribución en tejidos de fármacos y/o sustratos. Los isótopos radiactivos tritio, es decir, ^3H , y carbono-14, es decir, ^{14}C , son particularmente útiles para este propósito en vista de su facilidad de incorporación y fácil medio de detección. La sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio, es decir, ^2H , puede producir determinadas ventajas terapéuticas producidas por una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, semivida *in vivo* aumentada o necesidades de dosificación reducidas y, por tanto, pueden preferirse en algunas circunstancias. La sustitución con isótopos emisores de positrones, tales como ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O y ^{13}N , puede ser útil en estudios de tomografía por emisión de positrones (PET) para examinar la ocupación de receptores de sustrato. En general se pueden preparar compuestos de fórmula I marcados isotópicamente mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia o mediante procesos análogos a los descritos en los ejemplos y preparaciones adjuntas usando reactivos marcados isotópicamente apropiados en lugar del reactivo no marcado empleado previamente.

Los compuestos de la presente invención modulan Cry1 y/o Cry2. Como se usa en este documento, "modular" se refiere a aumentar, disminuir o alterar la función, actividad o características intrínsecas de Cry1 y Cry2. La modulación de Cry1 o Cry2 incluye uno cualquiera de los siguientes: unión a Cry1 o Cry2; inhibición de la modificación de Cry1 o Cry2; alteración de la localización de Cry1 o Cry2; aumento o disminución de la estabilización de Cry1 o Cry2; aumento o disminución de la unión entre Cry1 o Cry2 a una diana; aumento o disminución de la actividad de Cry1 o Cry2; y aumento o disminución de la actividad de una diana de Cry1 o Cry2.

La modulación de Cry1 y Cry2 incluye la unión de un compuesto de la presente invención a Cry1 y/o Cry2, a través de interacción directa o interacción indirecta. En algunos aspectos, un compuesto de la presente invención puede unirse a un complejo que contiene Cry1 y/o Cry2. Los métodos para detectar la interacción entre moléculas pequeñas y proteínas son conocidos en la técnica, por ejemplo, técnicas de inmunoprecipitación, cromatografía y diversos formatos de micromatriz.

Las características intrínsecas de Cry1 y Cry2, tales como modificación postraduccional, estabilidad o localización, pueden alterarse por los compuestos de la presente invención. La modificación postraduccional de Cry1 y Cry2 puede desempeñar una función crucial en la determinación de la actividad, estabilidad o localización celular de Cry1 y Cry2. Algunos estudios han demostrado que la fosforilación puede alterar la estabilidad de Cry1 y Cry2. Los compuestos de la presente invención pueden evitar o aumentar la modificación postraduccional de Cry1 y Cry2, por ejemplo, fosforilación, ubiquitinación, acetilación, glucosilación, ribosilación o sumoilación.

Los métodos para detectar modificaciones postraduccionales de Cry1 o Cry2 pueden realizarse fácilmente por los expertos en la materia. Dichos métodos de detección incluyen inmunoelectrotransferencia y radioinmunoensayos. Cry1 y Cry2 se localizan en el núcleo en condiciones particulares, por ejemplo, tras heterodimerización con Per1 y Per2. Una vez dentro del núcleo, Cry1 y Cry2 desempeñan una función en la alteración del complejo nuclear CLOCK-BMAL1 que inicia la transcripción, regulando por disminución de ese modo los genes del ritmo circadiano en un bucle de retroalimentación negativo que es crucial para mantener las oscilaciones circadianas. La localización de las proteínas puede determinarse fácilmente por los expertos en la materia, por ejemplo, por inmunofluorescencia, fraccionamiento subcelular y ensayos de inmunoelectrotransferencia. La regulación por disminución de Cry1 y Cry2 también es crucial para las oscilaciones circadianas, y está mediada a nivel transcripcional y proteínico. La estabilidad de Cry1 y Cry2 pueden medirse por métodos conocidos en la técnica, así como los presentados en los ejemplos 5-8.

La actividad de Cry1 y Cry2, como se usa en este documento, incluye la unión entre Cry1 o Cry2 y una diana y la actividad de una diana posterior de Cry1 o Cry2. Los compuestos de la presente invención pueden aumentar o disminuir la unión entre Cry1 o Cry2 y una diana. Las dianas que se unen a Cry1 y/o Cry2 son conocidas en la técnica, e incluyen Per1, Per2, receptor de glucocorticoesteroides, la secuencia promotora de CLOCK-BMAL1 y la secuencia promotora de VEGF. Otras dianas incluyen genes para los que la expresión está modulada por Cry1 o Cry2, incluyendo genes que contienen una secuencia E-box en su promotor. Dichos genes incluyen, sin limitación, Dbp, Rev-erb alfa, Rev-erb beta, Ror alfa, Ror beta, Ror gamma, Per1, Per2, Per3, Cry1, Cry2, Pck1, G6Pc, Avp, Vip, Cck, SP (sustancia P), AA-Nat, PK2 (procinectina 2), c-Myc, MyoD y Nampt. Las dianas de Cry1 y Cry2 mencionadas en este documento también incluyen esas dianas que aún tienen que identificarse.

La unión entre Cry1 o Cry2 y las dianas puede determinarse por, por ejemplo, inmunoprecipitación, doble híbrido de levaduras, cromatografía de afinidad. La actividad posterior de las dianas de Cry1 o Cry2 comprende la transcripción mediada por CLOCK-BMAL1, la unión de Cry1 o Cry2 al promotor de CLOCK-BMAL-1, la unión de Cry1 o Cry2 al promotor de VEGF, la localización o estabilidad de Per1 o Per2, la dimerización de CLOCK-BMAL1, la expresión de genes diana de CLOCK-BMAL1, tales como Cry1, Cry2, Per1, Per2, Rev-erb α y β , Rora, proteínas TIM y VEGF. Los métodos para detectar actividad promotora pueden determinarse por inmunoprecipitación de la cromatina, ensayo de desplazamiento de movilidad electroforética o ensayos de promotor-luciferasa como se describe en los ejemplos 3 y 4. Los métodos para determinar la expresión de genes diana incluyen análisis de expresión génica y micromatrizes, que pueden realizarse fácilmente por los expertos en la materia.

65

En algunas realizaciones, los métodos o ensayos para determinar la supuesta eficacia pueden ser útiles para identificar compuestos particulares de los descritos en este documento, que son adecuados para tratar o aliviar un síntoma de un enfermedad o trastorno mediado por Cry. En un aspecto, la concentración del compuesto para inducir una respuesta a la mitad entre la medida inicial y el máximo después de un tiempo especificado de exposición (denominada en este documento valor o concentración de CE₅₀) puede determinarse en un ensayo *in vitro* que mide el efecto del compuesto sobre la expresión génica central del reloj. Indicadores de luciferasa unidos de forma funcional a secuencias promotoras de genes centrales del reloj (es decir, Per1, Per2, Cry1, Cry2 o Bmal1) se introducen en células (es decir, transfección, transducción, infección) que se tratan con los compuestos de la presente invención, y se mide la luminiscencia (o expresión dirigida por el gen de reloj) a lo largo del tiempo. Específicamente, se determina el periodo, la amplitud y la fase de la luminiscencia en comparación con la expresión esperada que se correlaciona con el ritmo circadiano. El valor de CE₅₀ para un compuesto puede calcularse usando métodos fácilmente disponibles para los expertos en la materia. Un ejemplo de dicho ensayo se describe en este documento en el ejemplo 3. Los valores de CE₅₀ son útiles para evaluar la potencia de los compuestos de la presente invención.

En otro aspecto, los compuestos de la presente invención con eficacia aumentada pueden determinarse por ensayo *in vivo*. Los compuestos se administran a un sujeto (es decir, un modelo de ratón) durante un periodo de tiempo. Se aísla una muestra biológica del sujeto, y se miden los niveles de concentración del compuesto presente en la muestra biológica. La muestra biológica es, por ejemplo, sangre completa o cualquier fracción de la misma (es decir, suero o plasma), o un tejido, tal como un tejido que está afectado por una enfermedad o trastorno mediado por Cry. La concentración detectada en la muestra del sujeto tratado se compara con el valor de la concentración CE₅₀ para el mismo compuesto, ensayado en un ensayo *in vitro* pertinente (como se describe anteriormente y en el ejemplo 3). Los compuestos con una concentración de compuesto medida *in vivo* mayor que el valor de EC₅₀ determinado son compuestos preferidos de la presente invención. Estos compuestos preferidos pueden demostrar eficacia aumentada para tratar o aliviar un síntoma de una enfermedad o trastorno mediado por Cry.

En otros aspectos de la materia en cuestión divulgada en este documento, se proporciona una composición farmacéutica, que comprende el compuesto de acuerdo con formula I y un vehículo, adyuvante o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los métodos de preparación de diversas composiciones farmacéuticas con una cantidad específica de compuesto activo son conocidos, o serán evidentes para los expertos en la materia. Además, los expertos en la materia están familiarizados con las técnicas de formulación y administración. Dichos asuntos se analizarán, por ejemplo, en Goodman y Gilman, "The Pharmaceutical Basis of Therapeutics", adición actual, Pergamon Press; y "Remington's Pharmaceutical Sciences", edición actual, Mack Publishing, Co., Easton, PA. Estas técnicas pueden emplearse en aspectos apropiados y realizaciones de los métodos y composiciones descritos en este documento. Las composiciones farmacéuticas se fabrican preferiblemente en condiciones GMP. Los siguientes ejemplos se proporcionan con propósitos ilustrativos únicamente y no se entiende que sirvan como limitaciones de la presente invención.

Como los compuestos descritos en este documento están destinados para su uso en composiciones farmacéuticas, se entenderá fácilmente que cada uno se proporciona preferiblemente en forma sustancialmente pura, por ejemplo, al menos un 50 % pura, al menos un 55 % pura, al menos un 60 % pura, al menos un 65 % pura, al menos un 70 % pura, al menos un 75 % pura, al menos un 80 % pura, al menos un 85 %, al menos un 90% pura, al menos un 95 % pura, al menos un 96 % pura, al menos un 97 % pura, al menos un 98 % pura o al menos un 99 % pura. Los porcentajes proporcionados en este documento son en una base en peso. Pueden usarse preparaciones impuras de los compuestos para preparar las formas más puras usadas en las composiciones farmacéuticas; estas preparaciones menos puras de los compuestos deben contener al menos un 1 %, más adecuadamente al menos un 5 %, por ejemplo, de un 10 a un 49 % de un compuesto de fórmula I.

Los compuestos de fórmula I pueden proporcionarse en formulaciones farmacéuticas tópicas, orales, nasales, oculares, mucosas, rectales, vaginales y parenterales adecuadas para su uso en el tratamiento de enfermedades mediadas por Cry. Los compuestos de la presente invención pueden administrarse por vía oral como comprimidos o cápsulas, como suspensiones oleosas o acuosas, grageas, trociscos, polvos, gránulos, emulsiones, jarabes o elixires. Las composiciones para uso oral pueden incluir uno o más agentes para aromatizar, edulcorar, colorear y conservar, para producir preparaciones farmacéuticamente elegantes y sabrosas. Los comprimidos pueden contener excipientes, vehículos, diluyentes y adyuvantes farmacéuticamente aceptables como una ayuda en la fabricación de dichos comprimidos. Como es convencional en la técnica, estos comprimidos pueden recubrirse con un recubrimiento entérico farmacéuticamente aceptable, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, para retardar la disgregación y absorción en el tubo gastrointestinal para proporcionar una acción mantenida durante un periodo más largo. La tasa de disolución de compuestos poco solubles en agua puede potenciarse mediante el uso de dispersión secada por pulverización, tal como las descritas por Takeuchi, H. et al. J. Pharm. Pharmacol. 1987, 39, 769-773.

Las formulaciones para uso oral pueden estar en forma de cápsulas de gelatina duras en las que el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín. También pueden estar en forma de cápsulas de gelatina blandas en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, tal como aceite de cacahuate, parafina líquida o aceite de oliva.

- Las suspensiones acuosas normalmente contienen ingredientes activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de una suspensión acuosa. Dichos excipientes pueden ser un agente de suspensión, tal como Kolliphor, carboximetil celulosa de sodio, metil celulosa, hidroxipropilmelcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábiga; un agente de dispersión o humectante que puede ser un fosfátilo de origen natural tal como lecitina, un producto de condensación de óxido de etileno y un ácido graso de cadena larga, por ejemplo, esteearato de polioxietileno, un producto de condensación de óxido de etileno y un alcohol alifático de cadena larga tal como heptadecaetilenoxicetanol, un producto de condensación de óxido de etileno y un éster parcial derivado de un ácido graso y hexitol tal como monooleato de sorbitol polioxietileno o anhídridos de hexitol de ácido graso tales como monooleato de sorbitano polioxietileno.
- Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión puede formularse de acuerdo con métodos conocidos como soluciones o suspensiones isotónicas acuosas, y pueden prepararse supositorios a partir de emulsiones o suspensiones grasas. Las composiciones pueden esterilizarse y/o contener adyuvantes, tales como agente conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de solución, sales para regular la presión osmótica y/o tampones. Además, también pueden contener otras sustancias terapéuticamente valiosas. La preparación inyectable estéril también puede formularse como una suspensión en un diluyente o disolvente atóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículo y disolventes aceptables que pueden emplearse están agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro de sodio. Para este propósito puede emplearse cualquier aceite fijo blando incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, ácidos grasos tales como ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.
- Los compuestos de fórmula I también pueden administrarse en forma de supositorios para administración rectal del fármaco. Estas composiciones pueden prepararse mezclando el fármaco con un exciente no irritante adecuado que sea sólido a aproximadamente 25 °C, pero líquido a temperatura rectal y, por lo tanto, se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Dichos materiales incluyen manteca de cacao y otros glicéridos.
- Para preparaciones de uso tópico o transdérmico, por ejemplo, cremas, pomadas, geles se emplean soluciones o suspensiones que contienen los compuestos de la presente invención. Las formulaciones adecuadas para aplicaciones transdérmicas incluyen una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención con un vehículo. Un vehículo puede incluir disolventes farmacológicamente aceptables absorbibles para ayudar al paso a través de la piel del hospedador. Por ejemplo, los dispositivos transdérmicos están en forma de un apósito que comprende un elemento protector, un depósito que contiene el compuesto opcionalmente con vehículos, opcionalmente una barrera que controla la velocidad para suministrar el compuesto a la piel del hospedador a una tasa controlada y predeterminada durante un periodo de tiempo prolongado, y medios para sujetar el dispositivo sobre la piel. También pueden usarse formulaciones transdérmicas y dispositivos de iontoporesis. Las formulaciones adecuadas para aplicación tópica, por ejemplo, a la piel y los ojos, son preferiblemente soluciones acuosas, pomadas, cremas o geles bien conocidos en la técnica. Estas pueden contener solubilizantes, estabilizantes, agentes potenciadores de la tonicidad, tampones y conservantes.
- Los compuestos activos pueden prepararse con vehículos farmacéuticamente aceptables que protegen el compuesto contra la rápida eliminación del organismo, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de administración microencapsulados. Se pueden usar polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como acetato de etilenvinilo, polianhídridos, polí(ácido glicólico), colágeno, poliortoésteres y polí(ácido láctico). Los métodos para la preparación de dichas formulaciones serán evidentes para los expertos en la materia.
- Los compuestos de fórmula I también pueden prepararse en forma de sistemas de suministro liposómicos tales como vesículas unilaminares pequeñas, vesículas unilaminares grandes y vesículas multilaminares. Los liposomas pueden formarse a partir de una diversidad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearylamina o fosfatidilcolinas.
- La forma de liberación prolongada adecuada del ingrediente farmacéutico activo o ambos pueden ser un comprimido de matriz o composición de cápsula. Los materiales que forman matriz adecuados incluyen, por ejemplo, ceras (por ejemplo, carnauba, cera de abejas, cera de parafina, ceresina, cera de goma-laca, ácidos grasos y alcoholes grasos), aceites, aceites endurecidos o grasas (por ejemplo, aceite de colza endurecido, aceite de ricino, sebo de bovino, aceite de palma y aceite de soja), y polímeros (por ejemplo, hidroxipropilmelcelulosa, polivinilpirrolidona, hidroxipropilmelcelulosa y polietilenglicol). Otros materiales de formación de comprimidos de matriz adecuados son celulosa microcristalina, celulosa en polvo, hidroxipropilmelcelulosa, etil celulosa, con otros vehículos, y rellenos. Los comprimidos también pueden contener granulados, polvos recubiertos o gránulos. Los comprimidos también pueden ser multiestratificados. Los comprimidos multiestratificados son especialmente preferidos cuando los ingredientes activos tienen perfiles farmacocinéticos notablemente diferentes. Opcionalmente, el comprimido acabado puede estar recubierto o sin recubrir.
- La composición de recubrimiento típicamente contiene un polímero de matriz insoluble (aproximadamente un 15-85 % en peso de la composición de recubrimiento) y un material soluble en agua (por ejemplo, aproximadamente un 15-85 % en peso de la composición de recubrimiento). Opcionalmente puede usarse o incluirse un polímero entérico (aproximadamente de un 1 a un 99 % en peso de la composición de recubrimiento). Los materiales solubles en agua

adequados incluyen polímeros tales como polietilenglicol, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metil celulosa, polivinilpirrolidona, poli(alcohol vinílico) y materiales monoméricos tales como glúcidos (por ejemplo, lactosa, sacarosa, fructosa, manitol y similares), sales (por ejemplo, cloruro de sodio, cloruro de potasio y similares), ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido fumárico, ácido succínico, ácido láctico y ácido tartárico), y mezclas de los mismos. Los polímeros 5 entéricos adecuados incluyen hidroxipropil metil celulosa, acetato succinato, hidroxipropil metil celulosa, ftalato, acetato ftalato de polivinilo, acetato ftalato de celulosa, acetato trimelitato de celulosa, goma-laca, zeína y polimetacrilatos que contienen grupos carboxilo.

La composición de recubrimiento puede plastificarse de acuerdo con las propiedades de la mezcla de recubrimiento 10 tales como la temperatura de transición vítreo del componente principal o mezcla de componentes o el disolvente usado para aplicar las composiciones de recubrimiento. Los plastificantes adecuados pueden añadirse de un 0 a un 50 % en peso de la composición de recubrimiento e incluyen, por ejemplo, ftalato de dietilo, ésteres de citrato, polietilenglicol, glicerol, glicéridos acetilados, ésteres de citrato acetilados, sebacato de dibutilo y aceite de ricino. Si se desea, la composición de recubrimiento puede incluir un relleno. La cantidad del relleno puede ser de un 1 % a 15 aproximadamente un 99 % en peso basado en el peso total de la composición de recubrimiento y puede ser un material insoluble tal como dióxido de silicio, dióxido de titanio, talco, caolín, alúmina, almidón, celulosa en polvo, MCC o polacrilina de potasio. La composición de recubrimiento puede aplicarse como una solución o látex en disolventes orgánicos o disolventes acuosos o mezclas de los mismos. Si se aplican soluciones, el disolvente puede estar presente 20 en cantidades de aproximadamente un 25-99 % en peso basado en el peso total de sólidos disueltos. Los disolventes adecuados con agua, alcohol inferior, hidrocarburos clorados inferiores, cetonas o mezclas de los mismos. Si se aplican látex, el disolvente está presente en cantidades de aproximadamente un 25-97 % en peso basado en la cantidad de material polimérico en el látex. El disolvente puede ser predominantemente agua.

Los niveles de dosificación de los compuestos de la presente invención son del orden de aproximadamente 0,5 mg/kg 25 de peso corporal a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, o cualquier incremento intermedio. Una tasa de dosificación preferida es entre aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal. La dosis diaria total puede administrarse en dosis únicas o dosis divididas. Las dosis terapéuticas adecuadas 30 de los compuestos de fórmula I pueden estar en el intervalo de 1 microgramo (μ g) a 1000 miligramos (mg) por kilogramo de peso corporal del destinatario por día, y cualquier incremento intermedio, tal como, por ejemplo, 1, 2, 3, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 o 1000 μ g (1 mg); 2, 3, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 o 1000 mg. Se entenderá, sin embargo, que el nivel de dosis específico para cualquier paciente particular dependerá de varios factores, incluyendo la actividad del compuesto particular que se esté 35 administrando, la edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, vía de administración, tasa de excreción, combinación de fármacos y la gravedad de la enfermedad particular que se esté sometiendo a tratamiento.

Las pautas posológicas pueden ajustarse para proporcionar la respuesta deseada óptima. Por ejemplo, se puede administrar una única inyección intravenosa rápida, se pueden administrar varias dosis divididas a lo largo del tiempo o se puede reducir o incrementar de forma proporcional la dosis según indiquen las exigencias de la situación 40 terapéutica. Resulta especialmente favorable formular composiciones parenterales en una forma farmacéutica unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La forma farmacéutica unitaria, como se usa en este documento, se refiere a unidades físicamente diferenciadas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos mamíferos a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación para 45 las formas farmacéuticas unitarias de la invención está dictaminada por y depende directamente de (a) las características únicas del agente terapéutico y el efecto terapéutico o profiláctico particular a conseguir, y (b) las limitaciones inherentes en la técnica de formulación de dicho compuesto activo para el tratamiento de la sensibilidad en individuos. Por tanto, los expertos en la materia apreciarían, basándose en la divulgación proporcionada en este documento, que la dosis y pauta posológica se ajusta de acuerdo con métodos bien conocidos en las técnicas 50 terapéuticas. Es decir, la dosis tolerable máxima puede establecerse fácilmente, y también puede determinarse la cantidad eficaz que proporciona un beneficio terapéutico detectable a un paciente, así como los requisitos temporales para administrar cada agente para proporcionar un beneficio terapéutico detectable al paciente. Por consiguiente, aunque se ejemplifican determinadas pautas posológicas y de administración en este documento, estos ejemplos no limitan de ninguna manera la pauta posológica y de administración que puede proporcionarse a un paciente en la práctica de la presente invención.

En algunas realizaciones, los compuestos y composiciones descritas en este documento se administran a un sujeto 60 aproximadamente a la hora de acostarse o la hora de dormir por la noche. Preferiblemente, los compuestos y composiciones descritas en este documento se administran al sujeto en 6 horas, 5 horas, 4 horas, 3 horas, 120 minutos, 90 minutos, 60 minutos, 45 minutos, 30 minutos, 25 minutos, 20 minutos, 15 minutos, 10 minutos, 5 minutos o inmediatamente antes o después de la hora de acostarse. Preferiblemente, los compuestos y composiciones de la 65 presente invención se administran al sujeto en 2 horas a inmediatamente antes de la hora de acostarse. La "hora de acostarse", como se usa en este documento, se refiere al momento de la noche en que un sujeto se va a la cama con la intención de descansar o quedar dormido.

- En otras realizaciones, los compuestos y composiciones descritas en este documento pueden administrarse con o sin alimentos. Cuando los compuestos o composiciones se administran con alimentos, puede ser preferible administrar los compuestos o composiciones en 4 horas antes o después de una comida, tal como desayuno, comida, cena o un aperitivo. Por ejemplo, los compuestos o composiciones de la presente invención se administran en 6 horas, en 5 horas, en 4 horas, en 3 horas, en 120 minutos, en 90 minutos, en 60 minutos, en 45 minutos, en 30 minutos, en 25 minutos, en 20 minutos, en 15 minutos, en 10 minutos, en 5 minutos o inmediatamente antes o después de una comida. Preferiblemente, los compuestos y composiciones de la presente invención se administran al sujeto en 4 horas, en 3 horas, en 120 minutos, en 90 minutos o en 60 minutos después de cenar.
- 10 En otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de la presente invención para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por Cry, en el que la enfermedad o trastorno caracterizado por niveles anómalos de Cry se selecciona del grupo que consiste en diabetes, complicaciones asociadas con diabetes, síndrome metabólico, síndrome de resistencia a la insulina, obesidad, glaucoma, síndrome de Cushing, trastornos inflamatorios, trastornos mitocondriales, ataxia de Friedrich, depresión psicótica, enfermedad de Alzheimer, dolor neuropático, drogadicción, osteoporosis, cáncer, degeneración macular y miopatía. Las enfermedades o trastornos mediados por Cry particularmente preferidos tratados por los compuestos divulgados en este documento incluyen diabetes, complicaciones diabéticas tales como neuropatía diabética, retinopatía diabética, nefropatía diabética, formación de cataratas, glaucoma, angiopatía diabética, ateroesclerosis; esteatohepatitis no alcohólica (NASH); esteatosis no alcohólica (NAFLD); asma; y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD).
- 15 20 Los términos "administrar", "administrando", "administración" y similares, como se usan en este documento, se refieren a los métodos que pueden usarse para posibilitar el suministro de compuestos o composiciones al sitio deseado de acción biológica. Estos métodos incluyen, aunque sin limitación, administración oral, parenteral, tópica, mucosa, ocular, oftálmica, vaginal y rectal. Los expertos en la materia están familiarizados con las técnicas de administración que pueden emplearse con los compuestos y métodos descritos en este documento, por ejemplo, como se analiza en Goodman y Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics, ed. actual; Pergamon; y Remington's Pharmaceutical Sciences (edición actual), Mack Publishing Co., Easton, Pa. Como se usa en este documento, la "administración parenteral" de una composición farmacéutica incluye cualquier vía de administración caracterizada por rotura física de un tejido de un sujeto y administración de la composición farmacéutica a través de la rotura del tejido. La administración parenteral incluye, por tanto, aunque sin limitación, administración de una composición farmacéutica por inyección de la composición, por aplicación de la composición a través de una incisión quirúrgica, por aplicación de la composición a través de una herida no quirúrgica que penetra en el tejido, y similares. En particular, se contempla que la administración parenteral incluye, aunque sin limitación, inyección subcutánea, intraperitoneal, intramuscular e intraesternal, y técnicas de infusión dialítica renal.
- 25 30 35 Un "sujeto" en el contexto de la presente invención es preferiblemente un mamífero. El mamífero puede ser un ser humano, primate no humano, ratón, rata, perro, gato, caballo o vaca, aunque sin limitación a estos ejemplos. Pueden usarse ventajosamente mamíferos distintos de seres humanos como sujetos que representan modelos animales de una enfermedad o trastorno mediado por Cry, tales como ratones ob/ob. Un sujeto puede ser masculino o femenino.
- 40 45 Un sujeto puede ser uno que se haya diagnosticado o identificado previamente con una enfermedad o trastorno mediado por Cry, y opcionalmente se haya sometido ya, o se esté sometiendo, a intervención terapéutica o tratamiento para la enfermedad o trastorno. Como alternativa, un sujeto puede ser también uno que no se ha diagnosticado previamente con una enfermedad o trastorno mediado por Cry. Por ejemplo, un sujeto puede ser uno que muestre uno o más factores de riesgo para una enfermedad o trastorno mediado por Cry, o un sujeto que no muestre factores de riesgo para una enfermedad o trastorno mediado por Cry, o un sujeto que sea asintomático para una enfermedad o trastorno mediado por Cry. Un sujeto también puede ser uno que esté padeciendo o en riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno mediado por Cry, o que esté padeciendo o en riesgo de desarrollar una recidiva de una enfermedad o trastorno mediado por Cry. Un sujeto puede ser también uno que se haya tratado previamente para una enfermedad o trastorno mediado por Cry, sea por administración de los compuestos y composiciones divulgadas en este documento, en solitario o en combinación con otros agentes terapéuticos, por cirugía o cualquier combinación de los anteriores. El término "sujeto" y "paciente", como se usan en este documento, pueden usarse indistintamente.
- 50 Una "enfermedad o trastorno mediado por Cry" puede incluir, sin limitación, diabetes (incluyendo, sin limitación, diabetes de "tipo I" insulinodependiente, diabetes de "tipo II" no insulinodependiente, diabetes gestacional y complicaciones relacionadas con diabetes como neuropatía diabética, retinopatía diabética, cardiomiopatía diabética, nefropatía diabética, enfermedad periodontal y cetoacidosis diabética), síndrome metabólico, síndrome de resistencia a la insulina, obesidad, glaucoma, síndrome de Cushing, depresión psicótica, enfermedad de Alzheimer, dolor neuropático, drogadicción, osteoporosis, cáncer, degeneración macular y miopatía.
- 55 60 65 El término "tratando", "tratar", o "tratamiento", como se usa en este documento incluye tratamiento preventivo (por ejemplo, profiláctico), paliativo, adyuvante y curativo. Por ejemplo, el tratamiento de diabetes de tipo 2, como se usa en este documento significa que un paciente que tiene diabetes de tipo 2 o en riesgo de tener tipo 2 puede tratarse de acuerdo con los métodos descritos en este documento. Para pacientes que se someten a tratamiento preventivo, una reducción resultante en la incidencia de la patología que se esté tratando preventivamente es el resultado medible del tratamiento preventivo.

- El término "alivio" o "aliviar", como se usa en este documento, describe un proceso por el que se disminuye, reduce o inhibe la gravedad de un signo o síntoma de un trastorno. De forma importante, un síntoma puede aliviarse sin eliminarse. En una realización preferida, la administración de composiciones farmacéuticas de la invención da lugar a la eliminación de un síntoma, sin embargo, no se requiere la eliminación. Se espera que las cantidades terapéuticamente eficaces de los compuestos o composiciones farmacéuticas descritas en este documento disminuyan la gravedad de un síntoma.
- Como se usa en este documento el término "síntoma" se define como una indicación de enfermedad, dolencia, lesión o que algo no está bien en el organismo. Los síntomas se sienten o aprecian por el individuo que experimenta el síntoma, pero pueden apreciarse fácilmente por otros. Otros se definen por profesiones sanitarios o médicos.
- La expresión "síndrome metabólico", como se usa en este documento, salvo que se indique de otro modo significa psoriasis, diabetes *mellitus*, cicatrización de heridas, inflamación, enfermedades neurodegenerativas, galactosemia, enfermedad de orina con olor a jarabe de arce, fenilcetonuria, hipersarcosinemia, uraciluria de timina, sulfinuria, acidemia isovalérica, sacaropurinuria, aciduria 4-hidroxibutírica, deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y deficiencia de piruvato deshidrogenasa.
- El término "obesidad" u "obeso", como se usa en este documento, se refiere en general a individuos que están al menos aproximadamente un 20-30 % sobre el peso promedio para su edad, sexo y estatura. Técnicamente, "obeso" se define, para hombres, como individuos cuyo índice de masa corporal es mayor de 27,8 kg/m², y para mujeres, como individuos cuyo índice de masa corporal es mayor de 27,3 kg/m². Los expertos en la materia apreciarán fácilmente que el método de la invención no se limita a los que están dentro de los criterios anteriores. De hecho, el método de la invención también puede ponerse en práctica ventajosamente por individuos que están fuera de estos criterios tradicionales, por ejemplo, por los que pueden ser propensos a obesidad.
- La expresión "trastornos inflamatorios", como se usa en este documento, se refiere a trastornos tales como asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica, psoriasis, condrocalcinosis, gota, enfermedad inflamatoria del intestino, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, fibromialgia y caquexia.
- La expresión "síndrome de Cushing", como se usa en este documento, se refiere a una constelación de signos y síntomas resultantes de exposición prolongada a niveles elevados de cortisol. El síndrome de Cushing puede producirse por causa endógenas o exógenas. Las causas de síndrome de Cushing endógeno incluyen tumores de la pituitaria (también denominada enfermedad de Cushing), tumores suprarrenales y secreción ectópica de hormona adrenocorticotrófica (ACTH) y/u hormona liberadora de corticotropina (CRH) de otros tumores (incluyendo, aunque sin limitación, cáncer pulmonar microcítico). El síndrome de Cushing exógeno (o iatrogénico) se produce por el uso de corticoesteroides para el tratamiento de una diversidad de trastornos, incluyendo trastornos inflamatorios incluyendo, aunque sin limitación, asma, psoriasis y artritis reumatoide.
- La expresión "enfermedades mitocondriales", como se usa en este documento, se refiere a enfermedades tales como encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios similares a apoplejía (MELAS), epilepsia mioclónica con fibras rojas irregulares (MERRF), síndrome de Kearns-Sayre, oftalmoplegia externa progresiva crónica, neuropatía óptica hereditaria de Leber, síndrome de Leigh, diabetes, sordera, debilidad muscular neurogénica, ataxia y retinitis pigmentosa (NARP) y encefalopatía gastrointestinal mioneurogénica.
- El término "cáncer", como se usa en este documento, se refiere a trastornos y enfermedades caracterizadas por crecimiento y/o proliferación celulares incontrolados, e incluyen cánceres benignos y malignos, trastornos y enfermedades hiperproliferativas, y metástasis. Ejemplos de cánceres particularmente preferidos incluyen cánceres de tumores sólidos o cánceres epiteliales incluyendo, aunque sin limitación: cáncer pulmonar; cáncer cerebral; cáncer pancreático; cáncer de cabeza y cuello (por ejemplo, carcinoma escamocelular); cáncer de mama; cáncer colorrectal; cáncer de hígado; cáncer de estómago; cáncer renal; cáncer de ovario; cáncer de próstata; o un adenocarcinoma. Otros cánceres son aquellos con expresión aumentada de VEGF, angiogénesis aumentada o tumores hipóticos.
- La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en este documento, se refiere a la cantidad de fármaco o agente farmacéutico que provocará la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o ser humano que busca un investigador, veterinario, doctor en medicina u otro.
- La expresión "cantidad... eficaz para reducir los niveles de glucosa en sangre", como se usa en este documento, se refiere a niveles de compuesto suficientes para proporcionar concentraciones en circulación suficientemente altas para conseguir el efecto deseado. Dicha concentración típicamente está en el intervalo de aproximadamente 10 nM hasta 2 μM; siendo preferidas concentraciones en el intervalo de aproximadamente 100 nM hasta 500 nM. Como se indica anteriormente, como la actividad de diferentes compuestos que están dentro de la definición de fórmula I como se expone anteriormente puede variar considerablemente, y como los sujetos individuales pueden presentar una amplia variación en la gravedad de los síntomas, corresponde al facultativo determinar la respuesta del sujeto al tratamiento y variar las dosificaciones en consecuencia.

La expresión "resistencia a la insulina", como se usa en este documento, se refiere a la sensibilidad reducida de las acciones de la insulina en todo el organismo o tejidos individuales, tal como tejido de músculo esquelético, tejido miocárdico, tejido graso o tejido hepático. La resistencia a la insulina se produce en muchos individuos con o sin diabetes *mellitus*.

- 5 La expresión "síndrome de resistencia a la insulina", como se usa en este documento, se refiere al grupo de manifestaciones que incluyen resistencia a la insulina, hiperinsulinemia, diabetes *mellitus* no insulinodependiente (NIDDM), hipertensión arterial, obesidad central (visceral) y dislipidemia.
- 10 Los compuestos de la presente invención también pueden ser útiles en el tratamiento de otros trastornos metabólicos asociados con utilización alterada de la glucosa y resistencia a la insulina, incluyendo complicaciones principales en fase tardía de NIDDM, tal como angiopatía diabética, ateroesclerosis, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), esteatosis no alcohólica (NAFLD), nefropatía diabética, neuropatía diabética y complicaciones oculares diabéticas tales como retinopatía, formación de cataratas y glaucoma, y muchas otras complicaciones ligadas a NIDDM, incluyendo dislipidemia, resistencia a la insulina inducida por glucocorticoesteroides, síndrome de ovario poliquístico, obesidad, hiperglucemia, hiperlipidemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia e hipertensión. Hay descripciones breves de estas afecciones disponibles en cualquier diccionario médico, por ejemplo, "Stedman's Medical Dictionary" (X.^a Ed.).
- 15
- 20 Los compuestos y composiciones divulgadas en este documento pueden administrarse en cantidades terapéuticamente eficaces en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales como se definen en este documento. Por ejemplo, pueden producirse efectos sinérgicos con otras sustancias usadas en el tratamiento de enfermedades o trastornos mediados por Cry. Cuando los compuestos de la invención se administran conjuntamente con otros tratamientos, las dosificaciones de los compuestos coadministrados variarán, por supuesto, dependiendo del tipo de cofármaco empleado, del fármaco específico empleado, de la afección que se esté tratando y así sucesivamente.
- 25
- 30 Como se usa en este documento, las expresiones "tratamiento de combinación", "politerapia", "tratamiento combinado" o "tratamiento combinatorio", usadas indistintamente, se refieren a un tratamiento de un individuo con al menos dos agentes terapéuticos diferentes. Las expresiones "coadministración" o "administración combinada" o similares, como se utilizan en este documento, se pretende que abarquen la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un solo sujeto, y se pretende que incluyan pautas de tratamiento en las que los agentes no se administran necesariamente por la misma vía de administración o a la vez. Los tratamientos de combinación descritos en este documento están destinados a proporcionar el efecto beneficioso de la acción conjunta de los compuestos y composiciones divulgadas en este documento y uno o más agentes terapéuticos adicionales. El efecto beneficioso de la combinación incluye, aunque sin limitación, acción conjunta farmacocinética o farmacodinámica resultante de la combinación de los compuestos divulgados en este documento y los agentes terapéuticos. La administración de estos agentes terapéuticos en combinación típicamente se realiza durante un periodo de tiempo definido (habitualmente minutos, horas, días o semanas dependiendo de la combinación seleccionada). En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención se administran en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales de una manera simultánea o secuencial. Cuando se administran simultáneamente, el uno o más compuestos de la presente invención pueden administrarse en, por ejemplo, la misma cápsula que la de un agente terapéutico adicional. Como alternativa, el compuesto de la presente invención y el agente terapéutico adicional están incluidos en composiciones separadas (es decir, cápsulas) que tienen que administrarse al mismo tiempo. Cuando se administran secuencialmente, el uno o más compuestos de la presente invención pueden administrarse antes o después de la administración del agente terapéutico adicional. La expresión "combinación farmacéutica" significa un producto que es el resultado de la mezcla o combinación de más de un ingrediente activo e incluye combinaciones tanto fijas como no fijas de los ingredientes activos. Una "combinación fija" significa que los ingredientes activos, por ejemplo, un compuesto como se divulga en este documento y un agente terapéutico adicional, se administran ambos a un paciente simultáneamente en forma de una sola entidad o dosificación. Una "combinación no fija" significa que los ingredientes activos, por ejemplo, un compuesto como divulga en este documento y un agente terapéutico adicional, se administran ambos a un paciente como entidades separadas simultánea, concurrente o secuencialmente sin límites de tiempo específicos, en la que dicha administración proporciona niveles terapéuticamente efficaces de los 2 compuestos en el organismo del paciente. Esto último también se aplica a politerapia, por ejemplo, la administración de 3 o más ingredientes activos.
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65
- Los agentes terapéuticos para tratar diabetes, síndrome metabólico, obesidad, síndrome de resistencia a la insulina, complicaciones diabéticas o cáncer incluyen, sin limitación de los siguientes, insulina, agentes hipoglucémicos, agentes antidiabéticos, agentes antiinflamatorios, agentes reductores de lípidos, antihipertensivos tales como bloqueantes de los canales de calcio, bloqueantes de los receptores β-adrenérgicos, inhibidores de la ciclooxygenasa-2, inhibidores del sistema de angiotensina, inhibidores de ACE, inhibidores de renina, agentes quimioterápicos, radioterapia, agentes moduladores de hormonas, agentes inmunomoduladores, agentes antiangiogénicos, junto con otros agentes comunes modificadores de los factores de riesgo.
- La insulina incluye formas de acción rápida, tal como insulina lispro origen de ADNr: HUMALOG (1,5 ml, 10 ml, Eli Lilly and Company, Indianápolis, Ind.), inyección de insulina (insulina normal) de bovino y cerdo (ILETIN I normal, Eli Lilly],

humana: ADNr: HUMULIN R (Eli Lilly), NOVOLIN R (Novo Nordisk), semisintética: VELOSULIN humana (Novo Nordisk), ADNr humano, tamponada: VELOSULIN BR, cerdo: insulina normal (Novo Nordisk), de cerdo purificada: ILETIN II normal de cerdo (Eli Lilly), insulina de cerdo purificada normal (Novo Nordisk) y ILETIN II normal (concentrada) U-500 (500 unidades/ml, Eli Lilly); formas de acción intermedia tales como suspensión de insulina y cinc, de bovino y cerdo: LENTE ILETIN G I (Eli Lilly), humana, ADNr: HUMULIN L (Eli Lilly), NOVOLIN L (Novo Nordisk), purificada de cerdo: LENTE ILETIN II (Eli Lilly), suspensión de insulina isófana (NPH): bovino y cerdo: NPH ILETIN I (Eli Lilly), humana, ADNr: HUMULIN N (Eli Lilly), Novolin N (Novo Nordisk), purificada de cerdo: NPH Iletin II de cerdo (Eli Lilly), NPH-N (Novo Nordisk); y formas de acción larga tales como suspensión de insulina y cinc, prolongada (ULTRALENTE, Eli Lilly), humana, ADNr: HUMULIN U (Eli Lilly).

Los agentes hipoglucémicos incluyen, sin limitación, sulfonilureas: acetohexamida (Dymelor), clorpropamida (Diabinese), tolbutamida (Orinase); sulfonilureas de segunda generación: glipizida (Glucotrol, Glucotrol XL), gliburida (Diabeta; Micronase; Glynase), glimepirida (Amaryl); biguanidas: metformina (Glucophage); inhibidores de α-glucosidasa: acarbosa (Precose), miglitol (Glyset), tiazolidinadionas: rosiglitazona (Avandia), pioglitazona (Actos), troglitazona (Rezulin); meglitinidas: repaglinida (Prandin); y otros hipoglucémicos tales como acarbosa; buformina; clorhidrato de butoxamina; camiglibosa; ciglitazona; englitazona de sodio; darglitazona de sodio; clorhidrato de etofamina; gliamilida; glibomurida; glicetanil gliclazida de sodio; gliflumida; glucagón; glihexamida; glimidina de sodio; glicoctamida; gliparamida; linoglirida; fumarato de linoglirida; palmoxirato de metilo; palmoxirato de sodio; tartrato de piroglirida; proinsulina humana; acetato de seglitida; tolazamida; tolpirramida; zopolrestat.

Los agentes antidiabéticos incluyen, sin limitación, inhibidores de dipeptidil peptidasa IV tales como sitagliptina, alogliptina, vildagliptina, saxagliptina, linagliptina, anagliptina, teneligliptina, gemigliptina, dutogliptina o cualquier otra gliptina actualmente en desarrollo, berberina y lupeol; y agonistas de GLP-1 tales como exenatida, liraglutida, albiglutida, taspogenitda y AVE0010.

Los agentes antiinflamatorios incluyen alclofenaco; dipropionato de alclometasona; algestona acetonida; α-amilasa; amcinafal; amcinafida; amfenaco sodio; clorhidrato de amiprilosa; anakinra; anirulaco; anitrazafeno; apazona; balsalazida disodio; bendazaco; benoxaprofeno; clorhidrato de bencidamina; bromelaínas; broperamol; budesonida; carprofeno; cicloprofeno; cintazona; cliprofeno; propionato de clobetasol; butirato de clobetasona; clopiraco; propionato de cloticasona; acetato de cormetasona; cortodoxona; deflazacort; desonida; desoximetasona; dipropionato de dexametasona; diclofenaco potasio; diclofenaco sodio; diacetato de diflorasona; diflumidona sodio; diflunisal; difluprednato; diftalona; sulfóxido de dimetilo; drocinonida; endrisona; enlimomab; enolicam sodio; epirizol; etadolaco; etofenamato; felbinaco; fenamol; fenbufeno; fenclofenaco; fencloraco; fendosal; fenpipalona; fentiazaco; flazalona; fluazacort; ácido flufenámico; flumizol; acetato de flunisolida; flunixina; flunixina meglumina; fluocortina butilo; acetato de fluorometolona; flucuazona; flurbiprofeno; fluretofeno; propionato de fluticasona; furaprofeno; furobufeno; halcinonida; propionato de halobetasol; acetato de halopredona; ibufenaco; ibuprofeno; ibuprofeno aluminio; ibuprofeno piconol; ilonidap; indometacina; indometacina sodio; indoprofeno; indoxol; intrazol; acetato de isoflupredona; isoxepaco; isoxicam; ketoprofeno; clorhidrato de lofemizol; lornoxicam; etabonato de loteprednol; meclofenamato sodio; ácido meclofenámico; dibutirato de meclorisona; ácido mefenámico; mesalamina; meseclazona; suleptanato de metilprednisolona; morniflumato; nabumetona; naproxeno; naproxeno sodio; naproxol; nimazona; olsalazina sodio; orgoteína; orpanoxina; oxaprozina; oxifenbutazona; clorhidrato de paranilina; polisulfato de pentosano sodio; glicerato de fenbutazona sodio; pirfenidona; piroxicam; cinamato de piroxicam; piroxicam olamina; pirprofeno; prednazato; prifelona; ácido prodólico; procuaazona; proxazol; citrato de proxazol; rimexolona; romazarit; salcolex; salnacedina; salsalato; salicilatos; cloruro de sanguinarium; seclazona; sermetacina; sudoxicam; sulindaco; suprofeno; talmetacina; talniflumato; talosalato; tebufelona; tenidap; tenidap sodio; tenoxicam; tesicam; tesimida; tetridamina; tiopinaco; pivotalo de tixocortol; tolmetina; tolmetina sodio; triclonida; triflumidato; zidometacina; glucocorticoesteroides; zomepiraco sodio. Un agente antiinflamatorio importante e aspirina.

Otros agentes antiinflamatorios son inhibidores de citocinas incluyendo antagonistas de citocinas (por ejemplo, antagonistas del receptor de IL-6), aza-alquil lisofosfolípidos (AALP) e inhibidores del factor de necrosis tumoral-α (TNF-α), tales como anticuerpos -TNF-α, receptor de TNF soluble, TNF-α, moléculas de ácido nucleico de antisentido, guanilhidrazona multivalente (CNI-1493), N-acetilcisteína, pentoxyfilina, oxpentifilina, análogos nucleosídicos carbocíclicos, micromolécula S9a, RP 55778 (un inhibidor de la síntesis de TNF-α), dexamabinol (HU-211), MDL 201,449A (9-[(1R, 3R)-trans-ciclopantan-3-ol] adenina) y tricodimerol (BMS-182123). Otros inhibidores de TNF-α incluyen Etanercept (ENBREL, Immunex, Seattle) e Infliximab (REMICADE, Centocor, Malvern, Pa.).

Los agentes reductores de lípidos incluyen gemfibrozil, colestiramina, colestipol, ácido nicotínico e inhibidores de la HMG-CoA reductasa. Los inhibidores de la HMG-CoA reductasa útiles para administración, o coadministración con otros agentes de acuerdo con la invención incluyen, aunque sin limitación, simvastatina (patente de Estados Unidos n.º 4.444.784), lovastatina (patente de Estados Unidos n.º 4.231.938), pravastatina sodio (patente de Estados Unidos n.º 4.346.227), fluvastatina (patente de Estados Unidos n.º 4.739.073), atorvastatina (patente de Estados Unidos n.º 5.273.995), y cerivastatina.

Los bloqueantes de los canales de calcio incluyen dihidropiridinas, tales como nifedipina, fenil alquil aminas, tales como verapamil, y benzotiazepinas, tales como diltiazem. Otros bloqueantes de los canales de calcio incluyen, aunque sin limitación, amrinona, amlodipina, benciclano, felodipina, fendilina, flunarizina, isradipina, nicardipina, nimodipina,

perhexileno, gallopamil, tiapamil y análogos de tiapamil (tales como 1993RO-11 -2933), fenitoína, barbituratos y los péptidos dinorfina, omega-conotoxina y omega-agatoxina, y similares y/o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

5 Los agentes bloqueantes de los receptores β -adrenérgicos incluyen, aunque sin limitación, atenolol, acebutolol, alprenolol, befunolol, betaxolol, bunitrolol, carteolol, celiprolol, hydroxalol, indenolol, labetalol, levobunolol, mepindolol, metipranol, metindol, metoprolol, metrizanolol, oxprenolol, pindolol, propranolol, practolol, practolol, sotalolnadolol, tiprenolol, tomolol, timolol, bupranolol, penbutolol, trimepranol, 2-(3-(1,1-dimetiletil)-amino-2-hidroxipropoxi)-3-piridinenecarbonitrilHCl, 1-butilamino-3-(2,5-diclorofenoxy)-2-propanol, 1-isopropilamino-3-(4-(2-ciclopropilmethoxietil)fenoxi)-2-propanol, 3-isopropilamino-1-(7-metilindan-4-iloxi)-2-butanol, 2-(3-t-butilamino-2-hidroxi-propiltio)-4-(5-carbamoil-2-tienil)tiazol, 7-(2-hidroxi-3-t-butilaminopropoxi)ftalida. Los compuestos identificados anteriormente pueden usarse como mezclas isoméricas, o en su forma levogiratoria o dextrogiratoria respectiva.

15 Se conocen varios inhibidores de COX-2 selectivos en la técnica e incluyen, aunque sin limitación, inhibidores de COX-2 descritos en la patente de Estados Unidos n.º 5.474.995; patente de Estados Unidos n.º 5.521.213; patente de Estados Unidos n.º 5.536.752; patente de Estados Unidos n.º 5.550.142; patente de Estados Unidos n.º 5.552.422; patente de Estados Unidos n.º 5.604.253; patente de Estados Unidos n.º 5.604.260; patente de Estados Unidos n.º 5.639.780; patente de Estados Unidos n.º 5.677.318; patente de Estados Unidos n.º 5.691.374; patente de Estados Unidos n.º 5.698.584; patente de Estados Unidos n.º 5.710.140; patente de Estados Unidos n.º 5.733.909; patente de Estados Unidos n.º 5.789.413; patente de Estados Unidos n.º 5.817.700; patente de Estados Unidos n.º 5.849.943; patente de Estados Unidos n.º 5.861.419; patente de Estados Unidos n.º 5.922.742; patente de Estados Unidos n.º 5.925.631; y patente de Estados Unidos n.º 5.643.933. Varios de los inhibidores de COX-2 identificados anteriormente son profármacos de inhibidores de COX-2 selectivos, e incluyen los descritos en los documentos WO 95/00501, WO 95/18799 y la patente de Estados Unidos n.º 5.474.995, expedida el 12 de diciembre de 1995.

20 25 Ejemplos de antagonistas de angiotensina II incluyen: compuestos peptídicos (por ejemplo, saralasina, [(Sanl)(Val5)(Ala8)] octapéptido de angiotensina-(1-8) y análogos relacionados); imidazol-2-ona N-sustituida (patente de Estados Unidos n.º 5.087.634); derivados de acetato de imidazol incluyendo ácido 2-N-butil-4-cloro-1-(2-clorobencil)imidazol-5-acético (véase Long *et al.*, J. Pharmacol. Exp. Ther. 247(1), 1-7 (1988)); ácido 4,5,6,7-tetrahidro-30 1H-imidazo[4,5-c]piridin-6-carboxílico y derivados análogos (patente de Estados Unidos n.º 4.816.463); análogos de N2-tetrazol β -glucurónido (patente de Estados Unidos n.º 5.085.992); pirroles, pirazoles y triazoles sustituidos (patente de Estados Unidos n.º 5.081.127); derivados de fenol y heterocíclicos tales como 1,3-imidazoles (patente de Estados Unidos n.º 5.073.566); heterociclos de anillo de 7 miembros imidazocondensados (patente de Estados Unidos n.º 5.064.825); péptidos (por ejemplo, patente de Estados Unidos n.º 4.772.684); anticuerpos contra angiotensina II (por ejemplo, patente de Estados Unidos n.º 4.302.386); y compuestos de aralquil imidazol tales como imidazoles bifenil-metilsustituidos (por ejemplo, documento EP 253.310, 20 de enero de 1988); ES8891 (N-morfolinoacetil-(1-naftil)-L-alanil-1-(4-tiazolil)-L-alanil (35,45)-4-amino-3-hidroxi-5-ciclo-hexapentanoil-N-hexilamina, Sankyo Company, Ltd., Tokio, Japón); SKF108566 (ácido E- α -2-[2-butil-1-(carboxifenil)metil]1H-imidazol-5-il[metilan-e]-2-tiofenopropanoico, Smith Kline Beecham Pharmaceuticals, Pa.); Losartán (DUP753/MK954, DuPont Merck Pharmaceutical Company); 40 Remikirina (RO42-5892, F. Hoffman LaRoche AG); agonistas A₂ (Marion Merrill Dow) y determinados heterociclos no peptídicos (G. D. Searle and Company).

45 Los inhibidores de la enzima conversora de angiotensina (ACE) incluyen aminoácidos y derivados de los mismos, péptidos, incluyendo di- y tripéptidos y anticuerpos contra ACE que intervienen en el sistema de renina-angiotensina inhibiendo la actividad de ACE, reduciendo o eliminando de ese modo la formación de la sustancia vasopresora angiotensina II. Otros inhibidores de ACE incluyen acilmercapto y mercaptoalcanoil prolinas tales como captopril (patente de Estados Unidos n.º 4.105.776) y zofenopril (patente de Estados Unidos n.º 4.316.906), carboxialquil dipéptidos tales como enalapril (patente de Estados Unidos n.º 4.374.829), lisinopril (patente de Estados Unidos n.º 4.374.829), quinapril (patente de Estados Unidos número 4.344.949), ramipril (patente de Estados Unidos n.º 4.587.258) y perindopril (patente de Estados Unidos n.º 4.508.729), imitadores de carboxialquil dipéptidos tales como cilazapril (patente de Estados Unidos n.º 4.512.924) y benazapril (patente de Estados Unidos n.º 4.410.520), fosfinilalcanoil prolinas tales como fosinopril (patente de Estados Unidos n.º 4.337.201) ytrandolopril.

50 55 Los inhibidores de renina incluyen aminoácidos y derivados de los mismos, péptidos y derivados de los mismos, y anticuerpos contra renina. Otros inhibidores de renina incluyen derivados de urea de péptidos (patente de Estados Unidos n.º 5.116.835); aminoácidos conectados por enlaces no peptídicos (patente de Estados Unidos n.º 5.114.937); derivados di- y tripeptídicos (patente de Estados Unidos n.º 5.106.835); aminoácidos y derivados de los mismos (patentes de Estados Unidos n.º 5.104.869 y 5.095.119); diol sulfonamidas y sulfinilos (patente de Estados Unidos n.º 5.098.924); péptidos modificados (patente de Estados Unidos n.º 5.095.006); peptidil β -aminoacil aminodiol carbamatos (patente de Estados Unidos n.º 5.089.471); pirolimidazolonas (patente de Estados Unidos n.º 5.075.451); péptidos que contienen estatina o estatona de flúor y cloro (patente de Estados Unidos n.º 5.066.643); peptidil amino diolos (patentes de Estados Unidos n.º 5.063.208 y 4.845.079); derivados N-morfolino (patente de Estados Unidos n.º 5.055.466); derivados de pepstatina (patente de Estados Unidos n.º 4.980.283); alcoholes N-heterocíclicos (patente de Estados Unidos n.º 4.885.292); anticuerpos monoclonales contra renina (patente de Estados Unidos n.º 4.780.401); 60 65 y una diversidad de otros péptidos y análogos de los mismos (patentes de Estados Unidos n.º 5.071.837, 5.064.965, 5.063.207, 5.036.054, 5.036.053, 5.034.512 y 4.894.437).

Otros agentes terapéuticos útiles en el tratamiento de diabetes y trastornos relacionados incluyen, aunque sin limitación, inhibidores de lipasa tales como cetilistat (ATL-962); análogos sintéticos de amilina tales como pramlintida Symlin con o sin leptina recombinante; inhibidores del cotransportador 2 de sodio-glucosa (SGLT2) como sergliflozina (869682; KGT-1251), YM543, canagliflozina, ertugliflozina, dapagliflozina, molécula 189075 de GlaxoSmithKline y molécula AVE2268 de Sanofi-Aventis; adiposo triglicérido lipasa doble y activadores de PI3 cinasa como Adyvia (ID 1101); antagonistas de los receptores de neuropéptido Y2, Y4 e Y5 como molécula PYY3-36 de Nastech, análogo sintético de hormonas humanas PYY3-36 y polipéptido pancreático (molécula TM30338 de 7TM); molécula S-2367 de Shionogi; antagonistas del receptor de cannabinoides CB1 tales como rimonabant (Acomplia), taranabant, CP-945,598, molécula SLV319 de Solvay, molécula V24343 de Vernalis; hormonas como oleoil-estrone; inhibidores de serotonina, dopamina y norepinefrina (también conocidos en la técnica como inhibidores triples de la recaptación de monoamina) como tesofensina (molécula NS2330 de Neurosearch); inhibidores de la recaptación de norepinefrina y dopamina, como Contrave (bupropión más el antagonista opioide naltrexona) y Excialia (bupropión más anticonvulsivo zonisamida); inhibidores de 11 β -hidroxiesteroido deshidrogenasa de tipo 1 (11b-HSD1) como la molécula INCB13739 de Incyte; inhibidores de la síntesis de cortisol tales como ketoconazol (molécula DIO-902 de DiObex); inhibidores de la gluconeogénesis tales como la molécula CS-917 de Metabasis/Daiichi; activadores de la glucocinasa como la molécula R1440 de Roche; inhibidores de antisentido de la proteína tirosina fosfatasa-1B tales como ISIS 113715; así como otros agentes como la molécula NCX 4016 de NicOx; inyecciones de gastrina y análogos de factor de crecimiento epidérmico (EGF) tales como tratamiento de neogénesis de los islotes (E1-I.N.T.); betahistina (molécula OBE101 de Obecure); secuestrantes de los ácidos biliares (por ejemplo, colestiramina y colestipol), vitamina B₃ (también conocida como ácido nicotínico, o niacina), vitamina B₆ (piridoxina), vitamina B₁₂ (cianocobalamina), derivados de ácido fíbrico (por ejemplo, gemfibrozil, clofibrato, fenofibrato y benzafibrato), probucol, nitroglicerina e inhibidores de la absorción de colesterol (por ejemplo, β -sitosterol e inhibidores de acilCoA-colesterol aciltransferasa (ACAT) tales como melinamida), inhibidores de la HMG-CoA sintasa, inhibidores de la escualeno epoxidasa e inhibidores de la escualeno sintetasa.

Ejemplos de agentes usados para tratar el síndrome de Cushing incluyen, sin limitación, neuromoduladores (Signifor® (pasireotida), cabergolina); inhibidores de la esteroidogénesis suprarrenal (ketoconazol, metirapona, mitotano, etomidato); y moduladores de receptores nucleares (Korlym® (mifepristona), ácido retinoico). Otros agentes incluyen, sin limitación, inhibidores del receptor del factor de crecimiento epidérmico (por ejemplo, gefitinib), el inhibidor LCI699 de la aldosterona sintasa/11 β -hidroxilasa y levoketoconazol (COR-003).

Ejemplos de agentes analgésicos frecuentemente usados para tratar el dolor, incluyendo dolor neuropático, incluyen, sin limitación, agentes analgésicos opioides o no opioides. Los agentes analgésicos opioides adecuados incluyen, aunque sin limitación, morfina, heroína, hidromorfona, hidrocodona, oximorfona, oxicodona, metopón, apomorfina, normorfina, etorfina, buprenorfina, meperidina, lopermida, anileridina, etoheptazina, piminidina, betaprodina, difenoxilato, fentanil, sufentanil, alfentanil, remifentanil, levorfanol, dextrometorfano, fenazocina, pentazocina, ciclazocina, metadona, isometadona y propoxifeno. Los agentes analgésicos no opioides adecuados incluyen, aunque sin limitación, aspirina, celecoxib, rofecoxib, diclofinaco, diflusinal, etadolaco, fenoprofeno, flurbiprofeno, ibuprofeno, ketoprofeno, indometacina, ketorolaco, meclofenamato, ácido mefenámico, nabumetona, naproxeno, piroxicam y sulindaco.

Ejemplos de agentes terapéuticos frecuentemente usados para tratar el glaucoma incluyen agonistas colinérgicos (por ejemplo, pilocarpina y carbacol), inhibidores de colinesterasa (por ejemplo, fisostigmina, neostigmina, demecario, yoduro de ecotiofato e isofluorofato), inhibidores de la anhidrasa carbónica (por ejemplo, acetazolamida, diclorfenamida, metazolamida, etoxzolamida y dorzolamida), agonistas adrenérgicos no selectivos (por ejemplo, epinefrina y dipivefrina), agonistas adrenérgicos α_2 -selectivos (por ejemplo, apraclonidina y brimonidina), β -bloqueantes (por ejemplo, timolol, betazolol, levobunolol, carteolol y metipranolol), análogos de prostaglandina (por ejemplo, latanoprost) y diuréticos osmóticos (por ejemplo, glicerina, manitol e isosorbida); corticoesteroides, tales como beclometasona, metilprednisolona, betametasona, prednisona, prenisolona, dexametasona, fluticasona e hidrocortisona y análogos de corticoesteroides tales como budesonida.

Ejemplos de agentes terapéuticos frecuentemente usados para tratar la enfermedad de Alzheimer incluyen inhibidores de β -secretasa o inhibidores de γ -secretasa; inhibidores del transporte de glicina, inhibidores de la fosforilación de tau; bloqueantes de la formación de oligómero A β ; inhibidores de p25/CDK5; inhibidores de la HMG-CoA reductasa; agonistas de PPAR γ , tales como pioglitazona y rosiglitazona; antagonistas del receptor de NK1/NK3; AINE incluyendo ibuprofeno; vitamina E; anticuerpos antiamiloide, incluyendo anticuerpos monoclonales humanizados antiamiloide; inhibidores de COX-2; compuestos antiinflamatorios, tales como (R)-flurbiprofeno; antagonistas del receptor de CB-1 o agonistas inversos del receptor de CB-1; antibióticos tales como doxiciclina y rifampina; antagonistas del receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA), tales como memantina y neramexano; antagonistas de NR2B; moduladores del receptor de andrógenos; inhibidores de acetilcolinesterasa tales como galantamina, rivastigmina, donepezil y tacrina; moduladores de mGluR5; secretagogos de la hormona del crecimiento tales como ibutamorén, mesilato de ibutamorén, y capromoreolina; antagonistas de histamina H₃; agonistas de AMPA; inhibidores de PDE IV; agonistas inversos de GABA_A; ligandos del receptor GABA_A q5; ligandos del receptor GABA_B; bloqueantes de los canales de potasio; agonistas nicotínicos neuronales; inhibidores de P-450, tales como ritonavir.

- Ejemplos de agentes terapéuticos frecuentemente usados para tratar trastornos afectivos tales como depresión incluyen, sin limitación, amitriptilina, óxido de amitriptilina, desipramina, dibenzepina, dosulepina, doxepina, cloroimipramina, imipramina, nortriptilina, mianserina, maprotilina, trimipramina, CP-122721, elzasonán, PD-171729, MK-869, DOV-216303, DOV-21947, licarbazepina, amfetamona, radafaxina, vilazodona, GSK-679769, GW-597599, NS-2359, GSK-876008, pramipexol, duloxetina, atomoxetina, LY-628535, desvenlafaxina, escitalopram, LU-AA21004, saredutant, SR-58611, SSR-149415, SSR-146977, moclobemida, R-673, R-1204, BMS-469458, DPC-368, Org-34517, Org-34850, inhibidores de los receptores de CRH, ONO-2333Ms, NBI-876008, AAG-561, NBI-34041, DPC-368, PD-171729, SSR-125543, viloxazina, trazodona, nefazodona, mirtazapina, venlafaxina, reboxetina, trancipromina, brofaromina, moclobemida, citalopram, escitalopram, paroxetina, fluoxetina, fluvoxamina, sertralina, 10 *Hypericum* (hierba de San Juan), alprazolam, clonazepam, diazepam, lorazepam, halazepam, clordiazepóxido, y otros fármacos tales como buspirona, clonidina, pagoclona, risperidona, olanzapina, quetiapina, ziprasidona, celecoxib, piroxicam, parecoxib, valdecoxib, PMI-001, PH-686464, SC-58236, etoricoxib, rofecoxib, L-776967, lumiracoxib, GW-406381, GW-644784, meloxicam, SVT-2016, PAC-10649, CS-706, LAS-34475, cimicoxib, A-183827.0 o nimesulida.
- 15 Ejemplos de agentes terapéuticos frecuentemente usados para tratar las adicciones y la drogadicción incluyen, sin limitación, fenelzina, fenilalquilhidrazina (patente de Estados Unidos n.º 4.786.653), disulfiram ("Antabuse"), 2-imino-5-fenil-4-oxazolidinona, α-metil-para-tirosina o ácido fusárico, derivados de piperazina (patente de Estados Unidos n.º 4.325.952), clonidina junto con un fármaco antidepresivo tricíclico (patente de Estados Unidos n.º 4.788.189), γ-pironas tales como maltol o etil maltol (patente de Estados Unidos n.º 4.276.890), acamprosato, gabapentina, vigabatrina, baclofeno, N-acetilcisteína, nocaína, modanafil, paroxetina, bupropión, mirtazapina, topiramato, ondansetrón, vareniclina, antagonistas de receptores de opioides tales como naltrexona, naloxona, nalmefina, antaxona, L-α-acetyl metadol, pentazocina, butorfanol, nalbufina, buprenorfina y metadona.
- 25 Ejemplos de agentes terapéuticos frecuentemente usados en tratamientos de osteoporosis, y que pueden modular el contenido mineral ósea incluyen, aunque sin limitación, bisfosfonatos tales como alendronato (Fosamax®), risedronato (Actonel®), etidronato (Didronel®), pamidronato, tiludronato (Skelid®), clodronato (Bonefos®; Loron®), neridronato, olpadronato, zoledronato (Zometa®) e ibandronato (Boniva®), moduladores selectivos del receptor de estrógenos (SERM) tales como raloxifeno (Evista®), arzoxifeno, clomifeno, bazedoxifeno, lasofoxifeno, ormeloxifeno, tamoxifeno y toremifeno, tratamientos anabólicos tales como teriparatida (Forteo®; hormona paratiroidea recombinante) y ranelato de estroncio, y fragmentos peptídicos recombinantes de la hormona paratiroidea, tratamientos de reposición de estrógenos/progesterona, anticuerpos monoclonales, inhibidores del receptor activador de ligando de factor nuclear kB (RANKL) tales como denosumab, osteoprotegerina y pepstatina A, inhibidores de catepsina K tales como, aunque sin limitación OST-4077 (ácido furan-2-carboxílico-(1-{1-[4-fluoro-2-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-fenil]-3-oxo-piperidin-3-ilcarbamoyl}-ciclohexil)-amida), leupeptina, Cbz-Phe-Ala-CHN₂, Cbz-Leu-Leu-Leu-aldehído, cistatina, inhibidores irreversibles de la cisteína proteasa como halometilcetonas peptídicas, diazometilcetonas peptídicas y epóxidos, inhibidores quiescentes irreversibles de la cisteína proteasa tales como aciloximetilcetonas, azapéptidos, aceptadores de Michael como ésteres vinílicos peptídicos, sulfonas y sulfonatos, inhibidores reversible de la cisteína proteasa tales como aldehídos peptídicos, α-cetoésteres y α-cetoamidas, metilcetonas peptídicas y derivados hidroxilo, alquiloxy, ariloxi, alquiltio y arilito de las mismas, 1,3-bis-(acilamino)-2-propanonas, 1,3-bis-(acilhidrazino)-carbonilos, acilamino-40 pirazolonas, piperidinonas y tiazona-carbonil-hidrazidas, antagonistas de integrina Avb3 (también conocida en la técnica como vitronectina), compuestos calcilíticos (antagonistas del receptor de Ca²⁺ que aumentan la secreción de PTH), calcitonina (MiacalcinÒ), nitratos incluyendo, aunque sin limitación mononitrito de isosorbida (ISMO) o pomadas de nitroglicerina (NTG), y complementos dietéticos tales como calcio y vitamina D, y combinaciones de los mismos.
- 45 Otra realización de la presente invención es un método de identificación de pacientes que necesitan tratamiento, basándose en medir los niveles de expresión de genes de reloj (por ejemplo, Cry1 y Cry2) en muestras tomadas de un sujeto (Bjarnason, G. A. *et al.* Am. J. Pathol. 2001, 158, 1793; Akashi, M. *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2010, 107, 15643). Los perfiles de expresión de ARNm de los ritmos para genes del reloj humano, incluyendo Cry1 y Cry2, medidos en muestras de un sujeto indican que un reloj circadiano está presente en tejidos periféricos (Mohawk, J. A. *et al.* Ann. Rev. Neurosci. 2012, publicación electrónica antes de impresión). Se ha demostrado que la expresión de genes relacionados con el reloj circadiano en estas muestras varía durante el día. Además, los patrones de expresión génica del reloj (por ejemplo, Cry1 y Cry2) en leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica se alteran en seres humanos por enfermedades tales como obesidad (Tahira, K. *et al.* Arch. Med. Sci. 2011, 7, 933). Cambios en la expresión génica del reloj (por ejemplo, Cry1 y Cry2) en leucocitos monomorfonucleares en la sangre periférica pueden correlacionarse con niveles en suero de leptina, adiponectina, insulina y hsCRP, niveles en plasma de lípidos, glucosa, melatonina y cortisol y, en animales, la expresión de genes de reloj (por ejemplo, Cry1 y Cry2) en tejidos incluyendo el hígado, el tejido adiposo, el páncreas y músculo esquelético. Poniendo en contacto las muestras tomadas de un sujeto tratado con un compuesto de fórmula I y midiendo el ARNm de los ritmos o los perfiles de expresión proteínica, pueden identificarse a los pacientes que necesitan tratamiento y puede evaluarse la actividad farmacológica. En otras realizaciones, pueden evaluarse las actividades de uno o más criptocromos, por ejemplo, la capacidad de los criptocromos de unirse a una diana tal como Per1, Per2, receptor de glucocorticoesteroideos (GR) o una secuencia promotora que contenga sitios de reconocimiento de Cry, tales como, por ejemplo, el promotor de CLOCK-BMAL1.
- 55 Por consiguiente, un aspecto de la materia en cuestión divulgada en este documento se refiere a un método de supervisión de la progresión o pronóstico de una enfermedad o trastorno mediado por Cry en un sujeto que comprende medir una cantidad eficaz de uno o más criptocromos en una primera muestra del sujeto en un primer periodo de

tiempo; medir una cantidad eficaz de uno o más criptocromos en una segunda muestra del sujeto en un segundo periodo de tiempo; y comparar la cantidad del uno o más criptocromos detectados en la primera muestra con la cantidad del uno o más criptocromos detectados en la segunda muestra, o con un valor de referencia.

- 5 "Diagnóstico", "diagnosticar", "pronosticar" o "pronóstico" no se limita a una determinación definitiva o casi definitiva de que un individuo tenga una enfermedad, sino que también incluye determinar que un individuo tiene una probabilidad aumentada de tener o desarrollar la enfermedad, en comparación con individuos sanos o con la población general.
- 10 Como se usa en este documento, "expresión" y "niveles de expresión" incluyen, aunque sin limitación, uno o más de los siguientes: transcripción del gen en ARNm precursor; empalme y otro procesamiento del ARNm precursor para producir ARNm maduro; estabilidad del ARNm; traducción del ARNm maduro en proteína (incluyendo uso de codones y disponibilidad de ARNt); y glucosilación y/u otras modificaciones del producto de traducción, si se requiere para la expresión y función apropiadas.
- 15 Una "fórmula", "algoritmo" o "modelo" es cualquier ecuación matemática, proceso algorítmico, analítico o programado, o técnica estadística que tome una o más entradas continuas o categóricas (en este documento llamadas "parámetros") y calcule un valor de salida, a veces denominado "índice" o "valor de índice". Ejemplos no limitantes de "algoritmos" incluyen sumas, relaciones y operadores de regresión, tales como coeficientes o exponentes, transformaciones y normalizaciones de valores (incluyendo, sin limitación, los esquemas de normalización basados en parámetros clínicos, tales como género, edad, índice de masa corporal o etnia), normas y directrices, modelos de clasificación estadística y redes neural entrenadas sobre poblaciones históricas. Son de uso particular en la medición de Cry como se define en este documento, las ecuaciones lineales y no lineales y los análisis de clasificación estadística para "correlacionar" la relación entre los niveles de Cry detectados en una muestra del sujeto y el riesgo del sujeto de desarrollar una enfermedad o trastorno mediado por Cry.
- 20 "Medir" o "medición" significa evaluar la presencia, ausencia, magnitud o cantidad (que puede ser una cantidad eficaz) de una sustancia dada dentro de una muestra clínica o derivada del sujeto, incluyendo la derivación de niveles de concentración cualitativos o cuantitativos de dichas sustancias, o evaluar de otro modo los valores o clasificación de los parámetros clínicos de un sujeto. La medición o medida puede implicar también clasificar el tipo de o identificar la sustancia. La medición o medida también puede implicar la capacidad de uno o más Cry de unirse a una diana, en la que la diana puede ser genes o proteínas de periodo Per1 y Per2, receptor de glucocorticoesteroides (GR) o la región promotora del gen CLOCK-BMAL1. La medición de Cry puede usarse para diagnosticar, detectar o identificar una enfermedad o trastorno mediado por Cry en un sujeto, para supervisar la progresión o pronóstico de una enfermedad o trastorno mediado por Cry en un sujeto, para predecir la recidiva de una enfermedad o trastorno mediado por Cry en un sujeto, o para clasificar a un sujeto con bajo riesgo o alto riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno mediado por Cry o una recidiva de una enfermedad o trastorno mediado por Cry.
- 25 "Riesgo", en el contexto de la presente invención, se refiere a la probabilidad de que se produzca un acontecimiento durante un periodo de tiempo específico, como en el desarrollo de enfermedad o trastorno mediado por Cry, y puede significar un riesgo "absoluto" o riesgo "relativo" de un sujeto. El riesgo absoluto puede medirse con referencia a la observación real después de la medición de la cohorte de tiempo pertinente, o con referencia a valores de índice desarrollados a partir de cohortes históricas estadísticamente válidas de las que se haya hecho seguimiento durante el periodo de tiempo pertinente. El riesgo relativo se refiere a la relación de riesgos absolutos de un sujeto en comparación con los riesgos absolutos de cohortes de bajo riesgo o un promedio de riesgo de población, que puede variar mediante el modo en que se evalúan los factores de riesgo clínicos. Las razones de posibilidades, la proporción de acontecimientos positivos a acontecimientos negativos para un resultado de ensayo dado, también se usan normalmente (las posibilidades son de acuerdo con la fórmula $p/(1-p)$ donde p es la probabilidad del acontecimiento y $(1-p)$ es la probabilidad de ausencia de acontecimiento) para no conversión. Medidas continuas alternativas que pueden evaluarse en el contexto de la presente invención incluyen tiempo hasta el desarrollo de una enfermedad o trastorno mediado por Cry, o progresión hasta una fase diferente de una enfermedad o trastorno mediado por Cry, incluyendo la progresión o desarrollo de una enfermedad o trastorno mediado por Cry y relaciones de reducción de riesgo de conversión terapéutica.
- 30 "La evaluación de riesgos" o "evaluación del riesgo" en el contexto de la materia en cuestión divulgada en este documento abarca realizar una predicción de la probabilidad, posibilidades u oportunidad de que un acontecimiento o patología pueda producirse, la tasa de aparición del acontecimiento o conversión de una patología en otra, es decir, de un estado "normal" a un estado en riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno mediado por Cry, o de un estado en riesgo a una enfermedad o trastorno mediado por Cry, o desarrollo de enfermedad o trastorno recidivante.
- 35 "La evaluación de riesgos" también puede comprender la predicción de otros índices de enfermedad o trastorno mediado por Cry, en términos absolutos o relativos en referencia a una población medida previamente. Los métodos de la presente invención pueden usarse para realizar mediciones continuas o categóricas del riesgo de conversión en una enfermedad o trastorno mediado por Cry, diagnosticando o definiendo de este modo el espectro de riesgo de una categoría de sujetos definidos como en riesgo de desarrollar la enfermedad o trastorno. En el escenario categórico, la invención puede usarse para discriminar entre cohortes de sujetos normales y en riesgo. En otras realizaciones, la presente invención puede usarse para discriminar estados en riesgo de afecciones, o afecciones de la normalidad.

- Una "muestra", como se usa en este documento, es una muestra biológica aislada de un sujeto y puede incluir, a modo de ejemplo y no de limitación, sangre completa, suero, plasma, glóbulos, células endoteliales, biopsias de tejido, líquido linfático, líquido ascítico, líquido intersticial (también conocido como "líquido extracelular" y anarca el líquido encontrado en espacios entre células incluyendo, entre otras cosas, líquido crevicular gingival), médula ósea, líquido seminal, líquido cefalorraquídeo (CSF), saliva, moco, esputo, sudor, orina o cualquier otra secreción, excreción u otros líquidos corporales.
- Por "estadísticamente significativa", se entiende que la alteración es mayor de lo que podría esperarse que sucediera por casualidad solamente (lo que podría ser un "falso positivo"). La significación estadística puede determinarse por cualquier método conocido en la técnica. Las medidas normalmente usadas de significación incluyen el valor de p , que presenta la probabilidad de obtener un resultado al menos tan extremo como un dato puntual dado, suponiendo que el dato puntual era el resultado de la casualidad solamente. Un resultado a menudo se considera altamente significativo a un valor de p de 0,05 o menos.
- El riesgo de una enfermedad o trastorno mediado por Cry puede detectarse midiendo una "cantidad eficaz" de uno o más criptocromos en una muestra (por ejemplo, una muestra derivada del sujeto), y comparando las cantidades eficaces con valores de referencia, a menudo utilizando algoritmos matemáticos o fórmulas para combinar la información de los resultados de múltiples individuos en una sola medición. Los sujetos identificados con un riesgo aumentado de una enfermedad o trastorno mediado por Cry pueden seleccionarse opcionalmente para recibir pautas de tratamiento o intervenciones terapéuticas, tales como administración de los compuestos de fórmula I como se definen en este documento como monoterapia o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, o implementación de intervenciones quirúrgicas (que pueden seguir o preceder a la administración de los compuestos de fórmula I, en solitario o en combinación con agentes terapéuticos adicionales u otros tratamientos).
- Los métodos para detectar estos criptocromos en una muestra tienen muchas aplicaciones. Por ejemplo, uno o más criptocromos pueden medirse para ayudar al diagnóstico o pronóstico de una enfermedad o trastorno mediado por Cry. En otro ejemplo, los métodos para la detección de los criptocromos pueden usarse para supervisar las respuestas en un sujeto al tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por Cry. En otro ejemplo, los métodos pueden usarse para ensayar y para identificar los compuestos que modulan la expresión de criptocromos *in vivo* o *in vitro*.
- La presente invención puede usarse para realizar mediciones continuas o categóricas del riesgo de conversión en una enfermedad o trastorno mediado por Cry, diagnosticando o definiendo de este modo el espectro de riesgo de una categoría de sujetos definidos como en riesgo de desarrollar la enfermedad o trastorno. En el escenario categórico, los métodos de la presente invención pueden usarse para discriminar entre cohortes de sujetos normales y en riesgo. En otras realizaciones, la presente invención puede usarse para discriminar en riesgo de enfermedad, o enfermedad de la normalidad. Dicho uso diferenciado puede requerir diferentes combinaciones en un panel o perfil de individuos, algoritmo matemático y/o puntos de corte, pero puede estar sujeto a las mismas mediciones mencionadas anteriormente de precisión para el uso pretendido.
- La identificación del sujeto en riesgo posibilita la selección e inicio de diversas intervenciones terapéuticas o pautas de tratamiento para retardar, reducir o evitar la conversión del sujeto en una enfermedad o trastorno mediado por Cry. Los niveles de una cantidad eficaz de proteínas, ácidos nucleicos, polimorfismos, metabolitos u otros analitos de los criptocromos también permite supervisar el ciclo de tratamiento. En este método, puede proporcionarse una muestra biológica de un sujeto que se somete a pautas de tratamiento, por ejemplo, tratamientos terapéuticos, para una enfermedad o trastorno mediado por Cry. Dichas pautas de tratamiento pueden incluir, aunque sin limitación, intervención quirúrgica y tratamiento con agentes terapéuticos usados en sujetos diagnosticados o identificados con una enfermedad o trastorno mediado por Cry, por ejemplo, los compuestos de fórmula I descritos en este documento. Si se desea, se obtienen muestras biológicas del sujeto en diversos puntos temporales antes, durante o después del tratamiento. Por ejemplo, determinar el estado de la enfermedad por comparación del perfil de criptocromos de un sujeto con un perfil de criptocromos de referencia puede repetirse más de una vez, en el que el perfil del sujeto puede obtenerse de una muestra separada tomada cada vez que se repite el método. Pueden tomarse muestras del sujeto a intervalos de tiempo definidos, tales como, por ejemplo, 4 horas, 8 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas o cualquier intervalo de tiempo adecuado que realizarían los expertos en la materia.
- Diferencias en la composición genética de los sujetos puede provocar diferencias en sus capacidades relativas de metabolizar diversos fármacos, que pueden modular los síntomas o factores de riesgo de una enfermedad o trastorno mediado por Cry. Los sujetos que tienen una enfermedad o trastorno mediado por Cry, o están en riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno mediado por Cry pueden variar en edad, etnia y otros parámetros. Por consiguiente, medir cantidades eficaces de uno o más criptocromos como se define en este documento, en solitario y juntas en combinación con factores genéticos conocidos para el metabolismo del fármaco, permite un nivel predeterminado de predictibilidad de que un supuesto agente terapéutico o profiláctico a ensayar en un sujeto seleccionado sea adecuado para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno mediado por Cry en el sujeto.
- Para identificar agentes terapéuticos o fármacos que sean apropiados para un sujeto específico, también puede exponerse una muestra de ensayo del sujeto a un agente terapéutico o fármaco, y puede determinarse el nivel o

- actividad de una o más proteínas, ácidos nucleicos, polimorfismos, variantes de empalme, metabolitos u otros analitos de criptocromos. También pueden medirse otros genes o proteínas que se ven afectadas o que se unen directa o indirectamente a uno o más criptocromos (por ejemplo, Per1, Per2, GR, promotor de CLOCK-BMAL1, etc.). El nivel de uno o más criptocromos puede compararse con la muestra derivada del sujeto antes y después de tratar al sujeto por una enfermedad o trastorno mediado por Cry, por ejemplo, tratamiento o exposición a un agente terapéutico o un fármaco, o puede compararse con muestras derivadas de uno o más sujetos que han mostrado mejoras en los factores de riesgo como resultado de dicho tratamiento o exposición.
- Pueden obtenerse los ácidos nucleicos de las muestras de muchas maneras conocidas por los expertos en la materia, por ejemplo, métodos de extracción, incluyendo, por ejemplo, extracción de disolvente, purificación por afinidad y centrifugación. La precipitación selectiva también puede purificar los ácidos nucleicos. También pueden utilizarse métodos de cromatografía incluyendo filtración en gel, intercambio iónico, adsorción selectiva o unión de afinidad. Los ácidos nucleicos pueden ser, por ejemplo, ARN, ADN o pueden sintetizarse en ADNc. Los ácidos nucleicos pueden detectarse usando técnicas de micromatríz que son bien conocidas en la técnica, por ejemplo, micromatríces Affymetrix seguido de técnicas de cambio de escala multidimensional. Véase R. Ekins, R. y Chu, F.W. (1999) Trends Biotechnol. 17: 217-218; D. D. Shoemaker, et al., (2001) Nature 409(6822): 922-927 y patente de Estados Unidos n.º 5.750.015.
- Si se desea, la muestra puede prepararse para potenciar la detectabilidad de uno o más criptocromos por, por ejemplo, prefraccionamiento. Los métodos de prefraccionamiento incluyen, por ejemplo, cromatografía en agarosa con azul Cibacron, cromatografía de exclusión por tamaño, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía con heparina, cromatografía con lectina, cromatografía de afinidad, cromatografía de afinidad de ADN monocatenario, extracción secuencial, electroforesis en gel y cromatografía de líquidos. Los analitos también pueden modificarse antes de la detección. Una muestra puede prefraccionarse retirando las proteínas que están presentes en una alta cantidad o que impiden la detección de moléculas de interés en una muestra. Por ejemplo, en una muestra de suero sanguíneo, la seroalbúmina está presente en una alta cantidad y puede dificultar el análisis de uno o más criptocromos. Por tanto, puede prefraccionarse una muestra de suero sanguíneo retirando la seroalbúmina usando, por ejemplo, un sustrato que comprenda adsorbentes que se unan específicamente a seroalbúmina, una columna de afinidad o pueden usarse anticuerpos antiseroalbúmina.
- En otras realizaciones, las moléculas de interés en una muestra pueden separarse por electroforesis de alta resolución, por ejemplo, electroforesis en gel uni- o bidimensional. Puede aislarse una fracción y analizarse adicionalmente por espectrometría de iones en fase gaseosa. Preferiblemente, se usa electroforesis en gel bidimensional para generar micromatríces bidimensionales de manchas, que incluyen uno o más criptocromos. Véase, por ejemplo, Jungblut y Thiede, (1997) Mass Spectr. Rev. 16: 145-162. La electroforesis en gel bidimensional puede realizarse usando métodos conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Deutscher ed., Methods in Enzymology vol. 182. Típicamente, una muestra puede separarse por, por ejemplo, enfoque isoeléctrico, durante el que se separa uno o más criptocromos en una muestra en un gradiente de pH hasta que alcanzan una mancha donde su carga neta es cero (es decir, punto isoeléctrico). Esta primera etapa de separación produce una micromatríz unidimensional. Las moléculas en una micromatríz unidimensional se separan adicionalmente usando una técnica en general distinta de la usada en la primera etapa de separación. Por ejemplo, en la segunda dimensión, se separan adicionalmente moléculas de interés separadas por enfoque isoeléctrico usando un gel de poliacrilamida, tal como electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE). El gel de SDS-PAGE permite separación adicional basada en la masa molecular. Típicamente, la electroforesis en gel bidimensional puede separar moléculas químicamente diferentes de interés en el intervalo de masa molecular de 1000-200.000 Da dentro de mezclas completas.
- Las moléculas de interés en la micromatríz bidimensional pueden detectarse usando cualquier método adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, las moléculas de interés en un gel pueden marcarse o teñirse (por ejemplo, tinción con azul de Coomassie o plata). Si la electroforesis en gel genera manchas que corresponden al peso molecular de uno o más criptocromos de la invención, la mancha puede escindirse y analizarse adicionalmente por, por ejemplo, espectrometría de iones en fase gaseosa, espectrometría de masas o cromatografía de líquidos de alto rendimiento. Como alternativa, el gel que contiene moléculas de interés puede transferirse a una membrana inerte aplicando un campo eléctrico. Después, una mancha en la membrana que corresponda aproximadamente al peso molecular de una molécula de interés puede analizarse por, por ejemplo, espectrometría de iones en fase gaseosa, espectrometría de masas o HPLC.
- Opcionalmente, una molécula de interés puede modificarse antes del análisis para mejorar su resolución o para determinar su identidad. Por ejemplo, la muestra puede someterse a digestión proteolítica antes del análisis. Puede usarse cualquier proteasa. Son particularmente útiles proteasas, tales como tripsina, que tienen probabilidad de escindir proteínas en un número diferenciado de fragmentos. Los fragmentos que se producen por la digestión pueden funcionar como una huella para las moléculas de interés, posibilitando de ese modo su detección indirecta. Esto es particularmente útil cuando hay moléculas de interés con masas moleculares similares que podrían confundirse con la molécula preferida, es decir, criptocromos, en cuestión. Además, la fragmentación proteolítica es útil para moléculas de alto peso molecular porque las moléculas más pequeñas se resuelven más fácilmente por espectrometría de masas. En otro ejemplo, las moléculas pueden modificarse para mejorar la resolución de la detección. Por ejemplo, puede usarse neuraminidasa para retirar los residuos terminales de ácido siálico de las glucoproteínas para mejorar la unión a un adsorbente aniónico (por ejemplo, micromatríces de intercambio catiónico) y para mejorar la resolución

de la detección. En otro ejemplo, las moléculas pueden modificarse por la fijación de una marca de peso molecular particular que se une específicamente a otra entidad molecular, distinguiéndolas adicionalmente. Opcionalmente, después de detectar dichas moléculas modificadas de interés, la identidad de las moléculas puede determinarse adicionalmente haciendo coincidir las características físicas y químicas de las versiones modificadas en una base de datos de proteínas (por ejemplo, SwissProt).

Una vez capturadas en un sustrato, por ejemplo, biochip o anticuerpo, puede usarse cualquier método adecuado, tal como los descritos en este documento, así como otros métodos conocidos en la técnica, para medir uno o más criptocromos en una muestra. La medición real de los niveles o cantidades de dichas moléculas puede determinarse usando cualquier método conocido en la técnica. Estos métodos incluyen, sin limitación, espectrometría de masas (por ejemplo, espectrometría de masas por desorción láser/ionización), fluorescencia (por ejemplo, inmunoensayo no competitivo), resonancia de plasmones superficiales, elipsometría y microscopía de fuerza atómica. Los métodos pueden incluir además, mediante una o más micromatrizes, métodos de PCR, espectrometría de masas (incluyendo, por ejemplo, y sin limitación, IEN-EM, IEN-EM/EM, IEN-EM/(EM)n, espectrometría de masas por ionización con desorción láser asistida por matriz con tiempo de vuelo (MALDI-TOF-EM), espectrometría de masas por desorción láser/ionización potenciada en superficie con tiempo de vuelo (SELDI-TOF-EM), desorción/ionización en silicio (DIOS), espectrometría de masas de iones secundarios (EMIS), tiempo de vuelo de cuadrupolo (Q-TOF), espectrometría de masas por ionización química a presión atmosférica (IQPA-EM), IQPA-EM/EM, IQPA-(EM)n, espectrometría de masas por fotoionización a presión atmosférica (FIPA-EM), FIPA-EM/EM y FIPA-(EM)n, espectrometría de masas de cuadrupolo, espectrometría de masas con transformada de Fourier (EMTF) y espectrometría de masas con trampa de iones), chips de ácido nucleico, hibridación por transferencia de Northern, TMA, SDA, NASBA, PCR, PCR instantánea, PCR con retrotranscriptasa, PCR con retrotranscriptasa instantánea, PCR *in situ*, separación cromatográfica acoplada con espectrometría de masas, captura de proteínas usando anticuerpos inmovilizados o mediante inmunoensayos tradicionales. Véanse, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos n.º 5.723.591; 5.801.155 y 6.084.102 y Higuchi, 1992 y 1993. Los ensayos de PCR pueden hacerse, por ejemplo, en formatos de placa multipocillo o en chips, tales como los chips BioTrove OPEN ARRAY (BioTrove, Woburn, MA).

Por ejemplo, pueden usarse secuencias dentro de las entradas de la base de datos de secuencias correspondientes a criptocromos para construir sondas para detectar secuencias de ARN en, por ejemplo, análisis de hibridación por transferencia de Northern o métodos que amplifican específicamente y, preferiblemente, cuantitativamente las secuencias de ácido nucleico específicas. Como otro ejemplo, las secuencias pueden usarse para construir cebadores que hibriden específica o selectivamente con secuencias de criptocromos y que se usan para amplificar dichas secuencias en, por ejemplos, métodos de detección basados en amplificación tales como reacción en cadena de la polimerasa basada en retrotranscripción (RT-PCR), por ejemplo, RT-PCR cuantitativa instantánea. Cuando alteraciones en la expresión génica están asociadas con amplificación, eliminación génica, polimorfismos y mutaciones, pueden hacerse comparaciones de secuencia en poblaciones de ensayo y de referencia comparando las cantidades relativas de las secuencias de ADN examinadas en poblaciones celulares en cuestión y de referencia. Como se usa en este documento, la expresión "hibrida específicamente (o selectivamente)", cuando hacer referencia a un ácido nucleico, se refiere a una reacción de unión que es determinante de la presencia del ácido nucleico en una población heterogénea de ácidos nucleicos. Por tanto, en condiciones de ensayo indicadas, la sonda de ácido nucleico especificada (incluyendo ácidos nucleicos inhibidores) puede unirse o hibridar con un ácido nucleico particular de interés al menos dos veces el fondo y no unirse o hibridar sustancialmente en una cantidad significativa a otros ácidos nucleicos presentes en la muestra.

Los niveles de criptocromos también pueden determinarse por inmunoensayo. El anticuerpo puede ser monoclonal, policlonal, químérico o un fragmento de los anteriores, como se analiza en detalle en este documento, y la etapa de detectar el producto de reacción puede realizarse con cualquier inmunoensayo adecuado. La expresión "se une específicamente (o selectivamente)" a un anticuerpo o "inmunorreacciona específicamente (o selectivamente) con", cuando hace referencia a una proteína o péptido, se refiere a una reacción de unión que es determinante de la presencia de la proteína en una población heterogénea de proteínas y otros productos biológicos. Por tanto, en condiciones indicadas de inmunoensayo, los anticuerpos especificados se unen a una proteína particular al menos dos veces el fondo y no se unen sustancialmente en una cantidad significativa a otras proteínas presentes en la muestra. La unión específica a un anticuerpo en dichas condiciones puede requerir un anticuerpo que se selecciona por su especificidad por una proteína particular. Por ejemplo, pueden seleccionarse anticuerpos policlónicos generados contra un criptocromo de especie específica tal como rata, ratón o ser humano para obtener solamente aquellos anticuerpos policlónicos que sean específicamente inmunoreactivos con es criptocromo y no con otras proteínas, excepto por variantes polimórficos y alelos del criptocromo. Esta selección puede conseguirse sustrayendo los anticuerpos que reaccionan de forma cruzada con criptocromos de otras especies.

Los inmunoensayos realizados de acuerdo con la presente invención pueden ser ensayos homogéneos o ensayos heterogéneos. En un ensayo homogéneo, la reacción inmunológica habitualmente implica el anticuerpo específico (por ejemplo, anticuerpo antiproteína de criptocromo), un analito marcado y la muestra de interés. La señal que surge del marcador se modifica, directa o indirectamente, tras la unión del anticuerpo al analito marcado. Tanto la reacción inmunológica como la detección del grado de la misma pueden realizarse en una solución homogénea. Los marcadores inmunoquímicos que pueden emplearse incluyen radicales libres, radioisótopos, tintes fluorescentes, enzimas, bacteriófagos o coenzimas.

- En una estrategia de ensayo heterogéneo, los reactivos son habitualmente la muestra, el anticuerpo y el medio para producir una señal detectable. Pueden usarse muestras como describe anteriormente. El anticuerpo puede inmovilizarse en un soporte, tal como una microesfera (tal como microesferas de agarosa de proteína A y proteína G), placa o portaobjetos, y ponerse en contacto con la muestra sospechosa de contener el antígeno en una fase líquida. El soporte entonces se separa de la fase líquida y la fase del soporte o la fase líquida se examina para una señal detectable empleando un medio para producir dicha señal. La señal está relacionada con la presencia del analito en la muestra. Un medio para producir una señal detectable incluye el uso de marcadores detectables. Marcadores detectables ejemplares incluyen microesferas magnéticas (por ejemplo, DYNABEADS™), tintes fluorescentes, enzimas (por ejemplo, peroxidasa de rábano rusticano, fosfatasa alcalina y otras normalmente usadas en un ELISA), radiomarcadores (por ejemplo, ³⁵S, ¹²⁵I, ¹³¹I), y marcadores fluorescentes (por ejemplo, fluoresceína, Alexa, proteína fluorescente verde, rodamina) y marcadores colorimétricos tales como oro coloidal o microesferas de vidrio o plástico coloreadas de acuerdo con técnicas conocidas.
- Como alternativa, la molécula de interés en la muestra puede detectarse usando un ensayo indirecto, en el que, por ejemplo, se usa un segundo anticuerpo marcado para detectar el anticuerpo específico de criptocromo unido, y/o en un ensayo de competición o inhibición en el que, por ejemplo, se incuba un anticuerpo monoclonal que se une a un epítopo distinto del criptocromo simultáneamente con la mezcla. Por ejemplo, si el antígeno a detectar contiene un segundo sitio de unión, puede conjugarse un anticuerpo que se une a ese sitio con un grupo detectable y añadirse a la solución de reacción en fase líquida antes de la etapa de separación. La presencia del marcador detectable en el soporte sólido indica la presencia del antígeno en la muestra de ensayo. Los métodos para medir la cantidad o la presencia de complejos de anticuerpo-antígeno incluyen, por ejemplo, detección de fluorescencia, luminiscencia, quimioluminiscencia, absorbancia, reflectancia, transmitancia, birrefringencia o índice de refracción (por ejemplo, resonancia de plasmones superficiales, elipsometría, un método de espejo resonante, un método de guía de onda de acoplador en rejilla o interferometría). Los métodos ópticos incluyen microscopía (tanto confocal como no confocal), métodos de imágenes y métodos que no son de imágenes. Los métodos electroquímicos incluyen métodos de voltímetría y amperometría. Los métodos de radiofrecuencia incluyen espectroscopia de resonancia multipolar. Los ejemplos de inmunoensayos adecuados incluyen, aunque sin limitación, inmunotransferencia (por ejemplo, inmunoelectrotransferencia, ensayo de transferencia por ranura), inmunoprecipitación, métodos de inmunofluorescencia, métodos de quimioluminiscencia, electroquimioluminiscencia (ECL) o inmunoensayos enzimáticos, por ejemplo, ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA) y radioinmunoensayo (RIA). Véase en general, E. Maggio, Enzyme-Immunoassay, (1980) (CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla.); véanse también las patentes de Estados Unidos n.º 4.727.022; 4.659.678; 4.376.110; 4.275.149; 4.233.402; y 4.230.767. Estos métodos también se describen en, por ejemplo, Methods in Cell Biology: Antibodies in Cell Biology, volumen 37 (Asai, ed. 1993); Basic and Clinical Immunology (Stites y Terr, eds., 7.^a ed. 1991); y Harlow y Lane, *supra*.
- Los inmunoensayos pueden usarse para determinar la presencia o ausencia de uno o más criptocromos en una muestra, así como la cantidad en una muestra. La cantidad de un complejo de anticuerpo-marcador puede determinarse por comparación con un patrón. Un patrón puede ser, por ejemplo, un compuesto conocido u otra proteína que se sabe que está presente en una muestra. Como se indica anteriormente, la cantidad de ensayo del uno o más criptocromos no tiene que medirse en unidades absolutas, siempre que la unidad de medición pueda compararse con un control.
- Frecuentemente existen proteínas en una muestra en una pluralidad de formas diferentes caracterizadas por una masa detectablemente diferente. Estas formas pueden ser el resultado de alguna de, o ambas, modificaciones pre- y postraduccionales. Las formas modificadas pretraduccionales incluyen variantes alélicas, variantes de empalme y formas de edición de ARN. Las formas modificadas postraduccionales incluyen formas resultantes de la escisión proteolítica (por ejemplo, fragmentos de una proteína precursora), glucosilación, fosforilación, lipidación, oxidación, metilación, cistinilación, sulfonación y acetilación. Los anticuerpos también pueden ser útiles para detectar modificaciones postraduccionales de proteínas, polipéptidos, mutaciones y polimorfismos, tales como fosforilación de tirosina, fosforilación de treonina, fosforilación de serina, glucosilación (por ejemplo, O-GlcNAc). Dichos anticuerpos detectan específicamente los aminoácidos fosforilados en una proteína o proteínas de interés, y pueden usarse en inmunotransferencia, inmunofluorescencia y ensayos ELISA descritos en este documento. Estos anticuerpos son bien conocidos por los expertos en la materia, y están disponibles en el mercado. Las modificaciones postraduccionales también pueden determinarse usando iones metaestables en espectrometría de masas por ionización con desorción láser asistida por matriz reflectora con tiempo de vuelo (MALDI-TOF) (Wirth, U. et al. (2002) Proteomics 2(10): 1445-51). La colección de proteínas que incluye una proteína específica y todas las formas modificadas de la misma se denomina en este documento "grupo de proteínas". La colección de todas las formas modificadas de una proteína específica, excluyendo la propia proteína específica, se denomina en este documento "grupo de proteínas modificadas". También pueden usarse las formas modificadas de cualquier criptocromo, en sí mismas, en los métodos divulgados en este documento. En determinados casos, las formas modificadas pueden mostrar mejor potencia discriminatoria en diagnóstico que las formas específicas expuestas en este documento. Las formas modificadas pueden detectarse inicialmente por cualquier metodología conocida en la técnica.
- Como alternativa, puedes medirse metabolitos de proteína y ácido nucleico de criptocromo. El término "metabolito" incluye cualquier producto químico o bioquímico de un proceso metabólico, tal como cualquier compuesto producido

- por el procesamiento, escisión o consumo de una molécula biológica (por ejemplo, una proteína, ácido nucleico, carbohidrato o lípido). Los metabolitos pueden detectarse de una diversidad de maneras conocidas por los expertos en la materia, incluyendo espectroscopia de índice de refracción (RI), espectroscopia ultravioleta (UV), análisis de fluorescencia, análisis radioquímico, espectroscopia del infrarrojo cercano (IR cercano), espectroscopia por resonancia magnética nuclear (RMN), análisis de dispersión de luz (LS), espectrometría de masas, espectrometría de masas con pirólisis, nefelometría, espectroscopia Raman dispersiva, cromatografía de gases combinada con espectrometría de masas, cromatografía de líquidos (incluyendo cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC)), que puede combinarse con espectrometría de masas, espectrometría de masas por ionización con desorción láser asistida por matriz con tiempo de vuelo (MALDI-TOF) combinada con espectrometría de masas, espectroscopia con nebulización iónica combinada con espectrometría de masas, electroforesis capilar, espectrometría de movilidad iónica, desorción láser/ionización potenciada en superficie (SELDI), métodos ópticos, métodos electroquímicos, microscopía de fuerza atómica, métodos de radiofrecuencia, resonancia de plasmiones superficiales, elipsometría, RMN y detección de IR. (Véanse las publicaciones de solicitud internacional n.º WO 04/056456 y WO 04/088309). A este respecto, pueden medirse otros analitos usando los métodos de detección mencionados anteriormente, u otros métodos conocidos por los expertos en la materia. Por ejemplo, pueden detectarse iones de calcio en circulación (Ca^{2+}) en una muestra usando tintes fluorescentes tales como la serie Fluo, Fura-2A, Rhod-2, entre otros. Otros metabolitos pueden detectarse de forma similar usando reactivos que se diseñan o adaptan específicamente para detectar dichos metabolitos.
- Una enfermedad o trastorno mediado por Cry puede implicar cambios en la actividad de uno o más criptocromos, o la capacidad de uno o más criptocromos de unirse a una diana. Sin en deseo de limitarse a teoría alguna, se cree que las proteínas de criptocromo se unen a las proteínas de periodo Per 1 y/o Per2 como un heterodímero, que después se une a la región promotora del gen CLOCK-BMAL1 para facilitar la represión transcripcional en un bucle de retroalimentación que puede afectar a numerosos procesos metabólicos. Por tanto, medir una cantidad eficaz de uno o más criptocromos de acuerdo con los métodos de la invención puede implicar evaluar un aumento o disminución en la capacidad de las proteínas Cry de unirse a Per1 y/o Per2, al receptor de glucocorticosteroides (GR) o cualquier otra diana de unión de Cry conocida por los expertos en la materia. La medición de interacciones de proteína-proteína puede facilitarse por cualquier método conocido en la técnica, incluyendo coimmunoprecipitación, ensayo de doble híbrido de levaduras, resonancia de plasmiones superficiales, complementación bimolecular de fluorescencia, purificación por afinidad en tandem, presentación en fagos, polarización de fluorescencia/anisotropía, interferometría de polarización doble, espectroscopia de correlación de fluorescencia, transferencia de energía de resonancia de fluorescencia y similares.
- La actividad de uno o más criptocromos también puede medirse por un aumento o disminución en la capacidad de unirse a una secuencia de ADN, es decir, la región promotora del gen CLOCK-BMAL1, u otro gen que contenga sitios de unión reconocidos por uno o más criptocromos. "Promotor", "secuencia promotora" o "región promotora" se refiere a una secuencia de ADN que puede unirse a ARN·polimerasa en una célula, iniciando la transcripción de una secuencia codificante posterior (dirección 3'), controlando de ese modo su expresión. Con propósitos de definir la presente invención, la secuencia promotora se une en el extremo 3' mediante el sitio de inicio de la transcripción y se extiende en dirección anterior (dirección 5') para incluir el número mínimo de bases o elementos necesarios para iniciar la transcripción a niveles detectables por encima del fondo. Dentro de la secuencia promotora se encontrará un sitio de inicio de la transcripción (convenientemente definido, por ejemplo, por cartografiado con nucleasa SI), así como dominio de unión a proteína (secuencias consenso) responsables de la unión de la ARN·polimerasa. Los promotores pueden derivar en su totalidad de un gen natural, o pueden estar compuestos de diferentes elementos derivados de diferentes promotores encontrados en la naturaleza, o incluso comprenden segmentos de ADN sintético. En la mayoría de los casos no se han definido completamente los límites exactos de las secuencias reguladoras, fragmentos de ADN de diferentes longitudes pueden tener actividad promotora idéntica.
- El promotor de CLOCK-BMAL1 (o cualquier otra región promotora que contenía sitios de unión o reconocimiento para Cry) puede estar "unido de forma funcional" a un gen indicador. La expresión "unido de forma funcional" se refiere a la asociación de secuencias de ácido nucleico en un solo fragmento de ácido nucleico de modo que la función de uno se vea afectada por el otro. Por ejemplo, un promotor está unido de forma funcional con una secuencia codificante cuando puede afectar a la expresión de esa secuencia codificante (es decir, que la secuencia codificante está bajo el control transcripcional del promotor). Las secuencias codificantes pueden unirse de forma funcional a secuencias reguladoras en orientación de sentido o de antisentido. La expresión "gen indicador" significa un ácido nucleico que codifica un factor identificador que puede identificarse basándose en el efecto del gen indicador, en el que el efecto se usa para rastrear la herencia de un ácido nucleico de interés, para identificar una célula u organismo que haya heredado el ácido nucleico de interés, y/o para medir la inducción de expresión génica o transcripción. Ejemplos de genes indicadores conocidos y usados en la técnica incluyen: luciferasa (Luc), proteína fluorescente verde (GFP), fosfatasa alcalina (ALP), cloranfenicol acetiltransferasa (CAT), β -galactosidasa (LacZ), β -glucuronidasa (Gus) y similares. Los genes marcadores de selección también pueden considerarse genes indicadores. La construcción de promotor-gen indicador puede estar contenida en un plásmido o vector de expresión que se transfiera o transfecte en una célula. La expresión del gen indicador puede detectarse determinando la actividad del producto génico, por ejemplo, una actividad enzimática en el caso de usar un gen indicador ejemplificado anteriormente.

El término "plásmido" se refiere a un elemento extracromosómico que a menudo porta un gen que no forma parte del metabolismo central de la célula, y habitualmente en forma de moléculas de ADN bícatenarias circulares. Dichos elementos pueden ser secuencias de replicación autónoma, secuencias de integración genómica, secuencias fágicas o de nucleótidos, lineales, circulares o superenrolladas, de un ADN o ARN mono- o bicatenario, derivadas de cualquier fuente, en que varias secuencias de nucleótidos se han unido o recombinado en una construcción única que puede introducir un fragmento promotor y secuencia de ADN para un producto génico seleccionado junto con una secuencia sin traducir 3' apropiada en una célula. La expresión "vector de expresión" significa un vector, plásmido o vehículo diseñado para posibilitar la expresión de una secuencia de ácido nucleico insertada después de transformación en el hospedador. Los vectores pueden introducirse en las células hospedadoras deseadas por métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, transfección, electroporación, microinyección, transducción, fusión de células, DEAE dextrano, precipitación con fosfato de calcio, lipofección (fusión de lisosomas), uso de una pistola génica o un transportador de vector de ADN. Puede usarse cualquier célula para realizar ensayos indicadores, tal como una célula procariota o célula eucariota. Preferiblemente, la célula puede ser una célula bacteriana, una célula fúngica, una célula de levadura, una célula de nematodo, una célula de insecto, una célula de pez, una célula vegetal, una célula de ave, una célula animal y una célula de mamífero. Las células pueden ser células primarias o pueden pasarse continuamente como líneas celulares. Las células y líneas celulares ejemplares son conocidas por los expertos en la técnica.

Otros métodos de medición de la actividad o capacidad de uno o más criptocromos de unirse a una secuencia de ADN incluyen ensayo de inmunoprecipitación de cromatina, ensayo de desplazamiento de movilidad electroforética, ensayo de extracción de ADN, captura y detección en microplaca, y similares.

Los niveles de una cantidad eficaz de proteínas, ácidos nucleicos, polimorfismos, metabolitos u otros analitos de los criptocromos, o las actividades de las proteínas o dianas de los criptocromos que se unen directa o indirectamente a las proteínas de los criptocromos, pueden determinarse entonces y compararse con un valor de referencia, por ejemplo, un sujeto o población de control cuyo estado de la enfermedad es conocido, o un valor de índice o valor basal. La muestra de referencia o valor de índice o valor basal puede tomarse o derivar de un o más sujetos que se han expuesto al tratamiento, o puede tomarse o derivar de uno o más sujetos que están en bajo riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno mediado por Cry, o puede tomarse o derivar de sujetos que han mostrado mejoras en los factores de riesgo de la enfermedad como resultado de la exposición al tratamiento. Como alternativa, la muestra de referencia o valor de índice o valor basal puede tomarse o derivar de uno o más sujetos que no se han expuesto al tratamiento. Por ejemplo, pueden recogerse muestras de sujetos que han recibido tratamiento inicial para una enfermedad o trastorno mediado por Cry y posterior tratamiento de la enfermedad o trastorno para supervisar el progreso del tratamiento. En algunas realizaciones, puede tomarse una primera muestra de un sujeto en un primer periodo de tiempo, por ejemplo, antes de tratamiento con un compuesto de fórmula I como se define en este documento, en solitario o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, seguido de medición o detección de uno o más criptocromos (o dianas de los criptocromos) como se describe en este documento. Después de ello, puede tomarse una segunda muestra de un sujeto en un segundo periodo de tiempo, por ejemplo, después de tratamiento con un compuesto de fórmula I como se define en este documento, en solitario o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, y midiendo el uno o más criptocromos o dianas de los criptocromos. Pueden tomarse incontables muestras en cualquier intervalo de tiempo durante todo el ciclo de tratamiento para evaluar su eficacia.

Un valor de referencia también puede comprender un valor derivado de los algoritmos de predicción de riesgos o índices calculados de estudios de poblaciones tales como los divulgados en este documento. Un término similar en este contexto es un "control", que puede ser, por ejemplo, el promedio o la mediana de la cantidad de criptocromos presentes en muestras comparables de sujetos normales en sujetos normales o en sujetos no enfermos tal como cuando una enfermedad o trastorno mediado por Cry es indetectable. La cantidad de control se mide en las mismas condiciones experimentales o sustancialmente similares que en la medición de la cantidad de ensayo. La correlación puede tener en cuenta la presencia o ausencia de los criptocromos en una muestra de ensayo y la frecuencia de detección de las mismas moléculas en un control. La correlación puede tener en cuenta estos dos factores para facilitar la determinación del estado de la enfermedad.

También puede prepararse un perfil de referencia de esos sujetos que no tienen una enfermedad o trastorno mediado por Cry, y no se esperaría que desarrollaran una enfermedad o trastorno mediado por Cry de acuerdo con métodos divulgados en este documento. La medición de uno o más criptocromos también puede usarse como "perfil del sujeto" tomado de sujetos que tienen una enfermedad o trastorno mediado por Cry. Los perfiles del sujeto pueden compararse con un perfil de referencia para diagnosticar o identificar a sujetos en riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno mediado por Cry, para supervisar la progresión de la enfermedad, así como la tasa de progresión de la enfermedad, y para supervisar la eficacia de las modalidades de tratamiento o atención médica del sujeto.

Los perfiles de referencia y del sujeto de la presente invención pueden estar contenidos en un medio legible automáticamente, tal como, aunque sin limitación, cintas analógicas o digitales como las legibles por un VCR, CD-ROM, DVD-ROM, medio USB flash, entre otros. Dichos medios legibles automáticamente también pueden contener resultados de ensayo adicionales, tales como, sin limitación, mediciones de parámetros clínicos y factores de riesgo de laboratorio tradicionales. Como alternativa o adicionalmente, el medio legible automáticamente también puede comprender información del sujeto tal como historial médico y cualquier antecedente familiar pertinente. El medio

legible automáticamente también puede contener información referente a otros algoritmos de riesgo e índices calculados tales como los descritos en este documento.

En cualquiera de los métodos divulgados en este documento, los datos de la muestra pueden aportarse directamente desde el medio de detección a un ordenador que contiene el algoritmo de diagnóstico. Como alternativa, los datos obtenidos pueden aportarse manualmente, o mediante un medio automatizado, en un ordenador separado que contiene el algoritmo de diagnóstico. Por consiguiente, las realizaciones de la invención incluyen métodos que implican correlacionar la detección de los criptocromos con un diagnóstico probable de una enfermedad o trastorno mediado por Cry. La correlación puede tener en cuenta la cantidad del uno o más criptocromos en la muestra en comparación con una cantidad de control (regulación por aumento o disminución de los criptocromos) por ejemplo, en sujetos normales en los que una enfermedad o trastorno mediado por Cry es indetectable). La correlación puede tener en cuenta la presencia o ausencia de los criptocromos en una muestra de ensayo y la frecuencia de detección de las mismas moléculas en un control. La correlación puede tener en cuenta estos dos factores para facilitar la determinación de si un sujeto tiene una enfermedad o trastorno mediado por Cry o no.

El análisis de los datos puede incluir las etapas de determinar la fuerza de la señal (por ejemplo, altura de los picos) de un marcador detectado y eliminar los "valores atípicos" (datos que se desvían de una distribución estadística predeterminada). Los picos observados pueden normalizarse, un proceso por el que se calcula la altura de cada pico con respecto a alguna referencia. Por ejemplo, una referencia puede ser el ruido de fondo generado por el instrumento y los productos químicos (por ejemplo, molécula que absorbe energía) que se establece como cero en la escala. La fuerza de la señal detectada para cada molécula de interés puede presentarse en forma de intensidades relativas en la escala deseada (por ejemplo, 100). Como alternativa, puede admitirse un patrón (por ejemplo, una proteína sérica) con la muestra de modo que pueda usarse un pico del patrón como referencia para calcular las intensidades relativas de las señales observadas para cada molécula de interés detectada.

Los datos resultantes pueden transformarse o convertirse en diversos formatos para su presentación. En un formato, denominado "vista en espectro o mapa de retenidos", puede presentarse una vista espectral del patrón, en el que la vista representa la cantidad de molécula que alcanza el detector a cada peso molecular particular. En otro formato, denominado "mapa de picos", se retiene solamente la información de la altura del pico y la masa de la vista del espectro, produciendo una imagen más limpia y posibilitando que se observen más fácilmente las moléculas de interés con peso moleculares casi idénticos. En otro formato más, denominado "vista de gel", cada masa de la vista de picos puede convertirse en una imagen en escala de grises basada en la altura de cada pico, provocando un aspecto similar a las bandas en geles electroforéticos. En otro formato más, denominado "superposiciones 3-D", pueden superponerse varios espectros para estudiar los cambios sutiles en las alturas relativas de los picos. En otro formato más, denominado "vista de mapa de diferencias", pueden compararse dos o más espectros, resaltando convenientemente las moléculas únicas de interés que están reguladas por aumento o disminución entre las muestras. Los perfiles (espectros) de dos muestras cualesquiera pueden compararse visualmente. En otro formato más, puede usarse diagrama de dispersión Spotfire, en el que se representan moléculas de interés que se detectan como un punto en un diagrama, en el que un eje del diagrama representa el peso molecular aparente de los criptocromos detectados y otro eje representa la intensidad de la señal de los criptocromos detectados. Para cada muestra, pueden guardarse las moléculas de interés que se detectan y la cantidad de moléculas presentes en la muestra en un medio legible por ordenador. Estos datos entonces pueden compararse con un perfil de control o referencia o valor de referencia (por ejemplo, un perfil o cantidad de moléculas detectadas en el control, por ejemplo, sujetos en los que una enfermedad o trastorno mediado por Cry es indetectable).

Los datos que se generan en los métodos divulgados en este documento pueden clasificarse usando un proceso de reconocimiento de patrones que usa un modelo de clasificación. En algunas realizaciones, los datos generados usando muestras tales como "muestras conocidas" pueden usarse entonces para "entrenar" un modelo de clasificación. Una "muestra conocida" es una muestra que se preclasifica (por ejemplo, enfermedad o no enfermedad). Los datos generados usando muestras conocidas pueden usarse entonces para "entrenar" un modelo de clasificación. Una "muestra conocida" es una muestra que se preclasifica. Los datos pueden usarse para formar el modelo de clasificación, que pueden denominarse "conjunto d datos de entrenamiento". Una vez entrenado, el modelo de clasificación puede reconocer patrones en los datos generados usando muestras conocidas. El modelo de clasificación entonces puede usarse para clasificar las muestras desconocidas en clases. Esto puede ser útil, por ejemplo, en predecir si una muestra biológica particular está asociada o no con un determinado estado biológica (por ejemplo, enferma frente a no enferma). El conjunto de datos de entrenamiento que se usa para formar el modelo de clasificación puede comprender datos sin procesar o datos preprocesados. En algunas realizaciones, los datos sin procesar pueden obtenerse directamente de espectros de tiempo de vuelo o espectros de masas, y después pueden opcionalmente "preprocesarse" de cualquier manera adecuada. Las etapas de preprocesamiento tales como estas pueden usarse para reducir la cantidad de datos que se usa para entrenar el modelo de clasificación.

Los modelos de clasificación pueden formarse usando cualquier método de clasificación (o "aprendizaje") estadístico adecuado que intente separar los conjuntos de datos en clases basadas en parámetros objetivos presentes en los datos. Los métodos de clasificación pueden ser supervisados o no supervisados. Ejemplos de procesos de clasificación supervisados y no supervisados se describen en Jain, "Statistical Pattern Recognition: A Review", IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, Vol. 22, n.º 1, enero de 2000. En la clasificación

- supervisada, los datos de entrenamiento que contienen ejemplos de categorías conocidas se presentan a un mecanismo de aprendizaje, que aprende uno o más conjuntos de relaciones que definen cada una de las clases conocidas. Después pueden aplicarse nuevos datos al mecanismo de aprendizaje, que entonces clasifica los nuevos datos usando las relaciones aprendidas.
- 5 Ejemplos de procesos de clasificación supervisados incluyen procesos de regresión lineal (por ejemplo, regresión lineal múltiple (MLR), regresión de mínimos cuadrados parcial (PLS) y regresión de componentes principales (PCR)), árboles de decisiones binarias (por ejemplo, procesos de reparto recursivo tales como CART - árboles de clasificación y regresión), redes neurales artificiales tales como redes de retropropagación, análisis discriminantes (por ejemplo, clasificador bayesiano o análisis de Fischer), clasificadores lógicos y clasificadores de vector de soporte (unidades de vector de soporte). Un método de clasificación supervisado preferido es un proceso de reparto recursivo (publicación de solicitud de patente de Estados Unidos n.º 20020138208). La clasificación no supervisada intenta aprender clasificaciones basadas en similitudes en el conjunto de datos de entrenamiento, sin preclasificar los espectros de los que derivó el conjunto de datos de entrenamiento. Los métodos de aprendizaje no supervisados incluyen análisis de grupos. Un análisis de grupos intenta dividir los datos en "agrupaciones" o grupos que deben tener idealmente miembros que sean muy similares entre sí, y muy diferentes a los miembros de otros grupos. Entonces la similitud se mide usando alguna medida de distancia, que mide la distancia entre puntos de datos, y agrupa juntos puntos de datos que están cercanos entre sí. Las técnicas de agrupación incluyen el algoritmo de media de K de MacQueen y el algoritmo de mapa de autoorganización de Kohonen. Los algoritmos de aprendizaje impuestos para su uso en la clasificación de información biológica se describen en, por ejemplo, la publicación de solicitud internacional n.º WO 01/31580 y las publicaciones de solicitud de patente de Estados Unidos n.º 20020193950, 20030004402 y 20030055615. Otro método de clasificación implica modelos predictivos multivariable usando una versión no lineal de clasificadores de análisis de separabilidad máxima unificada ("USMA"). Se describen detalles de clasificadores de USMA en la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos n.º 20030055615.
- 10 25
- Otros algoritmos y fórmulas de clasificación incluyen, aunque sin limitación, análisis de componentes principales (PCA), correlación cruzada, rotación de factor, regresión lógica (LogReg), análisis discriminante lineal (LDA), análisis discriminante lineal de eigengene (ELDA), bosque aleatorio (RF), árbol de reparto recursivo (RPART), así como otras técnicas de clasificación en árbol de decisiones relacionadas, centroides reducidos (SC), StepAIC, vecino más cercano k.º, potenciación, árboles de decisión, redes neurales, redes bayesianas, unidades de vector de soporte, exclusión de uno (Leave-One-Out - LOO), validación cruzada de factor 10 (CV de factor 10) y modelos de Markov ocultos, entre otros.
- 30 35
- La detección y correlación de uno o más criptocromos también puede analizarse usando cualquier medio adecuado, incluyendo paquetes de programas informáticos, por ejemplo, Applied Maths, GenExplore™, análisis de grupos bidireccional, análisis de componentes principales, análisis discriminante, mapas de autoorganización; BioDiscovery, Inc., Los Angeles, California (ImaGene™, programa informático especial de procesamiento de imágenes y extracción de datos, activado por MatLab®; GeneSight: agrupación jerárquica, red neural artificial (SOM), análisis de componentes principales, serie de tiempo; AutoGene™; CloneTracker™); GeneData AG (Basel, Suiza); sitio internético de reconocimiento de patrones moleculares en el Whitehead Genome Center del MIT; Rosetta Inpharmatics, Kirkland, Washington. Sistema de análisis de datos de expresión Resolver™; Scanalytics, Inc., Fairfax, VA. Su paquete MicroArray posibilita a los investigadores adquirir, visualizar, procesar y analizar datos de micromatriz de expresión génica; TIGR (The Institute for Genome Research) ofrece herramientas informáticas para análisis de micromatrizes. Por ejemplo, véase también Eisen y Brown, (1999) Methods Enzymol. 303: 179-205.
- 40 45
- En determinadas realizaciones de los métodos de clasificación del estado de la enfermedad, los métodos comprenden además manipular o modificar el tratamiento clínico de un paciente basándose en el estado de la enfermedad o trastorno. Por ejemplo, si el resultado de los métodos de la presente invención es no concluyente o hay razones para que sea necesaria la confirmación del estado, el médico puede pedir más ensayos (por ejemplo, exploraciones CT, exploraciones PET, exploraciones MRI, exploraciones PET-CT, rayos X, biopsias, análisis de sangre). Como alternativa, si el estado indica que el tratamiento es apropiado, el médico puede programar al sujeto para tratamiento. En otros casos, el sujeto puede recibir tratamientos terapéuticos (tales como administración de agentes terapéuticos (tales como, por ejemplo, los compuestos de fórmula I definidos en este documento, en solitario o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales), en lugar de o además de, cirugía. No se pueden garantizar acciones adicionales. Además, si los resultados muestran que el tratamiento ha sido satisfactorio, pueden ser necesario un tratamiento de mantenimiento o ninguna manipulación adicional.
- 50 55
- La materia en cuestión divulgada en este documento también proporciona dichos métodos donde los criptocromos se miden de nuevo después de tratamiento clínico de un sujeto. En estos casos, los métodos se usan para supervisar el estado de una enfermedad o trastorno mediado por Cry, por ejemplo, respuesta al tratamiento, remisión de la enfermedad o progresión de la enfermedad. Los métodos pueden repetirse después de cada tratamiento que recibe el sujeto, lo que permite al médico hacer seguimiento de la eficacia del ciclo de tratamiento. Si los resultados muestran que el tratamiento no es eficaz, el ciclo de tratamiento puede alterarse en consecuencia.
- 60 65
- También se divulan kits para clasificar el estado de la enfermedad y/o detectar o diagnosticar la enfermedad, en los que los kits pueden usarse para detectar uno o más criptocromos. Por ejemplo, los kits pueden usarse para detectar

uno cualquiera o más de los criptocromos descritos en este documento, cuyos uno o más criptocromos están presentes de forma deferencial en muestras de sujetos enfermos y sujetos normales. Los kits de la invención tienen muchas aplicaciones. Por ejemplo, los kits pueden usarse en uno cualquiera de los métodos de la invención descritos en este documento, tal como, entre otras cosas, para diferenciar si un sujeto tiene una enfermedad o trastorno mediado por Cry o tiene un diagnóstico negativo, ayudando por tanto a un diagnóstico. En otro ejemplo, los kits pueden usarse para identificar compuestos que modulen la expresión de uno o más de los criptocromos, compuestos que modulen la actividad de uno o más criptocromos (es decir, que afecten a la capacidad de uno o más criptocromos de unirse a una diana tal como Per1, Per2, el receptor de glucocorticoesteroides (GR) o una secuencia promotora reconocida por los criptocromos tal como el promotor de CLOCK-BMAL1 o cualquier otra secuencia promotora) usando modelos animales *in vitro* o *in vivo* para una enfermedad o trastorno mediado por Cry. En otro ejemplo, los kits pueden usarse para identificar dianas de unión de una o más proteínas de criptocromo como se define en este documento.

Los kits divulgados en este documento pueden incluir un reactivo de detección, por ejemplo, ácidos nucleicos que identifican específicamente uno o más ácidos nucleicos de criptocromo obteniendo secuencias de ácido nucleico homólogas, tales como secuencias oligonucleotídicas, cebadores o aptámeros, complementarias a una parte de los ácidos nucleicos o anticuerpos contra proteínas codificadas por los ácidos nucleicos empaquetados juntos. Los oligonucleótidos pueden ser fragmentos de los genes. Los oligonucleótidos pueden ser monocatenarios o bicatenarios. Por ejemplo, los oligonucleótidos pueden ser de 200, 150, 100, 50, 25, 10 o menos nucleótidos de longitud. Como alternativa, el reactivo de detección puede ser uno o más anticuerpos que se unan específica o selectivamente a una o más proteínas de criptocromo o dianas de las mismas. El kit puede contener, en recipientes separados, un ácido nucleico o anticuerpo (ya unido a una matriz sólida o empaquetado por separado con reactivos para unirlos a la matriz), formulaciones de control (positivo y/o negativo), y/o un marcador detectable tal como fluoresceína, proteína fluorescente verde, rodamina, tintes de cianina, tintes Alexa, luciferasa, radiomarcadores, entre otros. Pueden incluirse en el kit instrucciones (por ejemplo, escritas, en cinta, VCR, CD-ROM, etc.) para realizar el ensayo y para la correlación con el estado de la enfermedad.

Por ejemplo, los reactivos de detección pueden inmovilizarse en una matriz sólida tal como una tira porosa para formar al menos un sitio de detección. La región de medición o detección de la tira porosa puede incluir una pluralidad de sitios que contienen un ácido nucleico. Una tira reactiva también puede contener sitios para controles negativos y/o positivos. Como alternativa, los sitios de control pueden estar localizados en una tira separada de la tira reactiva. Opcionalmente, los diferentes sitios de detección pueden contener diferentes cantidades de ácidos nucleicos inmovilizados, por ejemplo, una mayor cantidad en el primer sitio de detección y cantidades menores en sitios posteriores. Tras la adición de muestra de ensayo, el número de sitios que presentan una señal detectable proporciona una indicación cuantitativa de la cantidad de criptocromos presentes en la muestra. Los sitios de detección pueden configurarse en cualquier forma adecuadamente detectable y típicamente están en forma de una barra o punto que abarca la anchura de una tira reactiva. La micromatriz de sustrato puede estar sobre, por ejemplo, un sustrato sólido, por ejemplo, un "chip" como se describe en la patente de Estados Unidos n.º 5.744.305. Como alternativa, la micromatriz de sustrato puede ser una micromatriz en solución, por ejemplo, xMAP (Luminex, Austin, TX), Cyvera (Illumina, San Diego, CA), CellCard (Vitra Bioscience, Mountain View, CA) y Quantum Dots' Mosaic (Invitrogen, Carlsbad, CA). El kit también puede contener reactivos, y/o enzimas para amplificar o aislar ADN de muestra. Los kits pueden incluir reactivos para PCR instantánea, por ejemplo, sondas TaqMan y/o cebadores, y enzimas.

El kit puede comprender: (a) un sustrato que comprende un adsorbente sobre el mismo, en el que el adsorbente retiene o es adecuado de otro modo para la unión a un criptocromo, y (b) instrucciones para detectar el criptocromo poniendo en contacto una muestra con el adsorbente y detectando el criptocromo retenido por el adsorbente. El kit puede comprender un eluyente (como alternativa o en combinación con las instrucciones) o instrucciones para preparar un eluyente, en el que la combinación del adsorbente y el eluyente permite la detección del criptocromo usando espectrometría de iones en fase gaseosa.

En otras realizaciones, el kit puede comprender un primer sustrato que comprende un adsorbente sobre el mismo (por ejemplo, una partícula funcionalizada con un adsorbente) y un segundo sustrato sobre el que puede colocarse el primer sustrato para formar una sonda, que puede retirarse e insertarse en el aparato, tal como, por ejemplo, espectrómetro de iones en fase gaseosa. El kit puede comprender un solo sustrato, que está en forma de una sonda con adsorbentes sobre el sustrato, que puede retirarse e insertarse en un aparato. El kit puede comprender además una columna de centrifugación de prefraccionamiento (por ejemplo, columna de agarosa con azul Cibacron, columna de agarosa anti-HSA, columna de exclusión por tamaños K-30, columna de centrifugación de intercambio aniónico Q, columna de ADN monocatenario, columna de lectina, etc.). El kit puede comprender (a) un anticuerpo que se une específicamente a uno o más criptocromos; y (b) un reactivo de detección. Un anticuerpo puede ser, por ejemplo, un anticuerpo dirigido contra los productos génicos de un gen de criptocromo.

Opcionalmente, el kit puede comprender además un patrón o información de control de modo que la muestra de ensayo pueda compararse con el patrón de información de control para determinar si la cantidad de ensayo de uno o más criptocromos detectada en una muestra es una cantidad de diagnóstico coherente con un diagnóstico de una enfermedad o trastorno mediado por Cry.

Aunque se han descrito en detalle unas pocas variaciones anteriormente, son posibles otras modificaciones o adiciones. En particular, pueden proporcionarse otros rasgos característicos y/o variaciones además de las expuestas en este documento. Por ejemplo, las implementaciones descritas anteriormente pueden estar dirigidas a diversas combinaciones y subcombinaciones de los rasgos característicos y/o combinaciones y subcombinaciones divulgadas de varios rasgos característicos adicionales divulgados anteriormente. Además, el flujo lógico descrito en este documento no requiere el orden particular mostrado, u orden secuencial, para conseguir los resultados deseables. Otras realizaciones pueden estar dentro del alcance de las reivindicaciones.

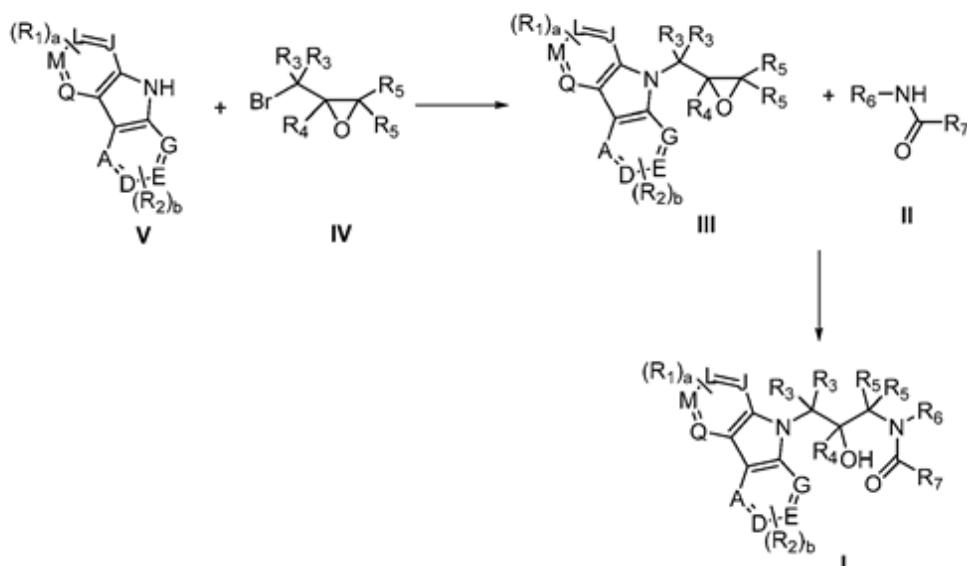
Ejemplos

Ejemplo 1: Esquemas de reacción para la síntesis de compuestos

Los siguientes esquemas de reacción, los esquemas de reacción I, II, III, IV, V y VI representan métodos de síntesis para compuestos de fórmula I. En los métodos generales para la preparación de los compuestos de fórmula I, la variable R₁ R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, a y b son como se definen anteriormente para un compuesto de fórmula I salvo que se indique de otro modo. Los esquemas de reacción descritos en este documento están destinados a proporcionar una descripción general de la metodología empleada en la preparación de muchos de los compuestos dados. Sin embargo, será evidente a partir de las descripciones detalladas que los modos de preparación empleados se extienden más allá de los procedimientos generales descritos en este documento. En particular, se aprecia que los compuestos preparados de acuerdo con los esquemas pueden modificarse adicionalmente para proporcionar nuevos compuestos dentro del alcance de esta invención. Los reactivos e intermedios usados en los siguientes compuestos están disponibles en el mercado o pueden prepararse de acuerdo con los procedimientos convencionales de la bibliografía por los expertos en la materia de síntesis orgánica.

El esquema de reacción I, a continuación, representa la síntesis de compuestos de fórmula I. El tratamiento de un derivado de bromuro apropiadamente sustituido de fórmula IV con un carbazol apropiado de fórmula V, en un disolvente apropiado, tal como N,N-dimetilformamida o N,N-dimetilacetamida, dentro de un intervalo de temperatura de aproximadamente 0 °C a 150 °C durante un periodo de aproximadamente 5 minutos a 24 horas proporciona el correspondiente compuesto de oxirano de fórmula III. Las condiciones preferidas para hacer reaccionar el compuesto de bromuro de fórmula IV con el carbazol de fórmula V para proporcionar compuestos de fórmula III incluyen realizar la reacción en N,N-dimetilformamida a 0 °C hasta temperatura ambiente en presencia de hidróxido de potasio durante 20 a 24 horas seguido de un pretratamiento extractivo. El tratamiento del compuesto de fórmula III con una amida o urea apropiada de fórmula II, en un disolvente apropiado, tal como N,N-dimetilformamida, dimetilsulfóxido o N,N-dimetilacetamida, dentro de un intervalo de temperatura de aproximadamente temperatura ambiente a 150 °C durante un periodo de aproximadamente 5 min a 3 días proporciona el correspondiente compuesto de amida o urea de fórmula I. Las condiciones preferidas para hacer reaccionar el compuesto de oxirano de fórmula III para proporcionar compuestos de fórmula I incluyen realizar la reacción en N,N-dimetilformamida con hidruro de sodio a temperatura ambiente durante 20 a 24 horas seguido de pretratamiento extractivo. Como alternativa, el compuesto de oxirano de fórmula III puede hacerse reaccionar con la amida o urea de fórmula II en un disolvente apropiado, tal como dimetilsulfóxido, con una base apropiada, tal como terc-butóxido de potasio, a temperatura ambiente durante 3 días para proporcionar el compuesto de fórmula I.

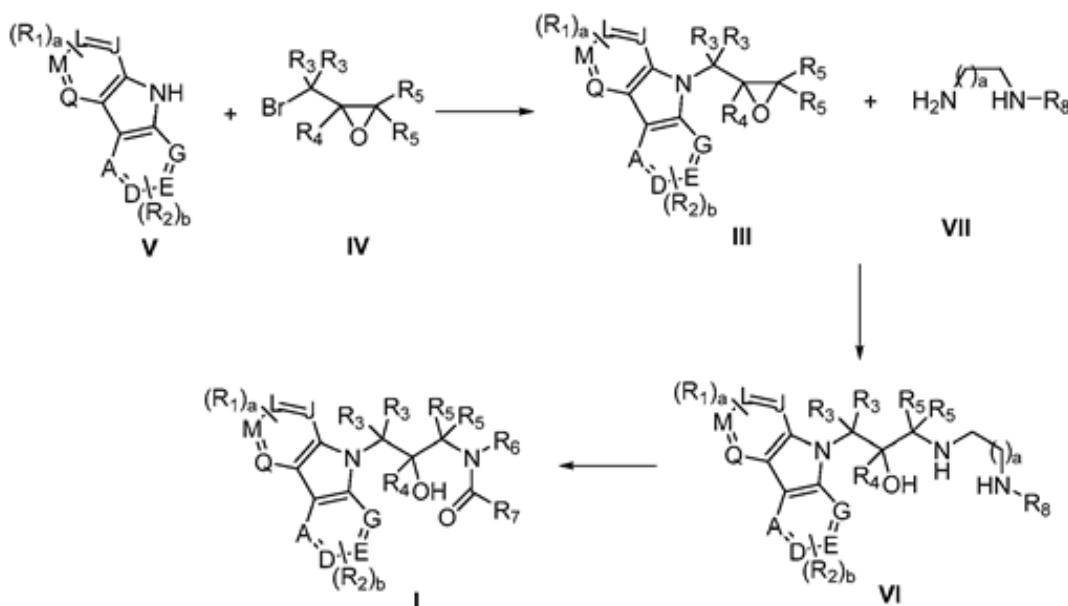
Esquema de reacción I



El esquema de reacción II, a continuación, representa una síntesis alternativa de compuestos de fórmula I. El tratamiento de un derivado de oxirano apropiadamente sustituido de fórmula III con una diamina apropiada de fórmula VII, en un disolvente apropiado, tal como etanol, dentro de un intervalo de temperatura de 0 °C a 150 °C durante un periodo de aproximadamente 5 minutos a 24 horas proporciona el correspondiente compuesto de diamina de fórmula VI. Las condiciones preferidas para hacer reaccionar el compuesto de oxirano de fórmula III con la diamina de fórmula VII para proporcionar compuestos de fórmula VI incluyen realizar la reacción en etanol a 40 °C durante 20 a 24 horas. El tratamiento del compuesto de fórmula VI con un agente de carbonilación apropiado, tal como 1,1'-carbonildiimidazol, en un disolvente apropiado tal como tetrahidrofurano, a temperatura ambiente durante un periodo de 5 minutos a 24 horas proporciona el compuesto correspondiente de fórmula I.

10

Esquema de reacción II

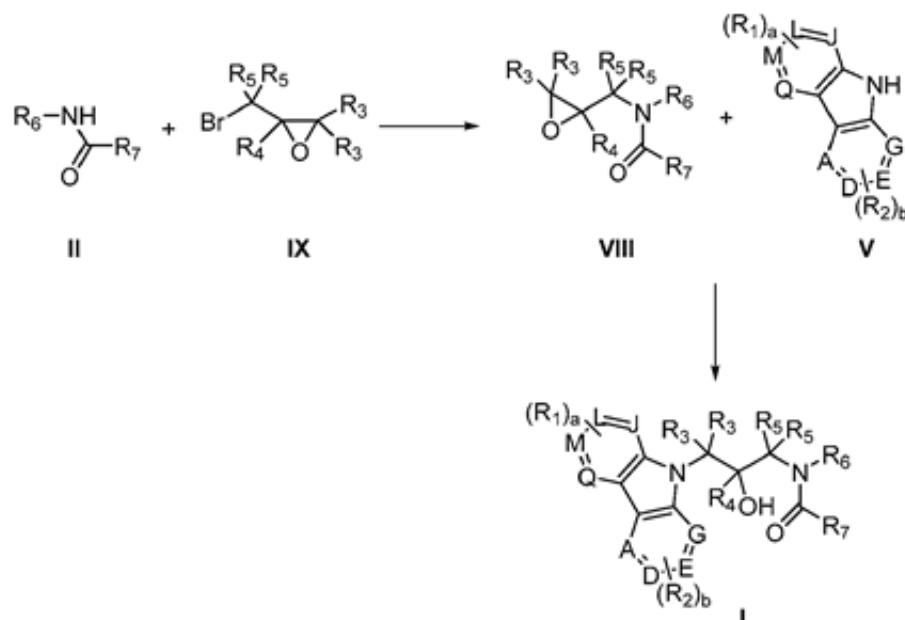


El esquema de reacción III, a continuación, representa una síntesis alternativa de compuestos de fórmula I. El tratamiento del compuesto de amida o urea de fórmula II con un derivado de bromuro apropiadamente sustituido de fórmula IX, en un disolvente apropiado, tal como tetrahidrofurano, dentro de un intervalo de temperatura de aproximadamente 0 °C a 65 °C durante un periodo de aproximadamente 5 minutos a 24 horas proporciona el correspondiente compuesto de oxirano de fórmula VIII. Las condiciones preferidas para hacer reaccionar el compuesto de bromuro de fórmula IX con la amida o urea de fórmula II para proporcionar compuestos de fórmula VIII incluyen realizar la reacción en tetrahidrofurano a 0 °C hasta temperatura ambiente en presencia de hidruro de sodio durante 20 a 24 horas seguido de un pretratamiento extractivo. El tratamiento del compuesto de fórmula VIII con un carbazol apropiado de fórmula V, en un disolvente apropiado, tal como N,N-dimetilformamida, dentro de un intervalo de temperatura de 0 °C a 70 °C durante un periodo de aproximadamente 5 minutos a 24 horas proporciona el compuesto correspondiente de fórmula I. Las condiciones preferidas para hacer reaccionar el compuesto de oxirano de fórmula VIII con el carbazol de fórmula V para proporcionar compuestos de fórmula I incluyen realizar la reacción en N,N-dimetilformamida a temperatura ambiente hasta 70 °C en presencia de hidruro de sodio durante 20 a 24 horas para proporcionar el compuesto de fórmula I.

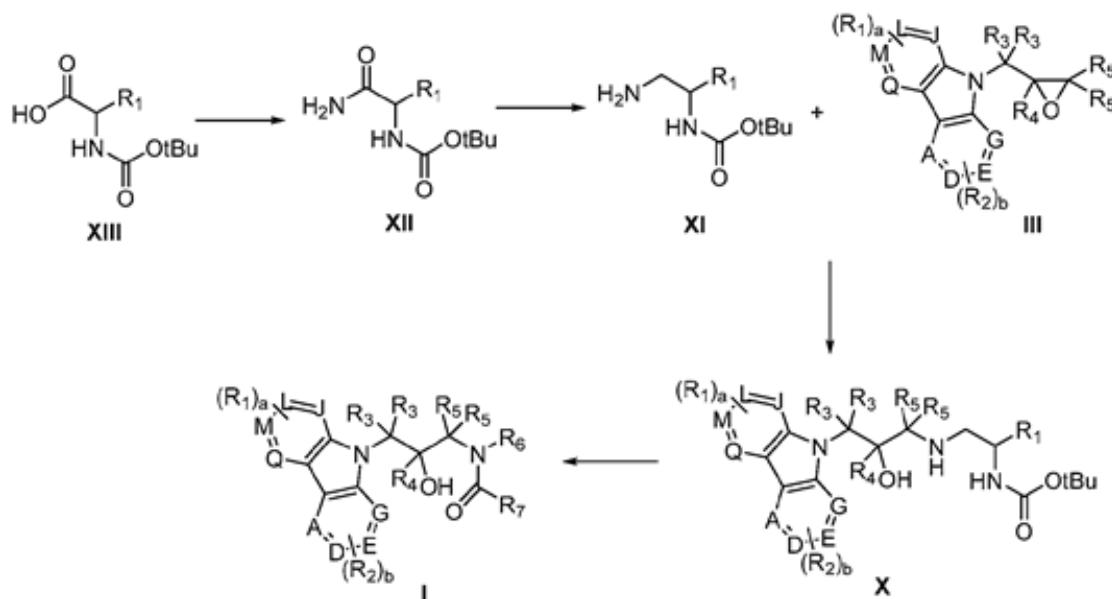
15

20

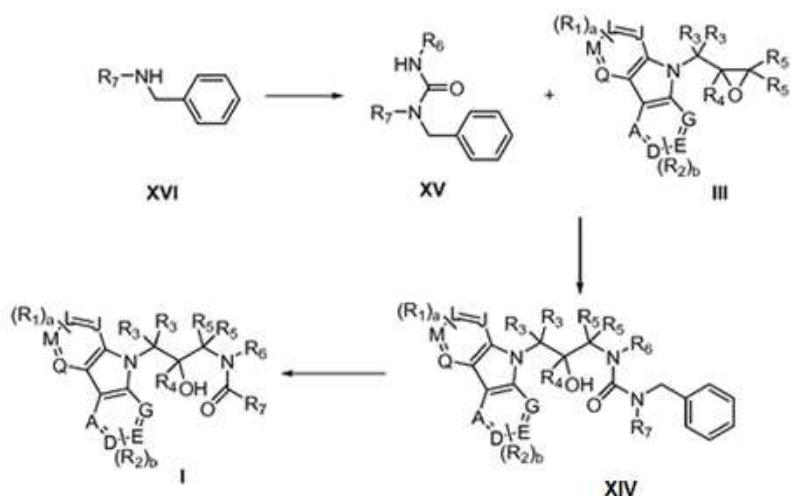
25

Esquema de reacción III

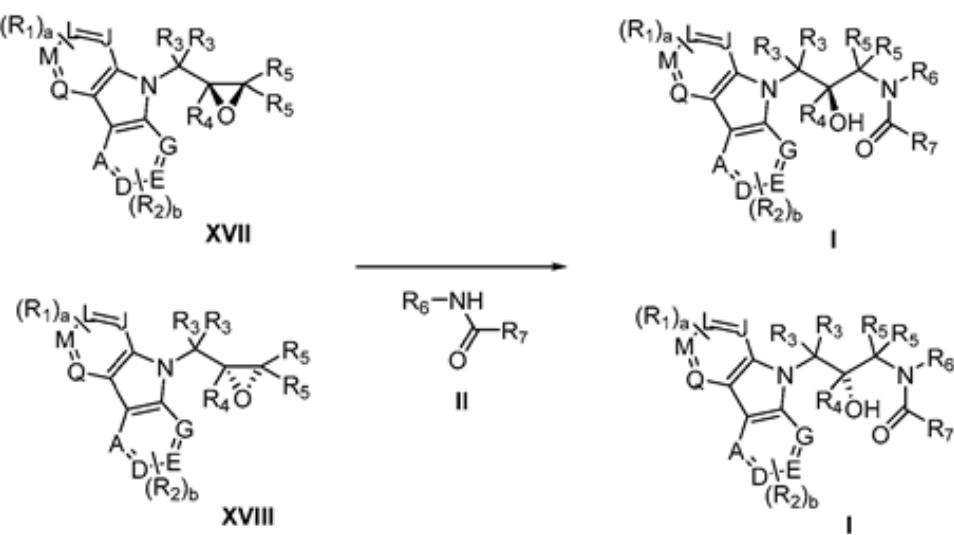
El esquema de reacción IV, a continuación, representa una síntesis alternativa de compuestos de fórmula I. El tratamiento del compuesto de aminoácido protegido con Boc de fórmula XIII con amoniaco, un reactivo de acoplamiento apropiado, tal como hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(1*H*-benzotriazol-1-il)uronio, una base apropiada, tal como *N,N*-diisopropiletilamina y un disolvente apropiado, dentro de un intervalo de temperatura de aproximadamente 0 °C a 65 °C durante un periodo de aproximadamente 5 minutos a 24 horas proporciona el correspondiente compuesto de amida de fórmula XII. El tratamiento del compuesto de amino amida protegido con Boc de fórmula XII con un agente reductor apropiado, tal como borano, en un disolvente apropiado, tal como tetrahidrofurano, dentro de un intervalo de aproximadamente 0 °C a 100 °C durante un periodo de aproximadamente 5 minutos a 24 horas proporciona el correspondiente compuesto de diamina protegida con Boc de fórmula XI. Las condiciones preferidas para hacer reaccionar el compuesto de oxirano de fórmula III con la diamina protegida con Boc de fórmula XI para proporcionar compuestos de fórmula X incluyen realizar la reacción en etanol a 70 °C durante 16 a 24 horas. El tratamiento del compuesto de fórmula X con una base apropiada, tal como *terc*-butóxido de potasio, en un disolvente apropiado, tal como tetrahidrofurano, dentro de un intervalo de temperatura de aproximadamente 0 °C a 100 °C durante un periodo de aproximadamente 5 minutos a 24 horas proporciona el compuesto correspondiente de fórmula I.

Esquema de reacción IV

El esquema de reacción V, a continuación, representa una síntesis alternativa de compuestos de fórmula I. El tratamiento del bencilo compuesto de fórmula XVI con un agente de carbonilación apropiado, tal como 1,1'-carbonildiimidazol, en un disolvente apropiado, tal como tetrahidrofurano, a temperatura ambiente durante un periodo de 5 minutos a 24 horas proporciona el compuesto correspondiente de fórmula XV. Las condiciones preferidas para hacer reaccionar el compuesto de oxirano de fórmula III con la urea protegida con bencilo de fórmula XV para proporcionar compuestos de fórmula XIV incluyen realizar la reacción en *N,N*-dimetilformamida a temperatura ambiente hasta 70 °C en presencia de hidruro de sodio durante 16 a 24 horas. El tratamiento del compuesto de urea protegido con bencilo de fórmula XIV con 6,89 kPa a 344,73 kPa (1 a 50 psi) de hidrógeno en presencia de un catalizador apropiado, tal como hidróxido de paladio sobre carbono, con un ácido apropiado, tal como ácido acético, en un disolvente apropiado, tal como tetrahidrofurano, dentro de un intervalo de temperatura de aproximadamente temperatura ambiente a 100 °C durante un periodo de aproximadamente 5 minutos a 5 días proporciona el compuesto correspondiente de fórmula I.

Esquema de reacción V

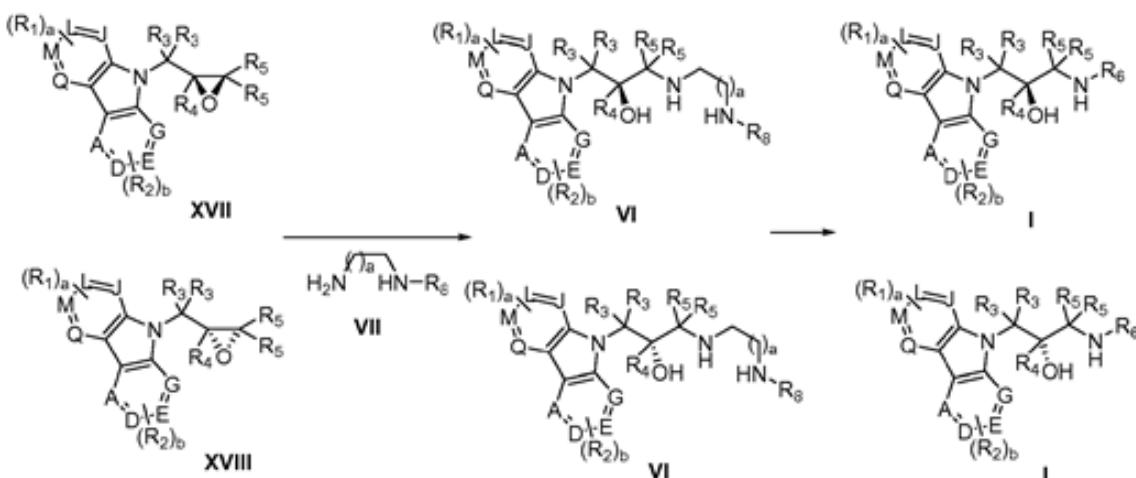
El esquema de reacción VI, a continuación, representa una síntesis alternativa de compuestos de fórmula I. El tratamiento de un derivado de oxirano quiral apropiadamente sustituido de fórmula XVII o XVIII con un compuesto de amida o urea apropiado de fórmula II, con una base apropiada, tal como hidruro de sodio, en un disolvente apropiado, tal como *N,N*-dimetilformamida o tetrahidrofurano, dentro de un intervalo de temperatura de 0 °C a 150 °C durante un periodo de aproximadamente 5 minutos a 24 horas proporciona el correspondiente compuesto de amida o urea quiral de fórmula I.

Esquema de reacción VI

El esquema de reacción VII, a continuación, representa una síntesis alternativa de compuestos de fórmula I. El tratamiento de un derivado de oxirano quiral apropiadamente sustituido de fórmula XVII o XVIII con una diamina apropiada de fórmula VII, en un disolvente apropiado, tal como etanol, dentro de un intervalo de temperatura de 0 °C a 150 °C durante un periodo de aproximadamente 5 minutos a 24 horas proporciona el correspondiente compuesto de diamina quiral de fórmula VI. Las condiciones preferidas para hacer reaccionar el compuesto de oxirano de fórmula XVII o XVIII con la diamina de fórmula VII para proporcionar compuestos de fórmula VI incluyen realizar la reacción en etanol a 55 °C durante 5 a 24 horas. El tratamiento del compuesto de fórmula VI con un agente de carbonilación apropiado, tal como 1,1'-carbonildiimidazol, en un disolvente apropiado tal como tetrahidrofurano, a temperatura ambiente durante un periodo de 5 minutos a 24 horas proporciona el compuesto correspondiente de fórmula I.

10

Esquema de reacción VII



En los esquemas de reacción descritos en este documento se entiende que los grupos hidroxilo en los intermedios útiles para preparar compuestos de fórmula I pueden protegerse mediante grupos convencionales conocidos por los expertos en la materia, según lo necesario. Por ejemplo, los intermedios que contienen un grupo hidroxilo pueden protegerse como el correspondiente éter *terc*-butildimetilsilílico y posteriormente desprotegerse por tratamiento con fluoruro de tetra-*n*-butilamonio para proporcionar el derivado de hidroxilo libre. Los grupos protectores y métodos adecuados para su eliminación se ilustran en "Protective Groups in Organic Synthesis", 3.^a Ed., T. W. Greene y P. G. M. Wuts (Wiley & Sons, 1999).

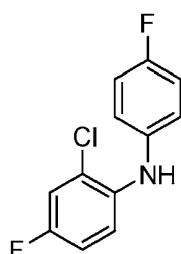
Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) de ^1H fueron en todos los casos coherentes con las estructuras propuestas. Los desplazamientos químicos (δ) característicos se dan en partes por millón campo abajo de tetrametilsilano usando abreviaturas convencionales para la designación de picos principales: por ejemplo, s, singulete; d, doblete; t, triplete; c, cuartete; m, multiplete; a, ancho. Los espectros de masas (m/z) se registraron usando ionización por electronebulización (IEN) o ionización química a presión atmosférica (IQPA). Cuando se ha usado cromatografía en capa fina (CCF) se refiere a CCF en gel de sílice usando placas 60 F_{254} de gel de sílice, R_f es la distancia recorrida por un compuesto dividida por la distancia recorrida por el frente de disolvente en una placa de CCF. HPLC se refiere a chromatografía de líquidos de alto rendimiento.

Los siguientes ejemplos específicos se incluyen con propósitos ilustrativos y no se deben interpretar como una limitación a esta divulgación.

Preparación de intermedios

Preparación 1: 2-cloro-4-fluoro-N-(4-fluorofenil)anilina

35

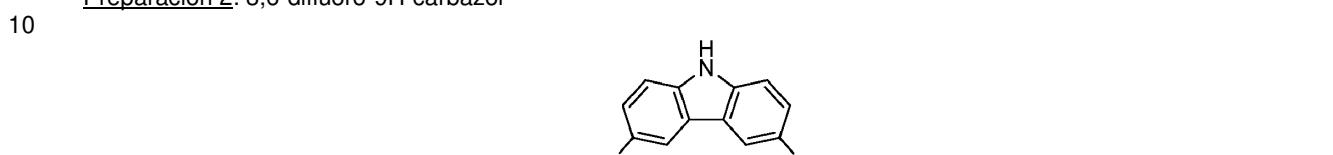


Un matraz de fondo redondo se cargó con 1-bromo-4-fluorobenceno (13,0 g, 74,3 mmol), 2-cloro-4-fluoroanilina (11,354 g, 78,0 mmol), tolueno anhídrido (200 ml) y *terc*-butóxido de potasio (10,003 g, 89,1 mmol). La mezcla se

desgasificó y se llenó con nitrógeno, y después se añadió tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0) (2,041 g, 2,2 mmol) y tri-terc-butilfosfina (0,902 g, 4,5 mmol) y la reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno a 100 °C durante 16 horas.

Después de enfriarla, la mezcla se trató con ácido clorhídrico acuoso 6 M hasta pH ácido y después se volvió a ajustar hasta pH básico con carbonato de sodio sólido. La mezcla se secó (sulfato de magnesio anhídrico), se filtró a través de Celite y la torta de filtro se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (0-20 % de acetato de etilo/hexanos) para producir un aceite amarillento (14 g, 79 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,14 (dd, 1H, J = 8,4, 3,0 Hz), 7,12-6,98 (m, 5H), 6,88 (td, 1H, J = 8,7, 3,0 Hz), 5,80 (s a, 1H).

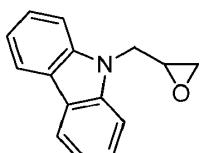
Preparación 2: 3,6-difluoro-9H-carbazol



Una mezcla de carbonato de potasio (26,528 g, 191,9 mmol), 2-cloro-4-fluoro-N-(4-fluorofenil)anilina (23,0 g, 96,0 mmol), tetrafluoroborato de triciclohexilfosfonio (3,534 g, 9,6 mmol), diacetato de paladio (1,077 g, 4,8 mmol) y *N,N*-dimetilacetamida anhidra (200 ml) se agitó en atmósfera de nitrógeno a 130 °C durante 16 horas. Después de enfriarla,

15 la mezcla se concentró y el residuo se trató con acetato de etilo, se filtró a través de Celite y la torta de filtro se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró y el residuo se purificó mediante una columna corta de gel de sílice (20-50 % de cloruro de metileno/hexanos) para producir el producto en bruto que se recristalizó en hexanos-cloruro de metileno para producir el producto puro como un polvo blanco (17,2 g, 88 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 8,00 (s a, 1H), 7,67 (dd, 2H, J = 8,7, 2,7 Hz), 7,36 (dd, 2H, J = 8,7, 4,2 Hz), 7,19 (td, 2H, J = 9,0, 2,7 Hz).

20 Preparación 3: 9-(Oxiran-2-ilmetil)-9H-carbazol



25 Se añadió hidróxido de potasio en polvo (3,36 g, 60 mmol) a una solución de carbazol (8,36 g, 50 mmol) en *N,N*-dimetilformamida anhidra (50 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo y se añadió epibromohidrina (10,3 ml, 125 mmol). El baño de hielo se retiró y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla se repartió entre acetato de etilo y agua. La capa orgánica se

30 lavó sucesivamente con agua y soluciones acuosas saturadas de cloruro de sodio, se secó (sulfato de sodio anhídrico), se filtró y se concentró. El material en bruto se trituró con hexanos, y se recristalizó en acetato de etilo/hexanos para producir el producto deseado como agujas blancas (6,41 g, 58 % de rendimiento). Un segundo cultivo de cristales se cristalizó en las aguas madre para dar producto adicional (1,2 g, 11 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 8,11-8,08 (m, 2H), 7,46-7,44 (m, 4H), 7,28-7,25 (m, 2H), 4,68-4,62 (dd, 1H, J = 3,1, 15,8 Hz) 4,45-4,38 (dd, 1H, J = 4,8, 15,9 Hz),

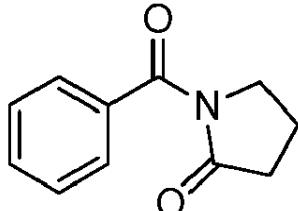
35 3,37 (m, 1H), 2,84-2,81 (dd, 1H, J = 4,2, 4,3 Hz), 2,60-2,57 (dd, 1H, J = 2,5, 5,0 Hz); análisis de HPLC: (C18, 5-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 7,83 min, 98,7 %.

40 Los siguientes compuestos se prepararon de forma análoga:

Estructura	Nombre	Caracterización
	9-((2-metiloxiran-2-il)methyl)-9H-carbazol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 8,10-8,07 (dt, 2H, <i>J</i> = 0,9, 7,5 Hz), 7,48-7,46 (m, 4H), 7,27-7,22 (m, 2H), 4,63-4,58, 4,32-4,27 (ABq, 2H, <i>J</i> = 15,6 Hz), 2,69 (s, 2H), 1,34 (s, 3H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 13,6 min, 97 %.
	3,6-difluoro-9-(oxiran-2-ilmethyl)-9H-carbazol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69 (dd, 2H, <i>J</i> = 8,7, 2,7 Hz), 7,39 (dd, 2H, <i>J</i> = 9,0, 3,9 Hz), 7,24 (td, 2H, <i>J</i> = 9,0, 2,7 Hz), 4,68 (dd, 1H, <i>J</i> = 15,9, 3,0 Hz), 4,32 (dd, 1H, <i>J</i> = 15,9, 5,1 Hz), 3,35 (m, 1H), 2,84 (t, 1H, <i>J</i> = 4,5 Hz), 2,55 (dd, 1H, <i>J</i> = 4,5, 2,7 Hz); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 13,6 min, >98 %.
	3,6-difluoro-9-((2-metiloxiran-2-il)methyl)-9H-carbazol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68 (dd, 2H, <i>J</i> = 8,4, 2,4 Hz), 7,41 (dd, 2H, <i>J</i> = 9,0, 4,2 Hz), 7,23 (td, 2H, <i>J</i> = 9,0, 2,4 Hz), 4,62 y 4,22 (AB, 2H, <i>J</i> = 15,6 Hz), 2,71 y 2,66 (AB, 2H, <i>J</i> = 4,5 Hz), 1,33 (s, 3H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 14,2 min, 100 %.

Preparación 4: 1-benzoilpirrolidin-2-ona

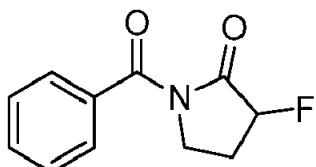
5



A una solución fría a 0 °C de 2-pirrolidinona (4,4 g, 51,7 mmol, 1,0 equiv.) y trietilamina (15,4 ml, 111,2 mmol, 2,1 equiv.) en tetrahidrofurano anhídrico (120 ml) se añadió 4-dimetilaminopiridina (0,075 g) y cloruro de benzoílo (6,9 ml, 59,5 mmol, 1,1 equiv.). La mezcla resultante se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo. La fracción orgánica se lavó con ácido clorhídrico acuoso 0,1 M, bicarbonato de sodio acuoso saturado y soluciones acuosas saturadas de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtró y se concentró al vacío para producir un aceite rojo. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de un 20-65 % de acetato de etilo en hexanos para dar un sólido blanquecino (5,63 g, 58 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7,61-7,57 (m, 2H), 7,53-7,47 (tt, 1H, *J* = 1,5, 7,5 Hz), 7,42-7,37 (m, 2H), 3,98-3,94 (t, 2H, *J* = 7,1 Hz), 2,61-2,58 (t, 2H, *J* = 8,0 Hz), 2,20-2,10 (quint, 2H, *J* = 7,5 Hz). ESI (m/z): 190,1 (M+H).

Preparación 5: 1-benzoil-3-fluoropirrolidin-2-ona

20



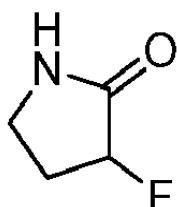
A una solución a -78 °C de 1-benzoilpirrolidin-2-ona (1 g, 5,3 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofurano anhídrico (26 ml) se añadió diisopropilamida de litio (3,382 ml de una solución 2 M en tetrahidrofurano, 6,8 mmol, 1,3 equiv.) y la mezcla se agitó a -78 °C durante 30 min. Una solución de *N*-fluorobenceno sulfonimida (2,5 g, 7,9 mmol, 1,5 equiv.) en tetrahidrofurano anhídrico (5 ml) se añadió lentamente a -78 °C y la reacción se agitó durante 1 h a -40 °C. Se añadió hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado, la solución se calentó hasta temperatura ambiente y se extrajo con

acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío para producir un sólido amarillo. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo del gel de sílice con un gradiente de un 15-60 % de acetato de etilo en hexanos para dar un sólido blanco (0,595 g, 54 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,64-7,61 (m, 2H), 7,57-

5 7,52 (tt, 1H, J = 1,5, 7,5 Hz), 7,45-7,39 (m, 2H), 5,28-5,06 (dt, 1H, J = 7,8, 51 Hz), 4,15-4,07 (m, 1H), 3,87-3,78 (m, 1H), 2,68-2,56 (m, 1H), 2,45-2,27 (m, 1H). ^{19}F RMN (282 MHz, CDCl_3): δ - 188,9 to -189,2 (ddd, J = 12,1, 24,2, 51,8 Hz).

Preparación 6: 3-fluoropirrolidin-2-ona

10



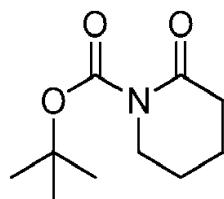
A una solución de 1-benzoil-3-fluoropirrolidin-2-ona (0,282 g, 1,4 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofurano anhidro (5 ml) se añadió octilamina (0,259 ml, 1,6 mmol, 1,1 equiv.) y la reacción se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para dar un aceite amarillo. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de un 70-100 % de acetato de etilo en hexanos para producir un sólido blanco. (0,104 g, 74 % de rendimiento). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,81 (s a, 1H), 5,11-4,89

15 (ddd, 1H, J = 6,3, 7,8, 52,8 Hz), 3,49-3,42 (m, 1H), 3,36-3,27 (m, 1H), 2,57-2,41 (m, 1H), 2,34-2,13 (m, 1H). ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3): δ 173,5-173,3 (d, J = 20 Hz), 89,9-87,4 (d, J = 182 Hz), 39,1 (d, J = 4 Hz), 28,6-28,4 (d, J = 20 Hz).

20

^{19}F RMN (282 MHz, CDCl_3): δ -190,1 to -190,4 (ddd, J = 15, 27, 52 Hz).

Preparación 7: 2-oxopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo

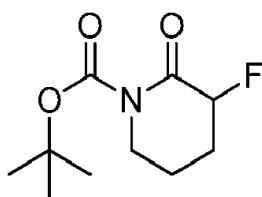


25

A una solución agitada de piperidin-2-ona (5 g, 50,4 mmol, 1,0 equiv.), trietilamina (14,022 ml, 100,9 mmol, 2,0 equiv.) y *N,N*-4-dimetilaminopiridina (0,123 g, 1,0 mmol) en cloruro de metíleno (100 ml) a 0 °C se añadió dicarbonato de di*terc*-butilo (16,512 g, 75,7 mmol, 1,5 equiv.). La mezcla se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 48 h. La reacción se interrumpió con agua y la capa orgánica se lavó secuencialmente con ácido clorhídrico acuoso 1 N, bicarbonato de sodio acuoso saturado y cloruro de sodio acuoso saturado, y se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice (0-100 % de acetato de etilo/hexanos) para producir el producto deseado como un aceite amarillo (8,5 g, 85 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 3,72-3,62 (m, 2H), 2,58-2,48 (m, 2H), 1,90-1,78 (m, 4H), 1,55 (s, 9H).

35

Preparación 8: 3-fluoro-2-oxopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo

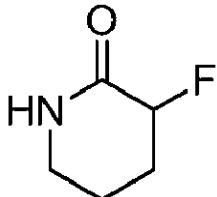


40

A una solución agitada de 2-oxopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (3 g, 15,1 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofurano anhidro (70 ml) en atmósfera de nitrógeno a -78 °C se añadió bis(trimetilsilil)amida de sodio (22,586 ml de una solución 1 M en tetrahidrofurano, 22,6 mmol, 1,5 equiv.) gota a gota durante un periodo de 30 min. La solución resultante se agitó durante 45 min a -78 °C, y después se añadió una solución de *N*-fluorobenceno sulfonimida (7,122 g, 22,6 mmol, 1,5 equiv.) en tetrahidrofurano anhidro (30 ml) gota a gota durante un periodo de 30 min. La reacción se agitó a -78 °C durante 1 h y después se dejó calentar lentamente hasta temperatura ambiente durante 2 h y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La reacción se interrumpió con cloruro de amonio acuoso saturado y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se trató con éter dietílico y los sólidos se descartaron. La solución se concentró

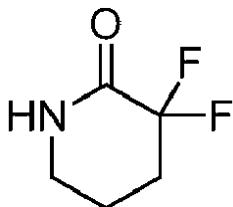
y el residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (0-100 % de acetato de etilo/hexanos) para producir las fracciones de producto en bruto y el subproducto difluoro como un sólido blanco (1,5 g). La fracción de producto en bruto se purificó adicionalmente mediante una segunda ejecución de cromatografía sobre gel de sílice para producir el producto deseado como un aceite pegajoso (0,46 g, 14 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 4,92 (ddd, 1H, $J = 47,4, 8,7, 6,3$ Hz), 3,78-3,60 (m, 2H), 2,35 (m, 1H), 2,15-1,80 (m, 3H), 1,55 (s, 9H). ^{19}F RMN (282 MHz, CDCl_3): δ - 185,2 (dt, $J = 45,7, 15,5$ Hz).

Preparación 9: 3-fluoropiperidin-2-ona



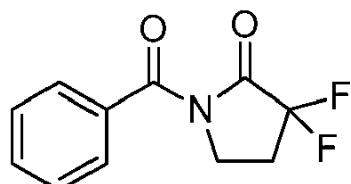
10 A una solución a 0 °C de 3-fluoro-2-oxopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (0,450 g, 2,1 mmol, 1,0 equiv.) en cloruro de metileno (5 ml) se añadió ácido trifluoroacético (1 ml, 13,5 mmol, 6,5 equiv.) y la solución resultante se agitó durante 3 h. La reacción se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante columna de gel de sílice (0-100 % de acetato de etilo/hexanos y después 0-20 % de metanol/acetato de etilo) para producir el producto deseado como un polvo blanco (0,23 g, 95 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 6,36 (s a, 1H), 4,85 (ddd, 1H, $J = 46,8, 8,1, 5,4$ Hz), 3,50-3,20 (m, 2H), 2,40-1,70 (m, 4H). ^{19}F RMN (282 MHz, CDCl_3): δ - 186,5 (dt, $J = 46,5, 15,5$ Hz).

Preparación 10: 3,3-difluoropiperidin-2-ona



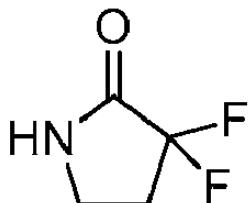
20 La 3,3-difluoropiperidin-2-ona se preparó de acuerdo con los procedimientos presentados (Kim, B. C. et al. Synthesis 2012, 44, 3165-3170).

Preparación 11: 1-benzoil-3,3-difluoropirrolidin-2-ona

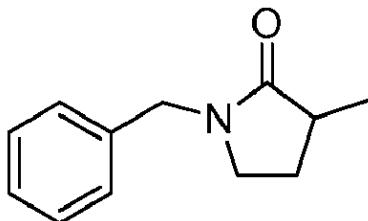


25 30 A una solución a -78 °C de 1-benzoil-3-fluoropirrolidin-2-ona de la preparación 21B (0,3 g, 1,4 mmol, 1,0 equiv.) y *N*-fluorobenceno sulfonimida (0,639 g, 2,0 mmol, 1,4 equiv.) en tetrahidrofurano anhídrico (10 ml) se añadió diisopropilamida de litio (0,905 ml de una solución 2 M en tetrahidrofurano, 1,8 mmol, 1,3 equiv.) y la mezcla se agitó a -78 °C durante 30 min. Se añadieron porciones adicionales de solución de diisopropilamida de litio (0,5 equiv.) y *N*-fluorobenceno sulfonimida (0,5 equiv. en 0,5 ml de tetrahidrofurano anhídrico) y la mezcla se agitó durante 1 h a -78 °C.

35 35 Se añadió hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado, la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado, se secó sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de un 15-50 % de acetato de etilo en hexanos para dar un sólido blanco (0,09 g, 23 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,66-7,61 (m, 2H), 7,59-7,55 (m, 1H), 7,47-7,44 (m, 2H), 4,02-3,97 (m, 2H), 2,70-2,56 (tt, 2H, $J = 6,6, 14,7$ Hz). ^{19}F RMN (282 MHz, CDCl_3): δ - 106,0 to -106,1 (t, $J = 15$ Hz).

Preparación 12: 3,3-difluoropirrolidin-2-ona

- 5 A una solución de 1-benzoil-3,3-difluoropirrolidin-2-ona (0,085 g, 0,4 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofuran anhidro (1 ml) se añadió octilamina (0,075 ml, 0,5 mmol, 1,1 equiv.) y la reacción se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla se concentró a presión reducida para producir un aceite amarillo. El residuo en bruto se purificó por chromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de un 50-100 % de acetato de etilo en hexanos para dar un sólido blanco (0,024 g, 52 % de rendimiento). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,93 (s a, 1H), 3,50-3,46 (a t, 2H, J = 6,0 Hz), 2,63-2,48 (tt, 2H, J = 6,6, 15,2 Hz). ^{19}F RMN (282 MHz, CDCl_3): δ -107,33 to -107,44 (t, J = 15,2 Hz). ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3): δ 167,5-166,7 (t, J = 31 Hz), 121,1-114,4 (t, J = 248 Hz), 37,1 (t, J = 3,3 Hz), 31,2-30,6 (t, J = 23,1 Hz).
- 10

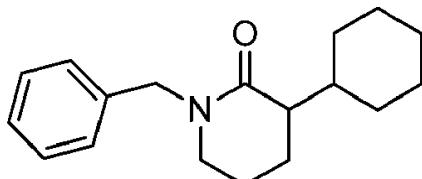
15 Preparación 13: 1-bencil-3-metilpirrolidin-2-ona; procedimiento general

- 20 A una solución fría a -78 °C de 1-bencil-2-pirrolidinona (0,422 g, 2,4 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofuran anhidro (15 ml) se añadió diisopropilamida de litio (2,4 ml de una solución 2 M, 4,8 mmol, 2,0 equiv.) y la solución roja resultante se agitó durante 30 min a -78 °C, y se añadió yodometano (0,6 ml, 9,6 mmol, 4,0 equiv.). La solución se agitó a -78 °C durante 1 h y se dejó calentar lentamente hasta temperatura ambiente durante 16 h. Se añadió cloruro de amonio acuoso saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fracción orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por chromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de un 35-80 % de acetato de etilo en hexanos para producir un líquido castaño (0,374 g, 82 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,37-7,34 (m, 5H), 4,52-4,41 y 4,46-4,41 (ABq, 2H, J = 14,6 Hz), 3,27-3,15 (m, 2H), 2,60-2,46 (m, 1H), 2,28-2,15 (m, 1H), 1,68-1,58 (m, 1H), 1,28-1,25 (d, 3H, J = 7,2 Hz).
- 25

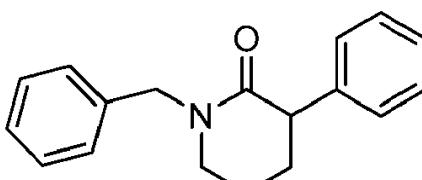
30 Los siguientes compuestos se prepararon de forma análoga:

Estructura	Nombre	Caracterización
	1-bencil-3-isopropylpirrolidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,34-7,20 (m, 5H), 4,56-4,51 y 4,39-4,34 (ABq, 2H, J = 14,6 Hz), 3,18-3,13 (m, 2H), 2,51-2,43 (td, 1H, J = 4,5, 9,0 Hz), 2,33-2,22 (m, 1H), 2,05-1,92 (m, 1H), 1,83-1,74 (m, 1H), 1,02-1,00 (d, 3H, J = 6,6 Hz), 0,89-0,87 (d, 3H, J = 6,6 Hz).
	1-bencil-3-ciclopentylpirrolidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,34-7,19 (m, 5H), 4,54-4,49 y 4,39-4,34 (ABq, 2H, J = 14,6 Hz), 3,20-3,13 (m, 2H), 2,57-2,49 (m, 1H), 2,26-1,90 (m, 4H), 1,77-1,51 (m, 5H), 1,41-1,19 (m, 2H); ESI (m/z): 244,2 ($\text{M}+\text{H}$).
	1-bencil-3-metilpiperidin-2-ona	^1H RMN (300MHz, CDCl_3) δ 7,34-7,20 (m, 5H), 4,68-4,63, 4,52-4,47 (ABq, 2H, J = 14,7 Hz), 3,23-3,18 (dd, 2H, J = 53, 7,2 Hz), 2,52-2,45 (m, 1H), 2,02-1,68 (m, 3H), 1,59-1,47 (m, 1H), 1,31-1,29 (d, 3H, J = 7,2 Hz); ESI (m/z): 204,1 ($\text{M}+\text{H}$).

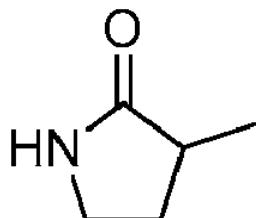
Estructura	Nombre	Caracterización
	1-bencil-3-isopropilpiperidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 7,33-7,21 (m, 5H), 4,71-4,65 y 4,56-4,21 (ABq, 2H, J = 14,7 Hz), 3,20-3,16 (m, 2H), 2,69-2,63 (m, 1H), 2,36-2,29 (m, 1H), 1,91-1,48 (m, 4H), 0,99-0,97 (d, 3H, J = 6,9 Hz), 0,88-0,86 (d, 3H, J = 6,9 Hz); ESI (m/z): 232,2 (M+H).
	1-bencil-3-ethylpiperidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 7,33-7,21 (m, 5H), 4,58 (s, 2H), 3,21-3,17 (dd, 2H, J = 5,0, 6,9 Hz), 2,05-1,53 (m, 6H), 1,00-0,95 (t, 3H, J = 7,5 Hz); ESI (m/z): 218,2 (M+H).
	1-bencil-3-cyclopentylpiperidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 7,33-7,20 (m, 5H), 4,71-4,67 y 4,51-4,46 (ABq, 2H, J = 14,7 Hz), 3,20-3,16 (m, 2H), 2,52-2,39 (m, 2H), 1,94-1,54 (m, 10H), 1,53-1,19 (m, 2H); ESI (m/z): 258,2 (M+H).
	1-bencil-3-(cyclohex-2-en-1-il)piperidin-2-ona	ESI (m/z): 270,2 (M+H).

Preparación 14: 1-bencil-3-ciclohexilpiperidin-2-ona

5 En atmósfera de nitrógeno, se añadió paladio al 10 % sobre carbono (0,09 g) a una solución de 1-bencil-3-(ciclohex-2-en-1-il)piperidin-2-ona (0,6 g, 2,3 mmol) en etanol (10 ml). La mezcla se puso en una atmósfera de hidrógeno y se agitó durante 2 días. La suspensión se filtró a través de Celite y se concentró a presión reducida para producir el producto deseado como un líquido transparente (0,578 g, 98 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7,33-7,22 (m, 5H), 4,66-4,61 y 4,59-4,54 (ABq, 2H, J = 14,7 Hz), 3,19-3,14 (m, 2H), 2,34-2,21 (m, 2H), 1,86-1,52 (m, 9H), 1,39-1,04 (m, 5H); ESI (m/z): 272,2 (M+H).

Preparación 15: 1-bencil-3-fenilpiperidin-2-ona

15 Sintetizada de acuerdo con el procedimiento de Filippis, A. *et al.* Tetrahedron, 2004, 60, 9757. A una solución agitada y fría (-20 °C) de *N*-bencil-2-piperidinona (1,326 g, 7,0 mmol, 2,2 equiv.) en tetrahidrofurano anhidro (14 ml, 0,5 M) se añadió bis(trimetilsilil)amida de litio (6,4 ml de una solución 1 M en tetrahidrofurano anhidro, 6,4 mmol, 2,0 equiv.) y la mezcla se agitó durante 20 min a -20 °C. Se añadió una solución de cloruro de cinc (0,955 g, 7,0 mmol, 2,2 equiv.) en tetrahidrofurano anhidro (8 ml) y la solución se agitó durante 20 min a -20 °C. La solución resultante se canuló en una solución de 2-diciclohexilfosfino-2'-(*N,N*-dimetilamino)bifenilo (0,094 g), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (0,092 g) y bromobenceno (0,335 ml, 3,2 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofurano anhidro (6 ml), y la mezcla resultante se calentó a 70 °C durante 6 h. La reacción se interrumpió con cloruro de amonio acuoso y se extrajo con acetato de etilo. La fracción orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con un 15-60 % de acetato de etilo en hexanos para dar un líquido amarillo (0,629 g, 74 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7,38-7,21 (m, 10H), 4,74-4,69 y 4,66-4,61 (AB, 2H, J = 14,4 Hz), 3,77-3,72 (dd, 1H, J = 6,0, 8,1 Hz), 3,41-3,28 (m, 2H), 2,23-2,13 (m, 1H), 2,05-1,69 (m, 3H).

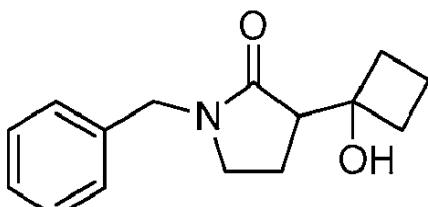
Preparación 16: 3-metilpirrolidin-2-ona

- 5 Se añadió ácido trifluorometanosulfónico (0,604 ml, 6,8 mmol, 4,0 equiv.) a una solución de 1-bencil-3-metilpirrolidin-2-ona (0,323 g, 1,7 mmol, 1,0 equiv.) en tolueno (2 ml, 1 M). La mezcla se calentó a 195 °C en un reactor microondas durante 25 min. La mezcla se vertió en una pequeña cantidad de bicarbonato de sodio acuoso saturado, se extrajo con acetato de etilo, se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado, y las capas acuosas combinadas se trajeron de nuevo con acetato de etilo. Las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con un 0-10 % de metanol en cloruro de metileno para dar el producto deseado (0,087 g). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 6,49 (s a), 3,37-3,26 (m, 2H), 2,53-2,28 (m, 2H), 1,80-1,65 (m, 1H), 1,21-1,19 (d, 3H, J = 6,6 Hz).
- 10 15 Los siguientes compuestos se prepararon de forma análoga:

Estructura	Nombre	Caracterización
	3-isopropylpirrolidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 6,01 (s a, 1H), 3,30-3,28 (m, 2H), 2,39-2,32 (m, 1H), 2,27-2,05 (m, 2H), 1,99-1,86 (m, 1H), 1,02-0,99 (d, 3H, J = 6,6 Hz), 0,91-0,88 (d, 3H, J = 6,6 Hz). ESI (m/z): 128,2 ($\text{M}+\text{H}$).
	3-fenilpiperidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,38-7,13 (m, 5H), 6,02 (s a, 1H), 3,67-3,63 (dd, 1H, J = 6,3, 8,3 Hz), 3,49-3,41 (m, 2H), 2,25-1,75 (m, 4H). ESI (m/z): 176,2 ($\text{M}+\text{H}$).
	3-metilpiperidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 5,83 (s a, 1H), 3,33-3,28 (m, 2H), 2,40-2,32 (m, 1H), 2,02-1,69 (m, 3H), 1,59-1,46 (m, 1H), 1,26-1,24 (d, 3H, J = 7,2 Hz).
	3-ciclopentilpirrolidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 5,56 (s a, 1H), 3,34-3,28 (m, 2H), 2,44-2,36 (m, 1H), 2,27-2,13 (m, 2H), 1,96-1,87 (m, 2H), 1,77-1,54 (m, 5H), 1,40-1,26 (m, 2H). ESI (m/z): 154,2 ($\text{M}+\text{H}$).
	3-etilpiperidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 5,91 (s a, 1H), 3,31-3,26 (m, 2H), 2,27-2,17 (m, 1H), 1,99-1,47 (m, 6H), 1,00-0,93 (t, 3H, J = 7,8 Hz).
	3-ciclopentilpiperidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 5,75 (s a, 1H), 3,31-3,24 (m, 2H), 2,46-2,29 (m, 2H), 1,94-1,19 (m, 12H); ESI (m/z): 168,2 ($\text{M}+\text{H}$).
	3-isopropilpiperidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 5,92 (s a, 1H), 3,34-3,15 (m, 2H), 2,60-2,49 (m, 1H), 2,28-2,21 (m, 1H), 1,94-1,47 (m, 4H), 0,98-0,95 (d, 3H, J = 6,9 Hz), 0,88-0,85 (d, 3Hz, J = 7,2 Hz); ESI (m/z): 142,2 ($\text{M}+\text{H}$).

Estructura	Nombre	Caracterización
	3-cyclohexylpiperidin-2-one	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 5,89 (s a, 1H), 3,30-3,19 (m, 2H), 2,26-2,10 (m, 2H), 1,91-1,03 (m, 14H); ESI (m/z): 182,2 ($\text{M}+\text{H}$).

Preparación 17: 1-bencil-3-(1-hidroxiciclobutil)pirrolidin-2-ona

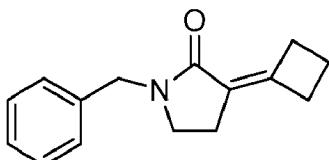


- 5 A una solución fría (-78 °C) de 1-bencil-2-pirrolidinona (1,0 g, 5,7 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofurano anhidro (19 ml) se añadió diisopropilamida de litio (3,15 ml de una solución 2 M en tetrahidrofurano, 1,1 equiv.) y la mezcla se agitó durante 1 h a -78 °C. Se añadió ciclobutanona (0,426 ml, 5,7 mmol, 1,0 equiv.) y dietileterato de trifluoruro de boro (0,704 ml, 5,7 mmol, 1,0 equiv.) y la mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 4 h. La reacción se interrumpió con cloruro de amonio acuoso saturado y se extrajo con acetato de etilo. La fracción orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo del gel de sílice con un gradiente de un 50-100 % de acetato de etilo en hexanos para dar un sólido blanco (0,714 g, 51%). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,36-7,20 (m, 5H), 4,56-4,51 y 4,42-4,37 (AB, 2H, J = 14,7 Hz), 4,24 (s, 1H), 3,28-3,21 (m, 2H), 2,78-2,72 (t, 1H, J = 2,7 Hz), 2,34-1,89 (m, 7H), 1,66-1,52 (m, 1H); ESI (m/z): 246,0 ($\text{M}+\text{H}$).
- 10
- 15

El siguiente compuesto se preparó de forma análoga:

Estructura	Nombre	Caracterización
	1-bencil-3-(1-hidroxiciclobutil)piperidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,38-7,21 (m, 5H), 5,35 (s, 1H), 4,67-4,62 y 4,55-4,50 (ABq, 2H, J = 14,3 Hz), 3,26-3,22 (m, 2H), 2,55-2,49 (m, 2H), 2,37-2,34 (m, 1H), 2,33-2,28 (m, 1H), 2,20-1,57 (m, 9H); ESI (m/z): 260,1 ($\text{M}+\text{H}$).

- 20 Preparación 18: 1-bencil-3-ciclobutilidenopirrolidin-2-ona:



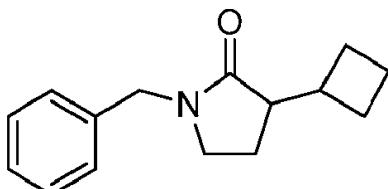
- 25 A una solución fría (0 °C) de 1-bencil-3-(1-hidroxiciclobutil)pirrolidin-2-ona (0,7 g, 2,9 mmol, 1,0 equiv.) en cloruro de metileno anhidro (12 ml) se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (2,485 ml, 14,3 mmol, 5,0 equiv.), *N,N*-4-dimetilaminopiridina (0,07 g, 0,6 mmol, 0,2 equiv.), y cloruro de metanosulfonilo (0,331 ml, 4,3 mmol, 1,5 equiv.). La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h, 16 h a temperatura ambiente y a refljo durante 3 h. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se repartió entre acetato de etilo y cloruro de amonio acuoso saturado. La capa orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío para producir un aceite naranja. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de un 20-60 % de acetato de etilo en hexanos para dar un aceite amarillo (0,25 g, 38 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,33-7,23 (m, 5H), 4,47 (s, 2H), 3,27-3,19 (m, 4H), 2,75-2,69 (m, 2H), 2,52-2,46 (m, 2H), 2,18-2,08 (quint, 2H, J = 7,8 Hz); ESI (m/z): 228,2 ($\text{M}+\text{H}$).
- 30
- 35

- El siguiente compuesto se preparó de forma análoga:

Estructura	Nombre	Caracterización
	1-benzylic-3-cyclobutylideneperidin-2-one	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,30-7,23 (m, 5H), 4,62 (s, 2H), 3,28-3,22 (m, 4H), 2,78-2,72 (m, 2H), 2,34-2,29 (m, 2H), 2,12-2,02 (quint, 2H, $J = 6,9$ Hz), 1,82-1,76 (m, 2H); ESI (m/z): 242,2 ($M+H$).

Preparación 19: 1-benzylic-3-cyclobutylpirrolidin-2-one

5



A una solución de 1-benzylic-3-cyclobutylideneperidin-2-one (0,25 g, 1,0 mmol) en etanol (11 ml) se añadió paladio al 10 % sobre carbono (0,05 g), y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 72 h. La mezcla se filtró a través de Celite y se concentró a presión reducida para producir un aceite transparente (0,242 g, 100 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,34-7,20 (m, 5H), 4,49-4,47 y 4,40-4,35 (ABq, 2H, $J = 14,4$ Hz), 3,18-3,13 (m, 2H), 2,69-2,47 (m, 2H), 2,20-1,64 (m, 8H); ESI (m/z): 230,2 ($M+H$).

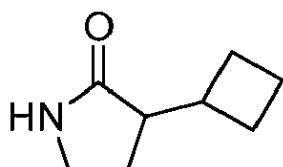
El siguiente compuesto se preparó de forma análoga:

15

Estructura	Nombre	^1H RMN
	1-benzylic-3-cyclobutylpirrolidin-2-one	(300 MHz, CDCl_3): δ 7,34-7,20 (m, 5H), 4,55 (s, 2H), 3,19-3,14 (dd, 2H, $J = 5,4, 6,9$ Hz), 2,71-2,59 (m, 1H), 2,39-1,47 (m, 11H).

Preparación 20: 3-cyclobutylpirrolidin-2-one:

20

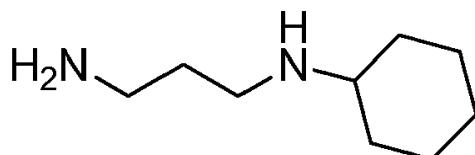


Se preparó a partir de 1-benzylic-3-cyclobutylpirrolidin-2-one de forma análoga a la preparación 18. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 5,45 (s a, 1H), 3,34-3,27 (m, 2H), 2,65-2,54 (m, 1H), 2,43-2,35 (m, 1H), 2,28-1,79 (m, 8H).

El siguiente compuesto se preparó de forma análoga:

25

Estructura	Nombre	^1H RMN
	3-cyclobutylpirrolidin-2-one	(300 MHz, CDCl_3): δ 5,47 (s a, 1H), 3,30-3,23 (m, 2H), 2,70-2,56 (m, 1H), 2,30-1,66 (m, 10H), 1,57-1,44 (m, 1H).

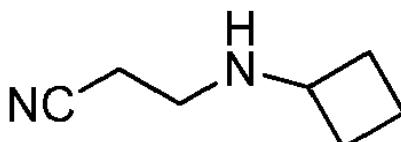
Preparación 21: N1-ciclohexiletano-1,2-diamina

A una mezcla de ciclohexanona (6,26 g, 63,8 mmol), etilendiamina (42,64 ml, 637,8 mmol, 10,0 equiv.), ácido acético (36,515 ml, 637,8 mmol, 10,0 equiv.) y tamices moleculares de 4 Å (25 g) en metanol anhídrico (250 ml) se añadió cianoborohidruro de sodio (8,017 g, 127,6 mmol, 2,0 equiv.). La mezcla se agitó durante 48 h, se filtró para retirar los sólidos y se concentró a un semisólido. El material en bruto se disolvió en hidróxido de sodio acuoso 3 N (150 ml) y se extrajo con cloruro de metileno tres veces. Las fracciones orgánicas combinadas se lavaron con una solución acuosa saturada ligeramente básica de cloruro de sodio, se secaron sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtraron y se concentraron al vacío para producir un líquido amarillo pálido, que se purificó por destilación al vacío para dar un líquido transparente (4,1 g, 45 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 2,80-2,76 (td, 2H, $J = 0,9, 6,0$ Hz), 2,68-2,64 (td, 2H, $J = 0,9, 6,0$ Hz), 2,43-2,34 (m, 1H), 1,89-1,83 (m, 2H), 1,74-1,70 (m, 2H), 1,62-1,57 (m, 1H), 1,32-0,98 (m, 8H).

5

10

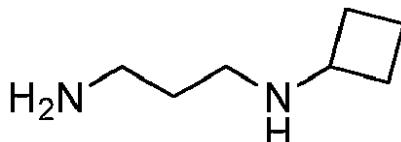
Preparación 22: 3-(ciclobutilamino)propanonitrilo



15 A temperatura ambiente, se añadió gota a gota ciclobutilamina (5,90 ml, 59,8 mmol, 1,0 equiv.) durante 15 min a una solución de acrilonitrilo (4,76 g, 89,7 mmol, 1,5 equiv.) en metanol (7 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min y a reflujo durante 1 h, se enfrió hasta temperatura ambiente, se concentró a presión reducida y el producto deseado se destiló al vacío para proporcionar un líquido transparente (7,7 g, 98 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 3,29-3,21 (m, 1H), 2,88-2,83 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz), 2,50-2,46 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz), 2,26-2,20 (m, 2H), 1,76-1,63 (m, 4H), 1,30 (s a, 1H).

20

Preparación 23: N1-ciclobutilpropano-1,3-diamina



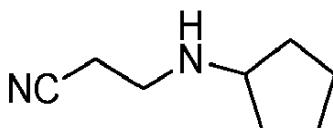
25

A una suspensión enfriada (0°C) de hidruro de litio y aluminio (3,056 g, 80,5 mmol, 2,0 equiv.) en éter anhídrico (120 ml) se añadió una solución de 3-(ciclobutilamino)propanonitrilo (5,0 g, 40,3 mmol, 1,0 equiv.) en éter dietílico anhídrico (40 ml) gota a gota durante 45 min. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min y a reflujo durante 4 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La mezcla se enfrió hasta 0°C y se agitó vigorosamente mientras se añadía agua (3,1 ml) gota a gota, seguido de hidróxido de sodio acuoso al 15 % (3,1 ml), y finalmente agua (9,3 ml). La suspensión resultante se calentó hasta temperatura ambiente, se agitó durante 15 min, y se añadió sulfato de magnesio, agitando durante 15 min adicionales. Los materiales sólidos se retiraron por filtración a través de un filtro de frita sinterizada, lavando múltiples veces con cloruro de metileno caliente, y la solución orgánica se concentró a presión reducida para dar el producto deseado como un líquido amarillo pálido (3,44 g, 66 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 3,14 (m, 1H), 2,69-2,62 (m, 2H), 2,53-2,45 (m, 2H), 2,13-2,10 (m, 2H), 1,56-1,48 (m, 6H), 1,33 (s a, 3H).

30

35

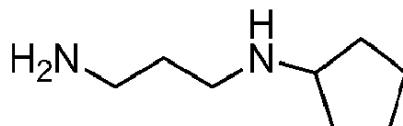
Preparación 24: 3-(ciclopentilamino)propanonitrilo



40

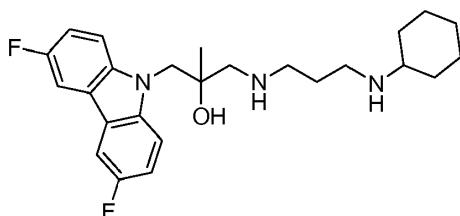
A temperatura ambiente, se añadió gota a gota ciclopentilamina (5,794 ml, 58,7 mmol, 1,0 equiv.) a una solución de acrilonitrilo (5,79 ml, 88,1 mmol, 1,5 equiv.) en metanol (7 ml). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 30 min y a reflujo durante 1 h, se enfrió hasta temperatura ambiente, se concentró a presión reducida y el producto deseado se destiló al vacío para proporcionar un líquido transparente (7,4 g, 91 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 3,14-3,04 (quin, 1H, $J = 6,3$ Hz), 2,91-2,87 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz), 2,53-2,48 (td, 2H, $J = 0,9, 6,9$ Hz), 1,88-1,78 (m, 2H), 1,73-1,49 (m, 4H), 1,36-1,24 (m, 2H), 1,19 (s a, 1H).

45

Preparación 25: *N*1-ciclopentilpropano-1,3-diamina

5 A una suspensión enfriada (0 °C) de hidruro de litio y aluminio (3,295 g, 86,8 mmol, 2,0 equiv.) en éter dietílico anhidro (150 ml) se añadió una solución de 3-(ciclopentilamino)propanonitrilo (6,0 g, 43,4 mmol, 1,0 equiv.) en éter dietílico anhidro (40 ml), gota a gota durante 45 min. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min y a reflujo durante 4 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La mezcla se enfrió hasta 0 °C y se agitó vigorosamente mientras se añadía agua (3,4 ml) gota a gota, seguido de hidróxido de sodio acuoso al 15 % (3,4 ml), y finalmente agua (10,2 ml). La suspensión resultante se calentó hasta temperatura ambiente, se agitó durante 15 min, y se añadió sulfato de magnesio, agitando durante 15 min adicionales. Los materiales sólidos se retiraron por filtración a través de un filtro de frita sinterizada, lavando múltiples veces con cloruro de metileno caliente, y la solución orgánica se concentró a presión reducida para dar el producto deseado como un aceite transparente (4,5 g, 73 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 3,05-2,96 (quint, 1H, J = 6,6 Hz), 2,74-2,71 (t, 2H, J = 6,6 Hz), 2,68-2,58 (t, 2H, J = 6,9 Hz), 1,85-1,68 (m, 2H), 1,62-1,42 (m, 6H), 1,34 (s a, 3H), 1,30-1,21 (m, 2H).

10
15

Preparación 26: 1-((3-(ciclohexilamino)propil)amino)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-metilpropan-2-ol; procedimiento general

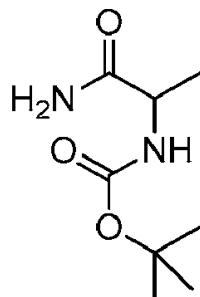
20 A una solución de una *N*-ciclohexil-1,3-propanodiamina (u otra 1,3-propanodiamina *N*-funcionalizada, 8,0 equiv.) en etanol (1 M) se añadió 3,6-difluoro-9-((2-metiloxiran-2-il)metil)-9H-carbazol (1,0 equiv., o como alternativa 3,6-difluoro-9-(oxiran-2-ilmetil)-9H-carbazol) y la mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 16 h o hasta que la reacción se determinó completa por CLEM, se enfrió hasta temperatura ambiente, se concentró al vacío para dar un residuo en bruto, que se purificó por cromatografía en columna, eluyendo del gel de sílice HP con un gradiente apropiado de metanol en cloruro de metileno y trietilamina al 0,1 % para dar el producto deseado.

25

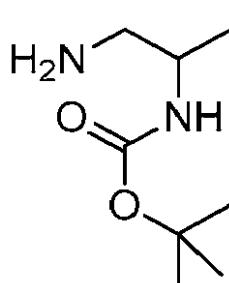
Estructura	Nombre	Caracterización
	1-((3-(ciclohexilamino)propil)amino)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-metilpropan-2-ol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 7,63-7,60 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,49-7,45 (dd, 2H, J = 4,2, 9,0 Hz), 7,20-7,13 (td, 2H, J = 2,4, 9,0 Hz), 2,68-2,53 (m, 6H), 2,36-2,29 (m, 1H), 1,84-1,50 (m, 6H), 1,30-0,94 (m, 6H), 1,23 (s, 3H); ESI (m/z): 430,3 (M+H).
	1-((2-aminoethyl)amino)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)propan-2-ol	¹ H RMN (300MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,64 (dd, 2H, J = 2,3, 9,0 Hz), 7,41-7,37 (dd, 2H, J = 4,0, 9,0 Hz), 7,23-7,16 (td, 2H, J = 2,4, 9,0 Hz), 4,33-4,31 (d, 2H, J = 5,7 Hz), 4,16-4,09, (m, 1H), 2,80-2,70 (m, 3H), 2,63-2,55 (m, 3H), 1,74 (s a, 4H); ESI (m/z): 320,1 (M+H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 7,39 min, 97 %.

Estructura	Nombre	Caracterización
	1-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-3-((3-(fenilamino)propil)amino)propan-2-ol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 7,65-7,62 (dd, 2H, J = 2,7, 8,7 Hz), 7,45-7,41 (dd, 2H, J = 4,2, 9,0 Hz), 7,25-7,13 (m, 3H), 6,72-6,66 (tt, 1H, J = 1,1, 8,7 Hz), 6,59-6,55 (m, 2H), 4,34-4,32 (d, 2H, J = 5,4 Hz), 4,17-4,11 (m, 1H), 3,17-3,13 (t, 2H, J = 6,8 Hz), 2,81-2,56 (m, 6H), 1,79-1,70 (m, 2H); ESI (m/z): 410,2 (M+H).
	1-((3-(ciclohexilamino)propil)amino)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)propan-2-ol:	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 7,66-7,62 (dd, 2H, J = 2,7, 8,7 Hz), 7,40-7,35 (dd, 2H, J = 4,2, 9,0 Hz), 7,22-7,15 (td, 2H, J = 2,5, 9,0 Hz), 4,29-4,27 (d, 2H, J = 5,4 Hz), 4,11-4,06 (m, 1H), 2,72-2,62 (dd, 1H, J = 3,6, 12,0 Hz), 2,68-2,47 (m, 5H), 2,35-2,26 (tt, 1H, J = 3,6, 10,7 Hz), 1,80-1,49 (m, 7H), 1,26-0,93 (m, 7H).
	1-((3-(ciclobutilamino)propil)amino)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)propan-2-ol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 7,65-7,61 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,39-7,34 (dd, 2H, J = 4,2, 8,7 Hz), 7,22-7,14 (m, 2H), 4,27-4,21 (m, 2H), 4,10-4,03 (m, 1H), 3,14-1,44 (m, 10H).
	1-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-metil-3-((3-(fenilamino)propil)amino)propan-2-ol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 7,66-7,63 (dd, 2H, J = 2,6, 8,9 Hz), 7,50-7,45 (dd, 2H, J = 4,2, 9,0 Hz), 7,22-7,14 (m, 4H), 6,73-6,67 (tt, 1H, J = 1,0, 7,4 Hz), 6,57-6,54 (m, 2H), (d, 2H, 3,12-3,07 (t, 2H, J = 6,8 Hz), 2,73-2,63 (m, 5H), 1,79-1,67 (quint, 2H, J = 6,8 Hz), 1,28 (s, 3H); ESI (m/z): 424,2 (M+H).
	1-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-3-((3-(isopropilamino)propil)amino)-2-metilpropan-2-ol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 7,64-7,60 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,48-7,44 (dd, 2H, J = 4,2, 9,0 Hz), 7,19-7,13 (td, 2H, J = 2,6, 9,0 Hz), 4,20 (s, 2H), 2,78-2,51 (m, 8H), 1,62-1,53 (quint, 2H, J = 6,7 Hz), 1,22 (s, 3H), 1,05-1,03 (d, 3H, J = 6,3 Hz), 1,04-1,02 (d, 3H, J = 6,3 Hz); ESI (m/z): 390,2 (M+H).
	1-((3-(ciclobutilamino)propil)amino)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-metilpropan-2-ol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 7,66-7,62 (dd, 2H, J = 2,6, 9,0 Hz), 7,55-7,51 (dd, 2H, J = 4,2, 9,0 Hz), 7,23-7,16 (td, 2H, J = 2,6, 9,0 Hz), 4,38-4,27 (m, 2H), 3,38-3,29 (quint, 1H, J = 8,0 Hz), 3,00-2,96 (d, 1H, J = 12,3 Hz), 2,86-2,71 (m, 3H), 2,24-1,66 (m, 6H), 1,28 (s, 3H); ESI (m/z): 402,2 (M+H).

Estructura	Nombre	Caracterización
	1-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-3-((3-(isopropilamino)propil)amino)propan-2-ol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃) δ 7,66-7,62 (dd, 2H, J = 2,7, 8,7 Hz), 7,39-7,35 (dd, 2H, J = 4,2, 9,0 Hz), 7,21-7,15 (td, 2H, J = 2,5, 9,0 Hz), 4,29-4,27 (d, 2H, J = 5,4 Hz), 4,12-4,04 (m, 1H), 2,75-2,44 (m, 8H), 1,57-1,48 (quint, 2H, J = 6,9 Hz), 1,01-0,98 (d, 6H, J = 6,3 Hz); ESI (m/z): 376,2 (M+H).
	1-((2-aminoethyl)amino)-3-(9H-carbazol-9-il)propan-2-ol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 8,09 (m, 2H), 7,50-7,42 (m, 4H), 7,25-7,20 (m, 2H), 4,44-4,35 (m, 2H), 4,22-4,14 (m, 1H), 2,78-2,53 (m, 7H), 1,64 (s a, 3H); ESI (m/z): 284,1 (M+H); HPLC analysis: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 6,5 min, 94 %.

Preparación 27: (1-Amino-1-oxopropan-2-il)carbamato de *terc*-butilo

5 Una mezcla de Boc-DL-alanina (5,0 g, 26,4 mmol, 1,0 equiv.), hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametil-O-(1H-benzotriazol-1-il)uronio (15,033 g, 39,6 mmol, 1,5 equiv.), *N,N*-diisopropiletilamina (8,735 ml, 52,9 mmol, 2,0 equiv.) y dimetilformamida anhidra (50 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 min, y después se enfrió con agua helada y se burbujeó lentamente amoniaco (2,250 g, 132,1 mmol, 5,0 equiv.) en la mezcla. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h en un recipiente sellado. La reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se lavaron con cloruro de sodio acuoso saturado, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. Los sólidos obtenidos se lavaron con acetato de etilo frío y éter y se secaron para producir el producto como un polvo blanco (2,9 g, 58 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 6,20 (s a, 1H), 5,50 (s a, 1H), 5,00 (s a, 1H), 4,20 (m, 1H), 1,47 (s, 9H), 1,40 (d, 3H, J = 7,2 Hz).

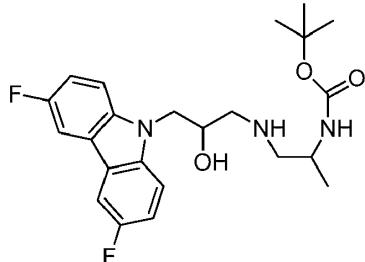
10 Preparación 28: (1-Aminopropan-2-il)carbamato de *terc*-butilo

15 20 Se disolvió (1-amino-1-oxopropan-2-il)carbamato de *terc*-butilo (2,2 g) en tetrahidrofurano anhidro (100 ml) y se añadió borano (40 ml de una solución 1 M en tetrahidrofurano). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y después se calentó a 90 °C durante 2 h. Después de enfriarla hasta temperatura ambiente, la reacción se interrumpió con metanol hasta que no se generaron burbujas. La mezcla se calentó a 90 °C durante 1 h y después se concentró a sequedad para producir el producto en bruto como un jarabe (2,2 g), que se usó directamente para la reacción de la

siguiente etapa. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 4,60 (s a, 1H), 3,65 (m, 1H), 2,76 (dd, 1H, $J= 12,9, 5,1$ Hz), 2,64 (dd, 1H, $J= 12,9, 6,3$ Hz), 1,47 (s, 9H), 1,14 (d, 3H, $J= 6,9$ Hz).

Preparación 29: (1-((3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)amino)propan-2-il)carbamato de *terc*-butilo

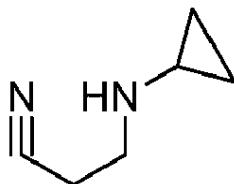
5



En una atmósfera de nitrógeno, se agitó una solución de 3,6-difluoro-9-(oxiran-2-ilmetil)-9H-carbazol (0,7 g) y (1-aminopropan-2-il)carbamato de *terc*-butilo (1,5 g) en etanol (50 ml) a 70 °C durante 16 h. La mezcla se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de un 0-20 % de metanol en cloruro de metileno para dar una espuma blanquecina (1,28 g). El producto se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional: ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,67 (dd, 2H, $J= 8,7, 2,7$ Hz), 7,42-7,37 (m, 2H), 7,22 (td, 2H, $J= 9,0, 2,7$ Hz), 4,55-4,30 (m, 3H), 4,13 (m, 1H), 3,78 (s a, 1H), 2,88 y 2,82 (dd, 1H, $J= 12,0, 3,6$ Hz), 2,70-2,50 (m, 3H), 1,45 (s, 9H), 1,13 y 1,11 (d, 3H, $J= 6,6$ Hz); ESI (m/z): 434,0 (M+H).

10

Preparación 30: 3-(ciclopropilamino)propanonitrilo

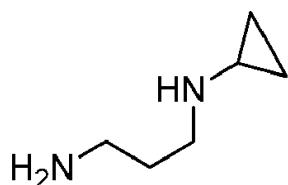


20

Se añadió lentamente ciclopropilamina (4,214 ml, 60,8 mmol, 1,0 equiv.) a una solución de acrilonitrilo (4,840 g, 91,2 mmol, 1,5 equiv.) en metanol (7 ml) a temperatura ambiente y se agitó durante 30 min. La reacción se calentó hasta reflujo y se agitó durante 1 hora, se enfrió, se concentró y se destiló al vacío para dar 5,5 g de líquido transparente (5,5 g, 82 %). ^1H RMN (300MHz; CDCl_3): δ 2,99 (t, 2H, $J= 6,3$ Hz), 2,51 (t, 2H, $J= 6,3$ Hz), 2,12 (m, 1H), 1,78 (s a, 1H), 0,49-0,32 (m, 4H); ESI (m/z): 111,5 (M+H).

25

Preparación 31: *N*1-ciclopropilpropano-1,3-diamina



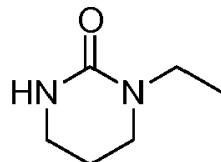
30

A una suspensión enfriada (0 °C) de hidruro de litio y aluminio (3,445 g, 90,8 mmol, 2,0 equiv.) en tetrahidrofurano anhídrido (120 ml) se añadió lentamente durante diez minutos una solución de 3-(ciclopropilamino)propanonitrilo (5,000 g, 45,4 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofurano anhídrido (20 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min, después se calentó hasta reflujo y se agitó durante 3 horas. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se añadió sulfato de sodio decahidrato hasta que se detuvo la formación de espuma. La suspensión se agitó durante

35

10 min y los sólidos se retiraron por filtración (lavando con tetrahidrofurano). La solución se concentró a presión reducida para dar un producto en bruto, que se usó directamente en la siguiente etapa. ^1H RMN (300MHz, CDCl_3): δ 2,74-2,69 (m, 4H), 2,10-2,04 (m, 1H), 1,65-1,56 (m, 2H), 0,43-0,27 (m, 4H); ESI (m/z): 115,4 (M+H).

Preparación 32: 1-etiltetrahidropirimidin-2(1H)-ona; método general para la síntesis de ureas de diaminas

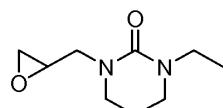


- 5 Con agitación vigorosa, la 1,3-propanodiamina o 1,2-etilendiamina *N*-funcionalizada apropiada (10,0 mmol, 1,0 equiv.) se añadió a una solución de 1,1'-carbonildiimidazol (1,622 g, 10,0 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofurano anhidro (0,05 M), que se mantuvo a 0 °C con un baño de hielo externo. La solución se dejó calentar lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. La mezcla se trató mediante: i) la mezcla se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna eluyendo del gel de sílice con un gradiente de metanol en cloruro de metileno para dar el producto deseado; o ii) la mezcla se diluyó con acetato de etilo y se lavó sucesivamente dos veces con ácido clorhídrico acuoso 1 N y una vez con cloruro de sodio acuoso saturado, se volvió a extraer la capa orgánica una vez con acetato de etilo, se secaron las fracciones orgánicas combinadas sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para producir el producto deseado, que se usó sin purificación adicional.
- 10

Estructura	Nombre	Caracterización
	1-etiltetrahidropirimidin-2(1H)-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 4,74 (s a, 1H), 3,40-3,33 (c, 2H, $J = 6,9$ Hz), 3,29-3,23 (m, 4H), 1,97-1,89 (quin, 2H, $J = 5,9$ Hz), 1,14-1,09 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz).
	1-ethylimidazolidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 3,44 (s a, 4H), 3,28-3,21 (c, 2H, $J = 7,4$ Hz), 2,08 (s 1H), 1,15-1,10 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz).
	1-cyclohexylimidazolidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 4,47 (s, 1H), 3,73-3,66 (m, 1H), 3,44-3,35 (m, 4H), 1,81-1,63 (m, 5H), 1,45-1,26 (m, 4H), 1,14-1,04 (m, 1H).
	1-fenylimidazolidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,55-7,52 (m, 2H), 7,37-7,30 (m, 2H), 7,08-7,02 (m, 1H), 4,88 (s, 1H), 3,98-3,93 (m, 2H), 3,61-3,56 (t, 2H, $J = 7,7$ Hz).
	1-isopropylimidazolidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 4,70 (s, 1H), 4,20-4,07 (sept, 1H, $J = 6,9$ Hz), 3,40-3,35 (m, 4H), 1,14-1,12 (d, 6H, $J = 6,9$ Hz).
	1-cyclopentylimidazolidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 4,45 (s, 1H), 4,32-4,24 (m, 1H), 3,42-3,41 (m, 4H), 1,87-1,77 (m, 2H), 1,71-1,45 (m, 6H).
	1-cyclopropylimidazolidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 4,72 (s, 1H), 3,39-3,32 (m, 4H), 2,51-2,36 (m, 1H), 0,76-0,63 (m, 4H).
	1-cyclobutylimidazolidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 4,80 (s, 1H), 4,49-4,37 (m, 1H), 3,53-3,37 (m, 4H), 2,19-2,03 (m, 4H), 1,69-1,60 (m, 2H).

Estructura	Nombre	Caracterización
	1-cyclopropyltetrahydropyrimidin-2(1H)-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 3,57-3,52, 3,06-3,01 (ABq, 2H, J = 14,4 Hz), 3,42 (m, 4H), 2,68-2,67, 2,61-2,60 (ABq, 2H, J = 4,5 Hz), 2,43-2,36 (m, 1H), 1,33 (s, 3H), 0,74-0,62 (m, 4H); ESI (m/z): 197,1 ($\text{M}^+ + \text{H}$).
	1-cyclobutyltetrahydropyrimidin-2(1H)-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 4,98-4,87 (quin, 1H, J = 8,9 Hz), 4,76 (s a, 1H), 3,30-3,23 (m, 4H), 2,13-2,04 (m, 4H), 1,96-1,88 (m, 2H), 1,66-1,58 (m, 2H).

Preparación 31: 1-etil-3-(oxiran-2-ilmetil)tetrahydropyrimidin-2(1H)-ona; método general para la preparación de ureas (oxiran-2-ilmetil)-funcionalizadas



5

A una solución de 1-etiltetrahydropyrimidin-2(1H)-ona, o la urea cíclica alternativa generada en la preparación 6 (1,0 equiv.), en tetrahidrofurano anhídrido (0,2 M) se añadió hidruro de sodio al 60 % en aceite de vaselina (1,1 equiv.) y la suspensión resultante se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Se añadió epibromohidrina (3,0 equiv.) y la mezcla se agitó durante 24 h a temperatura ambiente o 35 °C. Se añadió gel de sílice y la suspensión se concentró a presión reducida y se purificó directamente por cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo el producto deseado con un gradiente apropiado de metanol en cloruro de metileno.

Estructura	Nombre	Caracterización
	1-ethyl-3-(oxiran-2-ilmetil)tetrahydropyrimidin-2(1H)-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 3,95-3,90 (m, 1H), 3,44-3,20 (m, 6H), 3,11-3,00 (m, 2H), 2,73-2,70 (m, 1H), 2,49-2,47 (m, 1H), 1,96-1,88 (m, 2H), 1,09-1,04 (m, 3H).
	1-cyclohexyl-3-(oxiran-2-ilmetil)imidazolidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 3,78-3,72 (dd, 1H, J = 2,6, 14,6 Hz), 3,71-3,66 (m, 1H), 3,50-3,41 (m, 1H), 3,35-3,25 (m, 3H), 3,11-3,05 (m, 1H), 2,98-2,90 (dd, 1H, J = 6,6, 14,7 Hz), 2,78-2,75 (dd, 1H, J = 4,1, 4,5 Hz), 2,57-2,54 (dd, 1H, J = 2,3, 5,0 Hz), 1,80-1,62 (m, 5H), 1,40-1,30 (m, 4H), 1,09-1,05 (m, 1H).
	1-(oxiran-2-ilmetil)-3-fenylimidazolidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,56-7,52 (m, 2H), 7,36-7,30 (m, 2H), 7,07-7,01 (m, 1H), 3,92-3,79 (m, 3H), 3,73-3,65 (m, 1H), 3,59-3,46 (m, 1H), 3,18-3,05 (m, 2H), 2,83-2,80 (t, 1H, J = 4,2 Hz), 2,63-2,60 (dd, 1H, J = 2,6, 4,7 Hz).
	1-isopropyl-3-(oxiran-2-ilmetil)imidazolidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 4,21-4,08 (sept, 1H, J = 6,8 Hz), 3,78-3,73 (dd, 1H, J = 2,7, 14,7 Hz), 3,52-3,24 (m, 4H), 3,11-3,06 (m, 1H), 2,98-2,91 (dd, 1H, J = 6,6, 14,7 Hz), 2,79-2,76 (dd, 1H, J = 3,6, 4,8 Hz), 2,57-2,55 (dd, 1H, J = 2,7, 4,5 Hz), 1,47-1,12 (dd, 6H, J = 1,2, 6,9 Hz).
	1-ciclopentyl-3-(oxiran-2-ilmetil)imidazolidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 4,32-4,22 (quint, 1H, J = 8,0 Hz), 3,78-3,72 (dd, 1H, J = 2,7, 14,7 Hz), 3,51-3,26 (m, 4H), 3,09-3,06 (m, 1H), 2,97-2,90 (dd, 1H, J = 6,5, 14,6 Hz), 2,78-2,75 (t, 1H, J = 4,4 Hz), 2,57-2,54 (dd, 1H, J = 2,6, 4,7 Hz), 1,84-1,47 (m, 8H).
	1-ciclopropil-3-(oxiran-2-ilmetil)imidazolidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 3,76-3,70 (dd, 1H, J = 3,0, 14,7 Hz), 3,47-3,28 (m, 4H), 3,09-3,03 (m, 1H), 2,97-2,90 (dd, 1H, J = 6,3, 14,7 Hz), 2,77-2,74 (t, 1H, J = 4,5 Hz), 2,56-2,53 (dd, 1H, J = 2,7, 4,8 Hz), 2,43-2,36 (m, 1H), 0,73-0,61 (m, 4H).

Estructura	Nombre	Caracterización
	1-ciclobutil-3-(oxiran-2-ylmethyl)imidazolidin-2-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 4,50-4,38 (quint, 1H, $J = 8,7$ Hz), 3,77-3,71 (dd, 1H, $J = 2,6, 14,6$ Hz), 3,51-3,33 (m, 5H), 3,10-3,04 (m, 1H), 2,98-2,91 (dd, 1H, $J = 6,6, 14,7$ Hz), 2,78-2,75 (t, 1H, $J = 4,4$ Hz), 2,57-2,54 (dd, 1H, $J = 2,6, 5,0$ Hz), 2,18-2,04 (m, 4H), 1,70-1,59 (m, 2H).
	1,5-dimetil-3-(oxiran-2-ylmethyl)tetrahydropirimidin-2(1H)-ona	IEN (m/z): 185,1 ($\text{M}+\text{H}$).

Preparación 32: 1-etil-3-((2-metioxiran-2-il)metil)tetrahydropirimidin-2(1H)-ona; método general para la preparación de ureas N-((2-metioxiran-2-il)metil)-funcionalizadas

- 5 A una solución de urea cíclica generada en la preparación 7 (1,0 equiv.), en tetrahidrofurano anhidro (0,2 M) se añadió hidruro de sodio al 60 % en aceite de vaselina (1,1 equiv.) y la suspensión resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. Se añadió 2-(clorometil)-2-metioxirano (4,0 equiv.) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó a 70-90 °C en un tubo sellado durante una noche. Se añadió gel de sílice y la suspensión se concentró a presión reducida y se purificó directamente por chromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo el producto deseado con un gradiente de metanol en cloruro de metileno.
- 10

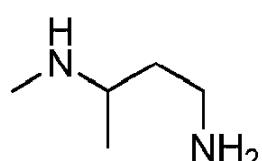
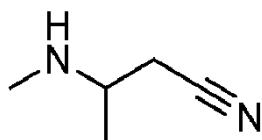
Estructura	Nombre	Caracterización
	1-etil-3-((2-metioxiran-2-il)metil)tetrahydropirimidin-2(1H)-ona	^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 3,78-3,73 (d, 1H, $J = 14,7$ Hz), 3,40-3,24 (m, 7H), 2,63-2,61 y 2,59-2,57 (ABq, 2H, $J = 4,8$ Hz), 1,97-1,89 (quint, 2H, $J = 5,9$ Hz), 1,31 (s, 3H), 1,11-1,08 (m, 3H).

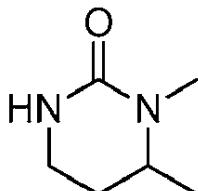
Preparación 33: 3-(metilamino)butanonitrilo

- 15
- 20 Una mezcla de metilamina (158,584 ml de una solución acuosa al 40 % p/p, 1842,3 mmol, 10,0 equiv.) y crotononitrilo (15 ml, 184,2 mmol, 1,0 equiv.) se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La reacción se extrajo con cloruro de metileno (3 x 100 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío para producir el producto deseado como un aceite incoloro (18 g, 100 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 2,96 (m, 1H), 2,47 (d, 2H, $J = 6,0$ Hz), 2,46 (s, 3H), 1,36 (d, 3H, $J = 6,6$ Hz).

Preparación 34: N3-metilbutano-1,3-diamina

- 25
- 30 Un matraz de agitador Parr se cargó con metanol (100 ml), se enfrió hasta 0 °C y se burbujeó con amoniaco. Se añadieron 3-(metilamino)butanonitrilo (4,8 g, 48,9 mmol, 1,0 equiv.) y una cucharada de Ni Raney. La reacción se agitó en atmósfera de hidrógeno a 344,73 kPa (50 psi) durante 10 h. La reacción se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró al vacío para producir un aceite transparente (5,0 g, 100 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 2,90-2,60 (m, 3H), 2,43 (s, 3H), 1,70-1,40 (m, 2H), 1,08 (d, 3H, $J = 6,0$ Hz).



Preparación 35: 1,6-dimetiltetrahidropirimidin-2(1H)-ona

5 A una solución agitada de *N*3-metilbutano-1,3-diamina (5,0 g, 48,9 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofurano anhídrico (100 ml) a 0 °C se añadió 1,1'-carbonildiimidazol (7,935 g, 48,9 mmol, 1,0 equiv.). La mezcla se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. La reacción se concentró a presión reducida y el residuo se trató con cloruro de amonio acuoso saturado y se extrajo dos veces con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con cloruro de sodio acuoso saturado, se secaron sobre sulfato de sodio anhídrico, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice (0-20 % de etanol/cloruro de metileno) para producir el producto deseado como un sólido blanco (1,8 g, 29 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 4,66 (s a, 1H), 3,53-3,35 (m, 2H), 3,25 (m, 1H), 2,95 (s, 3H), 2,05 (m, 1H), 1,70 (m, 1H), 1,24 (d, 3H, J = 6,3 Hz).

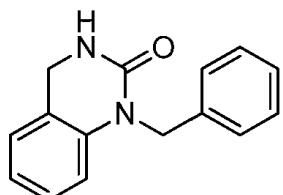
10

15 Preparación 36: 2-(aminometil)-*N*-bencilanilina



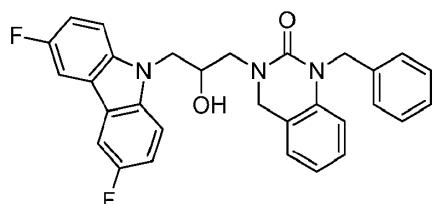
20 En una atmósfera de nitrógeno, se añadió una solución de 2-(bencilamino)benzonitrilo (4,0 g, 19,2 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofurano anhídrico (25 ml) lentamente a una suspensión fría (0 °C) de hidruro de litio y aluminio (2,187 g, 57,6 mmol, 3,0 equiv.) en tetrahidrofurano anhídrico (60 ml). La mezcla se enfrió y se añadió sulfato de sodio decahidrato hasta que se detuvo la formación de espuma (enfriando con baño de agua/hielo externo). La mezcla se filtró para retirar los sólidos y la solución se concentró al vacío hasta un líquido transparente (3,2 g, 79 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,42-7,23 (m, 5H), 7,17-7,11 (td, 1H, J = 1,8, 7,5 Hz), 7,07-7,04 (m, 1H), 6,68-6,61 (m, 2H), 6,29 (s a, 1H), 4,40 (s, 2H), 3,99 (s, 2H), 1,31 (s a, 2H).

25

Preparación 37: 1-bencil-3,4-dihidroquinazolin-2(1H)-ona

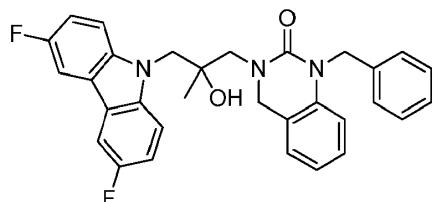
30 A una solución de 2-(aminometil)-*N*-bencilanilina (1,5 g, 7,1 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofurano anhídrico (142 ml) se añadió 1,1'-carbonildiimidazol (1,318 g, 8,1 mmol, 1,1 equiv.) y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Se añadió ácido clorhídrico acuoso 1 N (20 ml) y la mezcla se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las fracciones orgánicas se secaron con sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío para producir un sólido blanco (1,68 g, 99 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,33-7,20 (m, 5H), 7,11-7,03 (m, 2H), 6,95-6,91 (m, 1H), 6,74-6,71 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 5,13 (s, 2H), 4,54 (s, 2H), 1,60 (s a, 2H). ESI (m/z): 239,2 (M+H).

35

Preparación 38: 1-bencil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,4-dihidroquinazolin-2(1H)-ona

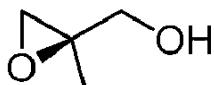
A una solución agitada de 1-bencil-3,4-dihidroquinazolin-2(1H)-ona (0,105 g, 0,4 mmol, 1,8 equiv.) en dimetilformamida anhidra (1 ml) se añadió hidruro de sodio al 60 % en aceite de vaselina (0,01 g, 0,3 mmol, 1,0 equiv.) y la mezcla se agitó durante 30 min. Se añadió 3,6-difluoro-9-(oxiran-2-ilmetil)-9H-carbazol (0,065 g, 0,3 mmol, 1,0 equiv.) y la mezcla se agitó durante 16 h a 55 °C. La mezcla se vertió en cloruro de amonio acuoso saturado y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las fracciones orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron para producir un aceite castaño. El residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de un 20-60 % de acetato de etilo/hexanos para dar un producto que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional (35 %). IEN (m/z): 498,2 (M+H); análisis de HPLC: (C₁₈, 5-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 15,2 min, 51 %.

Preparación 39: 1-bencil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3,4-dihidroquinazolin-2(1H)-ona



A una solución agitada de 1-bencil-3,4-dihidroquinazolin-2(1H)-ona (0,099 g, 0,4 mmol, 1,8 equiv.) en dimetilformamida anhidra (1 ml) se añadió hidruro de sodio al 60 % en aceite de vaselina (0,01 g, 0,3 mmol, 1,0 equiv.) y la mezcla se agitó durante 30 min. Se añadió 3,6-difluoro-9-((2-metiloxiran-2-il)metil)-9H-carbazol (0,065 g, 0,2 mmol, 1,0 equiv.) y la mezcla se agitó a 55 °C durante 16 h. La mezcla se vertió en cloruro de amonio acuoso saturado y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las fracciones orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para producir un aceite castaño. El residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de un 20-60 % de acetato de etilo/hexanos para dar un sólido blanquecino (0,086 g, 65 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7,66-7,62 (dd, 2H, J = 2,4, 8,7 Hz), 7,45-7,40 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,30-7,09 (m, 8H), 7,04-6,93 (m, 2H), 6,75-6,72 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 5,20-5,15 y 5,08-5,03 (ABq, 2H, J = 16,6 Hz), 4,74-4,69 y 4,59-4,54 (ABq, 2H, J = 14,3 Hz), 4,39-4,34 y 4,32-4,26 (ABq, 2H, J = 15,3 Hz), 4,09 (s, 1H), 3,97-3,93 y 3,51-3,47 (ABq, 2H, J = 14,4 Hz), 1,36 (s, 3H); ESI (m/z): 512,3 (M+H).

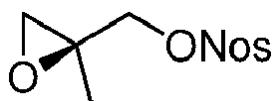
Preparación 40: (R)-(2-metiloxiran-2-il)metanol



Una mezcla de tamices moleculares activados de 4 Å triturados (15,0 g) y cloruro de metileno (300 ml) se enfrió hasta -10 °C, se añadió isopropóxido de titanio(IV) (2,072 ml, 7,0 mmol, 0,05 equiv.) y (-)-dietyl-D-tartrato (2,126 g, 10,3 mmol, 0,07 equiv.) mediante una jeringa seguido de hidroperóxido de cumeno al 80 % (50,000 g, 262,8 mmol, 1,8 equiv.). La mezcla se agitó a -10 °C durante 30 min. La mezcla se enfrió hasta -35 °C y se añadió una solución de 2-metil-2-propen-1-ol (10,620 g, 147,3 mmol, 1,0 equiv.) en diclorometano (10 ml) mediante una jeringa, en porciones de 1-2 ml durante 30 min. La mezcla de reacción se agitó a -35 °C durante 1 h y después se puso en un congelador a -20 °C durante 3 días. La mezcla se calentó hasta 0 °C, se añadió agua y se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. La mezcla se enfrió hasta 0 °C y se añadió una solución de hidróxido de sodio al 30 % en cloruro de sodio acuoso saturado (10 ml) y se agitó a esta temperatura durante 1 h. La mezcla se filtró a través de una capa de Celite y se lavó con cloruro de metileno (50 ml). La parte acuosa se separó y se extrajo con cloruro de metileno (3 x 30 ml). La capa orgánica se combinó y se secó (sulfato de magnesio anhidro), se filtró y se concentró al vacío hasta un líquido incoloro. El residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de un 20-100 % de éter dietílico/hexanos para dar un aceite incoloro (6,2349 g 48 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 3,76 (dd, 1H, J = 4,5, 12,3 Hz), 3,6 (dd, 1H, J = 8,1, 12,3 Hz), 2,92 (d, 1H, J = 4,5 Hz), 2,66 (d, 1H, J = 4,8 Hz), 1,79 (a m, 1H), 1,36 (s, 3H).

El enantiómero (S) se sintetizó de una manera similar a partir del tartrato de (+)-diétilo.

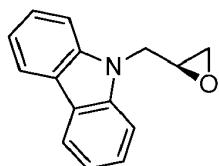
Preparación 41: (S)-(2-metiloxiran-2-il)methyl 3-nitrobencenosulfonato



A una solución agitada de (*R*)-(2-metiloxiran-2-il)metanol (5,000 g, 56,8 mmol, 1,0 equiv.), *N,N*-dimetilaminopiridina (0,100 g, 0,8 mmol, 1,4 % mol) y *N,N*-diisopropiletilamina (15,776 ml, 88,9 mmol, 2,0 equiv.) en cloruro de metileno anhídrico (100 ml) a -20 °C se añadió lentamente cloruro de 3-nitrobencenosulfonilo (15,092 g, 68,1 mmol, 1,2 equiv.) en pequeñas porciones durante 15 min. La mezcla se dejó alcanzar 0 °C y se agitó durante 3 h. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas se lavaron secuencialmente con agua, ácido clorhídrico acuoso 1 N, bicarbonato de sodio acuoso saturado y cloruro de sodio acuoso saturado. La capa orgánica se secó (sulfato de sodio anhídrico), se filtró y se concentró al vacío. El residuo en bruto se purificó mediante columna de gel de sílice (0-80 % de acetato de etilo/hexanos) para producir el producto deseado como un aceite amarillo (6,73 g, 43,4 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8,77 (t, 1H, *J* = 1,8 Hz), 8,54 (m, 1H), 8,27 (m, 1H), 7,84 (t, 1H, *J* = 7,95 Hz), 4,29 (d, 1H, *J* = 11,1 Hz), 4,05 (d, 1H, *J* = 11,1 Hz), 2,73 (dd, 2H, *J* = 17,7, 4,8 Hz), 1,37 (s, 3H).

El enantiómero (*R*) se sintetizó de una manera similar.

15 Preparación 42: (*S*)-9-(oxiran-2-ilmetil)-9H-carbazol



20 A una solución agitada de carbazol (5,15 g, 30,8 mmol, 1,0 equiv.) en dimetilformamida anhídrica (100 ml) a 0 °C se añadió hidruro de sodio al 60 % en aceite de vaselina (1,355 g, 33,9 mmol, 1,1 equiv.) y la mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h. Se añadió nosilato de (*R*)-(–)-glicidilo (9,981 g, 38,5 mmol, 1,3 equiv.) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h y después se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. La mezcla se repartió entre agua y acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado, se secó (sulfato de sodio anhídrico), se filtró y se concentró a presión reducida para dar un aceite rojo. El residuo en bruto se purificó mediante columna de gel de sílice (15-80 % de cloruro de metileno/hexanos) para producir el producto deseado como un sólido blanco (4,95 g, 72 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8,11-8,08 (dt, 2H, *J* = 0,9, 7,5 Hz), 7,48-7,46 (m, 4H), 7,28-7,23 (m, 2H), 4,67-4,61 (dd, 1H, *J* = 2,4, 15,9 Hz), 4,45-4,38 (dd, 1H, *J* = 5,0, 15,9 Hz), 3,39-3,34 (m, 1H), 2,83-2,80 (t, 1H, *J* = 4,2 Hz), 2,60-2,57 (dd, 1H, *J* = 2,4, 4,8 Hz). Análisis de HPLC: (C18, 5-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 13,2 min, 99,5 %. Análisis de HPLC quiral: (Chiralcel AD-H, 5-15 % de isopropanol en hexanos durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 8,12 min, 3,8 %; 8,54 min, 96,1 % (92,2 % ee).

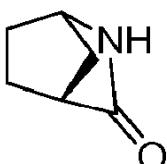
25

30

Los siguientes compuestos se prepararon de forma análoga:

Estructura	Nombre	Caracterización
	(<i>R</i>)-9-(oxiran-2-ilmetil)-9H-carbazol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 8,11-8,08 (dt, 2H, <i>J</i> = 0,9, 7,5 Hz), 7,48-7,46 (m, 4H), 7,28-7,23 (m, 2H), 4,67-4,61 (dd, 1H, <i>J</i> = 2,4, 15,9 Hz), 4,45-4,38 (dd, 1H, <i>J</i> = 5,0, 15,9 Hz), 3,39-3,34 (m, 1H), 2,83-2,80 (t, 1H, <i>J</i> = 4,2 Hz), 2,60-2,57 (dd, 1H, <i>J</i> = 2,4, 4,8 Hz); análisis de HPLC: (C18, 5-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 13,2 min, 99,4 %; análisis de HPLC quiral: (Chiralcel AD-H, 5-15 % de isopropanol en hexanos durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 8,13 min, 94,9 %; 8,55 min, 5,0 % (89,9 % ee).
	(<i>S</i>)-3,6-difluoro-9-(oxiran-2-ilmetil)-9H-carbazol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,65 (dd, 2H, <i>J</i> = 2,6, 8,6 Hz), 7,39-7,35 (dd, 2H, <i>J</i> = 4,2, 9,0 Hz), 7,24-7,18 (td, 2H, <i>J</i> = 2,6, 9,0 Hz), 4,69-4,62 (dd, 1H, <i>J</i> = 2,9, 5,0 Hz), 4,33-4,26 (dd, 1H, <i>J</i> = 5,0, 16,1 Hz), 3,35-3,31 (m, 1H), 2,84-2,81 (t, 1H, <i>J</i> = 4,2 Hz), 2,54-2,52 (dd, 1H, <i>J</i> = 2,6, 4,7 Hz); análisis de HPLC: (C18, 5-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 13,8 min, 100 %; análisis de HPLC quiral: (Chiralcel OD-H, 25 % de isopropanol en hexanos durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 7,7 min, 1,8 %; 10,1 min, 98,2 % (96,4 % ee).

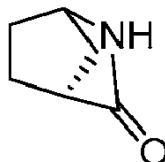
Estructura	Nombre	Caracterización
	(<i>R</i>)-3,6-difluoro-9-(oxiran-2-il)metil-9H-carbazol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,65 (dd, 2H, <i>J</i> = 2,6, 8,6 Hz), 7,39-7,35 (dd, 2H, <i>J</i> = 4,2, 9,0 Hz), 7,24-7,18 (td, 2H, <i>J</i> = 2,6, 9,0 Hz), 4,69-4,62 (dd, 1H, <i>J</i> = 2,9, 5,0 Hz), 4,33-4,26 (dd, 1H, <i>J</i> = 5,0, 16,1 Hz), 3,35-3,31 (m, 1H), 2,84-2,81 (t, 1H, <i>J</i> = 4,2 Hz), 2,54-2,52 (dd, 1H, <i>J</i> = 2,3, 4,7 Hz); análisis de HPLC: (C18, 5-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 13,7 min, 100 %; análisis de HPLC quiral: (Chiralcel OD-H, 25 % de isopropanol en hexanos durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 7,7 min, 98,8 %; 10,2 min, 1,2 % (97,5 % ee).
	(<i>R</i>)-9-((2-methyloxiran-2-yl)methyl)-9H-carbazol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 8,09-8,12 (m, 2H), 7,49 (d, 4H, <i>J</i> = 3,9 Hz), 7,23-7,28 (m, 2H), 4,63 (d, 1H, <i>J</i> = 15,9 Hz), 4,32 (d, 1H, <i>J</i> = 15,9 Hz), 2,69 (s, 2H), 1,33 (s, 3H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 13,65 min, 89,2 %; análisis de HPLC quiral (Phenomenex Lux 3μ celulosa-2, 4 % de isopropanol en hexanos durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 6,94 min, 90,0 %, 7,83 min, 10,0 % (80,0 % ee).
	(<i>S</i>)-9-((2-methyloxiran-2-yl)methyl)-9H-carbazol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 8,09-8,12 (m, 2H), 7,49 (d, 4H, <i>J</i> = 3,9 Hz), 7,23-7,28 (m, 2H), 4,63 (d, 1H, <i>J</i> = 15,9 Hz), 4,32 (d, 1H, <i>J</i> = 15,9 Hz), 2,69 (s, 2H), 1,33 (s, 3H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 13,68 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Phenomenex Lux 3μ celulosa-2, 4 % de isopropanol en hexanos durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 6,95 min, 7,1 %, 7,83 min, 92,9 % (85,8 % ee).
	(<i>R</i>)-3,6-difluoro-9-((2-methyloxiran-2-yl)methyl)-9H-carbazol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69 (dd, 2H, <i>J</i> = 9,0, 2,4 Hz), 7,42 (dd, 2H, <i>J</i> = 8,7, 3,9 Hz), 7,25 (td, 2H, <i>J</i> = 9,0, 2,4 Hz), 4,63 (d, 1H, <i>J</i> = 15,9 Hz), 4,23 (d, 1H, <i>J</i> = 15,9 Hz), 2,69 (dd, 2H, <i>J</i> = 15,3, 4,8 Hz), 1,31 (s, 3H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 14,1 min, 98,4 %; análisis de HPLC quiral: (Chiralcel AD-H, 4 % de etanol en hexanos durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,7 min, 95,4 %; 15,7 min, 4,6 % (90,8 % ee).
	(<i>S</i>)-3,6-difluoro-9-((2-methyloxiran-2-yl)methyl)-9H-carbazol	¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69 (dd, 2H, <i>J</i> = 9,0, 2,4 Hz), 7,42 (dd, 2H, <i>J</i> = 8,7, 3,9 Hz), 7,25 (td, 2H, <i>J</i> = 9,0, 2,4 Hz), 4,63 (d, 1H, <i>J</i> = 15,9 Hz), 4,23 (d, 1H, <i>J</i> = 15,9 Hz), 2,69 (dd, 2H, <i>J</i> = 15,3, 4,8 Hz), 1,31 (s, 3H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 14,1 min, 100 %; análisis de HPLC quiral: (Chiralcel AD-H, 4 % de etanol en hexanos durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,7 min, 4,4 %; 15,9 min, 95,6 % (91,2 % ee).

Preparación 43: (*1S, 4R*)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona

5

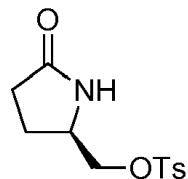
Una mezcla de (*1R*)-(-)-2-azabiciclo[2.2.1]hept-5-en-3-ona (1,0 g, 9,2 mmol) y paladio al 10 % sobre carbono (0,4 g) en metanol (50 ml) se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 3 h. La mezcla se filtró a través de Celite y la torta de filtro se lavó con metanol. Los extractos orgánicos combinados se concentraron al vacío para producir el producto requerido (1 g, 98 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 5,91 (s a, 1H), 3,89 (s, 1H), 2,74 (s, 1H), 1,96-1,59 (m, 5H), 1,42-1,37 (m, 1H).

10

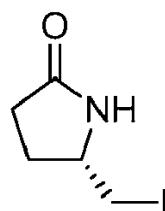
Preparación 44: (1*R*,4*S*)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona

- 5 Una mezcla de (*1S*)-(+)-2-azabiciclo[2.2.1]hept-5-en-ona (1,0 g, 9,2 mmol, 1,0 equiv.) y paladio al 10 % sobre carbono (0,4 g) en metanol (40 ml) se agitó en una atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se filtró a través de Celite y la torta de filtro se lavó con metanol. Los extractos orgánicos combinados se concentraron al vacío para producir el producto requerido (1 g, 98 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 5,83 (s a, 1H), 3,89 (s, 1H), 2,74 (s, 1H), 1,96-1,59 (m, 5H), 1,42-1,38 (m, 1H).

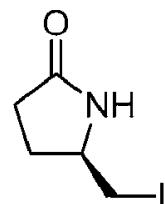
10

Preparación 45: p-toluenosulfonato de (*R*)-5-(hidroximetil)-2-pirrolidinona

- 15 Se disolvió (*R*)-(-)-5-(hidroximetil)-2-pirrolidinona (1,0 g, 8,7 mmol, 1,0 equiv.) en cloruro de metileno (40 ml). Se añadieron trietilamina (1,569 ml, 11,3 mmol, 1,3 equiv.), cloruro de p-toluenosulfonilo (1,904 g, 10,0 mmol, 1,1 equiv.) y 4-(dimetilamino)piridina (0,12 g) en enfriamiento con hielo, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida, se añadió ácido clorhídrico acuoso 0,5 N, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con ácido clorhídrico acuoso 0,5 N, agua, hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y cloruro de sodio acuoso saturado. La fracción orgánica se secó (sulfato de sodio anhídrico), se filtró y se concentró a presión reducida para producir un sólido blanco (1,91 g, 81 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,79-7,76 (m, 2H), 7,38-7,35 (m, 2H), 5,73 (s a, 1H), 4,08-4,04 (dd, 1H, J = 3,5, 9,5 Hz), 3,98-3,93 (m, 1H), 3,85-3,82 (dd, 1H, J = 7,5, 9,5 Hz), 2,47 (s, 3H), 2,36-2,22 (m, 3H), 1,81-1,73 (m, 1H).
- 20

25 Preparación 46: (*S*)-5-(yodometil)pirrolidin-2-ona

- 30 Se disolvió 4-metilbencenosulfonato de (*S*)-(5-oxopirrolidin-2-il)metilo (4,5 g, 16,7 mmol, 1,0 equiv.) en acetonitrilo anhídrico (140 ml), se añadió yoduro de sodio (5,009 g, 33,4 mmol, 2,0 equiv.) y la mezcla se calentó hasta refluo durante 8 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se concentró a presión reducida, se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con tiosulfato de sodio acuoso saturado, agua y cloruro de sodio acuoso saturado. La fracción orgánica se secó (sulfato de sodio anhídrico), se filtró y se concentró al vacío para dar el compuesto del título como un sólido blanco (2,0 g, 53 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 6,42 (s a, 1H), 3,90-3,82 (s, 1H), 3,27-3,16 (m, 2H), 2,53-2,29 (m, 3H), 1,88-1,17 (m, 1H).
- 35

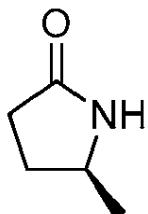
Preparación 47: (*R*)-5-(yodometil)pirrolidin-2-ona

40

- Se disolvió p-toluenosulfonato de (*R*)-5-(hidroximetil)-2-pirrolidinona (1,9 g, 7,1 mmol, 1,0 equiv.) en acetonitrilo anhídrico (60 ml), se añadió yoduro de sodio (2,09 g) y la mezcla se calentó a refluo durante 8 h. La mezcla de reacción se

enfrió hasta temperatura ambiente, se concentró a presión reducida, se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con tiosulfato de sodio acuoso saturado, agua y cloruro de sodio acuoso saturado. La fracción orgánica se secó (sulfato de sodio anhidro), se filtró y se concentró al vacío para dar el compuesto del título como un sólido blanquecino (0,97 g, 61 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 5,92 (s a, 1H), 3,89-3,85 (m, 1H), 3,28-3,15 (m, 2H), 2,53-2,30 (m, 3H), 1,88-1,78 (m, 1H).

5

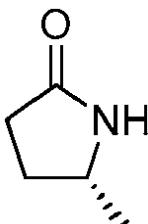
Preparación 48: (*R*)-5-metilpirrolidin-2-ona

10 Se disolvió (*S*)-5-(yodometil)pirrolidin-2-ona (2,0 g, 8,9 mmol, 1,0 equiv.) en etanol (60 ml), se añadió carbonato de sodio (1,036 g, 9,8 mmol, 1,1 equiv.) y paladio al 10 % sobre carbono (0,4 g) y la mezcla se agitó durante 16 h en una atmósfera de hidrógeno. La mezcla se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró a presión reducida para producir un semisólido naranja. Al residuo obtenido se añadió tiosulfato de sodio acuoso al 5 %, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó (sulfato de sodio anhidro), se filtró y se concentró al vacío para dar el compuesto del título como un aceite amarillo pálido (0,564 g, 64 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 6,61 (s a, 1H), 3,82-3,72 (sext, 1H, J = 6,6 Hz), 2,45-2,22 (m, 3H), 1,71-1,59 (m, 1H), 1,23-1,21 (d, 3H, J = 6,6 Hz).

15

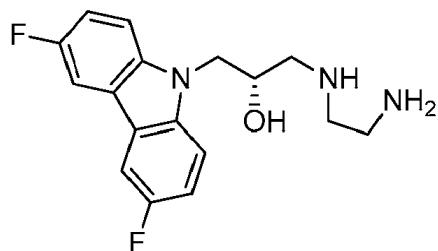
Preparación 49: (*S*)-5-metilpirrolidin-2-ona

20



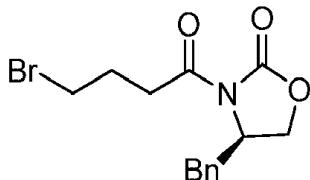
25 Se disolvió (*S*)-5-yodometilpirrolidin-2-ona (1,12 g) en etanol (30 ml), se añadió carbonato de sodio (0,53 g) y paladio al 10 % sobre carbono (0,22 g) y la mezcla se agitó durante 8 h en una atmósfera de hidrógeno. La mezcla se filtró a través de Celite, y el filtrado se concentró a presión reducida. Al residuo obtenido se añadió tiosulfato de sodio acuoso al 5 %, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó (sulfato de sodio anhidro), se filtró y se concentró al vacío para dar el compuesto del título (0,263 g, 61 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 6,34 (s a, 1H), 3,83-

30 3,72 (sext, 1H, J = 6,3 Hz), 2,46-2,21 (m, 3H), 1,72-1,60 (m, 1H), 1,23-1,21 (d, 3H, J = 6,0 Hz).

Preparación 50: (*S*)-1-((2-aminoethyl)amino)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)propan-2-ol

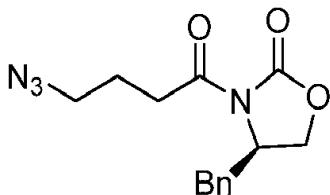
35 Una mezcla de (*R*)-3,6-difluoro-9-(oxiran-2-ilmetil)-9H-carbazol (0,1 g, 0,4 mmol, 1,0 equiv.) y etilendiamina (0,232 g, 3,9 mmol, 10,0 equiv.) en etanol (2 ml) se agitó a 55 °C durante 5 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, y se concentró al vacío para producir un jarabe amarillo claro que solidificó lentamente para formar un sólido blanquecino (0,122 g, 96 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,68 (dd, 2H, J = 8,7, 2,7 Hz), 7,42 (dd, 2H, J = 8,7, 4,2 Hz), 7,22 (td, 2H, J = 9,0, 2,7 Hz), 4,33-4,31 (d, 2H, J = 5,4 Hz), 4,15 (m, 1H), 2,85-2,55 (m, 6H) 1,84 (s a, 4H). ESI (m/z): 320,2 ($M+H$).

40

Preparación 51: (R)-4-bencil-3-(4-bromobutanoil)oxazolidin-2-ona

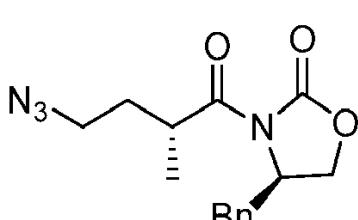
- 5 Un matraz de fondo redondo se cargó con ácido 4-bromobutírico (19,226 g, 115,1 mmol, 1,0 equiv.) y éter dietílico seco (500 ml). La solución resultante se enfrió hasta -78 °C, y se añadió trietilamina (16,473 ml, 118,5 mmol, 1,1 equiv.) seguido de cloruro de trimetilacetilo (14,596 ml, 118,5 mmol, 1,1 equiv.). Se formó un precipitado blanco, y después de ese tiempo el baño de refrigeración se retiró y la mezcla de reacción se dejó calentar hasta 0 °C y se agitó durante 2 h, la suspensión se volvió a enfriar hasta -78 °C. En un recipiente de reacción separado, se añadió gota a gota solución de n-butil-litio 2,5 M en hexanos (45,146 ml, 112,9 mmol, 1,0 equiv.) a una solución de (R)-4-bencil-2-oxazolidinona (20,000 g, 112,9 mmol, 1,0 equiv.) agitando en tetrahidrofurano anhídrido (170 ml) a -78 °C. Después de 10 min, la suspensión resultante se añadió, mediante una cánula de orificio amplio, al anhídrido mezclado (lavado con aprox. 100 ml de tetrahidrofurano anhídrido). Después de 15 min a -78 °C, la mezcla se dejó calentar hasta 0 °C durante 30 min y después se mantuvo a esta temperatura durante 1 h. La suspensión después se inactivó cuidadosamente con agua (180 ml), se agitó durante 5 min adicionales y después se calentó hasta temperatura ambiente. La solución resultante se extrajo con acetato de etilo (2 x 500 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua, bicarbonato de sodio acuoso saturado (500 ml), cloruro de sodio acuoso saturado (400 ml), se secaron (sulfato de sodio anhídrido), se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 10-50 % de acetato de etilo/hexanos) para producir un aceite transparente (26,0 g, 71 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,19-7,37 (m, 5H), 4,63-4,71 (m, 1H), 4,16-4,25 (m, 2H), 3,52 (t, 2H, J = 6,5 Hz), 3,29 (dd, 1H, J = 3,3, 13,5 Hz), 3,08-3,18 (m, 2H), 2,78 (dd, 1H, J = 9,6, 13,5 Hz), 2,21-2,30 (m, 2H).
- 10
- 15
- 20

El enantiómero (*S*) se sintetizó de una manera similar.

25 Preparación 52: (R)-3-(4-azidobutanoil)-4-benciloxazolidin-2-ona

- 30 Se añadió azida de sodio (7,623 g, 117,3 mmol, 1,5 equiv.) a una solución agitada de (R)-4-bencil-3-(4-bromobutanoil)oxazolidin-2-ona (25,500 g, 78,2 mmol, 1,0 equiv.) en *N,N*-dimetilformamida anhidra (225 ml). La solución resultante se calentó a 55 °C durante 15 min y 2 h a 70 °C. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la solución se vertió en cloruro de sodio acuoso saturado/acetato de etilo (1,4 l) y se lavó con agua y cloruro de sodio acuoso saturado, se secó (sulfato de sodio anhídrido), se filtró y se concentró al vacío para dar un aceite (22,0 g, 98 %), que se usó sin purificación adicional. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,36-7,19 (m, 5H), 4,62-4,72 (m, 1H), 4,10-4,25 (m, 2H), 3,41 (t, 2H, J = 6,6 Hz), 3,30 (dd, 1H, J = 3,3, 13,2 Hz), 2,99-3,10 (m, 2H), 2,79 (dd, 2H, J = 9,9, 13,5 Hz), 1,93-2,02 (m, 2H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,3 min, 95 %.
- 35

El enantiómero (*S*) se sintetizó de una manera similar.

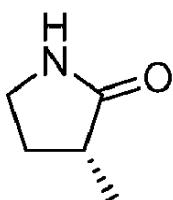
40 Preparación 53: (R)-3-((*R*)-4-azido-2-metilbutanoil)-4-benciloxazolidin-2-ona

- 45 A una solución de (R)-3-(4-azidobutanoil)-4-benciloxazolidin-2-ona (20,600 g, 71,5 mmol, 1,0 equiv.) agitando en tetrahidrofurano anhídrido a -78 °C (125 ml) se añadió lentamente solución de bis(trimetilsilil)amida de sodio 1,0 M en tetrahidrofurano (119,088 ml, 71,5 mmol, 1,0 equiv.). Después de 15 min, la solución resultante se trató con

yodometano (4,671 ml, 75,0 mmol, 1,0 equiv.). El baño de enfriamiento se retiró, y después de 5 min el recipiente de reacción se puso en un baño de agua helada y se agitó durante 15 min adicionales. La reacción se interrumpió con bicarbonato de sodio acuoso saturado (300 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 300 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con cloruro de sodio acuoso saturado (2 x 200 ml), se secaron (sulfato de magnesio anhídrico), 5 se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación por cromatografía ultrarrápida (400 g de gel de sílice, 10-50 % de acetato de etilo/hexanos) produjo el producto deseado como un aceite transparente (9,7 g, 45 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,20-7,38 (m, 5H), 4,65-4,72 (m, 1H), 4,15-4,26 (m, 2H), 3,85-3,79 (m, 1H), 3,35 (app. t, 2H, J = 6,0 Hz), 3,25 (dd, 1H, J = 13,5, 3,6Hz), 2,78 (dd, 1H, J = 13,0 Hz, 9,0 Hz), 2,04-2,18 (m, 1H), 1,67-1,78 (m, 1H), 1,27 (d, 3H, J = 6,9 Hz); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoracético durante 20 10 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 13,0 min, 99,4 %.

El enantiómero (*S*) se sintetizó de una manera similar.

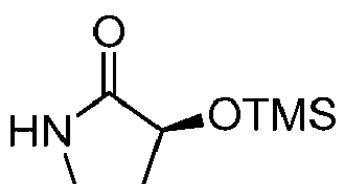
Preparación 54: (*R*)-3-metilpirrolidin-2-ona



A una solución de (*R*)-3-((*R*)-4-azido-2-metilbutanoil)-4-bencioxazolidin-2-ona (9,650 g, 31,9 mmol, 1,0 equiv.) agitando en tetrahidrofurano anhídrico (125 ml) a temperatura ambiente se añadió trifenilfosfina (16,744 g, 63,8 mmol, 2,0 equiv.). Después de 5 min (la solución se vuelve amarilla y forma burbujas), se añadió agua (0,575 ml, 31,9 mmol, 1,0 equiv.) y la mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 18 h. La mezcla se concentró y el residuo resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 75-100 % de acetato de etilo/hexanos, después gradiente de un 100 % a un 90 % de acetato de etilo/metanol) para producir el producto deseado (2,98 g, 95 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 6,10 (s a, 1H), 3,25-3,35 (m, 2H), 2,27-2,50 (m, 2H), 1,68-1,80 (m, 1H), 1,20 (d, 3H, J = 7,5 Hz).

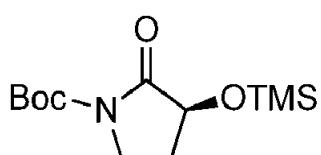
El enantiómero (*S*) se sintetizó de una manera similar.

Preparación 55: (*S*)-3-((trimetilsilil)oxi)pirrolidin-2-ona



Siguiendo el procedimiento de Harris, B. D. *et al.* Synth. Commun. 1986, 16, 1815. Se añadió cloruro de trimetilsililo (0,805 ml, 6,3 mmol, 0,1 equiv.) a una mezcla agitada de ácido (*S*)-(-)-4-amino-2-hidroxibutírico (15,000 g, 125,9 mmol, 1,0 equiv.) en xileno (1 l) y hexametildisilazano (184,757 ml, 881,5 mmol, 7,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó hasta refluo durante 4 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se diluyó con etanol absoluto/metanol (1 l). Los disolventes se retiraron a presión reducida para dar el producto en bruto que se purificó por cromatografía en columna usando acetato de etilo/cloruro de metileno (gradiente de un 30-80 %) como eluyente para producir un sólido blanco. (17,9 g, 82 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 6,49 (s a, 1H), 4,28-4,23 (t, 1H, J = 7,7 Hz), 3,40-3,21 (m, 2H), 2,42-2,32 (m, 2H), 2,08-1,95 (m, 2H), 0,18 (s, 9H).

Preparación 56: 2-oxo-3-((trimetilsilil)oxi)pirrolidin-1-carboxilato de (*S*)-terc-butilo



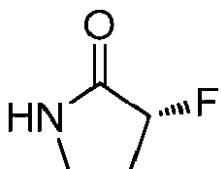
Siguiendo el procedimiento de DiRocco, D. A. *et al.* J. Am. Chem. Soc. 2009, 131, 10872 y DiRocco, D. A. *et al.* documento WO 2012/009372. A una solución de (*S*)-3-(trimetilsililoxi)pirrolidin-2-ona (6,00 g, 34,62 mmol, 1,0 equiv.) en cloruro de metileno anhídrico (150 ml) se añadió dicarbonato de di-terc-butilo (15,11 g, 69,24 mmol, 2,0 equiv.), trietilamina (4,82 ml, 34,62 mmol, 1,0 equiv.), y 4-dimetilaminopiridina (4,23 g, 34,62 mmol, 1,0 equiv.). La mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente, después se añadió ácido clorhídrico acuoso 1 N (100 ml) y se

separaron las capas. La capa orgánica se lavó con ácido clorhídrico acuoso 1 N (2×50 ml), y cloruro de sodio acuoso saturado (1×50 ml), se secó (sulfato de sodio anhídrico) y se filtró. La solución se concentró al vacío para producir un aceite en bruto, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (eluyendo con un 0-15 % de acetato de etilo/hexanos) para producir un aceite viscoso transparente, que solidificó en el congelador. (3,93 g, 42 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 4,32-4,26 (dd, 1H, $J = 8,4, 9,3$ Hz), 3,82-3,74 (ddd, 1H, $J = 2,1, 9,0, 11,1$ Hz), 3,50-3,41 (m, 1H), 2,28-2,25 (m, 1H), 1,94-1,87 (m, 1H), 1,51 (s, 9H), 0,18 (s, 9H).

5

Preparación 57: (R)-3-fluoropirrolidin-2-ona

10

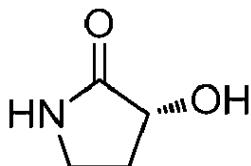


Una solución de 2-oxo-3-((trimetilsilil)oxi)pirrolidin-1-carboxilato de (*S*)-terc-butilo (3 g, 11 mmol) en cloruro de metileno anhídrico (55 ml) se enfrió hasta -78 °C, punto en el que se añadió gota a gota trifluoruro de dietilaminoazufre (2,9 ml, 22 mmol, 2,0 equiv.). La solución entonces se dejó calentar lentamente hasta temperatura ambiente y entonces se añadió bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 ml) para interrumpir la reacción. Las capas se separaron y la capa orgánica entonces se lavó con cloruro de amonio acuoso saturado (2×25 ml), se secaron (sulfato de sodio anhídrico), se filtraron y se concentraron al vacío para producir un sólido en bruto. Este material en bruto entonces se disolvió en cloruro de metileno (40 ml) y se añadió ácido trifluoroacético (2,5 ml, 33 mmol, 3,0 equiv.). La solución se agitó durante 3 h, punto en el que la producción de gas se había atenuado. La concentración al vacío produjo un líquido castaño que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (eluyendo con un 0-10 % de metanol/cloruro de metileno) produciendo el producto deseado como un sólido blanco (0,77 g, 68 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,35 (s a, 1H), 5,15-4,93 (dt, 1H, $J = 7,6, 53,4$ Hz), 3,50-3,34 (m, 2H), 2,53 (m, 1H), 2,39-2,21 (m, 1H).

15

20

25

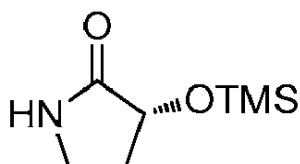
Preparación 58: (R)-3-hidroxipirrolidin-2-ona

A una mezcla en agitación de ácido 4-nitrobenzoico (9,273 g, 55,5 mmol, 1,1 equiv.) y (*S*)-(−)-3-hidroxi-2-pirrolidona (5,100 g, 50,4 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofurano anhídrico (175 ml) en una atmósfera de nitrógeno, se añadió trifenilfosfina (26,461 g, 100,9 mmol, 2,0 equiv.). A esta mezcla de reacción, se añadió gota a gota azodicarboxilato de diisopropilo (14,898 ml, 75,7 mmol, 1,5 equiv.) (con enfriamiento externo con baño de agua fría). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se concentró al vacío para producir un residuo en bruto. Se añadió metanol (130 ml) al residuo seguido de carbonato de potasio (0,38 g) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 8 h. La mezcla de reacción se diluyó con cloruro de metileno y se filtró a través de Celite. El lecho de Celite se lavó con metanol al 1 % en cloruro de metileno. Los filtrados se combinaron y se concentraron a sequedad. El residuo se repartió entre acetato de etilo:ácido clorhídrico acuoso diluido (20 ml, 9:1) y se agitó durante 15 min. Las capas se separaron y la capa acuosa se lavó con acetato de etilo tres veces. La capa acuosa se concentró a sequedad y se obtuvo un residuo sólido. El residuo en bruto se lavó con metanol al 1-2 % en cloruro de metileno (3×50 ml), se secó (sulfato de sodio anhídrico), se filtró y se concentró para producir un aceite castaño (3,3 g, 60 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 4,32-4,27 (t, 1H, $J = 8,5$ Hz), 3,36-3,19 (m, 2H), 2,48-2,40 (m, 1H), 2,07-1,93 (m, 1H), 1,16-1,14 (d, 1H, $J = 6,3$ Hz).

30

35

40

Preparación 59: (R)-3-((trimetilsilil)oxi)pirrolidin-2-ona

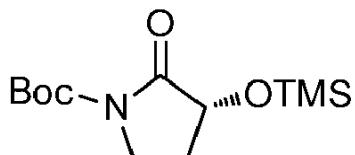
45

50

Se añadió cloruro de trimetilsililo (0,405 ml, 3,2 mmol, 0,1 equiv.) a una suspensión agitada de (*R*-3-hidroxi-2-pirrolidona (3,200 g, 31,7 mmol, 1,0 equiv.), xileno (45 ml) y hexametildisilazano (39,8 ml, 189 mmol, 6,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a temperatura de refluxo durante 5 h, y se diluyó con etanol absoluto (50 ml). Los disolventes se retiraron a presión reducida. El producto en bruto se purificó mediante cromatógrafo de columna usando acetato de etilo en cloruro de metileno (gradiente de un 30-80 %) como eluyente

para producir un aceite transparente que solidifica en un sólido blanquecino tras reposar. (2,57 g, 47 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 6,89 (s a, 1H), 4,28-4,23 (t, 1H, $J= 8,1$ Hz), 3,40-3,21 (m, 2H), 2,42-2,32 (m, 1H), 2,08-1,95 (m, 1H), 0,18 (s, 9H).

5 Preparación 60: 2-oxo-3-((trimetilsilil)oxi)pirrolidin-1-carboxilato de (*R*)-terc-butilo



10 A una solución de (*R*)-3-((trimetilsilil)oxi)pirrolidin-2-ona (2,770 g, 16,0 mmol, 1,0 equiv.) en cloruro de metíleno anhidro (75 ml) se añadió dicarbonato de di-terc-butilo (6,971 g, 31,9 mmol, 2,0 equiv.), trietilamina (2,222 ml, 16,0 mmol, 1,0 equiv.), y N,N-dimetilaminopiridina (1,953 g, 16,0 mmol, 1,0 equiv.). La mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente, después se diluyó con cloruro de metíleno y se lavó con ácido clorhídrico acuoso 0,1 N (100 ml). La capa orgánica se lavó con ácido clorhídrico acuoso 0,1 N (2 x 100 ml), y cloruro de sodio acuoso saturado (1 x 100 ml), se secó (sulfato de sodio anhidro) y se filtró. La solución se concentró al vacío y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (eluyendo con un 0-15 % de acetato de etilo/hexanos) para producir un aceite viscoso transparente (2,1 g, 48 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 4,32-4,26 (dd, 1H, $J= 8,1, 9,3$ Hz), 3,82-3,74 (ddd, 1H, $J= 2,1, 9,0, 11,1$ Hz), 3,50-3,41 (m, 1H), 2,32-2,23 (m, 1H), 1,97-1,87 (m, 1H), 1,54 (s, 9H), 0,18 (s, 9H).

15

Preparación 61: (*S*)-3-fluoropirrolidin-2-ona

20

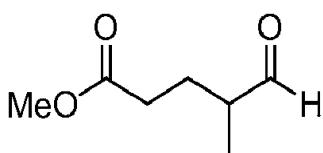
Una solución de 2-oxo-3-((trimetilsilil)oxi)pirrolidin-1-carboxilato de (*R*)-terc-butilo (2,100 g, 7,7 mmol, 1,0 equiv.) en cloruro de metíleno anhidro (37 ml) se enfrió hasta -78 °C, punto en el que se añadió gota a gota trifluoruro de dietilaminoazufre (2,030 ml, 15,4 mmol, 2,0 equiv.). La solución entonces se dejó calentar lentamente hasta temperatura ambiente y entonces se añadió bicarbonato de sodio acuoso saturado (33 ml) para interrumpir la reacción. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con cloruro de amonio acuoso saturado (2 x 16 ml), se secaron (sulfato de sodio anhidro), se filtraron y se concentraron al vacío para producir un sólido en bruto. Este material en bruto entonces se disolvió en diclorometano (30 ml) y se añadió ácido trifluoroacético (1,7 ml, 33 mmol, 3,0 equiv.). La solución se agitó durante 3 h, punto en el que la producción de gas se había atenuado. La concentración al vacío y la purificación por cromatografía sobre gel de sílice (eluyendo con un 0-10 % de metanol/cloruro de metíleno) produjeron el producto deseado como un sólido blanquecino (0,71 g, 90 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,35 (s a, 1H), 5,15-4,93 (dt, 1H, $J= 7,6, 53,4$ Hz), 3,50-3,34 (m, 2H), 2,53 (m, 1H), 2,39-2,21 (m, 1H).

25

30

35

Preparación 62: 4-metil-5-oxopentanoato de metilo



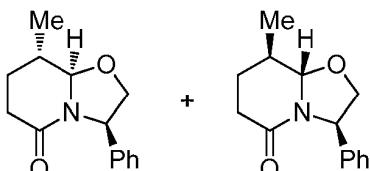
40 Siguiendo el procedimiento de Oikawa, M. *et al.* Tetrahedron, 1995, 51, 62377. Un matraz que contenía piperidina (54,425 ml, 551,0 mmol, 2,0 equiv.) y carbonato de potasio (13,774 g, 99,7 mmol, 0,4 equiv.) se sumergió en un baño de agua, y se añadió propionaldehído (16,000 g, 275,5 mmol, 1,0 equiv.) durante 20 min con agitación vigorosa. Después de agitarse durante 18 h, el material insoluble se retiró filtrando a través de una capa de Celite (capa lavada con éter dietílico). El filtrado se secó (sulfato de sodio anhidro), se filtró y se concentró al vacío. La enamina en bruto así obtenida se disolvió en acetonitrilo (150 ml), y a esto se añadió acilato de metilo (47,433 g, 551,0 mmol, 2,0 equiv.) gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 24 h, seguido de la adición de ácido acético (31,541 ml, 551,0 mmol, 2,0 equiv.) y agua (150 ml). Después de agitarse a reflujo durante 24 h, se saturó con cloruro de sodio y se extrajo con éter dietílico (3 x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (sulfato de magnesio anhidro), se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (0-20 % de acetato de etilo/hexanos) produjo el aducto como un aceite incoloro (22 g, 55 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 9,64 (d, 1H, $J= 1,8$ Hz), 3,69 (s, 3H), 2,50-2,35 (m, 3H), 2,07 (sext, 1H, $J= 7,2$ Hz), 1,71 (sext, 1H, $J= 7,2$ Hz), 1,14 (d, 3H, $J= 7,2$ Hz).

45

50

Preparación 63: (3*R*,8*S*,8*aR*)-8-metil-3-feniltetrahidro-2*H*-oxazolo[3,2-*a*]piridin-5(3*H*)-ona y (3*R*,8*R*,8*aS*)-8-metil-3-feniltetrahidro-2*H*-oxazolo[3,2-*a*]piridin-5(3*H*)-ona

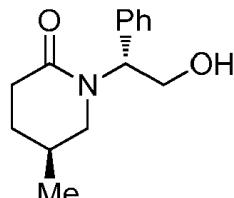
5



Siguiendo el procedimiento de Amat, M. et al. J. Org. Chem. 2014, 79, 2792. A una solución agitada de 4-metil-5-oxopentanoato de metilo (5,780 g, 40,1 mmol, 1,0 equiv.) en tolueno (100 ml) se añadió (*R*)-(−)-fenilglicinol (5,500 g, 40,1 mmol, 1,0 equiv.). La mezcla de reacción se calentó a refluo durante 25 h con eliminación azeótropa del agua producida con aparato Dean-Stark. Después de enfriarla, la mezcla se concentró al vacío y el residuo se purificó mediante columna de gel de sílice (la columna se pretrató con TEA, después se eluyó con un 0-70 % de acetato de etilo/hexanos) para producir los productos deseados: (3*R*,8*S*,8*aS*)-8-metil-3-feniltetrahidro-2*H*-oxazolo[3,2-*a*]piridin-5(3*H*)-ona como un sólido amarillo claro (1,3 g, 14 %) y (3*R*,8*S*,8*aR*)-8-metil-3-feniltetrahidro-2*H*-oxazolo[3,2-*a*]piridin-5(3*H*)-ona como un jarabe incoloro (6,5 g, 70 %). (3*R*,8*S*,8*aS*)-8-metil-3-feniltetrahidro-2*H*-oxazolo[3,2-*a*]piridin-5(3*H*)-ona: ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7,40-7,20 (m, 5H), 5,25 (t, 1H, *J* = 7,5 Hz), 4,61 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz), 4,48 (t, 1H, *J* = 8,7 Hz), 3,75 (dd, 1H, *J* = 9,0, 7,8 Hz), 2,55 (dd, 1H, *J* = 18,0, 6,0 Hz), 2,46-2,33 (m, 1H), 1,88-1,51 (m, 3H), 1,19 (d, 3H, *J* = 5,7 Hz); IEN (m/z): 232,7 (M+H). (3*R*,8*S*,8*aR*)-8-metil-3-feniltetrahidro-2*H*-oxazolo[3,2-*a*]piridin-5(3*H*)-ona: ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7,40-7,20 (m, 5H), 4,93 (d, 1H, *J* = 6,3 Hz), 4,44 (d, 1H, *J* = 9,3 Hz), 4,14 (dd, 1H, *J* = 8,7, 6,3 Hz), 4,01 (dd, 1H, *J* = 8,7, 1,2 Hz), 2,47-2,25 (m, 2H), 2,05-1,87 (m, 2H), 1,60-1,43 (m, 1H), 1,20 (d, 3H, *J* = 6,6 Hz); ESI (m/z): 232,7 (M+H).

Preparación 64: (S)-1-((*R*)-2-hidroxi-1-feniletil)-5-metilpiperidin-2-ona

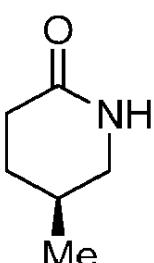
25



Siguiendo el procedimiento de Amat, M. et al. J. Org. Chem. 2014, 79, 2792. A una solución agitada de (3*R*,8*S*,8*aR*)-8-metil-3-feniltetrahidro-2*H*-oxazolo[3,2-*a*]piridin-5(3*H*)-ona (3,600 g, 15,6 mmol, 1,0 equiv.) en cloruro de metileno anhídrico (100 ml) se añadió trietilsilano (7,458 ml, 46,7 mmol, 3,0 equiv.) y cloruro de titanio (IV) (7,697 ml, 70,0 mmol, 4,5 equiv.), y la mezcla se agitó a 50 °C durante 24 h. Después, se añadió cloruro de titanio (IV) adicional (7,7 ml) y trietilsilano (7,5 ml) y se continuó la agitación a 50 °C durante 24 h. La mezcla se vertió en bicarbonato de sodio acuoso saturado (100 ml). La fase acuosa se filtró sobre Celite y se extrajo con cloruro de metileno. Los extractos orgánicos combinados se secaron (sulfato de sodio anhídrico), se filtraron y se concentraron al vacío para producir un residuo que se cromatógrafió sobre gel de sílice (0-100 % de acetato de etilo/hexanos, después acetato de etilo puro) para producir el producto deseado como un aceite incoloro (1,6 g, 44 %) y se recuperó el material de partida (0,6 g). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7,40-7,20 (m, 5H), 5,80 (dd, 1H, *J* = 9,6, 4,8 Hz), 4,20-4,00 (m, 2H), 2,97 (ddd, 1H, *J* = 11,7, 4,8, 2,4 Hz), 2,84 (dd, 1H, *J* = 11,7, 9,9 Hz), 2,70 (s a, 1H), 2,59 (ddd, 1H, *J* = 17,7, 6,3, 3,0 Hz), 2,47 (ddd, 1H, *J* = 17,7, 11,1, 6,6 Hz), 1,90-1,75 (m, 2H), 1,50 (m, 1H), 0,93 (d, 3H, *J* = 6,3 Hz).

40

Preparación 65: (S)-5-metilpiperidin-2-ona



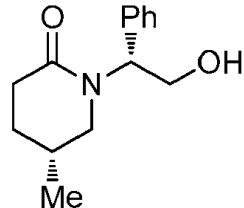
En un matraz de dos bocas, equipado con un condensador de hielo seco, se cargó (S)-1-((*R*)-2-hidroxi-1-feniletil)-5-metilpiperidin-2-ona (1,600 g, 6,9 mmol, 1,0 equiv.) y tetrahidrofurano anhídrico (20 ml). La mezcla se enfrió hasta -78 °C en una atmósfera de nitrógeno, y después se condensó amoníaco (50 ml). La temperatura de reacción se elevó hasta -33 °C. Se añadieron pequeños trozos de metal sodio hasta que persistió el color azul, y la mezcla se agitó a -

33 °C durante 5 min. La reacción se interrumpió mediante la adición de cloruro de amonio sólido hasta que desapareció el color azul. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 h y se añadió cloruro de metíleno. La mezcla se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice (0-100 % de acetato de etilo/hexanos y después 20 % de metanol/acetato de etilo) para producir el producto deseado como un aceite incoloro (0,480 g, 62 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 5,84 (s a, 1H), 3,10 (m, 1H), 2,94 (t, 1H, J = 10,8 Hz), 2,50-2,28 (m, 2H), 2,05-1,80 (m, 2H), 1,50 (m, 1H), 1,03 (d, 3H, J = 6,9 Hz).

5

Preparación 66: (*R*)-1-((*R*)-2-hidroxi-1-feniletil)-5-metilpiperidin-2-ona

10

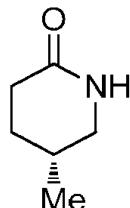


20

Siguiendo el procedimiento de Amat, M. *et al.* J. Org. Chem. 2014, 79, 2792. A una solución agitada de (*3R,8R,8aS*)-8-metil-3-feniltetrahidro-2*H*-oxazolo[3,2-a]piridin-5(3*H*)-ona (1,000 g, 4,3 mmol, 1,0 equiv.) en cloruro de metíleno anhídrido (50 ml) se añadió trietilsilano (2,072 ml, 13,0 mmol, 3,0 equiv.) y cloruro de titanio (IV) (2,138 ml, 19,5 mmol, 4,5 equiv.), y la mezcla se agitó a 50 °C durante 6 h. La mezcla se vertió en bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 ml). La fase acuosa se filtró sobre Celite y se extrajo con cloruro de metíleno. Los extractos orgánicos combinados se secaron (sulfato de sodio anhídrico), se filtraron y se concentraron al vacío para producir un residuo, que se cromatógrafió (0-100 % de acetato de etilo/hexanos y después acetato de etilo) para producir el producto deseado como un jarabe incoloro (0,200 g, 20 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,40-7,20 (m, 5H), 5,67 (dd, 1H, J = 7,8, 6,3 Hz), 4,20-4,05 (m, 2H), 3,15-3,00 (m, 2H), 2,65-2,40 (m, 3H), 2,00-1,75 (m, 2H), 1,40 (m, 1H), 0,89 (d, 3H, J = 6,9 Hz).

Preparación 67: (*R*)-5-metilpiperidin-2-ona

25

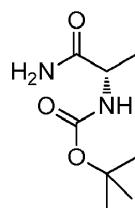


35

In un matraz de dos bocas, equipado con un condensador de hielo seco, se cargó (*R*)-1-((*S*)-2-hidroxi-1-feniletil)-5-metilpiperidin-2-ona (0,200 g, 0,9 mmol, 1,0 equiv.) y tetrahidrofurano anhídrido (5 ml). La mezcla se enfrió hasta -78 °C en una atmósfera de nitrógeno, y después se condensó amoniaco (15 ml). La temperatura de reacción se elevó hasta -33 °C. Se añadieron pequeños trozos de metal sodio hasta que persistió el color azul, y la mezcla se agitó a -33 °C durante 5 min. La reacción se interrumpió mediante la adición de cloruro de amonio sólido hasta que desapareció el color azul. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 h y se añadió cloruro de metíleno. La mezcla se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice (0-100 % de acetato de etilo/hexanos y después 20 % de metanol/acetato de etilo) para producir el producto deseado como un aceite amarillo (0,080 g, 82 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 5,85 (s a, 1H), 3,10 (m, 1H), 2,93 (t, 1H, J = 10,8 Hz), 2,50-2,28 (m, 2H), 2,05-1,80 (m, 2H), 1,50 (m, 1H), 1,03 (d, 3H, J = 6,6 Hz).

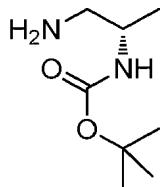
Preparación 68: (1-amino-1-oxopropan-2-il)carbamato de (*S*)-terc-butilo

40

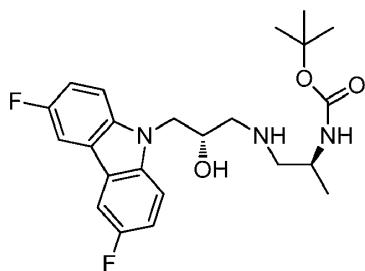


45

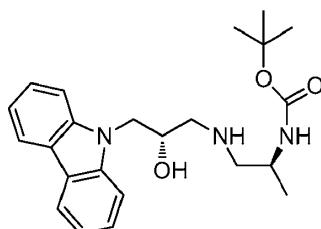
Una mezcla de Boc-Ala-OMe (5,000 g, 24,6 mmol, 1,0 equiv.) e hidróxido de amonio acuoso al 28 % (100,00 ml, 1479,7 mmol, 60,1 equiv.) en metanol (100 ml) se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró al vacío para producir el producto deseado como un sólido blanco (4,65 g, 100 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 6,15 (a, 1H), 5,55 (a, 1H), 4,95 (a, 1H), 4,20 (a, 1H), 1,46 (s, 9H), 1,39 (d, 3H, J = 7,2 Hz).

Preparación 69: (1-aminopropan-2-il)carbamato de (*S*)-*terc*-butilo

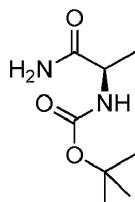
- 5 A una solución agitada de Boc-Ala-NH₂ (4,600 g, 24,4 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofurano anhídrico (100 ml) en atmósfera de nitrógeno se añadió complejo de borano-tetrahidrofurano 1,0 M en tetrahidrofurano (85,536 ml, 85,5 mmol, 3,5 equiv.). La mezcla se agitó durante 16 h a temperatura ambiente y después se calentó a 70 °C durante 2 h. Despues de enfriarla, la reacción se interrumpió con metanol hasta que no se generaron burbujas. La mezcla se calentó a 70 °C durante 2 h y despues se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice (0-100 % de acetato de etilo/hexanos y despues 0-30 % de metanol/cloruro de metileno) para producir el producto deseado como un semisólido (1,4 g, 33 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 4,60 (s a, 1H), 3,65 (m, 1H), 2,76 (dd, 1H, J = 12,9, 4,8 Hz), 2,64 (dd, 1H, J = 12,9, 6,6 Hz), 1,45 (s, 9H), 1,13 (d, 3H, J = 6,9 Hz).
- 10 15 Preparación 70: ((*S*)-1-(((*S*)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)amino)propan-2-il)carbamato de *terc*-butilo



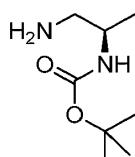
- 20 Una mezcla de (*R*)-3,6-difluoro-9-(oxiran-2-ilmetil)-9H-carbazol (0,600 g, 2,3 mmol, 1,0 equiv.) y (1-aminopropan-2-il)carbamato de (*S*)-*terc*-butilo (1,210 g, 6,9 mmol, 3,0 equiv.) en etanol (10 ml) se agitó a 70 °C. Despues de 15 h, la mezcla de reacción se concentró al vacío y se purificó mediante columna de gel de sílice (0-100 % de acetato de etilo/hexanos despues 0-30 % de metanol/cloruro de metileno) para producir el producto deseado como una espuma blanca (0,750 g, 75 %) y se recuperó el material de partida de amina (0,2 g). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7,67 (dd, 2H, J = 8,7, 2,4 Hz), 7,42 (dd, 2H, J = 8,7, 3,9 Hz), 7,22 (td, 2H, J = 9,0, 2,7 Hz), 4,50-4,25 (m, 3H), 4,13 (m, 1H), 3,78 (s a, 1H), 2,86 (dd, 1H, J = 12,0, 3,6 Hz), 2,70-2,50 (m, 3H), 1,43 (s, 9H), 1,10 (d, 3H, J = 6,3 Hz); ESI (m/z): 434,0 (M+H).
- 25 30 Preparación 71: ((*S*)-1-(((*S*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)amino)propan-2-il)carbamato de *terc*-butilo



- 35 Una mezcla de (*R*)-9-(oxiran-2-ilmetil)-9H-carbazol (0,150 g, 0,7 mmol, 1,0 equiv.) y (1-aminopropan-2-il)carbamato de (*S*)-*terc*-butilo (0,200 g, 1,1 mmol, 1,7 equiv.) en etanol (5 ml) se agitó a 70 °C. Despues de 15 h, la mezcla de reacción se concentró al vacío y se purificó mediante columna de gel de sílice (0-100 % de acetato de etilo/hexanos) para producir el producto deseado como una espuma blanca (0,120 g, 45 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8,09 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,52-7,41 (m, 4H), 7,25-7,20 (m, 2H), 4,50-4,35 (m, 3H), 4,17 (m, 1H), 3,73 (m, 1H), 2,83 (dd, 1H, J = 11,7, 3,6 Hz), 2,66-2,47 (m, 3H), 1,43 (s, 9H), 1,08 (d, 3H, J = 6,6 Hz); ESI (m/z): 398,1 (M+H).

Preparación 72: (1-amino-1-oxopropan-2-il)carbamato de (*R*)-*terc*-butilo

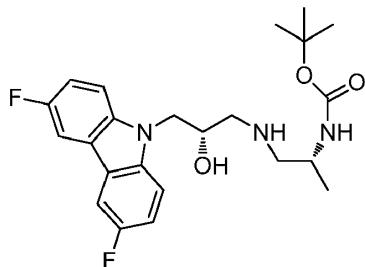
5 Una mezcla de Boc-D-Ala-OMe (5,000 g, 24,6 mmol, 1,0 equiv.) e hidróxido de amonio acuoso al 28 % (100 ml, 1479,7 mmol, 60,1 equiv.) en metanol (100 ml) se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró al vacío para producir el producto deseado como un sólido blanco (4,65 g, 100 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 6,15 (a, 1H), 5,60 (a, 1H), 5,00 (a, 1H), 4,20 (a, 1H), 1,46 (s, 9H), 1,39 (d, 3H, J = 6,9 Hz).

10 Preparación 73: (1-aminopropan-2-il)carbamato de (*R*)-*terc*-butilo

15 A una solución agitada de Boc-D-Ala-NH₂ (4,600 g, 24,4 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofurano anhídrico (100 ml) en atmósfera de nitrógeno se añadió complejo de borano-tetrahidrofurano 1,0 M en tetrahidrofurano (97,756 ml, 97,8 mmol, 4,0 equiv.). La mezcla se agitó durante 16 h a temperatura ambiente y después se calentó a 70 °C durante 2 h. Después de enfriarla, la reacción se interrumpió con metanol hasta que no se generaron burbujas. La mezcla se calentó a 70 °C durante 2 h y después se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice (0-30 % de metanol/cloruro de metileno) para producir el producto deseado como un aceite incoloro (1,5 g, 35 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 4,60 (s a, 1H), 3,65 (m, 1H), 2,75 (dd, 1H, J = 12,9, 5,1 Hz), 2,63 (dd, 1H, J = 12,9, 6,6 Hz), 1,45 (s, 9H), 1,41 (s, 2H), 1,12 (d, 3H, J = 6,3 Hz).

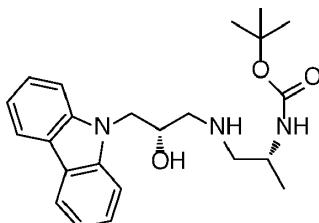
20 Preparación 74: ((*R*)-1-((*S*)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)amino)propan-2-il)carbamato de *terc*-butilo

25



30 Una mezcla de (*R*)-3,6-difluoro-9-(oxiran-2-ilmetil)-9H-carbazol (0,200 g, 0,8 mmol, 1,0 equiv.) y (1-aminopropan-2-il)carbamato de (*R*)-*terc*-butilo (0,403 g, 2,3 mmol, 3,0 equiv.) en etanol (10 ml) se agitó a 70 °C. Después de 15 h, la mezcla de reacción se concentró al vacío y se purificó mediante columna de gel de sílice (0-30 % de metanol/cloruro de metileno) para aislar el producto deseado como un polvo blanco (0,250 g, 75 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 7,68 (dd, 2H, J = 8,7, 2,7 Hz), 7,41 (dd, 2H, J = 9,3, 4,2 Hz), 7,22 (td, 2H, J = 9,3, 2,4 Hz), 4,43 (s a, 1H), 4,35 (d, 2H, J = 5,7 Hz), 4,12 (m, 1H), 3,78 (s a, 1H), 2,80 (dd, 1H, J = 12,3, 3,6 Hz), 2,63 (dd, 1H, J = 12,3, 5,7 Hz), 2,57 (d, 2H, J = 7,2 Hz), 1,44 (s, 9H), 1,11 (d, 3H, J = 6,6 Hz); ESI (m/z): 434,0 (M+H).

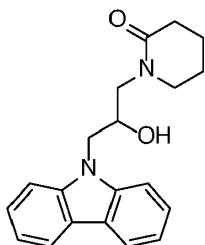
35

Preparación 75: ((*R*)-1-((*S*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)amino)propan-2-il)carbamato de *terc*-butilo

Una mezcla de (*R*)-9-(oxiran-2-ilmetil)-9H-carbazol (0,150 g, 0,7 mmol, 1,0 equiv.) y (1-aminopropan-2-il)carbamato de (*R*)-terc-butilo (0,351 g, 2,0 mmol, 3,0 equiv.) en etanol (10 ml) se agitó a 70 °C. Después de 15 h, la mezcla de reacción se concentró al vacío y se purificó mediante columna de gel de sílice (0-30 % de metanol/cloruro de metileno) para aislar el producto deseado como una espuma blanca (0,210 g, 78 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8,10 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 7,55-7,40 (m, 4H), 7,27-7,20 (m, 2H), 4,60-4,30 (m, 3H), 4,16 (m, 1H), 3,78 (m, 1H), 2,80 (dd, 1H, J = 12,3, 3,6 Hz), 2,67 (dd, 1H, J = 12,0, 8,4 Hz), 2,60-2,50 (m, 2H), 1,44 (s, 9H), 1,10 (d, 3H, J = 6,6 Hz); ESI (m/z): 398,1 (M+H).

Ejemplo 2: Preparación de compuestos de fórmula I

Compuesto 1 (no de acuerdo con la presente invención): 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona



A una solución agitada de piperidin-2-ona (0,133 g, 1,3 mmol) en dimetilsulfóxido (5 ml) se añadió *terc*-butóxido de potasio (0,151 g, 1,3 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió 9-(oxiran-2-ilmetil)-9H-carbazol (0,150 g, 0,7 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado, se secó (sulfato de sodio anhídrico), se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice (50-100 % de acetato de etilo/hexanos) y después mediante prep-HPLC (C18, 30-80 % de acetonitrilo/agua con ácido fórmico al 0,1 % durante 0-8 min) para producir el producto como una espuma blanca (0,098 g, 45 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8,08 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,50-7,40 (m, 4H), 7,28-7,18 (m, 2H), 4,60-4,25 (m, 4H), 3,87 (dd, 1H, J = 14,1, 7,8 Hz), 3,15-2,95 (m, 3H), 2,36 (t, 2H, J = 5,7 Hz), 1,85-1,55 (m, 4H); ESI (m/z): 323,2 (M+H).

Compuestos 2 a 72 (de los que los compuestos 7-10, 15, 17, 18, 22, 29-35, 41-48, 50, 53, 54, 58, 59, 65, 67 y 68 son de acuerdo con la presente invención):

Los compuestos 2 a 72 se prepararon mediante procedimientos análogos a los usados para el compuesto 1 o usando hidruro de sodio (0,4 equiv.) en lugar de *terc*-butóxido de potasio. Como alternativa, puede usarse base de fosfazeno P4-t-Bu en lugar de *terc*-butóxido de potasio también. En casos donde los materiales de partida para las dianas a continuación no estaban disponibles en el mercado, las síntesis se describen en los ejemplos de preparación precedentes.

Comp.	Estructura	Nombre	¹ H RMN	IEN (m/z)
2		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metiltetrahidropir imidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃) δ 8,10 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,55-7,40 (m, 4H), 7,32-7,20 (m, 2H), 5,31 (s, 1H), 4,55-4,25 (m, 3H), 3,88 (dd, 1H, J = 14,4, 8,4 Hz), 3,30-2,85 (m, 8H), 2,00-1,80 (m, 2H).	338,2 (M+H)
3		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)tetra hidropirimidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃) δ 8,10 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 7,54-7,42 (m, 4H), 7,32-7,20 (m, 2H), 5,10 (s, 1H), 4,77 (s, 1H), 4,50-4,28 (m, 3H), 3,87 (dd, 1H, J = 14,7, 8,1 Hz), 3,35-3,20 (m, 2H), 3,15-2,90 (m, 3H), 1,92-1,80 (m, 2H).	324,2 (M+H)

Comp.	Estructura	Nombre	¹ H RMN	IEN (m/z)
4		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃) δ 7,68 (dd, 2H, J = 8,4, 2,7 Hz), 7,39 (dd, 2H, J = 9,0, 4,2 Hz), 7,23 (td, 2H, J = 9,0, 2,7 Hz), 4,50-4,25 (m, 4H), 3,91 (dd, 1H, J = 14,4, 8,1 Hz), 3,25-3,08 (m, 2H), 3,02 (d, 1H, J = 14,1 Hz), 2,50-2,38 (m, 2H), 1,90-1,65 (m, 4H).	359,1 (M+H)
5		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)piperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃) δ 7,67 (dd, 2H, J = 8,7, 2,7 Hz), 7,46 (dd, 2H, J = 9,0, 4,2 Hz), 7,21 (td, 2H, J = 9,0, 2,7 Hz), 4,88 (s, 1H), 4,30 (s, 2H), 3,99 (d, 1H, J = 14,1 Hz), 3,55-3,30 (m, 2H), 3,17 (d, 1H, J = 14,4 Hz), 2,47 (m, 2H), 1,95-1,70 (m, 4H), 1,30 (s, 3H).	373,0 (M+H)
6		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metiltetrahidropirimidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃) δ 7,68 (dd, 2H, J = 8,7, 2,7 Hz), 7,40 (dd, 2H, J = 8,7, 4,2 Hz), 7,22 (td, 2H, J = 8,7, 2,7 Hz), 5,27 (s a, 1H), 4,50-4,20 (m, 3H), 3,82 (m, 1H), 3,32-3,00 (m, 4H), 2,95 (s, 3H), 2,92 (dd, 1H, J = 14,4, 1,5 Hz), 1,91 (5 peaks, 2H, J = 6,0 Hz).	374,1 (M+H)
7		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃) δ 7,68 (dd, 2H, J = 8,4, 2,7 Hz), 7,37 (dd, 2H, J = 8,7, 4,2 Hz), 7,23 (td, 2H, J = 9,0, 2,7 Hz), 4,45-4,25 (m, 3H), 3,89 (s a, 1H), 3,60-3,25 (m, 4H), 2,45 (t, 2H, J = 8,4 Hz), 2,15-1,95 (m, 2H).	345,0 (M+H)
8		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)pirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃) δ 7,67 (dd, 2H, J = 8,7, 2,7 Hz), 7,44 (dd, 2H, J = 9,0, 4,2 Hz), 7,21 (td, 2H, J = 9,0, 2,7 Hz), 4,34 y 4,28 (AB, 2H, J = 15,3 Hz), 3,70-3,50 (m, 4H), 3,38 (d, 1H, J = 14,1 Hz), 2,47 (t, 2H, J = 8,7 Hz), 2,20-2,00 (m, 2H), 1,29 (s, 3H).	359,0 (M+H)
9		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68 (dd, 2H, J = 8,7, 2,7 Hz), 7,36 (dd, 2H, J = 8,7, 4,2 Hz), 7,23 (td, 2H, J = 9,0, 2,7 Hz), 5,14 (dm, 1H, J = 52,2 Hz), 4,50-4,30 (m, 3H), 3,62-3,30 (m, 4H), 3,12 y 3,05 (d, 1H, J = 4,2 Hz), 2,60-2,10 (m, 2H).	363,1 (M+H)

Comp.	Estructura	Nombre	¹ H RMN	IEN (m/z)
10		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68 (dd, 2H, J = 8,4, 2,7 Hz), 7,42 (dd, 2H, J = 9,0, 4,2 Hz), 7,22 (td, 2H, J = 9,0, 2,7 Hz), 5,15 (ddd, 1H, J = 52,5, 7,5, 5,7 Hz), 4,40-4,25 (m, 2H), 3,76 (m, 1H), 3,65-3,48 (m, 3H), 2,70-2,20 (m, 3H), 1,32 y 1,30 (s, 3H).	377,0 (M+H)
11		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,67 (dd, 2H, J = 8,7, 2,7 Hz), 7,38 (dd, 2H, J = 9,0, 4,2 Hz), 7,27-7,18 (m, 2H), 4,84 (dm, 1H, J = 47,1 Hz), 4,50-4,25 (m, 3H), 3,80-3,10 (m, 5H), 2,30-1,90 (m, 3H), 1,80 (m, 1H).	377,1 (M+H)
12		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,67 (dd, 2H, J = 8,7, 2,7 Hz), 7,47-7,40 (m, 2H), 7,21 (td, 2H, J = 9,0, 2,7 Hz), 4,91 (dm, 1H, J = 46,5 Hz), 4,32 (d, 2H, J = 5,4 Hz), 3,87 (dd, 1H, J = 19,8, 13,8 Hz), 3,70-3,30 (m, 4H), 2,35-1,80 (m, 4H), 1,31 (s, 3H).	391,1 (M+H)
13		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-difluoropiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68 (dd, 2H, J = 8,7, 2,7 Hz), 7,38 (dd, 2H, J = 8,7, 4,2 Hz), 7,23 (td, 2H, J = 9,0, 2,7 Hz), 4,50 (m, 1H), 4,39 (dd, 1H, J = 15,0, 4,8 Hz), 4,33 (dd, 1H, J = 15,0, 7,8 Hz), 3,62-3,55 (m, 2H), 3,54-3,35 (m, 2H), 2,75 (d, 1H, J = 4,5 Hz), 2,40-2,20 (m, 2H), 2,08-1,96 (m, 2H).	395,1 (M+H)
14		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3,3-difluoropiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68 (dd, 2H, J = 8,7, 2,7 Hz), 7,42 (dd, 2H, J = 8,7, 4,2 Hz), 7,22 (td, 2H, J = 9,0, 2,7 Hz), 4,32 (s, 2H), 3,78 y 3,60 (ABq, 2H, J = 13,8 Hz), 3,73-3,58 (m, 2H), 2,60 (s, 1H), 2,45-2,28 (m, 2H), 2,18-2,00 (m, 2H), 1,32 (s, 3H).	409,0 (M+H)
15		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-dimetilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,65 (dd, 2H, J = 2,7, 8,7 Hz), 7,38-7,33 (dd, 2H, J = 4,1, 9,0 Hz), 7,21-7,14 (td, 2H, J = 2,5, 9,0 Hz), 4,37-4,28 (m, 3H), 3,98-3,97 (d, 1H, J = 3,9 Hz), 3,56-3,49 (dd, 1H, J = 7,1, 14,4 Hz), 3,34-3,17 (m, 3H), 1,90-1,85 (m, 2H), 1,18 (s, 3H), 1,17 (s, 3H).	373,1 (M+H)

Comp.	Estructura	Nombre	¹ H RMN	IEN (m/z)
16		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-dimetilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,67-7,64 (dd, 2H, J = 2,4, 8,7 Hz), 7,38-7,34 (dd, 2H, J = 4,2, 8,7 Hz), 7,24-7,17 (td, 2H, J = 2,5, 9,0 Hz), 4,54-4,53 (d, ¹ H J = 3,0 Hz), 4,36-4,25 (m, 3H), 3,94-3,86 (m, 1H), 3,18-3,11 (m, 2H), 2,95-2,90 (m, 1H), 1,81-1,61 (m, 4H), 1,22 (s, 3H), 1,20 (s, 3H).	387,1 (M+H)
17		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-etilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,64 (dd, 2H, J = 2,7, 8,7 Hz), 7,37-7,33 (dd, 2H, J = 4,1, 9,0 Hz), 7,21-7,14 (td, 2H, J = 2,6, 9,0 Hz), 4,36-4,26 (m, 3H), 4,06-4,05 (d, 1H, J = 3,0 Hz), 3,57-3,16 (m, 4H), 2,44-2,34 (m, 1H), 2,24-2,12 (m, 1H), 1,91-1,82 (m, 1H), 1,77-1,66 (m, 1H), 1,49-1,37 (m, 1H), 0,99-0,94 (td, 3H, J = 1,9, 7,5 Hz).	373,1 (M+H)
18		3-ciclopentil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,63-7,64 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,37-7,33 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,24-7,17 (td, 2H, J = 2,7, 9,0 Hz), 4,36-4,26 (m, 3H), 4,09-4,00 (dd, 1H, J = 2,7, 24,9 Hz), 3,59-3,43 (m, 1H), 3,35-3,14 (m, 3H), 2,55-2,46 (m, 1H), 2,15-2,06 (m, 2H), 1,94-1,63 (m, 7H), 1,52-1,19 (m, 2H).	413,1 (M+H)
19		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fenilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69-7,65 (dd, 2H, J = 2,7, 8,7 Hz), 7,41-7,13 (m, 9H), 4,49-4,15 (m, 4H), 4,05-3,93 (m, 1H), 3,71-3,63 (m, 1H), 3,37-3,21 (m, 2H), 3,13-3,03 (m, 1H), 2,18-2,07 (m, 1H), 1,99-1,70 (m, 3H).	435,1 (M+H)
20		3-ciclohexil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃ , mezcla de diastereoisómeros): δ 7,67-7,66 (dos conjuntos solapantes de dd, 2H, J = 2,3, 8,7 Hz), 7,39-7,34 (dos conjuntos solapantes de dd, 2H, J = 4,2, 8,7 Hz), 7,24-7,16 (dos conjuntos solapantes de td, 2H, J = 2,6, 9,0 Hz), 4,90 (s, 0,5H), 4,40-4,23 (m, 3,5H), 4,16-4,15 (d, 0,5H, J = 3,0 Hz), 3,95-3,87 (m, 1H), 3,28-3,21 (m, 0,5H), 3,14-3,02 (m, 2,5H), 2,89-2,84 (dd, 0,5H, J = 1,5, 14,1 Hz), 2,29-2,08 (m, 2H), 1,84-0,99, (m, 14H).	441,2 (M+H)

Comp.	Estructura	Nombre	¹ H RMN	IEN (m/z)
21		3-ciclohexil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-metilhidroxi-2-metilpropil)piperidin-2-oná	(300 MHz, CDCl ₃ , mezcla de diastereoisómeros): δ 7,66-7,62 (dos conjuntos solapantes de dd, 2H, J = 2,4, 8,7 Hz), 7,45-7,41 (dd, 2H, J = 3,9, 9,0 Hz), 7,22-7,15 (dos conjuntos de td solapantes, 2H, J = 2,4, 9,0 Hz), 5,24 (s, 0,5H), 5,11 (s, 0,5 H), 4,31-4,07 (m, 2H), 4,12-4,07, 3,12-3,07 (ABq, 1H, J = 14,1 Hz), 3,92-3,87, 3,25-3,16 (ABq, 1H, J = 14,1 Hz), 3,55-3,25 (m, 2H), 2,37-2,05 (m, 2H), 1,93-0,84 (m, 14H), 1,24 (s, 3H).	455,1 (M+H)
22		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-isopropilpirrolidin-2-oná	(300 MHz, CDCl ₃ , mezcla de diastereoisómeros): δ 7,68-7,64 (dd, 2H, J = 2,4, 8,7 Hz), 7,37-7,33 (dd, 2H, J = 4,0, 9,0 Hz), 4,36-4,26 (m, 3H), 4,10-4,00 (m, 1H), 3,61-3,14 (m, 4H), 2,49-2,40 (m, 1H), 2,24-2,17 (m, 1H), 2,04-1,98 (m, 1H), 1,89-1,79 (m, 1H), 1,01-0,98 (dos conjuntos solapantes de d, 3H, J = 6,9 Hz), 0,89-0,86 (dos conjuntos solapantes de d, 3H, J = 6,9 Hz).	387,1 (M+H)
23		3-ciclopentil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-oná	(300 MHz, CDCl ₃ , mezcla de diastereoisómeros): δ 7,68-7,64 (dd, 1H, J = 2,1, 8,4 Hz), 7,67-7,63 (dd, 1H, J = 2,3, 9,0 Hz), 7,39-7,34 (dd, 2H, J = 4,4, 9,0 Hz), 7,24-7,17 (td, 1H, J = 2,6, 9,0 Hz), 7,23-7,17 (td, 1H, J = 2,4, 9,0 Hz), 4,76-4,75 (d, 0,5H, J = 2,4 Hz), 4,38-4,23 (m, 3,5H), 3,98-3,84 (m, 1H), 3,25-2,90 (m, 3H), 2,41-2,29 (m, 1H), 1,87-1,15 (m, 12H).	427,1 (M+H)
24		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-etylpiridin-2-oná	(300 MHz, CDCl ₃ , mezcla de diastereoisómeros): δ 7,67-7,64 (dd, 1H, J = 2,4, 8,7 Hz), 7,67-7,64 (dd, 1H, J = 2,4, 8,7 Hz), 7,38-7,34 (dd, 2H, J = 4,2, 9,0 Hz), 7,24-7,17 (td, 1H, J = 2,7, 9,0 Hz), 7,24-7,16 (td, 1H, J = 2,7, 9,0 Hz), 4,70 (s a, 0,5H), 4,38-4,26 (m, 3,5H), 3,95-3,83 (m, 1H), 3,20-2,87 (m, 3H), 2,28-2,20 (m, 1H), 2,00-1,43 (m, 6H), 0,96-0,89 (m, 3H).	387,1 (M+H)

Comp.	Estructura	Nombre	¹ H RMN	IEN (m/z)
25		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-2,4-isopropilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃ , mezcla de diastereoisómeros): δ 7,67-7,64 (dd, 1H, J = 2,1, 8,7 Hz), 7,67-7,63 (dd, 1H, J = 2,4, 8,7 Hz), 7,38-7,34 (dd, 2H, J = 4,2, 8,7 Hz), 7,24-7,17 (td, 1H, J = 2,4, 9,0 Hz), 7,24-7,16 (td, 1H, J = 2,4, 9,0 Hz), 4,83 (s a, 0,5H), 4,38-4,22 (m, 3H), 4,15 (s a, 0,5H), 3,95-3,88 (m, 1H), 3,31-3,22 (m, 0,5H), 3,16-2,86 (m, 2,5H), 2,59-2,47 (m, 1H), 2,32-2,20 (m, 1H), 1,87-1,39 (m, 4H), 0,96-0,93 (dd, 3H, J = 2,0, 7,2 Hz), 0,85-0,77 (dd, 3H, J = 6,6, 15,6 Hz).	401,1 (M+H)
26		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-isopropilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃ , mezcla de diastereoisómeros): δ 7,66-7,62 (dd, 2H, J = 2,6, 8,7 Hz), 7,45-7,41 (dos conjuntos solapantes de dd, 2H, J = 4,1, 8,7 Hz), 7,21-7,14 (td, 2H, J = 2,7, 9,0 Hz), 5,14 (s, 0,5H), 5,03 (s, 0,5 H), 4,31-4,09 (m, 2,5 H), 3,92-3,87, 3,21-3,17 (ABq, 1H, J = 14,1 Hz), 3,57-3,25 (m, 2H), 3,11-3,06 (d, 0,5H, J = 14,1 Hz), 2,59-2,50 (m, 1H), 2,38-2,26 (m, 1H), 1,95-1,49 (m, 5H), 1,27 (s, 3H), 0,97-0,94 (dd, 3H, J = 2,0, 7,5 Hz), 0,87-0,80 (dd, 3H, J = 6,9, 14,4 Hz).	415,1 (M+H)
27		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃ , mezcla de diastereoisómeros): δ 7,68-7,64 (dd, 2H, J = 2,6, 8,7 Hz), 7,39-7,35 (dd, 2H, J = 4,2, 8,7 Hz), 7,25-7,17 (td, 2H, J = 2,4, 9,0 Hz), 4,60-4,59 (d, 0,5H, J = 3,0 Hz), 4,39-4,27 (m, 3,5H), 3,97-3,80 (m, 1H), 3,25-3,04 (m, 2,5H), 2,91-2,86 (m, 0,5H), 2,46-2,39 (m, 1H), 1,99-1,62 (m, 3H), 1,55-1,39 (m, 1H), 1,26-1,21 (t, 3H, J = 7,5 Hz).	373,1 (M+H)
28		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃ , mezcla de diastereoisómeros): δ 7,65-7,62 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,45-7,40 (dd, 2H, J = 4,2, 9,2 Hz), 7,21-7,14 (td, 2H, J = 2,7, 9,0 Hz), 5,02 (s, 0,5H), 4,88 (s, 0,5H), 4,25 (s, 2H), 3,98-3,89 (t, 1H, J = 14,1 Hz), 3,53-3,30 (m, 2H), 3,21-3,17 (d, 0,5H, J = 14,1 Hz), 3,10-3,05 (d, 0,5H, J= 14,1 Hz), 2,51-2,43 (m, 1H), 2,03-1,75 (m, 3H), 1,67-1,46 (m, 1H), 1,28 (s, 1,5H), 1,27-1,25 (d, 1,5H, J = 7,5 Hz), 1,26 (s, 1,5H), 1,23-1,21 (d, 1,5H, J= 7,5 Hz).	387,0 (M+H)

Comp.	Estructura	Nombre	¹ H RMN	IEN (m/z)
29		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃ , mezcla de diastereoisómeros): δ 7,69-7,65 (dd, 2H, J = 2,6, 8,7 Hz), 7,38-7,33 (dd, 2H, J = 4,1, 9,0 Hz), 4,38-4,28 (m, 3H), 4,00-3,94 (dd, 1H, J = 4,2, 14,7 Hz), 3,56-3,15 (m, 4H), 2,55-2,50 (m, 1H), 2,28-2,21 (m, 1H), 1,69-1,60 (m, 1H), 1,23-1,21 (d, 3H, J = 6,9 Hz).	359,1 (M+H)
30		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-metilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,65-7,61 (dd, 2H, J = 2,7, 8,7 Hz), 7,43-7,38 (dd, 2H, J = 4,4, 8,9 Hz), 7,20-7,13 (td, 2H, J = 2,6, 8,9 Hz), 4,30-4,20 (m, 2H), 3,75-3,73 (d, 1H, J = 3,3 Hz), 3,59-3,27 (m, 4H), 2,54-2,48 (m, 1H), 2,30-2,26 (m, 1H), 1,75-1,65 (m, 1H), 1,29-1,18 (m, 6H).	373,0 (M+H)
31		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4,4-dimetilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,65 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,38-7,33 (dd, 2H, J = 4,1, 9,1 Hz), 7,25-7,17 (td, 2H, J = 2,5, 9,1 Hz), 4,37-4,33 (m, 3H), 3,62-3,52 (m, 2H), 3,26-3,21 (m, 1H), 3,17-3,14, 3,12-3,08 (ABq, 2H, J = 9,4 Hz), 2,25 (s, 2H), 1,16 (s, 2H), 1,16 (s, 3H), 1,14 (s, 1H).	373,1 (M+H)
32		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-etilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃ , mezcla de diastereoisómeros aprox. 1:4): δ 7,69-7,65 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,38-7,33 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,25-7,18 (td, 2H, J = 2,5, 9,0 Hz), 4,80-4,79 (d, 0,2H, J = 2,7 Hz), 4,39-4,26 (m, 3H), 4,09-4,08 (m, 0,8H), 3,72-3,64 (m, 1H), 3,48-3,40 (m, 1H), 3,12-3,03 (m, 1H), 2,44-2,33 (m, 2H), 2,22-2,09 (m, 1H), 1,76-1,66 (m, 1H), 1,57-1,49 (m, 1H), 1,28-1,18 (m, 1H), 0,81-0,76 (t, 2,5H, J = 7,5 Hz), 0,65-0,60 (t, 0,5H, J = 7,4 Hz).	373,0 (M+H)
33		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-5-etilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, d ⁶ -DMSO): δ 7,66-7,62 (dd, 2H, J = 2,3Hz, 8,9 Hz), 7,46-7,41 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,22-7,15 (td, 2H, J = 2,6, 8,9 Hz), 4,33-4,19 (m, 3H), 3,67-3,57 (m, 2H), 3,28-3,23 (d, 1H, J = 14,4 Hz), 2,94 (s, 0,5H), 2,86-2,86 (d, 0,5H, J = 3,3Hz), 2,50-2,32 (m, 2H), 2,24-2,12 (m, 1H), 1,80-1,70 (m, 2H), 1,14-1,34 (m, 1H), 1,22 (s, 3H), 0,91-0,86 (t, 3H, J = 7,4 Hz).	387,0 (M+H)

Comp.	Estructura	Nombre	¹ H RMN	IEN (m/z)
34		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,64 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,38-7,33 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,24-7,18 (m, 2H), 4,73-4,72 (d, 0,5H, J = 3,0 Hz), 4,38-4,25 (m, 3H), 4,08-4,06 (d, 0,5H, J = 3,6 Hz), 3,69-3,57 (m, 1H), 3,49-3,35 (m, 1H), 3,11-3,04 (m, 1H), 2,49-2,01 (m, 3H), 1,67-1,53 (m, 1H), 1,05-1,03 (d, 1,5H, J = 6,3 Hz), 0,84-0,82 (d, 1,5H, J = 6,3 Hz).	359,1 (M+H)
35		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-5-metilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,67-7,63 (dd, 2H, J = 2,6, 8,9 Hz), 7,46-7,42 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,23-7,16 (td, 2H, J = 2,7, 9,0 Hz), 4,34-4,21 (m, 3H), 3,82-3,72 (sext, 1H, J = 6,6 Hz), 3,60-3,56, 3,32-3,27 (ABq, 2H, J = 14,4 Hz), 2,49-2,20 (m, 3H), 1,71-1,61 (m, 1H), 1,24 (s, 3H), 1,23-1,21 (d, 3H, J = 6,6 Hz).	373,0 (M+H)
36		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-4-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,67-7,63 (dd, 2H, J = 2,6, 9,0 Hz), 7,46-7,41 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,22-7,15 (td, 2H, J = 2,5, 8,9 Hz), 4,96 (s, 0,5H), 4,72 (s, 0,5H), 4,28 (s, 2H), 4,05-4,01, 3,34-3,29 (ABq, 1H, J = 14,1 Hz), 3,89-3,84, 3,06-3,01 (ABq, 1H, J = 14,1 Hz), 3,57-3,37 (m, 2H), 2,60-2,48 (m, 1H), 2,10-1,84 (m, 2H), 1,57-1,48 (m, 2H), 1,28 (s, 3H), 1,05-1,03 (d, 3H, J = 6,3 Hz); análisis de HPLC: (C18, 10-90% de acetonitrilo en agua durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 13,2 min, 98 %.	387,1 (M+H)
37		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,67-7,62 (m, 2H), 7,38-7,33 (dd, 2H, J = 4,1, 9,0 Hz), 7,23-7,16 (m, 2H), 4,55-4,54 (d, 0,5H, J = 3,3 Hz), 4,37-4,24 (m, 3H), 4,20-4,18 (d, 0,5H, J = 3,6 Hz), 3,88-3,81 (dd, 0,5H, J = 8,6, 14,1 Hz), 3,77-3,70 (dd, 0,5H, J = 8,4, 14,1 Hz), 3,18-2,76 (m, 2H), 2,49-2,28 (m, 2H), 1,92-1,77 (m, 2H), 1,49-1,30 (m, 1H), 0,94-0,93 (d, 1,5H, J = 3,0 Hz), 0,92-0,91 (d, 1,5H, J = 3,0 Hz).	373,1 (M+H)

Comp.	Estructura	Nombre	¹ H RMN	IEN (m/z)
38		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-5-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,67-7,63 (dd, 2H, J = 2,4, 8,9 Hz), 7,46-7,41 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,22-7,15 (td, 2H, J = 2,4, 9,0 Hz), 4,97 (s, 0,5H), 4,76 (s, 0,5H), 4,33-4,22 (m, 2H), 4,02 (d, 0,5H, J = 14,1 Hz), 3,90-3,85 (d, 0,5H, J = 14,1 Hz), 3,50-2,95 (m, 3H), 2,57-2,38 (m, 2H), 2,01-1,85 (m, 2H), 1,62-1,40 (m, 1H), 1,29 (s, 3H), 1,04-0,99 (t, 3H, J = 6,8 Hz).	387,1 (M+H)
39		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-6-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,64 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,40-7,35 (dd, 2H, J = 4,2, 9,0 Hz), 7,25-7,18 (td, 1H, J = 2,7, 9,0 Hz), 7,25-7,18 (td, 1H, J = 2,5, 9,0 Hz), 5,51-5,50 (d, 0,5H, J = 2,1 Hz), 4,84-4,83 (d, 0,5H, J = 2,4 Hz), 4,39-4,22 (m, 3H), 4,06-3,98 (dd, 0,5H, J = 8,6, 14,4 Hz), 3,83-3,76 (dd, 0,5H, J = 8,0,14,1 Hz), 3,21-3,13 (m, 1H), 2,96-2,91 (dd, 0,5H, J = 0,9, 14,1 Hz), 2,86-2,81 (dd, 0,5H, J = 1,5, 14,1 Hz), 2,41-2,35 (m, 2H), 1,87-1,38 (m, 4H), 0,96-0,94 (d, 1,5H, J = 6,6 Hz), 0,67-0,65 (d, 1,5H, J = 6,6 Hz).	373,1 (M+H)
40		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-6-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,66-7,62 (dd, 2H, J = 2,6, 9,0 Hz), 7,45-7,41 (dd, 2H, J = 4,2, 9,0 Hz), 7,21-7,15 (td, 2H, J = 2,4, 9,0 Hz), 5,13 (s, 1H), 4,34-4,29, 4,21-4,16 (ABq, 2H, J = 14,9 Hz), 4,05-4,00 (d, 1H, J = 14,7 Hz), 3,68-3,64 (m, 1H), 3,26-3,21 (d, 1H, J = 14,4 Hz), 2,52-2,47 (m, 2H), 1,96-1,70 (m, 4H), 1,26-1,23 (d, 3H, J = 6,6 Hz), 1,22 (s, 3H).	373,1 (M+H)
41		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-isopropilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69-7,65 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,38-7,33 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,25-7,18 (m, 2H), 4,37-4,28 (m, 3H), 3,87-3,85 (m, 1H), 3,58-3,03 (m, 5H), 2,55-2,46 (m, 1H), 2,21-2,02 (m, 2H), 0,92-0,89 (dd, 3H, J = 3,2, 6,8 Hz), 0,86-0,84 (dd, 3H, J = 1,5, 6,3 Hz).	387,1 (M+H)
42		4-ciclopropil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69-7,65 (dd, 2H, J = 2,4, 8,4 Hz), 7,38-7,34 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,25-7,18 (td, 2H, J = 2,4, 9,0 Hz), 4,40-4,29 (m, 3H), 3,80-3,79 (d, 1H, J = 3,9 Hz), 3,60-3,17 (m, 4H), 2,61-2,52 (dd, 1H, J = 8,9, 17,0 Hz), 2,33-2,23 (m, 1H), 1,76-1,63 (m, 1H), 0,80-0,75 (m, 1H), 0,56-0,45 (m, 2H), 0,19-0,08 (m, 2H).	385,1 (M+H)

Comp.	Estructura	Nombre	¹ H RMN	IEN (m/z)
43		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69-7,65 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,38-7,33 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,25-7,18 (td, 2H, J = 2,6, 8,9 Hz), 4,37-4,28 (m, 3H), 3,77-3,75 (m, 1H), 3,57-3,38 (m, 2H), 3,28-3,20 (m, 1H), 3,03-2,93 (m, 1H), 2,64-2,55 (dd, 1H, J = 8,6, 16,5 Hz), 2,53-2,40 (oct, 1H, J = 6,9 Hz), 2,12-2,08 (t, 0,5H, J = 6,6 Hz), 2,06-2,02 (t, 0,5H, J = 2,5 Hz), 1,13-1,10 (d, 1,5H, J = 6,6 Hz), 1,16-1,09 (d, 1,5H, J = 6,6 Hz).	359,1 (M+H)
44		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-4-metilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,67-7,64 (dd, 2H, J = 2,4, 8,7 Hz), 7,44-7,40 (dd, 2H, J = 3,8, 8,6 Hz), 7,22-7,16 (td, 2H, J = 2,5, 9,0 Hz), 4,34-4,23 (m, 2H), 3,74-3,50 (m, 3H), 3,38-3,32 (dd, 1H, J = 3,6, 14,1 Hz), 3,24-3,19 (dd, 0,5H, J = 5,4, 10,2 Hz), 3,16-3,11 (dd, 0,5H, J = 6,5, 6,6 Hz), 2,66-2,46 (m, 2H), 2,14-2,05 (m, 1H), 1,27 (s, 3H), 1,19-1,17 (d, 1,5H, J = 6,3 Hz), 1,16-1,14 (d, 1,5H, J = 6,3 Hz).	373,0 (M+H)
45		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-etilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69-7,65 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,38-7,33 (dd, 2H, J = 4,1, 9,0 Hz), 7,24-7,18 (td, 2H, J = 2,6, 9,0 Hz), 4,37-4,27 (m, 3H), 3,81 (d, 1H, J = 2,1 Hz), 3,58-3,19 (m, 3H), 3,08-2,98 (m, 1H), 2,60-2,52 (dd, 1H, J = 8,7, 16,2 Hz), 2,31-2,23 (m, 1H), 2,16-2,01 (m, 1H), 1,50-1,39 (m, 1H), 0,93-0,88 (t, 1,5H, J = 7,5 Hz), 0,92-0,97 (t, 1,5H, J = 7,5 Hz).	373,1 (M+H)
46		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-4-etilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,67-7,63 (dd, 2H, J = 2,3,8,9 Hz), 7,44-7,40 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,22-7,16 (td, 2H, J = 2,4, 9,0 Hz), 4,33-4,22 (m, 2H), 3,71-3,53 (m, 3H), 3,39-3,15 (m, 2H), 2,63-2,54 (ddd, 1H, J = 2,7, 8,4, 16,8 Hz), 2,38-2,27 (sept, 1H, J = 7,8 Hz), 2,19-2,11 (m, 1H), 1,54-1,44 (m, 2H), 1,26 (s, 3H), 0,98-0,91 (m, 3H).	387,1 (M+H)
47		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4,5-dimetilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,64 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,37-7,33 (dd, 2H, J = 4,1, 89Hz), 7,24-7,17 (td, 2H, J = 2,5, 9,0 Hz), 4,64-4,59 (m, 0,5H), 4,38-4,24 (m, 3,5H), 3,88-2,97 (m, 3H), 2,63-2,40 (m, 2H), 2,13-1,88 (m, 1H), 1,11-0,77 (m, 6H).	373,1 (M+H)

Comp.	Estructura	Nombre	¹ H RMN	IEN (m/z)
48		2-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-3-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69-7,66 (dd, 1H, J = 2,1, 8,7 Hz), 7,69-7,65 (dd, 1H, J = 2,1, 8,7 Hz), 7,38-7,34 (dd, 1H, J = 3,9, 8,7 Hz), 7,38-7,33 (dd, 1H, J = 2,1, 8,7 Hz), 7,25-7,18 (td, 1H, J = 3,0, 9,0 Hz), 7,24-7,17 (td, 1H, J = 3,0, 9,0 Hz), 4,40-4,25 (m, 4H), 3,73 (s a, 0,5H), 3,64 (s a, 0,5H), 3,48-3,39 (m, 1H), 3,03-2,85 (m, 2H), 1,96-1,55 (m, 5H), 1,43-1,36 (m, 1H).	371,1 (M+H)
49		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,64 (dd, 2H, J = 2,7, 8,7 Hz), 7,39-7,35 (dd, 2H, J = 4,2, 8,7 Hz), 7,24-7,17 (td, 1H, J = 2,6, 9,0 Hz), 7,23-7,17 (td, 1H, J = 2,6, 9,0 Hz), 4,52 (s a, 0,5H), 4,39-4,27 (m, 3H), 4,20-4,19 (d, 0,5H, J = 3,0 Hz), 3,97-3,89 (m, 0,5H), 3,85-3,78 (dd, 0,5H, J = 8,0, 14,1 Hz), 3,28-3,07 (m, 2,5H), 2,94-2,89 (m, 0,5H), 2,53-2,45 (m, 1H), 2,05-1,75 (m, 3H), 1,48-1,33 (m, 1H), 1,01-0,98 (d, 3H, J = 6,3 Hz).	373,1 (M+H)
50		3-ciclobutil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,64 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,37-7,33 (dd, 2H, J = 14,1, 8,9 Hz), 7,24-7,17 (td, 2H, J = 2,5, 9,0 Hz), 4,36-4,27 (m, 3H), 4,05-4,03 (d, 0,5H, J = 4,5 Hz), 3,95-3,94 (d, 0,5H, J = 3,9 Hz), 3,55-3,44 (m, 1H), 3,31-3,16 (m, 3H), 2,55-2,48 (m, 2H), 2,15-2,73 (m, 8H).	399,1 (M+H)
51		3-ciclobutil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,64 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,39-7,34 (dd, 1H, J = 4,1, 8,7 Hz), 7,38-7,34 (dd, 1H, J = 4,2, 9,0 Hz), 7,24-7,17 (td, 2H, J = 2,6, 8,9 Hz), 4,60-4,59 (d, 0,5H, J = 3,3 Hz), 4,38-4,25 (m, 3H), 4,24-4,22 (d, 0,5H, J = 3,6 Hz), 3,95-3,84 (m, 1H), 3,17-2,87 (m, 3H), 2,57-2,51 (m, 1H), 2,34-2,26 (m, 1H), 2,14-1,39 (m, 9H).	413,1 (M+H)
52		3-ciclobutil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)piperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,66-7,62 (dd, 2H, J = 2,6, 8,9 Hz), 7,45-7,41 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,21-7,15 (td, 1H, J = 2,6, 8,9 Hz), 7,21-7,14 (td, 1H, J = 2,6, 8,9 Hz), 4,92 (s, 0,5H), 4,87 (s, 0,5H), 4,31-4,20 (m, 2H), 3,22-3,18 (ABq, 1H, J = 14,1 Hz), 3,88-3,83, 3,06-3,02 (ABq, 1H, J = 14,1 Hz), 3,49-3,27 (m, 2H), 2,63-2,52 (m, 1H), 2,39-2,27 (m, 1H), 2,16-1,47 (m, 10H), 1,27 (s, 3H).	413,1 (M+H)

Comp.	Estructura	Nombre	¹ H RMN	IEN (m/z)
53		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fenilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69-7,65 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,37-7,17 (m, 9H), 4,40-4,32 (m, 3H), 3,80-3,26 (m, 6H), 2,57-2,46 (m, 1H), 2,23-2,11 (m, 1H).	421,1 (M+H)
54		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fenilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,67-7,64 (dd, 2H, J = 2,4, 8,7 Hz), 7,44-7,40 (dd, 2H, J = 3,9, 9,0 Hz), 7,36-7,15 (m, 7H), 4,37-4,25 (m, 2H), 3,79-3,31 (m, 6H), 2,62-2,54 (m, 1H), 2,29-2,16 (m, 1H), 1,31 (s, 1,5H), 1,30 (s, 1,5H).	435,1 (M+H)
55		4-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)morfolin-3-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,64 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,39-7,34 (dd, 2H, J = 4,1, 9,0 Hz), 7,24-7,18 (td, 2H, J = 2,4, 9,0 Hz), 4,43-4,41 (m, 1H), 4,34 (s, 1H), 4,32 (d, 1H, J = 0,9 Hz), 4,18 (s, 2H), 3,84-3,79 (m, 2H), 3,76-3,68 (dd, 1H, J = 8,6, 17,4 Hz), 3,53-3,51 (d, 1H, J = 3,9 Hz), 3,41-3,28 (m, 3H).	361,1 (M+H)
56		4-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)morfolin-3-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,67-7,64 (dd, 2H, J = 2,4, 8,7 Hz), 7,44-7,40 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,23-7,16 (td, 1H, J = 2,4, 8,9 Hz), 4,30 (s, 2H), 4,24 (s, 2H), 3,91-3,86 (m, 3H), 3,61-3,56 (m, 2H), 3,53 (s, 1H), 3,40-3,35 (d, 1H, J = 14,1 Hz), 1,31 (s, 3H).	375,0 (M+H)
57		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metoxipiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,67-7,63 (dd, 2H, J = 2,3, 8,9 Hz), 7,39-7,34 (dd, 2H, J = 4,2, 8,7 Hz), 7,24-7,17 (td, 1H, J = 2,6, 9,0 Hz), 7,23-7,16 (td, 1H, J = 2,6, 9,0 Hz), 4,38-4,30 (m, 3H), 3,90-3,59 (m, 3H), 3,53 (s, 3H), 3,32-3,06 (m, 3H), 1,99-1,88 (m, 2H), 1,70-1,65 (m, 2H).	389,1 (M+H)
58		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-difluoropirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69-7,65 (dd, 2H, J = 2,4, 8,7 Hz), 7,37-7,32 (dd, 2H, J = 3,9, 8,7 Hz), 7,25-7,18 (td, 2H, J = 3,0, 8,7 Hz), 4,49-4,43 (m, 1H), 4,36-4,32 (m, 2H), 3,62-3,45 (m, 4H), 2,67-2,66 (d, 1H, J = 4,5 Hz), 2,67-2,45 (m, 2H); ¹⁹ F RMN (282 MHz, CDCl ₃): δ -105,1 to -105,2 (m), -123,57 to -123,4 (t, J = 10,7 Hz).	NA

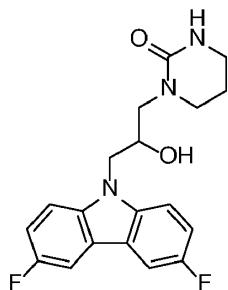
Comp.	Estructura	Nombre	¹ H RMN	IEN (m/z)
59		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3,3-difluoropirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,64 (dd, 2H, J = 2,7, 8,6 Hz), 7,41-7,36 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,24-7,17 (td, 2H, J = 2,7, 8,7 Hz), 4,30 (s, 2H), 3,74-3,69 (m, 2H), 3,67-3,62, 3,56-3,51 (ABq, 2H, J = 14,1 Hz), 2,64-2,49 (m, 2H), 2,14 (s, 1H), 1,30 (s, 3H); ¹⁹ F RMN (282MHz, CDCl ₃): δ -105,6 to -105,74 (t, J = 15,2 Hz), -123,6 to -123,6 (t, J = 10,6 Hz).	NA
60		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metoxipiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,07 (d, 2H, J = 6,9 Hz), 7,47-7,41 (m, 4H), 7,27-7,19 (m, 2H), 4,41-4,26 (m, 3H), 3,96 (dd, 1H, J = 6,6, 11,1 Hz), 3,76-3,52 (m, 2H), 3,50 (s, 3H), 3,29-2,98 (m, 3H), 1,97-1,78 (m, 3H), 1,65-1,55 (m, 1H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,2 min, 99,6 %.	354,1 (M+H)
61		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,09 (dd, 2H, J = 1,2, 7,2Hz), 7,50-7,44 (m, 4H), 7,29-7,20 (m, 2H), 4,54-4,14 (m, 4H), 3,98-3,81 (m, 1H), 3,20-2,64 (m, 3H), 2,50-2,28 (m, 2H), 1,85-1,74 (m, 2H), 1,48-1,28 (m, 1H), 0,88, 0,87 (dos dd solapantes, 3H, J = 6,6Hz); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,1 min, 98,7 %.	337,7 (M+H)
62		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,09 (d, 2H, J = 7,2Hz), 7,49-7,41 (m, 4H), 7,28-7,20 (m, 2H), 4,52 (s a, 0,5H), 4,44-4,29 (m, 3H), 4,21 (d, 0,5H, J = 3,6 Hz), 3,99-3,81 (m, 1H), 3,20-2,89 (m, 3H), 2,51-2,43 (m, 1H), 2,03-1,31 (m, 4H), 0,97 (d, 3H, J = 6,6 Hz); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,1 min, 98,5 %.	337,9 (M+H)

Comp.	Estructura	Nombre	¹ H RMN	IEN (m/z)
63		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-6-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,09 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 2,48-2,45 (m, 4H), 7,27-7,21 (m, 2H), 5,50 (s, 0,6 H), 4,84 (d, 0,4H, J = 3,6 Hz), 4,46-4,27 (m, 3H), 4,07 (dd, 0,4 H, J = 8,1, 14,1 Hz), 3,82 (dd, 0,6H, J = 7,6, 14,0 Hz), 3,15-3,07 (m, 1H), 2,97 (d, 0,6H, J = 14,1 Hz), 2,85 (d, 0,4H, J = 14,1 Hz), 2,40-2,33 (m, 2H), 1,76-1,32 (m, 4H), 0,86 (d, 1,2H, J = 6,3Hz), 0,59 (d, 1,8 H, J = 6,6 Hz); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,1 min, 95,2 %.	337,5 (M+H)
64		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,08 (d, 2H, J = 7,5Hz), 7,45-7,42 (m, 4H), 7,28-7,21 (m, 2H), 4,59 (s a, 0,4H), 4,43-4,26 (m, 3,6H), 3,94 (dd, 0,5H, J = 8,0, 13,7 Hz), 3,81 (dd, 0,5H, J = 7,5, 14,1 Hz), 3,17-2,89 (m, 3H), 2,42-2,33 (m, 1H), 1,94-1,33 (m, 4H), 1,23-1,19 (m, 3H); HPLC análisis: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,2 min, 96,5 %.	337,9 (M+H)
65		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-ciclopropilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,08 (d, 2H, J = 7,5Hz), 7,48-7,42 (m, 4H), 7,28-7,21, m, 2H), 4,39-4,29 (m, 3H), 3,87 (d, 1H, J = 14,7 Hz), 3,57-3,10 (m, 4H), 2,52 (dd, 0,5H, J = 5,1, 9,0 Hz), 2,46 (dd, 0,5H, J = 8,3,9,0 Hz), 2,24 (t, 0,5H, J = 6,9 Hz), 2,18 (t, 0,5H, J = 6,8 Hz), 1,75-1,60 (m, 1H), 0,75-0,68 (m, 1H), 0,49-0,38 (m, 2H), 0,14-0,02 (m, 2H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,4 min, 99,4 %.	349,3 (M+H)

Comp.	Estructura	Nombre	¹ H RMN	IEN (m/z)
66		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)piperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,08 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 7,54-7,42 (m, 4H), 7,26-7,20 (m, 2H), 4,70 (s, 1H), 4,33 (s, 2H), 4,02 (d, 1H, J = 14,1 Hz), 3,43-3,38 (m, 1H), 3,32-3,26 (m, 1H), 3,19 (d, 1H, J = 13,8 Hz), 2,44 (a t, 1H, J = 6,2 Hz), 1,86-1,76 (m, 4H), 1,29 (s, 3H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,1 min, 100 %.	337,2 (M+H)
67		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)pirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,08 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 7,53-7,42 (m, 4H), 7,26-7,21 (m, 2H), 4,33 (d, 2H, J = 2,4 Hz), 3,59-3,35 (m, 5H), 2,42 (t, 2H, J = 8,3 Hz), 2,11-1,99 (m, 2H), 1,27 (s, 3H); HPLC análisis: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,3 min, 100 %.	323,0 (M+H)
68		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,09 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,49-7,42 (m, 4H), 7,29-7,21 (m, 2H), 4,42-4,29 (m, 3H), 3,87 (d, 1H, J = 3,3Hz), 3,51 (dd, 1H, J = 6,9, 14,0 Hz), 3,39-3,20 (m, 3H), 2,40 (t, 2H, J = 8,3 Hz), 1,99 (quin, 2H, J = 7,5 Hz); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 10,7 min, 100 %.	309,0 (M+H)
69		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-difluoropiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,10-8,07 (m, 2H), 7,47-7,44 (m, 4H), 7,28-7,22 (m, 2H), 4,50 (a m, 1H), 4,20-4,38 (d, 2H, J = 6,1 Hz), 3,66-3,51 (m, 2H), 3,41-3,30 (m, 2H), 2,77 (d, 1H, J = 3,6 Hz), 2,31-2,18 (m, 2H), 1,96 (quin, 2H, J = 6,3 Hz); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,1 min, 98,9 %.	359,0 (M+H)

Comp.	Estructura	Nombre	^1H RMN	IEN (m/z)
70		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl_3): δ 8,09 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,50-7,44 (m, 4H), 7,29-7,20 (m, 2H), 4,94-4,71 (m, 1H), 4,45-4,34 (m, 3H), 3,73 (ddd, 1H, J = 8,4, 14,4, 34,5 Hz), 3,57-3,07 (m, 4H), 2,15-1,88 (m, 3H), 1,77-1,66 (m, 1H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,3 min, 100 %.	341,2 (M+H)

Compuesto 71 (no de acuerdo con la presente invención): 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)tetrahidropirimidin-2(1H)-ona



5

Una mezcla de 3,6-difluoro-9-(oxiran-2-ilmetil)-9H-carbazol (0,06 g, 0,2 mmol) y 1,3-diaminopropano (0,195 ml, 2,3 mmol) en etanol (2 ml) se agitó a 40 °C durante 5 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío para producir un aceite amarillo claro. IEN (m/z): 334,2 (M+H). El residuo se disolvió en cloruro de metileno (10 ml) a 0 °C, se añadieron 10 4-dimetilaminopiridina (0,005 g) y 1,1'-carbonildiimidazol (0,056 g, 0,3 mmol). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. La reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (0-10 % de metanol/cloruro de metileno) para producir el producto deseado como un polvo blanco (0,060 g, 72 %). ^1H RMN (300 MHz, $d^6\text{-DMSO}$): δ 7,99 (dd, 2H, J = 9,6, 2,7 Hz), 7,56 (dd, 2H, J = 9,0, 4,2 Hz), 7,30 (td, 2H, J = 9,0, 2,7 Hz), 6,29 (s, 1H), 5,24 (d, 1H, J = 5,4 Hz), 4,35 (dd, 1H, J = 15,0, 3,6 Hz), 4,24 (dd, 1H, J = 15,0, 8,1 Hz), 15 4,07 (m, 1H), 3,55-3,05 (m, 6H), 1,90-1,70 (m, 2H); ESI (m/z): 360,1 (M+H).

Compuestos 72 a 84 (de los que el compuesto 84 es de acuerdo con la presente invención):

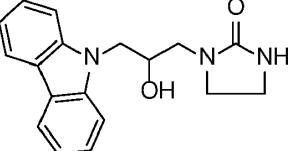
Los compuestos 72 a 84 se prepararon mediante procedimientos análogos a los usados para el compuesto 71 usando una diamina apropiada tal como *N*-metil-1,3-diaminopropano, etilendiamina, *N*-etiletilendiamina, *N*1-ciclohexilpropano-1,3-diamina, *N*1-ciclobutilpropano-1,3-diamina, *N*1-ciclopentilpropano-1,3-diamina o propano-1,2-diamina en lugar de 1,3-diaminopropano. La preparación de diaminas no disponibles en el mercado usadas se describe en la preparación de intermedios.

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ^1H	IEN (m/z)
72		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl_3): δ 7,69-7,65 (dd, 2H, J = 2,4, 8,7 Hz), 7,40-7,36 (dd, 2H, J = 4,0, 9,0 Hz), 7,24-7,18 (td, 2H, J = 2,7, 9,0 Hz), 4,42-4,35 (m, 4H), 4,24-4,22 (m, 1H), 3,50-3,21 (m, 6H).	346,1 (M+H)

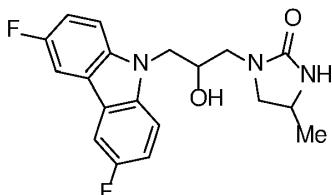
Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H	IEN (m/z)
73		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-ethylimidazolidin-2-ona	(300MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,64 (dd, 2H, J = 2,4, 8,7 Hz), 7,39-7,35 (dd, 2H, J = 4,2, 9,0 Hz), 7,23-7,17 (td, 2H, J = 2,7, 8,7 Hz), 4,80 (s a, 1H), 4,40-4,30 (m, 3H), 3,34-3,07 (m, 8H), 1,15-1,10 (t, 3H, J = 7,2 Hz).	373,4 (M+H)
74		1-ciclohexil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)tetrahidropirimidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,67-7,64 (dd, 2H, J = 2,0, 8,4 Hz), 7,40-7,36 (dd, 2H, J = 41, 9,0 Hz), 7,23-7,16 (td, 2H, J = 2,4, 9 . 0 Hz), 5,66-5,65 (d, 1H, J = 2,1 Hz), 4,40-4,17 (m, 4H), 3,88-3,81 (m, 1H), 3,21-2,94 (m, 4H), 2,85-2,80 (dd, 1H, J = 1,7, 14,4 Hz), 1,85-1,61 (m, 7H), 1,45-1,26 (m, 4H), 1,10-1,01 (m, 1H).	442,1 (M+H)
75		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-feniltetrahidropirimidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,64 (dd, 2H, J = 2,7, 8,7 Hz), 7,41-7,36 (dd, 2H, J = 4,1, 8,7 Hz), 7,34-7,32 (m, 2H), 7,24-7,16 (m, 5H), 5,07-5,06 (d, 1H, J= 3,0 Hz), 4,40-4,26 (m, 3H), 3,93-3,85 (dd, 1H, J = 8,7, 14,7 Hz), 3,67-3,63 (m, 2H), 3,26-3,18 (m, 2H), 3,00-3,95 (dd, 1H, J= 2,0, 14,6 Hz), 2,10-1,99 (m, 2H).	436,2 (M+H)
76		1-ciclopentil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)tetrahidropirimidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,67-7,63 (dd, 2H, J = 2,4, 8,7 Hz), 7,40-7,35 (dd, 2H, J = 4,2, 8,7 Hz), 7,23-7,16 (td, 2H, J = 2,4,9,0 Hz), 5,65-5,65 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 4,84-4,73 (quint, 1H, J = 8,4 Hz), 4,40-4,21 (m, 3H), 3,88-3,81 (m, 1H), 3,18-2,95 (m, 4H), 2,85-2,80 (dd, 1H, J = 1,5, 14,7 Hz), 1,88-1,34 (m, 10H).	428,2 (M+H)

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H	IEN (m/z)
77		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-isopropiltetrahidropirimidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,67-7,64 (dd, 2H, J=2,1, 8,9Hz), 7,40-7,35 (dd, 2H, J=4,2, 9,0Hz), 7,23-7,17 (td, 2H, J=2,6, 9,0Hz), 5,65-5,64 (d, 1H, J=2,4Hz), 4,74-4,60 (sept, 1H, J=6,9Hz), 4,41-4,21 (m, 3H), 3,91-3,82 (m, 1H), 3,18-2,84 (m, 4H), 2,85-2,79 (dd, 1H, J=1,7, 14,6Hz), 1,90-1,75 (m, 2H), 1,09-1,07 (d, 6H, J=6,9Hz); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 13,5 min, 100 %.	402,1 (M+H)
78		1-ciclobutil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)tetrahidropirimidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,67-7,64 (dd, 2H, J = 2,4, 8,7 Hz), 7,39-7,35 (dd, 2H, J = 4,2, 8,7 Hz), 7,24-7,16 (td, 2H, J = 2,2, 8,7 Hz), 5,46-5,45 (d, 1H, J = 1,8 Hz), 4,90-4,79 (quint, 1H, J = 8,7 Hz), 4,41-4,21 (m, 3H), 3,86-3,79 (m, 1H), 3,31-2,99 (m, 5H), 2,87-2,81 (dd, 1H, J = 1,5, 14,4 Hz), 2,09-2,02 (m, 4H), 1,90-1,83 (m, 2H), 1,67-1,60 (m, 2H).	414,2 (M+H)
79		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-feniltetrahidropirimidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,64-7,60 (dd, 2H, J = 2,7, 8,7 Hz), 7,46-7,42 (dd, 2H, J = 4,1, 9,0 Hz), 7,35-7,30 (m, 2H), 7,23-7,13 (m, 5H), 5,48 (s, 1H), 4,27-4,26 (d, 2H, J = 3,0 Hz) 4,00-3,95-3,86, 3,13-3,08 (ABq, 2H, J= 14,6 Hz), 3,72-3,46 (m, 4H), 2,18-2,05 (m, 2H), 1,33 (s, 3H).	450,1 (M+H)
80		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-isopropiltetrahidropirimidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,65-7,61 (dd, 2H, J = 2,7, 8,7 Hz), 7,47-7,43 (dd, 2H, J = 4,2, 9,0 Hz), 7,20-7,13 (td, 2H, J = 2,6,9,0 Hz), 6,07 (s, 1H), 4,70-4,60 (sept, 1H, J= 6,9 Hz), 4,25-4,21 (d, 2H, J = 5,1 Hz), 3,92-3,87, 3,03 -2,98 (ABq, 2H, J = 14,4 Hz), 3,39-3,10 (m, 4H), 1,98-1,90 (m, 2H), 1,27 (s, 3H).	416,1 (M+H)

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H	IEN (m/z)
81		1-ciclobutil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)tetrahidropirimidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,65-7,61 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,47-7,42 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,20-7,13 (td, 2H, J = 2,5, 9,0 Hz), 5,91 (s, 1H), 4,87-4,76 (quint, 1H, J = 8,6 Hz), 4,25-4,24 (d, 2H, J = 4,5 Hz), 3,92-3,87, 3,12-2,96 (ABq, 2H, J = 14,7 Hz), 3,42-3,21 (m, 4H), 2,13-1,91 (m, 6H), 1,66-1,55 (m, 2H) 1,26 (s, 3H).	428,1 (M+H)
82		1-ciclohexil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)tetrahidropirimidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,64-7,60 (dd, 2H, J = 2,7, 8,7 Hz), 7,47-7,43 (dd, 2H, J = 4,2, 9,0 Hz), 7,20-7,13 (td, 2H, J = 2,6, 9,0 Hz), 6,07 (s, 1H), 4,25-4,24 (d, 2H, J = 3,6 Hz), 4,20-4,16 (m, 1H), 3,91-3,87, 3,02-2,97 (ABq, 2H, J = 14,6 Hz), 3,41-3,10 (m, 4H), 1,97-1,62 (m, 6H), 1,38-1,27 (m, 3H) 1,26 (s, 3H), 1,07-1,00 (m, 1H).	456,2 (M+H)
83		1-ciclopropil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)tetrahidropirimidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,66-7,63 (dd, 2H, J = 2,3, 9,0 Hz), 7,39-7,34 (dd, 2H, J = 4,2, 9,0 Hz), 7,22-7,19 (td, 2H, J = 2,6, 9,0 Hz), 5,24 (s, 1H), 4,39-4,21 (m, 3H), 3,84-3,76 (m, 1H), 3,25-3,19 (m, 2H), 3,11-2,95 (m, 2H), 2,92-2,86 (m, 1H), 2,61-2,54 (m, 1H), 1,87-1,79 (quint, 2H, J = 6,0 Hz), 0,78-0,65 (m, 2H), 0,64-0,57 (m, 2H).	400,2 (M+H)

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H	IEN (m/z)
84		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona	(300 MHz, d ⁶ -DMSO): δ 8,11 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 7,57 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 7,44-7,38 (m, 2H), 7,16 (t, 2H, J = 7,1 Hz), 6,30 (s, 1H), 5,16 (d, 1H, J = 6,0 Hz), 4,34 (dd, 1H, J = 4,8, 14,7 Hz), 4,25 (dd, 1H, J = 7,5, 15,0 Hz), 4,09-4,02 (m, 1H), 3,45-3,17 (m, 5H), 3,10 (dd, 1H, J = 7,2, 13,8 Hz); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 10,1 min, 100 %.	310,0 (M+H)

Compuesto 85 (compuesto de acuerdo con la presente invención): 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona



5 Una mezcla de (1-((3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)amino)propan-2-il)carbamato de *terc*-butilo (1,400 g, 80 % puro, 2,6 mmol, 1,0 equiv.) y *terc*-butóxido de potasio (0,290 g, 2,6 mmol, 1,0 equiv.) en tetrahidrofurano anhídrico (270 ml) se agitó a reflujo durante 2 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se añadió 10 ácido acético (0,1 ml) y gel de sílice, y la mezcla se concentró a presión reducida hasta una suspensión. El residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de un 0-10 % de metanol/cloruro de metileno para dar un sólido. El sólido se cristalizó en acetato de etilo para dar un sólido blanco (0,673 g, 72 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃; mezcla de diastereoisómeros): δ 7,69-7,65 (dd, 2H, J = 2,7, 8,7 Hz), 7,40-7,35 (dd, 2H, J = 4,1, 9,0 Hz), 7,24-7,18 (td, 2H, J = 2,7, 9,0 Hz), 4,47-4,19 (m, 5H), 3,82 (a m, 1H), 3,58-2,93 (m, 4H), 1,26-1,24 (d, 3H, J = 6,3 Hz); ESI (m/z): 360,9 (M+H).

15 Compuesto 86 (no de acuerdo con la presente invención): 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-etyltetrahidropirimidin-2(1H)-ona



20 A una solución de 3,6-difluoro-9H-carbazol (0,065 g, 0,3 mmol) en *N,N*-dimetilformamida anhídrica (0,3 ml) se añadió hidruro de sodio al 60 % en aceite de vaselina (0,009 g, 0,2 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se añadió una solución de 1-etyl-3-(oxiran-2-ilmetil)tetrahidropirimidin-2(1H)-ona (0,055 g, 0,3 mmol) en *N,N*-dimetilformamida anhídrica (0,3 ml) y la mezcla se calentó a 70 °C durante 8 h. La mezcla de reacción se diluyó con metanol, se filtró y se purificó por HPLC preparativa (C18, 30-95 % de acetonitrilo en agua) para producir un sólido blanco (0,072 g, 62 %). ¹H RMN (300MHz, CDCl₃): δ 7,67-7,63 (dd, 2H, J = 2,6, 9,0 Hz), 7,39-7,35 (dd, 2H, J = 4,2, 8,7 Hz), 7,23-7,16 (td, 2H, J = 2,4, 9,0 Hz), 5,52 (d, 1H, J = 2,7 Hz), 4,37-4,21 (m, 3H), 3,86-3,79 (m, 1H), 3,43-2,98 (m, 6H), 2,88-2,83 (dd, 1H, J = 1,8, 14,7 Hz), 1,91-1,83 (quin, 2H, J = 5,9 Hz), 1,12-1,07 (t, 3H, J = 7,4 Hz); ESI (m/z): 388,1 (M+H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,8 min, 100 %.

Compuestos 87-100 (de los que los compuestos 88-93 y 96-98 son de acuerdo con la presente invención):

Los compuestos 87-100 se prepararon mediante procedimientos análogos a los usados para el compuesto 88.

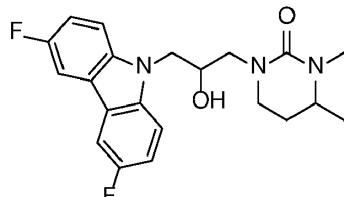
Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H	IEN (m/z)
87		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-etiltetrahidropirimidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,64-7,61 (dd, 2H, J = 2,5, 8,6 Hz), 7,47-7,42 (dd, 2H, J = 4,2, 9,0 Hz), 7,20-7,13 (td, 2H, J = 2,7, 9,0 Hz), 5,97 (s, 1H), 4,30-4,18 (m, 2H), 3,91-3,86, 3,03-2,98 (ABq, 2H, J = 14,9 Hz), 3,46-3,23 (m, 6H), 1,99-1,93 (m, 2H), 1,26 (s, 3H), 1,12-1,07 (t, 3H, J = 7,0 Hz).	402,1 (M+H)
88		1-ciclohexil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,64 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,39-7,35 (dd, 2H, J = 4,2, 8,7 Hz), 7,39-7,17 (td, 2H, J = 2,4, 9,0 Hz), 5,14-5,13 (d, 1H, J = 2,7 Hz), 4,40-4,30 (m, 3H), 3,73-3,64 (m, 1H), 3,30-2,96 (m, 6H), 1,80-1,70 (m, 5H), 1,45-1,24 (m, 4H), 1,13-1,05 (m, 1H).	428,2 (M+H)
89		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fenylimidazolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69-7,66 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,53-7,50 (m, 2H), 7,41-7,32 (m, 4H), 7,39-7,17 (td, 2H, J = 2,5, 9,0 Hz), 7,10-7,05 (a t, 1H, J = 7,4 Hz), 4,43-4,37 (m, 3H), 4,01-3,99 (d, 1H, J = 4,2 Hz) 3,86-3,80 (m, 2H), 3,53-3,29 (m, 4H).	422,1 (M+H)
90		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-isopropylimidazolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,66-7,62 (dd, 2H, J = 2,4, 8,6 Hz), 7,38-7,33 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,22-7,15 (td, 2H, J = 2,5, 9,0 Hz), 5,00-5,00 (d, 1H, J = 2,1 Hz), 4,37-4,06 (m, 3H), 4,15-4,06 (m, 1H), 3,29-3,00 (m, 6H), 1,15-1,11 (t, 6H, J = 6,3 Hz).	388,2 (M+H)
91		1-ciclopentil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,66-7,65 (dd, 2H, J = 2,6, 8,6 Hz), 7,40-7,35 (dd, 2H, J = 4,2, 8,7 Hz), 7,24-7,17 (td, 2H, J = 2,6, 9,0 Hz), 4,98-4,97 (d, 1H, J = 1,5 Hz), 4,41-4,22 (m, 3H), 3,32-3,00 (m, 7H), 1,86-1,48 (m, 10H).	414,2 (M+H)

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H	IEN (m/z)
92		1-ciclopropil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,66-7,62 (dd, 2H, J = 2,6, 8,9 Hz), 7,38-7,34 (dd, 2H, J = 4,1, 8,9 Hz), 7,22-7,15 (td, 2H, J = 2,5, 9,0 Hz), 4,81-4,80 (d, 1H, J = 4,5 Hz), 4,37-4,28 (m, 3H), 3,31-3,00 (m, 6H), 2,44-2,37 (m, 1H), 0,76-0,61 (m, 4H).	386,2 (M+H)
93		1-ciclobutil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,66-7,62 (dd, 2H, J = 2,6, 9,0 Hz), 7,37-7,33 (dd, 2H, J = 4,1, 9,0 Hz), 7,22-7,15 (td, 2H, J = 2,5, 9,0 Hz), 4,80-4,79 (d, 1H, J = 4,5 Hz), 4,43-4,27 (m, 4H), 3,40-3,04 (m, 6H), 2,16-2,04 (m, 4H), 1,71-1,60 (m, 2H).	400,1 (M+H)
94		1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,5-dimetiltetrahidropirimidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,64 (dd, 2H, J = 2,7, 8,7 Hz), 7,40-7,36 (dd, 2H, J = 4,2, 9,0 Hz), 7,23-7,17 (td, 2H, J = 2,6, 9,0 Hz), 5,31 (s a, 0,5H), 5,15 (s a, 0,3H), 4,39-4,21 (m, 3H), 3,85-3,73 (m, 1H), 3,17-2,76 (m, 8H), 2,17-2,12 (m, 1H), 0,93-0,90 (dos d solapantes, 3H, J = 6,9 Hz).	388,2 (M+H)
95		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-etyl tetrahidropirimidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,08 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 7,49-7,42 (m, 4H), 7,26-7,21 (m, 2H), 5,44 (d, 1H, J = 3,0 Hz), 4,43-4,25 (m, 3H), 3,87 (dd, 1H, J = 14,1, 8,6 Hz), 3,45-2,84 (m, 7H), 1,82 (quin, 2H, J = 6,0 Hz), 1,09 (t, 3H, J = 7,1 Hz); análisis de HPLC: (C18, 10-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 15 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,2 min, 98,3 %.	352,2 (M+H)
96		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-ciclobutilimidazolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,11-8,07 (m, 2H), 7,48-7,42 (m, 4H), 7,28-7,21 (m, 2H), 4,74-4,73 (m, 1H), 4,45-4,34 (m, 4H), 3,35 (t, 2H, J = 7,8 Hz), 3,24-2,99 (m, 4H), 2,17-2,07 (m, 4H), 1,71-1,61 (m, 2H); análisis de HPLC: (C18, 10-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 15 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,7 min, 95,1 %.	365,0 (M+H)

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H	IEN (m/z)
97		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-ciclopropylimidazolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,09 (d, 2H, J = 7,2 Hz), 7,48-7,42 (m, 4H), 7,27-7,21 (m, 2H), 4,75 (s a, 1H), 4,45-4,35 (m, 3H), 3,28-2,94 (m, 6H), 2,45-2,40 (m, 1H), 0,75-0,62 (m, 4H); análisis de HPLC: (C18, 10-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 15 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,6 min, 96,2 %.	351,0 (M+H)
98		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-isopropylimidazolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,09 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,49-7,42 (m, 4H), 7,27-7,21 (m, 2H), 4,96-4,94 (m, 1H), 4,48-4,35 (m, 3H), 4,13 (sept, 1H, J = 6,6 Hz), 3,26-2,94 (m, 6H), 1,15 (d, 3H, J = 7,5 Hz), 1,12 (d, 3H, J = 7,2 Hz); análisis de HPLC: (C18, 10-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 15 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,6 min, 98,3 %.	353,0 (M+H)
99		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-ciclopropiltetrahidropirimidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,09 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 7,48-7,42 (m, 4H), 7,26-7,21 (m, 2H), 5,25 (d, 1H, J = 3,0 Hz), 4,45-4,26 (m, 3H), 3,91-3,83 (dd, 1H, J = 9,0, 14,7 Hz), 3,21-3,17 (m, 2H), 3,04-2,85 (m, 3H), 2,62-2,56 (m, 1H), 1,78 (quint, 2H, J = 6,0 Hz), 0,88-0,57 (m, 4H); análisis de HPLC: (C18, 10-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 15 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,1 min, 97,5 %.	364,1 (M+H)

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H	IEN (m/z)
100		1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-ciclobutiltetrahidropirimidin-2(1H)-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,10-8,07 (m, 2H), 7,48-7,42 (m, 4H), 7,26-7,21 (m, 2H), 5,41 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 4,85 (quint, 1H, J = 9,0 Hz), 4,45-4,25 (m, 3H), 3,87 (dd, 1H, J = 8,9, 14,6 Hz), 3,35-3,11 (m, 2H), 3,03-2,87 (m, 3H), 2,10-2,00 (m, 4H), 1,85-1,77 (m, 2H), 1,66-1,58 (m, 2H); análisis de HPLC: (C18, 10-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 15 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 13,3 min, 95,6 %.	378,2 (M+H)

Compuesto 101 (no de acuerdo con la presente invención): 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,4-dimetiltetrahidropirimidin-2(1H)-ona

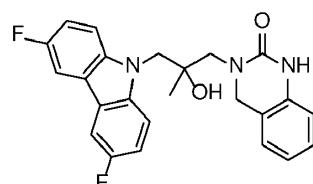


5 A una solución agitada de 3,6-difluoro-9H-carbazol (0,38 g, 1,9 mmol, 1,2 equiv.) en N,N-dimetilacetamida anhidra (2 ml) se añadió hidruro de sodio al 60 % en aceite de vaselina (0,075 g, 1,9 mmol, 1,2 equiv.). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 h, la solución sódica de carbazol resultante estaba lista para su uso.

10 A una solución agitada de 1,6-dimetiltetrahidropirimidin-2(1H)-ona (0,2 g, 1,6 mmol, 1,0 equiv.) en N,N-dimetilacetamida seca (3 ml) a 0 °C se añadió hidruro de sodio al 60 % en aceite de vaselina (0,075 g, 1,9 mmol, 1,2 equiv.) y la mezcla se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. Se añadió epibromohidrina (0,155 ml, 1,9 mmol, 1,2 equiv.) a 0 °C y la mezcla se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. La solución sódica de carbazol se añadió y la mezcla se calentó a 70 °C durante 5 h. La reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se lavaron con cloruro de sodio acuoso saturado, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice (0-100 % de acetato de etilo/hexano) para producir el producto puro como una espuma blanca (0,116 g, 19 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): (una mezcla de dos diastereoisómeros) δ 7,68 (dd, 2H, J = 8,7, 2,7 Hz), 7,40 (dd, 2H, J = 9,0, 4,2 Hz), 7,27-7,18 (m, 2H), 5,51 y 5,06 (d, 1H, J = 2,7 Hz), 4,50-4,20 (m, 3H), 3,90-3,74 (m, 1H), 3,50-2,75 (m, 7H), 2,05 (m, 1H), 1,60 (m, 1H), 1,21 y 1,17 (d, 3H, J = 6,6 Hz); ESI (m/z): 388,2 (M+H).

Compuesto 102 (no de acuerdo con la presente invención): 3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3,4-dihidroquinazolin-2(1H)-ona

25 Una mezcla de 1-bencil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3,4-dihidroquinazolin-2(1H)-ona (0,102 g, 0,2 mmol, 1,0 equiv.) e hidróxido de paladio al 20 % sobre carbono (0,035 g) en ácido acético (4 ml) y tetrahidrofurano (2 ml) se agitó a 344,73 kPa (50 psi) de hidrógeno durante 48 h. Se añadió hidróxido de paladio al 20 % sobre carbono (0,02 g) y paladio al 10 % sobre carbono (0,01 g) y la mezcla de reacción se agitó a 344,73 kPa (50 psi) de hidrógeno durante 72 h. La mezcla se filtró, se concentró y se purificó por HPLC preparativa (C18, 40-80 % de acetonitrilo en agua) para dar un sólido blanco (0,013 g, 15 %). ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 7,73-7,70 (dd, 2H,



30 Una mezcla de 1-bencil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3,4-dihidroquinazolin-2(1H)-ona (0,102 g, 0,2 mmol, 1,0 equiv.) e hidróxido de paladio al 20 % sobre carbono (0,035 g) en ácido acético (4 ml) y tetrahidrofurano (2 ml) se agitó a 344,73 kPa (50 psi) de hidrógeno durante 48 h. Se añadió hidróxido de paladio al 20 % sobre carbono (0,02 g) y paladio al 10 % sobre carbono (0,01 g) y la mezcla de reacción se agitó a 344,73 kPa (50 psi) de hidrógeno durante 72 h. La mezcla se filtró, se concentró y se purificó por HPLC preparativa (C18, 40-80 % de acetonitrilo en agua) para dar un sólido blanco (0,013 g, 15 %). ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 7,73-7,70 (dd, 2H,

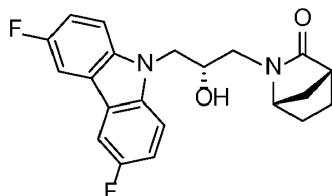
J = 2,6, 8,6 Hz), 7,55-7,51 (dd, 2H, *J* = 4,1, 9,2 Hz), 7,27-7,05 (m, 3H), 7,07-7,05 (d, 1H, *J* = 7,2 Hz), 6,96-6,91 (td, 1H, *J* = 1,1, 7,5 Hz), 6,81-6,78 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz), 4,71 (s, 2H), 4,33 (s, 2H) 3,75-3,70, 3,59-3,54 (ABq, 2H, *J* = 14,4 Hz), 1,22 (s, 3H); ESI (m/z): 422,1 (M+H); análisis de HPLC: (C18, 5-95% de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 13,5 min, 91,5 %.

5

El siguiente compuesto se preparó mediante procedimientos análogos a los usados para el compuesto 102.

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H y HPLC	IEN (m/z)
103		3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hydroxipropyl)-3,4-dihydroquinazolin-2(1H)-ona	(300 MHz, CD ₃ OD): δ 7,75-7,71 (dd, 2H, <i>J</i> = 2,4, 8,7 Hz), 7,51-7,47 (dd, 2H, <i>J</i> = 4,2, 8,9 Hz), 7,20-7,11 (m, 3H), 7,04-7,02 (m, 1H), 6,94-6,89 (td, 1H, <i>J</i> = 1,1, 7,2 Hz), 6,78-6,76 (d, 1H, <i>J</i> = 7,8 Hz), 4,67-4,62, 4,58-4,53 (ABq, 2H, <i>J</i> = 14,1 Hz), 4,42-4,32 (m, 3H), 3,81-3,75 (dd, 1H, <i>J</i> = 3,9, 14,1 Hz), 3,41-3,34 (dd, 1H, <i>J</i> = 4,2, 14,1 Hz); análisis de HPLC: (C18, 5-95% de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,8 min, 96 %.	408,2 (M+H)

10 Compuesto 104 (compuesto de acuerdo con la presente invención): (1S,4R)-2-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona



15 A una solución agitada de (1S,4R)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona (0,051 g, 0,5 mmol, 2,0 equiv.) en tetrahidrofurano anhídrido (1,5 ml) se añadió hidruro de sodio al 60 % en aceite de vaselina (0,009 g, 0,2 mmol, 1,0 equiv.) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 60 min. Se añadió (*R*)-3,6-difluoro-9-(oxiran-2-ilmetil)-9H-carbazol (0,060 g, 0,2 mmol, 1,0 equiv.) y la mezcla se agitó a 80 °C en un tubo sellado durante 16 h. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se añadió ácido acético 1 N (0,02 ml) en metanol y después se concentró a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por HPLC preparativa (C18, 30-95 % de acetonitrilo en agua) para dar un sólido blanco (0,053 g, 61 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7,68-7,65 (dd, 2H, *J* = 2,6, 8,6 Hz), 7,38-7,33 (dd, 2H, *J* = 4,1, 8,9 Hz), 7,24-7,17 (td, 2H, *J* = 2,5, 9,0 Hz), 4,38-4,28 (m, 4H), 3,64 (s a, 1H), 3,43-3,38 (dd, 1H, *J* = 2,7, 14,1 Hz), 3,02-2,96 (dd, 1H, *J* = 2,7, 14,4 Hz), 2,90-2,89 (m, 1H), 1,96-1,40 (m, 6 H); ESI (m/z): 371,1 (M+H); análisis de HPLC: (C18, 5-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,2 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 15 % de etanol en hexanos durante 42 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 7,7 min, 98,5 %; 12,6 min, 0,7 % (98,5 % de).

20 Compuestos 105-138 (de los que los compuestos 105-128 y 135-138 son de acuerdo con la presente invención):

25 Los compuestos 105-138 se prepararon mediante procedimientos análogos a los usados para el compuesto 104.

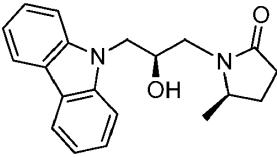
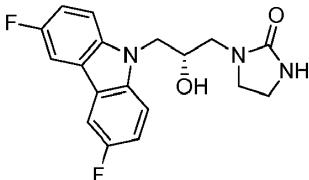
30

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H y HPLC	IEN (m/z)
105		(1 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-2-((<i>R</i>)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-3-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69-7,65 (dd, 2H, <i>J</i> = 2,6, 8,7 Hz), 7,38-7,33 (dd, 2H, <i>J</i> = 3,9, 9,0 Hz), 7,25-7,19 (td, 2H, <i>J</i> = 2,6, 9,0 Hz), 4,40-4,23 (m, 4H), 3,73 (s a, 1H), 3,48-3,41 (dd, 1H, <i>J</i> = 7,4, 14,1 Hz), 2,95-2,90 (dd, 1H, <i>J</i> = 1,7, 13,7 Hz), 2,86-2,85 (dd, 1H, <i>J</i> = 1,2, 3,9 Hz), 1,92-1,36 (m, 6H); análisis de HPLC: (C18, 5-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,2 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 15 % de etanol en hexanos durante 42 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 21,1 min, 97,6 %; 39,0 min, 2,3 % (95,2 % de).	371,1 (M+H)
106		(1 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-2-((<i>R</i>)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-3-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,10-8,07 (m, 2H), 7,46-7,44 (m, 4H), 7,26-7,21 (m, 2H), 4,35-4,34 (m, 4H), 3,61 (s a, 1H), 3,41-3,36 (m, 1H), 3,02-2,95 (m, 1H), 2,88-2,86 (m, 1H), 1,97-1,55 (m, 4H), 1,39-1,36 (a d, 1H, <i>J</i> = 10,2 Hz); análisis de HPLC: (C18, 5-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,5 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 15 % de etanol en hexanos durante 30 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 9,2 min, 98,1 %; 12,0 min, 1,7 % (96,4 % de).	335,2 (M+H)

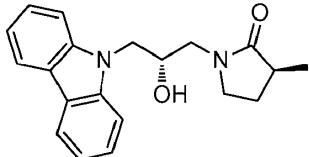
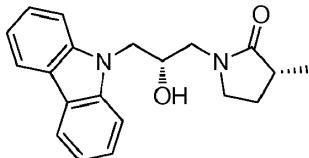
Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H y HPLC	IEN (m/z)
107		(1 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-2-((<i>R</i>)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,12-8,09 (dd, 2H, <i>J</i> = 0,9, 7,8 Hz), 7,51-7,43 (m, 4H), 7,28-7,23 (m, 2H), 4,47-4,26 (m, 4H), 3,69 (s, 1H), 3,50-3,43 (s, dd, 1H, <i>J</i> = 7,5, 13,8 Hz), 2,95-2,91 (d, 1H, <i>J</i> = 14,1 Hz), 2,84-2,83 (d, 1H, <i>J</i> = 3,6 Hz), 1,89-1,31 (m, 6H); análisis de HPLC: (C18, 5-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,6 min, 98,5 %; análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 15 % de etanol en hexanos durante 30 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 9,7 min, 99,0 %; 15,3 min, 0,3 % (99,4 % de).	335,2 (M+H)
108		(1 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-2-((<i>S</i>)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,11-8,07 (m, 2H), 7,47-7,45 (m, 4H), 7,26-7,21 (m, 2H), 4,35-4,34 (m, 4H), 3,62 (s a, 1H), 3,42-3,37(m, 1H), 3,02-2,95 (m, 1H), 2,88-2,86 (m, 1H), 1,98-1,55 (m, 4H), 1,40-1,36 (a d, 1H, <i>J</i> = 9,6 Hz); análisis de HPLC: (C18, 5-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,5 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 15 % de etanol en hexanos durante 30 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 9,9 min, 1,5 %, 15,2 min, 98,2 % (96,9 % de).	335,2 (M+H)

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H y HPLC	IEN (m/z)
109		(<i>R</i>)-1-((<i>R</i>)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69-7,65 (dd, 2H, <i>J</i> = 2,6, 8,6 Hz), 7,38-7,34 (dd, 2H, <i>J</i> = 3,9, 9,3 Hz), 7,25-7,18 (td, 2H, <i>J</i> = 2,6, 9,3 Hz), 4,38-4,28 (m, 3H), 4,07-4,06 (d, 1H, <i>J</i> = 3,0 Hz), 3,69-3,56 (m, 2H), 3,08-3,04 (d, 1H, <i>J</i> = 13,5 Hz), 2,46-2,18 (m, 3H), 1,66-1,55 (m, 1H), 1,04-1,02 (d, 3H, <i>J</i> = 6,0 Hz); análisis de HPLC: (C18, 5-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,1 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 15 % de isopropanol en hexanos durante 25 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 8,4 min, 99,2 %, 11,5 min, 0,8 % (98,4 de).	359,1 (M+H)
110		(<i>S</i>)-1-((<i>R</i>)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,65 (dd, 2H, <i>J</i> = 2,3, 8,6 Hz), 7,38-7,34 (dd, 2H, <i>J</i> = 3,9, 8,7 Hz), 7,25-7,18 (td, 2H, <i>J</i> = 2,5, 9,0 Hz), 4,73-4,72 (d, 1H, <i>J</i> = 3,0 Hz), 4,38-4,28 (m, 3H), 3,47-3,35 (m, 2H), 3,10-3,05 (m, 1H), 2,42-2,27 (m, 2H), 2,20-2,10 (m, 1H), 1,57-1,52 (m, 1H), 0,83-0,81 (d, 3H, <i>J</i> = 6,3 Hz); análisis de HPLC: (C18, 5-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,5 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 15 % de isopropanol en hexanos durante 25 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 8,4 min, 99,2 %, 11,5 min, 0,8 % (98,4 % de).	359,6 (M+H)

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H y HPLC	IEN (m/z)
111		(R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-yl)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,10-8,07 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 7,46-7,44 (m, 4H), 7,27-7,22 (m, 2H), 4,43-4,32 (m, 3H), 4,04-4,03 (d, 1H, J = 3,3 Hz), 3,74-3,69 (dd, 1H, J = 7,2, 14,7 Hz), 3,60-3,51 (sext, 1H, J = 6,3 Hz), 3,08-3,03 (m, 1H), 2,44-2,36 (m, 2H), 2,24-2,00 (m, 1H), 1,63-1,53 (m, 1H), 0,97-0,96 (d, 3H, J = 5,7 Hz); análisis de HPLC: (C18, 5-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,4 min, 99,5 %; análisis de HPLC quiral (Phenomenex Lux 3μ celulosa-2, 8 % de isopropanol en hexanos durante 60 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 42,0 min, 4,9 %, 47,8 min, 95,0 % (90,0 % de).	323,1 (M+H)
112		(S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-yl)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,10-8,07 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 7,46-7,44 (m, 4H), 7,27-7,22 (m, 2H), 4,73-4,72 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 4,43-4,28 (m, 3H), 3,44-3,34 (m, 2H), 3,12-3,07 (m, 1H), 2,45-2,27 (m, 2H), 2,17-2,07 (m, 1H), 1,57-1,48 (m, 1H), 0,76-0,74 (d, 3H, J = 6,0 Hz); análisis de HPLC: (C18, 5-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,4 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Phenomenex Lux 3μ celulosa-2, 8 % de isopropanol en hexanos durante 60 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 40,0 min, 1,1 %, 44,1 min, 97,6 % (97,8 % de).	323,1 (M+H)

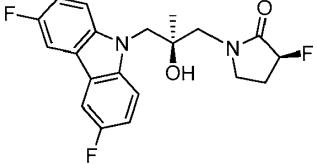
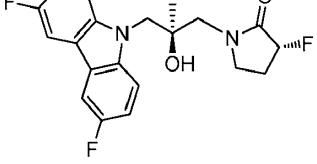
Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H y HPLC	IEN (m/z)
113		(R)-1-((S)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,10-8,07 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 7,46-7,44 (m, 4H), 7,27-7,22 (m, 2H), 4,73-4,72 (d, 1H, J = 3,0 Hz), 4,43-4,28 (m, 3H), 3,44-3,34 (m, 2H), 3,12-3,07 (m, 1H), 2,45-2,27 (m, 2H), 2,17-2,07 (m, 1H), 1,57-1,48 (m, 1H), 0,76-0,74 (d, 3H, J = 6,0 Hz); HPLC análisis: (C18, 5-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,5 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Phenomenex Lux 3μ celulosa-2, 8 % de isopropanol en hexanos durante 60 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 42,6 min, 98,0 %, 48,3 min, 1,9 % (96,1 % de).	323,1 (M+H)
114		(R)-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,65 (dd, 2H, J = 1,8, 9,0 Hz), 7,40-7,35 (dd, 2H, J = 4,1, 9,0 Hz), 7,25-7,17 (td, 2H, J = 2,7, 9,0 Hz), 4,43-4,30 (m, 4H), 3,43-3,14 (m, 6H); análisis de HPLC: (C18, 5-95 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 10,8 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 30 % de etanol en hexanos durante 30 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 13,0 min, 99,2 %; 21,6 min, 0,7 % (98 % ee).	346,1 (M+H)

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H y HPLC	IEN (m/z)
115		(S)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69 (dd, 2H, J = 9,0, 2,4 Hz), 7,37 (dd, 2H, J = 9,0, 4,2 Hz), 7,23 (td, 2H, J = 9,0, 2,4 Hz), 4,45-4,25 (m, 3H), 3,96 (d, 1H, J = 4,2 Hz), 3,48 (dd, 1H, J = 14,4, 6,6 Hz), 3,38-3,15 (m, 3H), 2,54 (m, 1H), 2,25 (m, 1H), 1,66 (m, 1H), 1,23 (d, 3H, J = 6,9 Hz); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,2 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Phenomenex Lux 3μ celulosa-2, 15 % de isopropanol en hexanos durante 30 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 14,6 min, 96,9 % de, 100 % ee.	359,1 (M+H)
116		(R)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69 (dd, 2H, J = 9,0, 2,4 Hz), 7,37 (dd, 2H, J = 9,0, 4,2 Hz), 7,23 (td, 2H, J = 9,0, 2,4 Hz), 4,45-4,25 (m, 3H), 4,01 (d, 1H, J = 2,7 Hz), 3,53 (dd, 1H, J = 14,1, 6,9 Hz), 3,40-3,15 (m, 3H), 2,52 (m, 1H), 2,24 (m, 1H), 1,68 (m, 1H), 1,23 (d, 3H, J = 7,2 Hz); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,2 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Phenomenex Lux 3μ celulosa-2, 15 % de isopropanol en hexanos durante 30 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,3 min, 100 % de, 100 % ee.	359,2 (M+H)

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H y HPLC	IEN (m/z)
117		(S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-yl)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,11 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,53-7,42 (m, 4H), 7,32-7,22 (m, 2H), 4,50-4,30 (m, 3H), 4,01 (s, 1H), 3,51 (dd, 1H, J = 14,4, 6,9 Hz), 3,35-3,20 (m, 2H), 3,14 (td, 1H, J = 9,3, 33 Hz), 2,54 (m, 1H), 2,22 (m, 1H), 1,64 (m, 1H), 1,23 (d, 3H, J = 7,8 Hz); HPLC análisis: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,6 min, 99,2 %; análisis de HPLC quiral (Phenomenex Lux 3μ celulosa-2, 15 % de isopropanol en hexanos durante 30 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 13,6 min, 100 % de, 100 % ee.	323,2 (M+H)
118		(R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-yl)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,11 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,53-7,42 (m, 4H), 7,32-7,22 (m, 2H), 4,50-4,30 (m, 3H), 4,07 (s, 1H), 3,55 (dd, 1H, J = 14,1, 6,9 Hz), 3,30-3,15 (m, 3H), 2,51 (m, 1H), 2,20 (m, 1H), 1,64 (m, 1H), 1,22 (d, 3H, J = 7,5 Hz); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,6 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Phenomenex Lux 3μ celulosa-2, 15 % de isopropanol en hexanos durante 30 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 13,6 min, 100 % de, 100 % ee.	323,1 (M+H)

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H y HPLC	IEN (m/z)
119		(R)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69-7,65 (dd, 2H, J = 2,4, 8,9 Hz), 7,37-7,33 (dd, 2H, J = 8,9, 4,5Hz), 7,24-7,18 (td, 2H, J= 9,0, 2,7 Hz), 5,20-4,98 (ddd, 1H, J= 6,0, 7,5, 52 Hz), 4,45-4,33 (m, 3H), 3,59-3,32 (m, 4H), 3,07-3,06 (d, 1H, J = 4,2 Hz), 2,60-2,10 (m, 2H); HPLC análisis: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,6 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Phenomenex Lux 3μ celulosa-2, 15 % de isopropanol en hexanos durante 60 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 33,0 min, 98,3 %, 47,9 min, 1,6 % (96,6 % de).	363,3 (M+H)
120		(S)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,65 (dd, 2H, J = 2,7, 8,4 Hz), 7,37-7,33 (dd, 2H, J = 4,1, 9,5 Hz), 7,24-7,18 (td, 2H, J = 8,9, 2,5 Hz), 5,17-4,94 (ddd, 1H, J = 6,0, 7,7, 53 Hz), 4,38-4,30 (m, 3H), 3,52-3,30 (m, 5H), 2,50-2,11 (m, 2H); HPLC análisis: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,6 min, 98,3 %; análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 30 % de etanol en hexanos durante 30 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 7,3 min, 100 % (100 % de).	363,4 (M+H)
121		(R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,11-8,08 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,50-7,42 (m, 4H), 7,28-7,23 (m, 2H), 5,19-4,97 (ddd, 1H, J = 52,8, 6,3, 7,5 Hz), 4,48-4,34 (m, 3H), 3,55-3,12 (m, 5H), 2,47-2,13 (m, 2H); HPLC análisis: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,0 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Phenomenex Lux 3μ celulosa-2, 15 % de isopropanol en hexanos durante 60 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 34,4 min, 98,9 %, 46,8 min, 1,0 % (97,9 % de).	NA

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H y HPLC	IEN (m/z)
122		(S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-yl)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,09-8,06 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 7,49-7,41 (m, 4H), 7,27-7,21 (m, 2H), 5,12-4,90 (ddd, 1H, J = 52,2, 6,0, 8,1 Hz), 4,39-4,32 (m, 3H), 3,48-3,25 (m, 5H), 2,45-2,33 (m, 1H), 2,22-2,06 (m, 1H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo + 0,1 % de ácido trifluoroacético en agua durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,0 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 15 % de etanol en hexanos durante 30 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 19,5 min, 100 % (100 % de).	NA
123		(R)-1-((S)-3-(9H-carbazol-9-yl)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,10-8,07 (m, 2H), 7,50-7,42 (m, 4H), 7,28-7,23 (m, 2H), 5,20-4,99 (ddd, 1H, J = 5,9, 7,4, 52,2 Hz), 4,32 (s, 2H), 3,78-3,46 (m, 4H), 2,51 (s, 1H), 2,49-2,18 (m, 2H), 1,30 (s, 3H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,6 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 15 % de isopropanol en hexanos durante 60 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 22,0 min, 100 % (100 % de).	341,1 (M+H)
124		(S)-1-((S)-3-(9H-carbazol-9-yl)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,10-8,07 (m, 2H), 7,50-7,42 (m, 4H), 7,28-7,23 (m, 2H), 5,20-4,99 (dt, 1H, J = 7,1, 52,8 Hz), 4,40-4,29 (m, 2H), 3,74-3,48 (m, 4H), 2,62 (s, 1H), 2,53-2,18 (m, 2H), 1,28 (s, 3H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,6 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 30 % de etanol en hexanos durante 60 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 8,3 min, 100 % (100 % de).	341,1 (M+H)

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H y HPLC	IEN (m/z)
125		(S)-1-((S)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68-7,64 (dd, 2H, J = 2,7, 8,4 Hz), 7,42-7,38 (dd, 2H, J = 4,2, 8,7 Hz), 7,23-7,16 (td, 2H, J = 2,6, 9,3 Hz), 5,23-5,01 (ddd, 1H, J = 52,8, 5,7, 7,5 Hz), 4,35-4,24 (m, 2H), 3,80-3,73 (m, 1H), 3,59-3,46 (m, 3H), 2,66-2,19 (m, 2H), 1,26 (s, 3H); HPLC análisis: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,2 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Phenomenex Lux 3μ celulosa-2, 4 % de etanol + 4 % de metanol en hexanos durante 45 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 26,5 min, 97,6 %, 30,9 min, 0,4 %, 36,5 min, 2,0 % (95,5 % de, 97,1 % ee).	NA
126		(R)-1-((S)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69-7,65 (dd, 2H, J = 2,7, 8,7 Hz), 7,43-7,39 (dd, 2H, J = 4,2, 8,7 Hz), 7,24-7,20 (td, 2H, J = 2,6, 8,7 Hz), 5,24-4,97 (ddd, 1H, J = 52,8, 5,4, 7,5 Hz), 4,28 (s, 2H), 3,77-3,71 (m, 1H), 3,60-3,46 (m, 3H), -3,12 (m, 5H), 2,54 (s, 1H), 2,53-2,22 (m, 2H), 1,28 (s, 3H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,2 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Phenomenex Lux 3μ celulosa-2, 4 % de etanol + 4 % de metanol en hexanos durante 45 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 26,5 min, 3,1 %, 36,6 min, 96,9 % (93,7 % de).	377,0 (M+H)

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H y HPLC	IEN (m/z)
127		(R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-yl)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,11-8,08 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,52-7,43 (m, 4H), 7,28-7,23 (m, 2H), 5,24-5,02 (ddd, 1H, J = 52,8, 6,2, 7,5 Hz), 4,48-4,31 (m, 3H), 3,75-3,50 (m, 4H), 2,57 (s, 1H), 2,54-2,23 (m, 2H), 1,29 (s, 3H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,6 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 30 % de isopropanol en hexanos durante 30 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 9,6 min, 0,8 %, 15,6 min, 98,7 %, 22,0 min, 0,5 % (97,3 % de).	341,0 (M+H)
128		(S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-yl)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,11-8,08 (d, 2H, J = 7,4 Hz), 7,51-7,43 (m, 4H), 7,28-7,22 (m, 2H), 5,23-5,02 (ddd, 1H, J = 52,2, 5,1, 7,2 Hz), 4,34 (s, 2H), 3,79-3,46 (m, 4H), 2,55-2,20 (m, 2H), 2,44 (s, 1H), 1,31 (s, 3H); análisis de HPLC: (C18, 10-90 % de acetonitrilo en agua + 0,1 % de ácido trifluoroacético durante 20 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 11,7 min, 100 %; análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 30 % de etanol en hexanos durante 30 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 9,6 min, 99,6 %, 15,9 min, 0,4 % (99,2 % de).	341,1 (M+H)
129		(S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-yl)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,10 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 7,50-7,40 (m, 4H), 7,30-7,20 (m, 2H), 4,50-4,30 (m, 3H), 4,25 (d, 1H, J = 3,6 Hz), 3,90 (dd, 1H, J = 14,1, 8,1 Hz), 3,09 (dd, 1H, J = 14,1, 2,1 Hz), 2,98 (ddd, 1H, J = 11,7, 5,1, 1,8 Hz), 2,83 (t, 1H, J = 10,8 Hz), 2,49 (ddd, 1H, J = 18,0, 6,0, 3,0 Hz), 2,36 (ddd, 1H, J = 18,0, 11,1, 6,3 Hz), 1,95-1,75 (m, 2H), 1,43 (m, 1H), 0,88 (d, 3H, J= 6,6 Hz); análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 8 % de etanol en hexanos durante 45 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 25,7 min, 98,6 % de, 100 % ee.	337,4 (M+H)

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H y HPLC	IEN (m/z)
130		(S)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69 (dd, 2H, J = 8,7, 2,4 Hz), 7,39 (dd, 2H, J = 9,0, 4,2 Hz), 7,23 (td, 2H, J = 8,7, 2,4 Hz), 4,45-4,25 (m, 3H), 4,18 (d, 1H, J = 3,3 Hz), 3,84 (dd, 1H, J = 14,1, 8,1 Hz), 3,12 (dd, 1H, J = 14,1, 2,4 Hz), 3,07 (m, 1H), 2,89 (t, 1H, J = 11,1 Hz), 2,50 (ddd, 1H, J = 18,0, 6,3, 3,3 Hz), 2,37 (ddd, 1H, J = 18,0, 11,1, 6,3 Hz), 2,00-1,77 (m, 2H), 1,45 (m, 1H), 0,94 (d, 3H, J = 6,6 Hz); análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 15 % de etanol en hexanos durante 40 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 12,2 min, 100 % de, 100 % ee.	373,5 (M+H)
131		(R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,11 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,50-7,40 (m, 4H), 7,30-7,20 (m, 2H), 4,66 (s, 1H), 4,50-4,30 (m, 3H), 4,00 (dd, 1H, J = 14,1, 8,7 Hz), 3,00 (dd, 1H, J = 12,0, 5,4 Hz), 2,90 (d, 1H, J = 14,1 Hz), 2,73 (t, 1H, J = 11,7 Hz), 2,49 (ddd, 1H, J = 18,0, 6,0, 3,0 Hz), 2,37 (ddd, 1H, J = 18,0, 11,1, 6,0 Hz), 1,95-1,70 (m, 2H), 1,38 (m, 1H), 0,88 (d, 3H, J = 6,6 Hz); análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 8 % de etanol en hexanos durante 45 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 37,2 min, 100 % de, 100 % ee.	338,0 (M+H)
132		(S)-1-((S)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,11 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,55-7,43 (m, 4H), 7,32-7,22 (m, 2H), 4,64 (s, 1H), 4,50-4,30 (m, 3H), 4,00 (dd, 1H, J = 14,1, 8,7 Hz), 3,00 (ddd, 1H, J = 12,3, 4,8, 1,8 Hz), 2,90 (d, 1H, J = 14,4 Hz), 2,73 (t, 1H, J = 11,1 Hz), 2,55-2,30 (m, 2H), 1,98-1,72 (m, 2H), 1,37 (m, 1H), 0,89 (d, 3H, J = 6,6 Hz); análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 8 % de etanol en hexanos durante 45 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 20,3 min, 100 % de, 100 % ee.	337,9 (M+H)

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H y HPLC	IEN (m/z)
133		(R)-1-((S)-3-(9H-carbazol-9-yl)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,11 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,50-7,40 (m, 4H), 7,30-7,20 (m, 2H), 4,50-4,30 (m, 3H), 4,23 (d, 1H, J = 2,7 Hz), 3,90 (dd, 1H, J = 14,1, 7,8 Hz), 3,10 (dd, 1H, J = 14,1, 2,1 Hz), 2,99 (ddd, 1H, J = 11,7, 4,5, 1,8 Hz), 2,84 (t, 1H, J = 10,8 Hz), 2,49 (ddd, 1H, J = 18,0, 6,0, 3,0 Hz), 2,36 (ddd, 1H, J = 18,0, 11,1, 6,6 Hz), 1,95-1,75 (m, 2H), 1,43 (m, 1H), 0,90 (d, 3H, J = 6,6 Hz); análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 8 % de etanol en hexanos durante 45 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 21,6 min, 97,8 % de, 100 % ee.	337,9 (M+H)
134		(R)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-yl)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,69 (dd, 2H, J = 9,0, 2,4 Hz), 7,39 (dd, 2H, J = 9,3, 4,2 Hz), 7,23 (td, 2H, J = 9,3, 2,7 Hz), 4,56 (s, 1H), 4,45-4,25 (m, 3H), 3,94 (dd, 1H, J = 14,1, 9,0 Hz), 3,06 (dd, 1H, J = 12,0, 5,1 Hz), 2,90 (d, 1H, J = 14,1 Hz), 2,80 (t, 1H, J = 11,4 Hz), 2,55-2,30 (m, 2H), 2,00-1,75 (m, 2H), 1,40 (m, 1H), 0,93 (d, 3H, J = 7,2 Hz); análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 15 % de etanol en hexanos durante 40 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 15,7 min, 100 % de, 100 % ee.	373,9 (M+H)
135		(S)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-yl)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68 (dd, 2H, J = 9,0, 2,4 Hz), 7,39 (dd, 2H, J = 9,0, 4,2 Hz), 7,23 (td, 2H, J = 9,0, 2,7 Hz), 4,52 (s, 1H), 4,45-4,26 (m, 3H), 4,21 (s a, 1H), 3,83 (m, 1H), 3,55 (t, 1H, J = 8,7 Hz), 3,39 (dd, 1H, J = 14,7, 7,2 Hz), 3,09 (dd, 1H, J = 15,0, 2,4 Hz), 2,96 (dd, 1H, J = 9,0, 6,9 Hz), 1,24 (d, 3H, J = 5,7 Hz); análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 15 % de etanol en hexanos durante 60 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 29,1 min, 100 % de, 100 % ee.	360,2 (M+H)

Comp. n. ^o	Estructura	Nombre	RMN de ¹ H y HPLC	IEN (m/z)
136		(R)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68 (dd, 2H, J = 9,0, 2,4 Hz), 7,39 (dd, 2H, J = 9,0, 4,2 Hz), 7,22 (td, 2H, J = 9,0, 2,7 Hz), 4,66 (s, 1H), 4,50-4,20 (m, 4H), 3,81 (m, 1H), 3,38 (t, 1H, J = 8,7 Hz), 3,22 (s, 2H), 2,99 (dd, 1H, J = 8,4, 6,6 Hz), 1,24 (d, 3H, J = 5,7 Hz); análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 15 % de etanol en hexanos durante 60 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 27,0 min, 100 % de, 100 % ee.	360,2 (M+H)
137		(S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 7,68 (dd, 2H, J = 9,0, 2,4 Hz), 7,39 (dd, 2H, J = 9,0, 4,2 Hz), 7,22 (td, 2H, J = 9,0, 2,7 Hz), 4,66 (s, 1H), 4,50-4,20 (m, 4H), 3,81 (m, 1H), 3,38 (t, 1H, J = 8,7 Hz), 3,22 (s, 2H), 2,99 (dd, 1H, J = 8,4, 6,6 Hz), 1,24 (d, 3H, J = 5,7 Hz); análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 15 % de etanol en hexanos durante 60 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 28,8 min, 100 % de, 100 % ee.	324,3 (M+H)
138		(R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona	(300 MHz, CDCl ₃): δ 8,11 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 7,55-7,42 (m, 4H), 7,35-7,20 (m, 2H), 4,53 (s a, 1H), 4,48-4,30 (m, 4H), 3,80 (m, 1H), 3,34 (t, 1H, J = 8,7 Hz), 3,28-3,15 (m, 2H), 2,95 (dd, 1H, J = 8,7, 6,9 Hz), 1,23 (d, 3H, J = 6,6 Hz); análisis de HPLC quiral (Chiralcel AD-H, 15 % de etanol en hexanos durante 60 min: tiempo de retención, % de área a 254 nm): 25,1 min, 100 % de, 100 % ee.	324,2 (M+H)

Los ensayos específicos útiles para evaluar los compuestos de fórmula I incluyen el ensayo de Per2 para evaluar la potencia de los compuestos de ensayo y el ensayo de Cry1 para evaluar la diana de los compuestos de ensayo, como se describe a continuación.

- 5 **Ejemplo 3: Ensayo de Per2 para evaluar la potencia de los compuestos de ensayo**
- 10 Los compuestos se cribaron usando un sistema de ensayo circadiano de alto rendimiento como se describe previamente en Zhang, E. E. et al. Cell, 2009, 139, 199-210. En resumen, se sembraron en placa células indicadoras U2OS estables que portaban *Per2-dLuc* a una densidad de 30.000 células/pocillo en microplacas Corning de 96 pocillos, blancas sólidas, de fondo plano, tratadas con TC (Corning®), y se incubaron durante 48 horas a 37 °C en presencia de un 5 % de CO₂ en un medio de medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) complementado con suero bovino fetal (FBS) al 10 % y penicilina (100 unidades/ml)-estreptomicina (100 µg/ml). Los compuestos de fórmula I se solubilizan en dimetilsulfóxido (DMSO), típicamente a una concentración de 2 mg/ml. Entonces se diluyen en serie soluciones madre de DMSO en DMSO, típicamente diluyendo en factor 3 por cada etapa de dilución. Después del periodo de 48 h, el medio de cultivo celular se retira de las células sembradas en placa y las células se sincronizan

con 200 μ l/pocillo de medio de cultivo celular completo (descrito anteriormente), complementado con forskolina 5 μ M (Tocris®) y luciferina de escarabajo 1 mM (Promega®). Inmediatamente después de la sincronización, se añade 1 μ l de dilución de compuesto a cada pocillo. Las placas se precintan, se agitan brevemente y se supervisó la expresión génica midiendo la luminiscencia (Tecan® Infinite M200 o Tecan® Infinite M200 Pro) continuamente durante un mínimo de 3 días a 35 °C. Los datos de luminiscencia sin procesar (recuentos) se analizan en primer lugar usando el programa informático Multicicle™ (Actimetrics, Inc.) para determinar la amplitud (amp), periodo y fase (phz) para cada concentración de compuesto. La longitud del periodo para los pocillos de control (es decir, sin compuesto, DMSO solamente) debe ser de 26-30 h. Los datos de amp se representan entonces frente a la concentración logarítmica de compuesto (M) y se analizan por análisis de regresión no lineal para determinar la CE₅₀.

La siguiente tabla proporciona los datos de CE₅₀de Per2 para los compuestos especificados. Las CE₅₀ se presentan como concentración micromolar.

Tabla 1

<u>Datos de ensayo de Per2</u>			
Compuesto	CE ₅₀ de Per2 (μ M)	Compuesto	CE ₅₀ de Per2 (μ M)
1	0,171	70	0,061
2	0,736	71	0,188
3	0,299	72	0,389
4	0,192	73	1,111
5	0,536	74	0,284
6	0,719	75	0,171
7	0,625	76	0,609
8	0,527	77	0,620
9	0,300	78	0,440
10	0,487	79	0,923
11	0,120	80	1,105
12	0,909	81	0,816
13	0,288	82	1,192
14	0,541	83	0,147
15	0,164	84	0,325
16	0,463	85	0,667
17	0,417	86	0,497
18	0,338	87	0,317
19	0,547	88	0,310
20	0,379	89	0,438
21	1,042	90	0,605
22	0,261	91	0,621
23	0,399	92	0,527
24	0,332	93	0,129
25	0,079	94	0,833
26	1,051	95	0,568
27	0,478	96	0,493
28	0,824	97	0,315
29	0,422	98	0,269
30	0,895	99	0,555
31	0,832	100	0,721
32	0,539	101	0,417
33	0,625	102	0,455
34	0,286	103	0,940
35	0,678	104	0,115
36	0,760	105	0,054
37	0,224	106	0,220
38	1,216	107	0,089
39	0,342	108	0,750
40	0,484	109	0,226
41	0,373	110	0,830
42	0,420	111	0,095
43	1,033	112	0,470
44	1,060	113	0,948
45	0,052	114	0,287
46	0,618	115	0,500

<u>Datos de ensayo de Per2</u>			
Compuesto	CE ₅₀ de Per2 (μM)	Compuesto	CE ₅₀ de Per2 (μM)
47	0,299	116	0,311
48	0,120	117	0,188
49	0,137	118	0,120
50	0,204	119	0,184
51	0,265	120	0,302
52	1,355	121	0,210
53	1,337	122	0,263
54	0,808	123	0,311
55	0,738	124	0,309
56	1,057	125	0,451
57	0,329	126	0,958
58	0,716	127	0,535
59	0,986	128	0,172
60	0,331	129	0,748
61	0,710	130	0,895
62	0,370	131	0,280
63	0,541	132	1,133
64	0,462	133	0,838
65	1,030	134	0,397
66	0,523	135	1,129
67	0,225	136	0,826
68	0,288	137	0,766
69	0,137	138	0,520

Un experto en la materia podría optimizar fácilmente este ensayo para determinar los datos de CE₅₀ de Per2 para cualquiera de los compuestos descritos en este documento.

5 **Ejemplo 4: Ensayo de unión de desplazamiento térmico**

La unión de compuestos al dominio de unión de FAD aislado de la proteína CRY1 humana (hCRY1) se determinó usando un ensayo de fluorimetría diferencial de barrido ("desplazamiento térmico") (Pantoliano *et al.* (2001) J Biomol Screening 6, 429; Niesen *et al.* (2007) Nature Protocols 2, 2212). El dominio de unión de FAD de hCRY1 (residuos aminoacídicos 1-494) con una marca Myc-DDK C terminal (FADBD), se produjo por transfección transitoria de células HEK293T (n.º catálogo CRL-3216, American Type Culture Collection) y se purificó por cromatografía de afinidad anti-FLAG (n.º catálogo A2220, Sigma-Aldrich). Se incubó FADBD (0,5 μg por pocillo) con diluciones de los compuestos en DMSO (concentración final de DMSO del 5 % en reacción) en 17,5 μl de solución salina tamponada con Tris (TBS) durante 10 minutos en hielo, después se añadieron 2,5 μl de tinte Sypro-Orange 8X (Life Technologies) a cada pocillo. Se ensayaron pocillos por triplicado para cada concentración de compuesto. Las temperaturas de fusión se midieron en un instrumento de PCR cuantitativa ABI7500 usando el modo de curva de fusión con un perfil térmico de 2 minutos a 25 °C, seguido de una velocidad de rampa de 1 °C/minuto hasta 99 °C. La temperatura de fusión para cada pocillo se determinó a partir de la primera derivada de la curva de fusión. El cambio en la temperatura de fusión (ΔT_m) se obtuvo por sustracción de la temperatura de fusión del FADBD en DMSO al 5 % en solitario. Como se muestra en la figura 21, se observó un aumento dependiente de la dosis en ΔT_m para el compuesto 72, lo que indica que el compuesto se asocia físicamente con la proteína hCRY1 FADBD.

Ejemplo 5: Efecto *in vivo* sobre el gen de reloj y la expresión de genes gluconeogénicos

En este ejemplo, se examinó el efecto de amidas, carbamatos y ureas que contienen carbazol en la expresión de genes de reloj y gluconeogénicos en diversos modelos de ratón. Específicamente, se usaron cuatro modelos de ratón diferentes: ratones ICR, ratones Balb/c, ratones C57Bl/6J DIO (obesidad inducida por la dieta) y ratones db/db. Tanto los ratones C57Bl/6J DIO como los db/db son modelos reconocidos en la técnica de diabetes, obesidad y dislipidemia. Los ratones con obesidad inducida por la dieta (DIO), que muestran un fenotipo diabético de tipo II en respuesta a alimentación con alto contenido de grasas desarrollan obesidad, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina e intolerancia a la glucosa (Srinivasan y Ramarao, 2007). El ratón db/db (ratón lepr^{db}) tiene una mutación en el gen db, que codifica el receptor de leptina. Los ratones db/db son espontáneamente hiperfágicos y se vuelven obesos, hiperglucémicos, hiperinsulinémicos y resistentes a la insulina.

Los estudios *in vivo* que examinan el efecto de compuestos moduladores de Cry sobre la expresión génica se realizaron usando los diversos métodos experimentales descritos a continuación.

Estudio de cuatro días. Se usaron ratones ICR macho (que pesaban 30 - 35 g), obtenidos de Charles River Laboratories (Hollister, CA), para el experimento después de al menos 3 días de aclimatación. A los ratones se les

dosificó vehículo (WFI o Kolliphor al 10 %) o compuesto (50 mg/kg, volumen de dosis de 5 ml/kg, PO) durante 4 días BID (dos veces al día), empezando en la tarde del primer día. La última dosis de compuesto o vehículo se administró en la mañana de la recolección. En el día de la recolección (6 horas después de la dosis final), los ratones se sacrificaron mediante asfixia con CO₂ y se escindieron 50 mg de tejido hepático y se pusieron en un tubo que contenía 500 µl de RNA posteriormente.

Estudios de expresión génica de 24 horas. Se adquirieron ratones C57Bl/6J DIO macho de 17 semanas de edad (The Jackson Laboratory, Sacramento, CA) y se aclimataron durante un periodo de 2 semanas antes de usarlos para el experimento. El tamaño de grupo global fue 15 por tratamiento, divididos en 5 puntos temporales para dar un tamaño de grupo final de 3 ratones. A los ratones se les dosificó vehículo (agua para inyección (WFI) o el compuesto modulador de Cry compuesto 72 (50 mg/kg en WFI) a un volumen de dosis de 5 ml/kg, BID, mediante sonda oral durante 2 días, con una quinta dosis final administrada 12 horas antes de la recolección.

En total, cada ratón recibió 5 dosis de compuesto durante el transcurso del experimento. Los ratones se pesaron y se asignaron aleatoriamente a cada tratamiento basándose en el peso el atardecer antes del comienzo del estudio. Empezando el día 3 a las 3:00 PM, un grupo de animales de los grupos tratados con vehículo y compuesto 72 se sacrificó usando asfixia con CO₂, se escindieron 50 mg de hígado, grasa epididimaria y músculo esquelético, respectivamente, y se pusieron en un tubo que contenía 500µl de RNALater. Este procedimiento tuvo lugar para el resto de grupos del punto temporal en sus momentos de recolección dados. También se tomaron muestras de plasma para cada animal y se congelaron, para usarse para la posterior medición de los niveles de compuesto.

Preparación de ARN total hepático de ratón. Se utilizaron los kits de aislamiento de ARN total E.Z.N.A.® HP (R6812-01 y el protocolo descrito en el manual, revisado en 2010) para preparar y aislar el ARN de las muestras hepáticas. Para preparar las muestras de ARN, se retiraron 10-30 mg de muestra de RNA-Later y se pusieron en un tubo de microcentrifugadora de 1,5 ml. Se añadió tampón de lisis GTC (700 µl) al tejido, que se homogeneizó con un homogeneizador de rotor-estator (por ejemplo, Tissue-Tearor, modelo n.º 985370 BioSpec Products con sonda de 4,5 mm, n.º cat. 985370-04), y después se centrifugó a velocidad total (\geq 13.000 x g) durante 5 minutos. El sobrenadante aclarado se transfirió por pipeteo en una columna de aclarado de ADN preinsertada en un tubo de recogida de 2 ml. La columna ensamblada se centrifugó a 13.000 x g durante 1 minuto, y se guardó el flujo directo. Se añadió un volumen igual (700µl) de etanol al 70 % al lisado y se mezcló. La muestra entonces se aplicó a una columna de centrifugación de ARN HiBind colocada en un tubo de recogida de 2 ml, que se centrifugó a 10.000 x g durante 60 segundos a temperatura ambiente. Se añadió tampón de lavado de ARN I (250 µl) por pipeteo directamente en una nueva columna de ARN HiBind insertada en un tubo de recogida de 2 ml. La columna ensamblada se centrifugó a 10.000 x g durante 60 segundos. La columna de ARN se puso en un nuevo tubo de recogida de 2 ml. Se pipetea solución madre de DNase I (75 µl) directamente en la superficie de la resina de ARN HiBind en cada columna (usando digestión con DNase con el conjunto de DNase sin RNasa (E1091): para cada columna de ARN HiBind, se preparó solución madre de DNase I como sigue: tampón de digestión con DNase I E.Z.N.A.® 73,5 µl, DNase I sin RNasa (20 Kunitz/µl) 1,5 µl = volumen total 75 µl). La columna con ARN unido se incubó a temperatura ambiente (25-30 °C) durante 15 minutos. Se añadió tampón de lavado de ARN I (500 µl) a la columna y se puso en una mesa de laboratorio durante 2 minutos. Despues de centrifugar a 10.000 x g durante 60 segundos, descartando el flujo directo, se añadieron 500 µl de tampón de lavado de ARN II y se centrifugó a 10.000 x g durante 60 segundos. Se añadieron otros 500 µl de tampón de lavado de ARN II y el ensamblaje de columna se centrifugó a 10.000 x g durante 60 segundos. La columna se centrifugó durante 2 minutos a velocidad máxima para secar completamente la matriz HiBind. La columna se puso en un tubo de microcentrifugadora de 1,5 ml limpio y se añadieron 40-70 µl de agua de calidad de biología molecular. Despues de reposar durante 1 minuto, la columna se centrifugó durante 2 minutos a velocidad máxima para eluir el ARN. El ARN aislado se recogió en el tubo de recogida.

Preparación de ARN total sanguíneo de ratón. Para estudios de ARN de sangre completa, se usaron ratones db/db macho (9 semanas de edad, The Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine) para el experimento con n = 8 ratones para cada grupo experimental. A los ratones se les dosificó compuesto 72 (100 mg/kg, P.O; volumen de dosis de 5 ml/kg, en Kolliphor al 10 %), o Kolliphor al 10 %, una vez al día durante tres días en ZT0 (7:00 am) (ZT se refiere a hora de sincronizador biológico, e indica la hora a la que se encienden las luces para estimular el día en la instalación del ratón). En el día final a ZT7,5 (2:30 pm), los animales se sacrificaron usando asfixia con CO₂, y se recogió sangre del corazón mediante punción cardiaca. La sangre se puso en solución RNALater a un volumen total de 1,5 ml. El ARN total se preparó usando un kit de aislamiento de ARN de sangre de ratón Ambion RiboPure AM1951 como sigue. Las muestras se centrifugaron durante 3 minutos, descartando el sobrenadante. Se añadieron dos ml de solución de lisis y se agitaron con vórtice, se transfirieron a un tubo de 15 ml seguido de la adición de microlitros de acetato de sodio 3 M. Se añadió tampón de lisis a un volumen total de 3,8 ml y se agitó con vórtice. La mezcla de muestra se extrajo con 1,5 ml de fenol ácido:cloroformo y la fase acuosa se recuperó. Despues de añadir 0,5 volúmenes de etanol al 100 % y agitar con vórtice, las muestras se pasaron a través de una columna de filtro proporcionada en el kit y se lavó con 750 microlitros de tampón de lavado 1. El filtro se lavó con 2 pases de 750 microlitros de tampón de lavado 2/3 y se secó. El ARN se eluyó en 200 microlitros de agua de calidad de biología molecular (sin RNasa).

Cuantificación de RNA total. Se preparó la curva patrón RediPlate del kit de cuantificación de ARN RediPlate 96 RiboGreen (Invitrogen) transfiriendo 20 µl de patrón de ARN reconstituido a un pocillo de RediPlate reconstituido en 180 µl de tampón RediPlate TE. Para los ARN hepáticos preparados a partir de 30-100 mg de tejido usando un kit

similar al kit de ARN total Omega Bio-Tek HP y se eluidos en agua sin RNasa en un volumen de 50 µl (microlitros), se diluyen 5 µl del ARN total en 195 µl de tampón RediPlate TE (dilución 1:40 de ARN), se mezcla. Después de transferir 5 µl al pocillo RediPlate reconstituido en 195 µl de tampón TE e incubar 10 min a TA, se leyó la intensidad de fluorescencia de los pocillos con patrones y muestras en un Tecan M200 con excitación establecida a 480 nm y emisión establecida a 520 nm con la obtención establecida a ~70 %. Como alternativa, se puede usarse la FlexStation 3 con Ex 488 nm y Em 525 nm y un corte de 515 nm. Se generó una curva patrón en GraphPad Prism y las lecturas de muestra (desconocidas) se interpolaron mediante análisis de regresión lineal, y se calcularon las concentraciones de muestra de ARN.

- 10 Preparación de ADNc. Se descongelaron en hielo el tampón RT 10X (40-70 µl) del kit de retrotranscripción de ADNc de alta capacidad (Invitrogen), dNTP y cebadores aleatorios. Usando la misma cantidad de ARN introducido para cada muestra (habitualmente 0,5 - 4,0 µg) las reacciones se establecieron en un volumen total de 40 µl. Se mezclaron cantidades apropiadas de ARN total y H₂O sin nucleasa para obtener un volumen total de 20 µl. Se creó una mezcla fundamental con 4,2 µl de H₂O sin RNasa, 2 µl de tampón RT 10X, 0,8 µl de dNTP 25X y 2 µl de cebadores aleatorios para cada reacción (opcionalmente, puede añadirse un 10 % más al número total de reacciones a realizar para garantizar volumen suficiente). Se añadió retrotranscriptasa (1 µl) para cada reacción y se mezcló cuidadosamente sin vórtice. Algunas muestras duplicadas (~10 % del total) se asignaron a un conjunto RT(-) y se preparó suficiente mezcla fundamental que carecía de retrotranscriptasa para incluir estos controles. Se añadió mezcla fundamental (20 µl) (o mezcla fundamental RT(-)) a 20 µl de muestra de ARN de introducción fija. Las reacciones se incubaron a 37 °C durante 2 horas, se calentaron hasta 85 °C durante 5 min y se pusieron en hielo. Las muestras de ADNc se almacenaron a 4 °C si se usaban el siguiente día o se almacenaban a -20 °C para períodos más largos.

RT-PCR. Para el análisis de PCR, el kit utilizado fue TaqMan® Fast Universal Master Mix (2x), No AmpErase® UNG. Para reacciones a ejecutar en ABI 7500, se pusieron 2 µl de molde de ADNc o molde de control RT(-) en cada pocillo. Se preparó una mezcla fundamental que incluía 1,0 µl de ensayo de expresión TaqMan (cebadores/sondas) y 7 µl de H₂O sin nucleasa para cada muestra a procesar, y se añadieron 18 µl de mezcla fundamental + ensayo de expresión + H₂O sin nucleasa a cada muestra de 2 µl, se mezcló pipeteando. La placa se precintó, se centrifugó y se cargó en un ABI7500. Se incluyó al menos un ensayo de expresión de ARNm constitutivo (por ejemplo, GAPDH; Mm03302249_g1 o Hs02758991_g1) en cada conjunto de muestras de ARN a evaluar.

30 Se examinó el efecto del compuesto modulador de Cry compuesto 72 sobre la función del reloj central en ratones diabéticos y ratones no diabéticos. Ratones C57Bl/6J DIO macho de 17 semanas de edad (The Jackson Laboratory, Sacramento, CA) se mantuvieron en una dieta alta en grasas (HFD) y se aclimataron durante un periodo de 2 semanas antes del tratamiento para recapitular la diabetes y la obesidad. Tres ratones se trataron con compuesto o vehículo para cada uno de los 5 puntos temporales. A los ratones se les dosificó vehículo (agua para inyección (WFI)) o el compuesto 72 (50 mg/kg en WFI) a un volumen de dosis de 5 ml/kg, BID (dos veces al día), mediante sonda oral. En total, cada ratón recibió 5 dosis de compuesto durante el transcurso del experimento. Los ratones se pesaron y se asignaron aleatoriamente a cada tratamiento basándose en el peso el atardecer antes del comienzo del estudio. Empezando el día 3 a las 3:00 PM, un grupo de animales de los grupos tratados con vehículo y compuesto 72 se sacrificó usando asfixia con CO₂, se escindieron 50 mg de hígado, grasa blanca epididimaria y músculo esquelético, para la preparación de ARN.

40 También se examinó el efecto del compuesto 72 en ratones Balb/c normales sobre los ARNm circadianos durante 24 horas. Los ratones eran de 8 semanas de edad, obtenidos de Charles River, y se dejaron aclimatar durante 2 semanas. A los ratones se les dosificó BID durante 3 días, un total de 7 dosis para cada animal, con la última dosis 12 horas antes de obtener tejidos. A los ratones se les dosificó vehículo (WFI) o compuesto 72 (50 mg/kg en WFI) a un volumen de dosis de 5 ml/kg, BID, mediante sonda oral. Empezando el día 3 a las 3:00 PM, se sacrificó un grupo de animales de los grupos de vehículo y compuesto 72, y se escindieron aproximadamente 50 mg de hígado, pulmón, riñón, glándula suprarrenal, bazo, grasa epididimaria y tejido adiposo pardo y se pusieron en RNALater.

50 Los ARN del reloj centrales de ratones C57Bl/6J DIO tratados con vehículo presentaban el patrón característico de expresión circadiana (figura 1). Con tratamiento con compuesto 72, sin embargo, se suprimió el ARNm de Per2 en ratones C57Bl/6J DIO y también Balb/c durante 24 horas, y estos fueron los más reducidos en ZT8 y de nuevo en ZT8 24 horas después (figura 1A y B). Los ARNm de Bmal1 se aumentaron sustancialmente por tratamiento con compuesto 72 en ZT8 y 32 horas después del ZT0 original en ambas cepas de ratones. Los transcriptos de Bmal1 también presentaron un retardo de fase prominente en ratones C57Bl/6J DIO y en un menor grado en ratones Balb/c (figura 1C y D). El ARNm para Cry1 se suprimió durante su pico de expresión durante el periodo oscuro (figura 1E y F, regiones sombreadas). El avance de fase en transcriptos de Cry1 tratados con vehículo observado en ratones en DIO con respecto a ratones Balb/c tratados con vehículo puede deberse en parte a los efectos conocidos de la dieta alta en grasas en muchos patrones diurnos (Eckel-Mahan *et al.* (2013) Cell). En contraste con el ARNm de Cry1, el ARNm de Cry2 tuvo su pico en las horas diurnas en los ratones tratados con vehículo, pero esto se atenuó fuertemente mediante tratamiento con compuesto 72 en ambos ratones C57Bl/6J DIO y Balb/c (figura 1G y H).

60 En los mismos estudios de 24 horas descritos anteriormente, el patrón circadiano de ARNm para los genes gluconeogénicos Pck1 (PEPCK) y G6Pc (subunidad catalítica de glucosa 6-fosfatasa) se alteraron sustancialmente por compuesto 72 con respecto al vehículo en ratones C57Bl/6J DIO (figura 2A y C). Los ratones tratados con vehículo

presentaron un patrón que estaba aplanado y avanzaba de fase sobre los observado para ratones C57Bl/6J alimentados con pienso en otros estudios (Hughes *et al.* (2009)). Los ratones C57Bl/6J DIO tratados con compuesto 72 presentaron un pico de expresión para estos dos genes gluconeogénicos a principio del atardecer (ZT14), que está más cerca del momento de pico de su expresión observada en ratones alimentados con pienso (Hughes *et al.* (2009)).

5 Los patrones diurnos de expresión para Pck1 y G6Pc se alteraron más por compuesto 72 en los ratones C57Bl/6J DIO con respecto al vehículo que en los ratones Balb/c (figura 2B y D).

10 Los efectos de múltiples compuestos moduladores de Cry, compuesto 72, compuesto 48, compuesto 9 y compuesto 57 se examinaron en ratones ICR. Los ratones se trataron con 50 mg/kg de cada compuesto (compuesto 72, compuesto 48, compuesto 9 y compuesto 57), PO (administración oral) a un volumen de dosis de 5 ml/kg durante 4 días, BID o control de vehículo. Cada compuesto provocó una supresión de la expresión hepática de Per2 (figura 3A). El tratamiento con compuesto 48 provocó un aumento de 8 veces en el ARNm de Bmal1 en ZT6, los ratones tratados con compuesto 72 y compuesto 9 presentaron un aumento de 4 veces, y los ratones tratados con compuesto 57 presentaron un aumento de al menos 2 veces (figura 3B). El compuesto 72, compuesto 48 y compuesto 9 también provocaron una disminución en los transcritos de Cry2 (figura 3C).

15 Los niveles de los ARNm del gen central de reloj en sangre completa pueden proporcionar un método no invasivo de determinación de los efectos de los compuestos en sujetos tratados. Se usaron ratones db/db macho (9 semanas de edad, The Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine) con n = 8 para cada grupo experimental. A los ratones se les dosificó compuesto 72 (100 mg/kg, P.O; volumen de dosis de 5 ml/kg, en Kolliphor al 10 %), o Kolliphor al 10 %, una vez al día durante tres días en ZT0 (7:00 am) (ZT se refiere a hora de sincronizador biológico, e indica la hora a la que se encienden las luces para estimular el día en la instalación del ratón). En el día final a ZT7,5 (2:30 pm), los animales se sacrificaron usando asfixia con CO₂, y se recogió sangre del corazón mediante punción cardiaca. Se transfirió sangre completa a un tubo que contenía RNALater para ensayo por RT-qPCR.

20 25 La proteína de unión a D-box Dbp se regula de una manera circadiana fuertemente. El compuesto 72 provocó una supresión estadísticamente significativa de la expresión génica de Dbp en este estudio (figura 4), lo que demuestra que los glóbulos blancos en ratones tratados con dichos compuestos pueden proporcionar información acerca de los efectos de los compuestos sobre el mecanismo del reloj central en todo el organismo. Dicha información puede usarse como marcador de diagnóstico, o como biomarcador para evaluar los efectos de moduladores de Cry y otros agentes terapéuticos que afectan al mecanismo circadiano central.

30 35 Para compuestos que interactúan directamente con el mecanismo de reloj central, el momento de dosificación puede ser crucial para maximizar sus efectos. Los ratones Db/db se trataron con una sola dosis de compuesto 72 (50 mg/kg) administrada en ZT0 o ZT10. El primero (ZT0) es coincidente con el pico de proteína Cry1 y Bmal1 en hígado de ratón y el último (ZT10) corresponde al mínimo aproximado de Cry1 y Bmal1. Se tomó tejido hepático 7,5 horas después para cada uno, y las muestras se examinaron para los ARNm de los genes de reloj centrales por RT-qPCR. Como el compuesto 72 tenía un impacto relativo mayor sobre los ARNm del reloj en el pico en comparación con el mínimo (figura 5), la dosificación aproximadamente en el momento del primero proporciona mayores efectos sobre el mecanismo del reloj, y esto puede dar lugar además a un mayor efecto sobre los resultados metabólicos del reloj.

Ejemplo 6: Efecto de una dosis única de compuesto 72 administrado en el pico o mínimo de la expresión génica del reloj en un modelo de ratón de diabetes

40 45 Se evaluó el efecto del compuesto 72 sobre el metabolismo de la glucosa cuando se administró como una dosis única administrada en el pico o mínimo de expresión de los genes centrales del reloj Cry1/Bmal1 en un modelo de ratón a db/db de diabetes tipo II.

50 55 Se obtuvieron ratones db/db macho homocigóticos para Lepr^{db} (6 semanas de edad), de The Jackson Laboratory (Bar Harbor, Maine). Los ratones se alojaron en grupo en un ciclo de luz/oscuridad normal (luces encendidas: 07:00 - 19:00 h) con acceso *ad libitum* a una dieta convencional de gránulos para ratón y agua. Los animales se acostumbraron a estas condiciones durante 2 semanas antes de la experimentación. Los ratones se dividieron en dos brazos de estudio, para dosificarlos en el pico o mínimo de expresión génica de Cry1 y Bmal1. A los ratones se les dosificó una vez vehículo (Kolliphor al 10 %, Sigma-Aldrich) o compuesto 72 (50 mg/kg en Kolliphor al 10 % en agua) a un volumen de dosis de 5 ml/kg, QD, mediante sonda oral, en ZT0 (pico, 7:00 am) o ZT10 (mínimo, 5:00 pm). Los animales se pesaron en el día 0 y se asignaron aleatoriamente a grupos de tratamiento de modo que cada grupo tuviera pesos de partida promedio similares. Los ratones dosificados en ZT0 se mantuvieron en ayunas durante una noche empezando a las 10:30 pm, cuando se transfirieron a una jaula limpia y se le dio acceso libre a agua, pero no a comida, durante un periodo de 12 horas. Los ratones dosificados en ZT10 se mantuvieron en ayunas empezando a las 8:30 am de la misma manera. El día del estudio, después de la dosificación, los ratones experimentaron una lesión por corte de la cola 2 horas antes de la medición de la glucosa sanguínea en ayunas, para permitir la recuperación de cualquier tensión que el procedimiento pudiera provocar. La glucosa sanguínea en ayunas (FBG) se evaluó de los animales a las 10:30 am o 8:30 pm usando un glucómetro AlphaTRAK (Abbott Laboratories, EE. UU.). A las 11:30 am (ratones dosificados en el pico) o 9:30 pm (ratones dosificados en el mínimo) a cada animal se le dosificó 0,5 g/kg de glucosa, después se midió la glucosa en sangre en t = 15, 30, 60, 90 y 120 minutos después de la carga de glucosa. Los

animales se sacrificaron después de la última recogida de sangre y se recogieron los tejidos y la sangre para otras determinaciones de valoración.

Los valores de glucosa sanguínea en ayunas y las mediciones de glucosa tomadas durante OGTT se promediaron y se representaron en gráfico (GraphPad Prism, GraphPad Software La Jolla, CA). Se calculó al área bajo la curva (ABC) para cada animal individual. El análisis estadístico se realizó usando ANOVA unidireccional seguido del apropiado ensayo a posteriori. La significación se aceptó cuando $p < 0,05$. Los datos se presentan como media y E.T.M.

La administración de compuesto 72 (50 mg/kg, PO) en una dosis única, administrada en el pico de expresión génica de Cry1 y Bmal1, a ratones db/db provocó un efecto aparente en la medición de OGTT (figura 6A) en comparación con el control de vehículo, pero sin efecto cuando se dosificaba en el mínimo (figura 6B). La ABC calculada a partir del OGTT de animales dosificados en el pico de expresión génica mostró que el tratamiento con compuesto 72 provocaba una reducción en la oscilación de glucosa de un 14 % (74098 +/- 4194 a 63842 +/- 4318; figura 7).

Ejemplo 7: Efecto de una dosis única de compuesto 72 administrado durante 7 días en un modelo de ratón de diabetes

Se evaluó el efecto del compuesto 72 sobre el metabolismo de la glucosa y los niveles de insulina cuando se administraba como una dosis única administrada durante 7 días en un modelo de ratón db/db de diabetes de tipo II.

Se obtuvieron ratones db/db macho homocigóticos para Lepr^{db} (6 semanas de edad), de The Jackson Laboratory (Bar Harbor, Maine). Los ratones se alojaron en grupo en un ciclo de luz/oscuridad normal (luces encendidas: 07:00 - 19:00 h) con acceso *ad libitum* a una dieta convencional de gránulos para ratón y agua. Los animales se acostumbraron a estas condiciones durante 2 semanas antes de la experimentación. A los ratones se les dosificó vehículo (Kolliphor al 10 %, Sigma-Aldrich) o compuesto 72 (50 mg/kg en Kolliphor al 10 % en agua) a un volumen de dosis de 5 ml/kg, QD, mediante sonda oral, en ZT0 (7:00 am) durante siete días. Los ratones se pesaron en el día 0 y se asignaron aleatoriamente a grupos de tratamiento de modo que cada grupo tuviera pesos de partida promedio similares. A las 10:30 pm en el atardecer antes de la medición de valoración, los ratones se pusieron en jaulas limpias y se les dio acceso libre a agua, pero no a comida durante un periodo de 12 horas antes de la medición de la glucosa sanguínea en ayunas. El día final del estudio, a los animales se les dosificó de forma normal, y después experimentaron una lesión por corte de la cola 2 horas antes de la medición de la glucosa sanguínea en ayunas, para permitir la recuperación de cualquier tensión que el procedimiento pudiera provocar. La glucosa sanguínea en ayunas (FBG) se evaluó de los animales a las 10:30 am usando un glucómetro AlphaTRAK (Abbott Laboratories, EE. UU.). Despues de la medición de FBG se recogió sangre de cada ratón, usando una técnica de ordeño de la cola, en un tubo capilar. Los tubos capilares se centrifugaron en un hematocrito (BD Triac 0200) y el plasma resultante se transfirió a un Eppendorff. Esta muestra, marcada como $t = 0$ h, se congeló a -80 °C para permitir la posterior medición de insulina. A las 11:30 am a cada animal se le dosificó 0,5 g/kg de glucosa, después se midió la glucosa en sangre en $t = 15, 30, 60, 90$ y 120 minutos después de la carga de glucosa. Al final del OGTT se recogió sangre para una determinación de insulina de $t = 2$ h como se describe anteriormente. Los animales se sacrificaron después de la última recogida de sangre y se recogieron los tejidos y la sangre para otras determinaciones de valoración (detallado en otra parte). El plasma y el tejido hepático de animales tratados con compuesto 72 se presentó a un CRO para la medición de los niveles de compuestos, usando CL/EM/EM y comparación con una curva patrón de cantidades conocidas de compuestos.

Los valores de glucosa sanguínea en ayunas y las mediciones de glucosa tomadas durante OGTT se promediaron y se representaron en gráfico (GraphPad Prism, GraphPad Software La Jolla, CA). Se calculó al área bajo la curva (ABC) para cada animal individual. Los niveles plasmáticos de insulina se determinaron usando un ELISA de insulina ultrasensible (ALPCO, Salem, NH). La HOMA-IR (evaluación en modelo homeostático-resistencia a la insulina) se calculó usando la siguiente fórmula: ($FPI (\mu U/l) \times FPG (mmol/l)$) / 22,5, donde FPI y FPG indican insulina plasmática en ayunas y glucosa plasmática en ayunas, respectivamente. Los datos de insulina también se representaron en formato GraphPad Prism. El análisis estadístico se realizó usando ANOVA unidireccional seguido del apropiado ensayo a posteriori. La significación se aceptó cuando $p < 0,05$. Los datos se presentan como media y E.T.M.

La administración de compuesto 72 (50 mg/kg, PO) durante 7 días a ratones db/db provocó una reducción significativa en FBG en comparación con el control de vehículo (484,9 +/- 34,37 mg/dl a 385,0 +/- 29,69 mg/dl; figura 8A). Durante el transcurso de la medición de OGTT, en los animales tratados con compuesto 72 era inferior que en el grupo de control de vehículo (figura 8B). La ABC calculada a partir del OGTT mostró que la administración de compuesto 72 provocaba una reducción significativa en la oscilación de glucosa (54845 +/- 4112 a 35942 +/- 3192; figura 8C).

Las mediciones de insulina plasmática se hicieron a partir de las muestras tomadas en $t = 0$ y $t = 2$ h, y se muestran en la figura 9A. La insulina se redujo por tratamiento con compuesto 72 en ambos puntos temporales $t = 0$ y $t = 2$ h en un 20 % y 21 %, respectivamente (4,70 +/- 0,76 a 3,78 +/- 0,69 ng/ml y 3,17 +/- 0,67 a 2,53 +/- 0,50 ng/ml, respectivamente). La HOMA-IR (una indicación de resensibilización a insulina) se redujo en un 33 % de 139,91 +/- 26,57 a 93,69 +/- 23,60 unidades (figura 9B).

Los niveles de compuestos de compuesto 72 se evaluaron a partir de las muestras tomadas al terminar el estudio, y se muestran en la figura 10, junto con el valor de CE_{50} determinado a partir del ensayo de Per2 como se describe en el ejemplo 3, con propósitos de comparación. Se descubrió que el compuesto 72 tanto en plasma como en hígado a aproximadamente 8 horas después de la administración de la última dosis (plasma: $0,53 \pm 0,03 \mu\text{M}$; hígado: $0,67 \pm 0,05 \mu\text{M}$, mostrado como media y E.T.M). En ambos casos los niveles de compuestos eran ligeramente más altos que el valor de CE_{50} de Per2 determinado para compuesto 72 ($0,4 \mu\text{M}$; 1,3 veces y 1,7 veces mayor que el valor de CE_{50} en plasma e hígado, respectivamente).

Ejemplo 8: Efecto de dosificaciones crecientes de compuesto 72 en un modelo de ratón de diabetes

Se evaluó el efecto del compuesto 72 sobre dosis crecientes administrados durante 7 días sobre el metabolismo de glucosa y los niveles de insulina en un modelo de ratón db/db de diabetes de tipo II.

Se obtuvieron ratones db/db macho homocigóticos para Lepr^{db} (5 semanas de edad), de The Jackson Laboratory (Bar Harbor, Maine). Los ratones se alojaron en grupo en un ciclo de luz/oscuridad normal (luces encendidas: 07:00 - 19:00 h) con acceso *ad libitum* a una dieta convencional de gránulos para ratón y agua. Los animales se acostumbraron a estas condiciones durante 2 semanas antes de la experimentación. A los ratones se les dosificó vehículo (Kolliphor al 10 %, Sigma-Aldrich) o compuesto 72 a 10, 50 o 100 mg/kg (en Kolliphor al 10 % en agua) a un volumen de dosis de 5 ml/kg, QD, mediante sonda oral, en ZT0 (7:00 am) durante siete días. Los métodos experimentales realizados fueron los mismos que los detallados en el ejemplo 11. Los niveles de compuesto en plasma y tejido hepático de animales tratados con compuesto 72 se midieron usando CL/EM/EM y se compararon con una curva patrón de cantidades conocidas de compuesto.

La administración de compuesto 72, a dosis ascendentes, durante 7 días a ratones db/db provocó una reducción en los niveles de glucosa sanguínea en ayunas en comparación con el grupo de control de vehículo a 50 y 100 mg/kg, aunque esto no alcanzó significación estadística (control de vehículo: $491,0 \pm 51,30 \text{ mg/dl}$, 50 mg/kg: $402,8 \pm 25,25 \text{ mg/dl}$, 100 mg/kg: $420,7 \pm 26,44 \text{ mg/dl}$; figura 11A). El compuesto 72, administrado a una dosis de 10 mg/kg, no mostró reducción en los niveles de glucosa sanguínea en ayunas ($503,5 \pm 49,68 \text{ mg/dl}$). Durante el transcurso de la medición de OGTT, los animales tratados con compuesto 72 mostraron un efecto dependiente de la dosis sobre la oscilación de glucosa de los animales después de una carga de glucosa (figura 11B). El área bajo la curva calculada a partir del OGTT mostró que la administración de compuesto 72 reducía la ABC de glucosa de una manera dependiente de la dosis que era significativa a 100 mg/kg (vehículo: 46088 ± 3303 , 10 mg/kg: 39771 ± 4244 , 50 mg/kg: 35527 ± 3215 , 100 mg/kg: 28499 ± 3079 ; figura 11C).

Las mediciones de insulina plasmática se hicieron a partir de las muestras tomadas en $t = 0$ y $t = 2 \text{ h}$, y se muestran en la figura 12A. La insulina se redujo, en $t = 0$, por tratamiento con compuesto 72 cuando se dosificaba a 100 mg/kg (de $5,68 \pm 0,43$ a $4,63 \pm 0,17 \text{ ng/ml}$ (vehículo y grupo de 100 mg/kg, respectivamente)). La HOMA-IR se redujo de una manera dependiente de la dosis después de administración de compuesto 72 (vehículo: $169,3 \pm 18,41$, 10 mg/kg: $172,7 \pm 16,61$, 50 mg/kg: $149,2 \pm 16,49$, 100 mg/kg: $111,9 \pm 9,02$ unidades; figura 12B). A 100 mg/kg, el efecto de compuesto 72 fue significativo (34 % de reducción en comparación con el grupo de control de vehículo).

Los niveles de compuestos de compuesto 72 se evaluaron a partir de las muestras tomadas al terminar el estudio, y se muestran en la figura 13, junto con el valor de CE_{50} de Per2 (como se describe en el ejemplo 3), con propósitos de comparación. Se encontró compuesto 72 tanto en plasma como en hígado aproximadamente a las 8 horas después de la administración de la última dosis, con niveles de exposición que estaban aumentados con respecto al aumento en la dosis administrada (plasma, 10 mg/kg: $0,09 \pm 0,01 \mu\text{M}$; 50 mg/kg: $0,57 \pm 0,03 \mu\text{M}$; 100 mg/kg: $1,22 \pm 0,17 \mu\text{M}$; hígado, 10 mg/kg: $0,12 \pm 0,01 \mu\text{M}$; 50 mg/kg: $0,78 \pm 0,06 \mu\text{M}$; 100 mg/kg: $1,81 \pm 0,22 \mu\text{M}$). Tanto en plasma como en hígado los niveles de exposición fueron 1,4 veces y 1,95 veces mayores a 50 mg/kg, y 3 veces y 4,5 veces mayores a 100 mg/kg, que el valor de CE_{50} de Per2 en el plasma y el hígado, respectivamente.

Ejemplo 9: Efecto de dosificaciones crecientes de compuesto 9 en un modelo de ratón de diabetes

Se evaluó el efecto del compuesto 9 sobre dosis crecientes administrados durante 7 días sobre el metabolismo de glucosa y los niveles de insulina en un modelo de ratón db/db de diabetes de tipo II.

Se obtuvieron ratones db/db macho homocigóticos para Lepr^{db} (5 semanas de edad), de The Jackson Laboratory (Bar Harbor, Maine). Los ratones se alojaron en grupo en un ciclo de luz/oscuridad normal (luces encendidas: 07:00 - 19:00 h) con acceso *ad libitum* a una dieta convencional de gránulos para ratón y agua. Los animales se acostumbraron a estas condiciones durante 2 semanas antes de la experimentación. A los ratones se les dosificó vehículo (Kolliphor al 10 %, Sigma-Aldrich) o el compuesto compuesto 9 a 30, 100 o 300 mg/kg, o rosiglitazona a 30 mg/kg (en Kolliphor al 10 % en agua) a un volumen de dosis de 5 ml/kg, QD, mediante sonda oral, en ZT0 (7:00 am) durante siete días. La rosiglitazona es un agente terapéutico antidiabético que se usó para control positivo. Los métodos experimentales realizados fueron los mismos que los detallados en el ejemplo 11. Los niveles de compuesto en plasma y tejido hepático de animales tratados con compuesto 9 se midieron usando CL/EM/EM y se compararon con una curva patrón de cantidades conocidas de compuesto.

La administración de compuesto 9, a dosis ascendentes, durante 7 días a ratones db/db provocó una reducción en los niveles de glucosa sanguínea en ayunas a 100 mg/kg en comparación con el grupo de control de vehículo (de 492,8 +/- 48,07 a 403,1 +/- 39,73 mg/dl; figura 14A), pero sin efecto estadísticamente significativo global. El compuesto 9, administrado a una dosis de 30 y 100 mg/kg, mostró una reducción dependiente de la dosis en la medición de los

- 5 niveles de glucosa durante el OGTT, sin efecto aumentado observado a la dosis más alta ensayada de 300 mg/kg (figura 14B). El área bajo la curva calculada a partir del OGTT mostró que la de administración compuesto 9 reducía la ABC de glucosa de una manera dependiente de la dosis que era significativa a 100 y 300 mg/kg (vehículo: 56046 +/- 3204, 30 mg/kg: 44442 +/- 3895, 100 mg/kg: 33643 +/- 4822, 300 mg/kg: 33650 +/- 4688; figura 8C). La ABC de glucosa se redujo en un 21 %, 40 % y 40 % a 30, 100 y 300 mg/kg, respectivamente, del grupo de control de vehículo.
- 10 La rosiglitazona, usada como control positivo para el modelo animal, inhibió significativamente la glucosa sanguínea en ayunas (de 492,8 +/- 48,07 a 280,4 +/- 13,66 mg/dl; figura 14A), y ABC de glucosa (de 56046 +/- 3204 a 11502 +/- 2118 unidades; figura 14C).

15 Las mediciones de insulina plasmática se hicieron a partir de las muestras tomadas en t = 0 y t = 2 h, y se muestran en la figura 15A. La insulina se redujo después de tratamiento con compuesto 9 tanto a t = 0 (vehículo: 14,89 +/- 2,93, 30 mg/kg: 10,94 +/- 1,62, 100 mg/kg: 7,71 +/- 1,26, 300 mg/kg: 10,54 +/- 1,6 ng/ml) como a t = 2 h (vehículo: 7,44 +/- 0,92, 30 mg/kg: 5,76 +/- 0,11, 100 mg/kg: 3,70 +/- 0,29, 300 mg/kg: 4,01 +/- 0,44 ng/ml). La HOMA-IR se redujo de una manera dependiente de la dosis después de administración de compuesto 9, aunque hubo un menor efecto del compuesto a 300 mg/kg en este criterio de valoración (vehículo: 438,8 +/- 87,88, 30 mg/kg: 289,9 +/- 24,40, 100 mg/kg: 175,3 +/- 27,52, 300 mg/kg: 301,4 +/- 52,66 unidades; figura 15B). A 100 mg/kg, el efecto de compuesto 9 fue significativo (60 % de reducción en comparación con el grupo de control de vehículo). La rosiglitazona redujo los

20 niveles de insulina en t = 0 y t = 2 h (a 3,05 +/- 0,14 y 2,28 +/- 0,08 ng/ml, respectivamente; figura 15A), así como reducción significativa de la HOMA-IR (a 50,58 +/- 3,52 unidades, figura 15B).

25 Los niveles en tejido de compuesto 9 se evaluaron a partir de las muestras de hígado tomadas al terminar el estudio, y se muestran en la figura 16, junto con el valor de CE₅₀ de Per2, con propósitos de comparación. Se encontró compuesto 9 en plasma e hígado aproximadamente a las 8 horas después de la administración de la última dosis, con niveles de exposición que estaban aumentados con respecto al aumento en la dosis administrada entre las dosis de 30 mg/kg y 100 mg/kg. Los niveles de exposición a 300 mg/kg indicaron una acumulación de fármaco (aumento de 30

30 7,1 veces en lugar de 3 veces como se esperaba). Los niveles de compuesto en las muestras de hígado de animales a los que se administró 30, 100 o 300 mg/kg de compuesto 9 fueron 0,19 +/- 0,02 µM, 0,67 +/- 0,05 µM y 4,77 +/- 1,06 µM, respectivamente. Los niveles de exposición hepática después de administración de 30 mg/kg de compuesto 9 estuvieron aproximadamente 1,6 veces por debajo del valor de CE₅₀ de Per2 (0,3 µM), mientras que los niveles fueron 2,2 veces y 15,9 veces mayores a 100 mg/kg y 300 mg/kg, respectivamente.

Ejemplo 10: Efecto de compuesto 72 en un modelo de ratón de obesidad inducida por la dieta

Se examinó el efecto del compuesto 72 en un modelo de ratón de obesidad inducida por la dieta (DIO) de diabetes de tipo II.

40 Se obtuvieron ratones C57/Bl6J DIO macho de The Jackson Laboratory (Sacramento, CA). Los ratones se alojaron en grupo en un ciclo de luz/oscuridad normal (luces encendidas: 07:00 - 19:00 h) con acceso *ad libitum* a dieta alta en grasas (D12492 (60 % de kcal de grasa), Research Diets, Inc.) y agua. Los animales se acostumbraron a estas condiciones durante al menos 2 semanas antes de la experimentación y se usaron a aproximadamente 24 semanas de edad. A los ratones se les dosificó vehículo (Kolliphor al 10 %, Sigma-Aldrich), compuesto 72 (100 mg/kg en Kolliphor al 10 % en agua) o rosiglitazona (30 mg/kg en Kolliphor al 10 % en agua) a un volumen de dosis de 5 ml/kg, QD, mediante sonda oral, en ZT0 (7:00 am) durante siete días. La rosiglitazona es un agente terapéutico antidiabético que se usó para control positivo. Los ratones se pesaron en el día 0 y se asignaron aleatoriamente a grupos de tratamiento de modo que cada grupo tuviera pesos de partida promedio similares. A las 10:30 pm en el atardecer antes de la medición de valoración, los ratones se pusieron en jaulas limpias y se les dio acceso libre a agua, pero no a comida durante un periodo de 12 horas antes de la medición de la glucosa sanguínea en ayunas. El día final del estudio, a los animales se les dosificó de forma normal, y después experimentaron una lesión por corte de la cola 2 horas antes de la medición de la glucosa sanguínea en ayunas, para permitir la recuperación de cualquier tensión que el procedimiento pudiera provocar. La glucosa sanguínea en ayunas (FBG) se evaluó de los animales a las 10:30 am usando un glucómetro AlphaTRAK (Abbott Laboratories, EE. UU.). Después de la medición de FBG se recogió sangre de cada ratón, usando una técnica de ordeño de la cola, en un tubo capilar. Los tubos capilares se centrifugaron en un hematocrito (BD Triac 0200) y el plasma resultante se transfirió a un Eppendorff. Esta muestra, marcada como t = 0 h, se congeló a -80 °C para permitir la posterior medición de insulina. A las 11:30 am a cada animal se le dosificó 1,5 g/kg de glucosa, después se midió la glucosa en sangre en t = 15, 30, 60, 90 y 120 minutos después de la carga de glucosa. Al final del OGTT se recogió sangre para una determinación de insulina de t = 2 h como se describe anteriormente. Los animales se sacrificaron después de la última recogida de sangre y se recogieron los tejidos y la sangre para otras determinaciones de valoración.

65 Los valores de glucosa sanguínea en ayunas y las mediciones de glucosa tomadas durante OGTT se promediaron y se representaron en gráfico (GraphPad Prism, GraphPad Software La Jolla, CA). Se calculó al área bajo la curva (ABC) para cada animal individual. Los niveles plasmáticos de insulina se determinaron usando un ELISA de insulina

ultrasensible (ALPCO, Salem, NH). La HOMA-IR (evaluación en modelo homeostático-resistencia a la insulina) se calculó usando la siguiente fórmula: ($FPI (\mu U/l) \times FPG (mmol/l)$) / 22,5, donde FPI y FPG indican insulina plasmática en ayunas y glucosa plasmática en ayunas, respectivamente. Los datos de insulina también se representaron en formato GraphPad Prism. El análisis estadístico se realizó usando ANOVA unidireccional seguido del apropiado ensayo a posteriori. La significación se aceptó cuando $p < 0,05$. Los datos se presentan como media y E.T.M.

La administración de compuesto 72 (100 mg/kg, PO) durante 7 días a ratones C57/Bl6J DIO produjo una reducción significativa en los niveles de glucosa sanguínea en ayunas en comparación con el control de vehículo (237,2 +/- 15,29 mg/dl a 177,1 +/- 8,28 mg/dl; figura 17A). Durante el transcurso de la medición de OGTT, en los animales tratados con compuesto 72 era muy inferior que en el grupo de control de vehículo (figura 17B). La ABC calculada a partir del OGTT mostró que la administración de compuesto 72 provocaba una reducción significativa en la oscilación de glucosa (31511 +/- 1670 a 17055 +/- 769,1; figura 17C). La rosiglitazona, usada como control positivo para el modelo animal, redujo la glucosa sanguínea en ayunas a 153,9 +/- 5,05 mg/dl y la ABC de glucosa a 11500 +/- 1104 unidades.

Las mediciones de insulina plasmática se hicieron a partir de las muestras tomadas en $t = 0$ y $t = 2$ h, y se muestran en la figura 18A. La insulina se redujo después de tratamiento con compuesto 72 tanto a $t = 0$ (vehículo: 5,00 +/- 0,92, 100 mg/kg: 3,12 +/- 0,24, ng/ml) y $t = 2$ h (vehículo: 4,82 +/- 0,60, 100 mg/kg: 2,88 +/- 0,21 ng/ml). La HOMA-IR se redujo significativamente después de administración con compuesto 72 (vehículo: 70,76 +/- 11,30, 100 mg/kg: 32,54 +/- 3,37 unidades; figura 18B). La rosiglitazona (30 mg/kg) redujo la insulina em $t = 0$ y $t = 2$ h (a 2,70 +/- 0,12 y 2,30 +/- 0,06 ng/ml, respectivamente) y redujo significativamente la HOMA-IR (a 24,60 +/- 1,42 unidades).

Ejemplo 11: Efecto del compuesto 72 sobre el desarrollo de resistencia a la insulina inducida por cortisona en ratas

La administración repetida de cortisona a ratas durante 6 días induce una disminución significativa en el peso corporal, que está asociada con una elevación significativa en la insulina y la glucosa plasmáticas. Estos efectos están mediados mediante cortisol generado por la actividad 11-βHSD1. Los antagonistas del receptor de glucocorticoesteroides tales como mifepristona mejoran los efectos del cortisol sobre la resistencia a la insulina. El objetivo de estos experimentos fue determinar el efecto del compuesto 72 sobre el desarrollo de resistencia a la insulina inducida por cortisona en ratas.

A los animales se les dosificó cortisona (30 mg/kg sc qd) en combinación con compuestos de ensayo durante 6 días y después se sacrificaron 27 horas después de la dosis final de cortisona. También se incluyó un patrón de referencia (mifepristona). Se suministró 21-acetato de cortisona (Sigma C-3130) por RenaSci y se administró usando un volumen de dosis de 5 ml/kg mediante la vía subcutánea como una suspensión final en metilcelulosa al 1 %. El compuesto 72 (50 mg/kg en Kolliphor al 10 % en agua) se dosificó QD usando un volumen de dosis de 5 ml/kg mediante sonda oral. Se proporcionó mifepristona (Sigma M8046) por RenaSci.

Las determinaciones de glucosa e insulina se realizaron sobre muestras de plasma obtenidas de una exanguinación de la vena de la cola tomada después de 12 h de ayuno, aproximadamente 27 h después de la última dosis de cortisona. Entonces se sacrificó a los animales y se tomó una muestra de sangre final (cardiaca) de la que se preparó plasma.

Se pidieron treinta y cuatro ratas Sprague Dawley macho (intervalo de peso de 200-250 g) de Charles River, Margate, Kent, Reino Unido. Las ratas se alojaron en grupo en un ciclo de luz/oscuridad normal (luces encendidas: 07:00 - 19:00 h) con acceso libre a una dieta convencional de gránulos para rata y agua corriente todo el tiempo. Los animales se acostumbraron a estas condiciones durante 2 semanas antes de la experimentación. Posteriormente, los animales se sometieron a un periodo basal de 3 días durante el que se les dosificó una vez al día vehículo en $t = 0$ h (07:00). Se ha descubierto que este procedimiento reduce la incidencia de los efectos relacionados con tensión en los estudios. Todos los fármacos se administraron durante 6 días como se muestra en la tabla 2 a continuación. Se registró el peso corporal inmediatamente antes de que empezara la dosificación a las 07:00 ($t = 0$ h). Se administró cortisona mediante vía subcutánea (sc) mientras que el compuesto 72 y la mifepristona se administraron por vía oral, mediante sonda, inmediatamente después de la administración de cortisona en $t = 0$ h.

Tabla 2

Grupo	Tratamiento ($t = 0$ h; 07:00)		n
A	Vehículo (1 % de metilcelulosa; 5 ml/kg sc)	Vehículo (5 ml/kg po)	8
B	Cortisona (30 mg/kg sc)	Vehículo (5 ml/kg po)	8
C	Cortisona (30 mg/kg sc)	Compuesto 72 (50 mg/kg po)	8
D	Cortisona (30 mg/kg sc)	Mifepristona (30 mg/kg po)	8

En el día 6 de dosificación, las ratas se sometieron a ayuno durante 12 h empezando a las 22:30 (sincronizado para coincidir con la finalización del día 7). El día 7 a las ratas se les administró vehículo, pero no cortisona (sc) seguido de administración oral de vehículo/compuesto 72/mifepristona de forma habitual a las 07:00. A las 10:30 el día 7, 27 h

después de la dosis final de cortisona, se tomó una muestra de sangre (300 µl) de la vena lateral de la cola en tubos que contenían EDTA (Sarstedt 16.444). La sangre se centrifugó y la alícuota de plasma resultante se almacenó a -75 °C. Los animales se sacrificaron mediante asfixia con CO₂ seguido de dislocación cervical. Se recogió sangre final (aproximadamente 10 ml) por punción cardiaca en tubos que contenían EDTA (Sarstedt 5 ml 32.332) y después se centrifugó y el plasma se almacenó a -75 °C. El plasma de la vena de la cola se analizó para glucosa (n = 2) usando un reactivo clínico comercial (reactivo de glucosa Thermoelectron Infinity (TR15421) y para insulina (n = 1) usando el ELISA de insulina de rata ultrasensible Mercodia (10-1251-10).

- 5 Se analizaron la glucosa y la insulina en plasma por una regresión robusta o modelo lineal general con tratamiento como factor y el orden de exanguinación y el peso corporal basal como covariables. Si era apropiado, se usaba una transformación logarítmica. Se usaron ensayos de comparación múltiple apropiados (bilaterales) para determinar diferencias significativas del grupo de vehículo y del grupo de cortisona. P<0,05 se consideró estadísticamente significativo.
- 10 15 La administración de compuesto 72 a ratas redujo significativamente el aumento en la glucosa e insulina plasmáticas provocado por el tratamiento de administración de cortisona. Los niveles de glucosa en plasma se aumentaron de 6,28 +/- 0,30 mM a 10,17 +/- 0,51 mM después de tratamiento con cortisona, que se redujeron sustancialmente por compuesto 72 (50 mg/kg) a 8,55 +/- 0,3 mM (p < 0,01; media y E.T.M.). Los niveles de insulina en plasma se aumentaron de 0,70 +/- 0,11 ng/ml a 8,19 +/- 0,91 ng/ml tras tratamiento con cortisona, que se redujeron por compuesto 20 72 (50 mg/kg) a 5,24 +/- 1,11 ng/ml (p < 0,05; datos representados como media y E.T.M.; figura 19). La mifepristona, usada como control positivo para el modelo animal, redujo significativamente la glucosa plasmática y la insulina plasmática a 7,43 +/- 0,27 ng/ml y 3,62 +/- 0,29 ng/ml, respectivamente.

- 25 Los valores de HOMA-IR se calcularon como se describe en el compuesto 9, y los datos se muestran en la figura 20. El tratamiento con cortisona aumentó la HOMA-IR a 95,57 +/- 11,4 unidades en comparación con el grupo de vehículo:control de vehículo (5,27 +/- 1,04 unidades). La administración de compuesto 72 (50 mg/kg) y mifepristona redujo significativamente el valor de HOMA-IR en ratas resistentes a la insulina a 56,94 +/- 11,18 unidades y 29,99 +/- 2,54 unidades, respectivamente.

30 Ejemplo 12: Análisis farmacocinético (PK) de compuesto 9 y compuesto 72

- 35 Se usaron ratones ICR macho (que pesaban 30 - 40 g, Charles River Laboratories) para el experimento con n = 3 ratones para cada grupo experimental (27 ratones en total para el estudio). A los ratones se les dosificó el compuesto 9 o compuesto 72 modulador de Cry (50 mg/kg, P.O; volumen de dosis 5 ml/kg, en Kolliphor al 10 %). Se recogió sangre y tejido hepático en los siguientes puntos temporales después de administración: 15, 30, 60, 90 minutos, 3, 6, 12 y 24 horas. También se muestreó un grupo de control de animales (T0). Los animales se sacrificaron con CO₂ y la sangre se recogió del corazón usando punción cardiaca, se transfirió a un tubo de EDTA, y después se centrifugó a 5400 rpm durante 5 minutos a 4 °C. El plasma resultante se congeló usando hielo seco y después se almacenó a -80 °C hasta que estuvo listo para el ensayo. Se retiró tejido hepático de cada animal, se recogieron 0,5 g en un 40 Eppendorff, se congelaron y se presentaron para medición farmacocinética. El plasma y el tejido hepático de cada animal se presentó a un CRO para la medición de los niveles de compuestos, usando CL/EM/EM y comparación con una curva patrón de cantidades conocidas de compuestos tanto en plasma como en hígado. Los datos sin procesar se analizaron usando WinNonLin para los parámetros PK (Cmáx, Tmáx, t^{1/2} de eliminación, MRT (tiempo medio de residencia), ABC (área bajo la curva) - (0- último y % extrapolado).

- 45 50 55 Se usaron ratas SD macho (que pesaban 250-300 g, Charles River Laboratories) para el experimento con n = 4 ratas para cada grupo experimental. A las ratas se les dosificó compuesto 72 (50 mg/kg, P.O; volumen de dosis 5 ml/kg, en Kolliphor al 10 %). Se recogió sangre en los siguientes puntos temporales después de administración: 15, 30, 60, 90 minutos, 3, 6, 12 y 24 horas. También se recogió una muestra predosis. Los animales se canularon mediante personal técnico en Charles River, antes de aportarlos en Reset. Se recogió sangre completa (0,3 ml) de una cánula en la vena yugular derecha común en cada punto temporal. La sangre completa se transfirió a un tubo de EDTA, y después se centrifugó a 5400 rpm durante 5 minutos a 4 °C. El plasma resultante se congeló usando hielo seco y después se almacenó a -80 °C hasta que estuvo listo para el ensayo. Se administró cloruro de sodio al 0,9 % (0,3 ml) para reposición de líquidos después de cada extracción de sangre. Se usó 0,1 ml de heparina sódica (500 UI/ml) como solución de bloqueo después del punto temporal de 12 h. Las muestras se ensayaron como se describe anteriormente. Las tablas 3 y 4 resumen los resultados de los análisis.

Tabla 3

Parámetros PK de compuesto 9 y compuesto 72								
Compuesto		Cmáx (ng/ml)	Tmáx (h)	Propiedades PK				
				T1/2 de eliminación (h)	MRT (0-último, h)	MRT (0-último, ng.h/ml)	(0-último; ng.h/ml)	(total; % extrapolada
Compuesto 9	Plasma	Ratón	893	0,25	3,18	3,92	1920	1930
Compuesto 9	Hígado	Ratón	33000	0,25	3,12	1,50	26800	26800
Compuesto 72*	Plasma	Ratón	1149 108,7	+/- 0,25 0,5	- 3,13+/- 0,24	5,30+/- 0,39	4158 +/-249,7	4236 +/-264,1 1,74 +/- 1,20
Compuesto 72*	Hígado	Ratón	7890 972,6	+/- 0,25 0,5	- 3,40+/- 0,28	4,74+/- 0,51	17822 +/- 2187	17961 +/- 2184 0,85 +/- 0,24
Compuesto 72	Plasma	Rata	7098	1,7	1,87	4,94	57933	57952 3,3

*Indica datos de 4 experimentos, mostrados como media y E.T.M.

Tabla 4

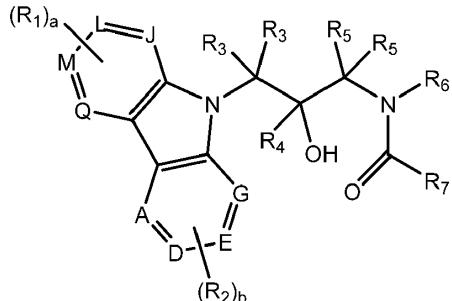
<u>Datos de exposición sin unir</u>								
Compuesto	Cmáx (plasma)	Cmáx UB (plasma)	Cmáx (hígado)	Cmáx UB (hígado)	ABC plasma total	ABC plasma sin unir	ABC hígado total	ABC hígado sin unir
	(ng/ml)	(ng/ml)	(ng/ml)	(ng/ml)	ABC (0-último)	ABC (0-último)	ABC (0-último)	ABC (0-último)
Compuesto 9	893	26,8	33000	990	1910	57	26800	804
Compuesto 72 (m)*	1149 +/- 108,7	41,93 +/- 3,97	7890 +/- 972,6	288,0 +/- 35,51	4158 +/- 249,7	151,5 +/- 9,11	17822 +/- 2187	650,5 +/- 79,81
Compuesto 72 (r)	7098	277			57933	2259		

*indica datos de 4 experimentos, mostrados como media y E.T.M.

- 5 **Ejemplo 13: Efecto de dosificaciones crecientes de compuesto 72 en un modelo de ratón de obesidad inducida por la dieta**
- 10 Se evaluó el efecto del compuesto 72 sobre dosis crecientes en un modelo de ratón de obesidad inducida por la dieta (DIO) de diabetes de tipo II.
- 15 Se obtuvieron ratones C57/Bl6J DIO macho de The Jackson Laboratory (Sacramento, CA). Los ratones se alojaron en grupo en un ciclo de luz/oscuridad normal (luces encendidas: 07:00 - 19:00 h) con acceso *ad libitum* a dieta alta en grasas (D12492 (60 % de kcal de grasa), Research Diets, Inc.) y agua. Los animales se acostumbraron a estas condiciones durante al menos 2 semanas antes de la experimentación y se usaron a aproximadamente 26 semanas de edad. A los ratones se les dosificó vehículo (Kolliphor al 10 %, Sigma-Aldrich), compuesto 72 (10, 30 o 100 mg/kg en Kolliphor al 10 % en agua) o rosiglitazona (30 mg/kg en Kolliphor al 10 % en agua) a un volumen de dosis de 5 ml/kg, QD, mediante sonda oral, en ZT0 (7:00 am) durante siete días. Los métodos experimentales realizados fueron los mismos que los detallados en el ejemplo 10.
- 20 La administración de compuesto 72, a dosis ascendentes, durante 7 días a ratones C57/Bl6J DIO provocó una reducción en los niveles de glucosa sanguínea en ayunas en comparación con el control de vehículo que alcanzó significación a 100 mg/kg (control de vehículo: 226,9 +/- 13,11 mg/dl, 10 mg/kg: 206,8 +/- 8,36 mg/dl, 30 mg/kg: 197,5 +/- 12,06 mg/dl, 100 mg/kg: 176,3 +/- 7,83 mg/dl, figura 22A). Durante el transcurso de la medición de OGTT, los animales tratados con compuesto 72 mostraron una reducción en la oscilación de glucosa después de una carga de glucosa (figura 22B). El área bajo la curva calculada a partir del OGTT mostró que la administración de compuesto 72 reducía la ABC de glucosa, que muestra significación a 30 y 100 mg/kg (vehículo: 26090 +/- 1917, 10 mg/kg: 22563 +/- 1224, 30 mg/kg: 19033 +/- 1934, 100 mg/kg: 19502 +/- 2404 unidades; figura 22C). La rosiglitazona, usada como control positivo para el modelo animal, inhibió significativamente la glucosa sanguínea en ayunas (de 226,9 +/- 13,11 a 161,1 +/- 8,06 mg/dl; figura 22A), y ABC de glucosa (de 26090 +/- 1917 a 9858 +/- 1281 unidades; figura 22C).
- 30

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I



- 5 o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que cada uno de A, D, E, G, J, L, M y Q es independientemente nitrógeno o carbono; cada uno de R₁ y R₂, cuando A, D, E, G, J, L, M o Q es carbono, se selecciona independientemente de hidrógeno, halo, ciano, nitro, -CF₃, -CH₂F, -CHF₂, trifluorometoxi, azido, hidroxilo, alcoxi(C₁-C₆), alquilo(C₁-C₆), alquenilo(C₂-C₆), -(C=O)-R₈, -(C=O)-O-R₈, -O-(C=O)-R₈, -NR₈(C=O)-R₁₀, -(C=O)-NR₈R₉, -NR₈R₉, -NR₈OR₉, -S(O)_cNR₈R₉, -S(O)_dalquilo(C₁-C₈), -O-SO₂-R₈, NR₈-S(O)_c, -(CR₈R₉)_dcicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_fheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_f(C=O)(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_f(C=O)(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_eO(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_eO(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_fS(O)_d(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), y -(CR₈R₉)_fS(O)_d(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros;
- 10 cada uno de R₃ y R₅ se selecciona independientemente de hidrógeno, ciano, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, alquilo(C₁-C₆), alquenilo(C₂-C₆), alquinilo(C₂-C₆), -(C=O)-R₈, -(C=O)-O-R₈, -(C=O)-NR₈R₉, -S(O)_cNR₈R₉, -S(O)_dalquilo(C₁-C₈), -(CR₈R₉)_dcicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_fheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_f(C=O)(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_f(C=O)(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_eO(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_eO(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_fS(O)_d(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀) y -(CR₈R₉)_fS(O)_d(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros;
- 15 en la que cada uno de los grupos R₃ está ligado opcionalmente entre sí como un anillo mono- o bicíclico de 4-12 miembros;
- 20 en la que cada uno de los grupos R₅ está ligado opcionalmente entre sí como un anillo mono- o bicíclico de 4-12 miembros;
- 25 R₄ es hidrógeno, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, alquilo(C₁-C₆), alquenilo(C₂-C₆), alquinilo(C₂-C₆), -(C=O)-R₈, -(C=O)-O-R₈, -(C=O)-NR₈R₉, -(CR₈R₉)_dcicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_fheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_f(C=O)(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_f(C=O)(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_eO(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₈R₉)_eO(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₈R₉)_fS(O)_d(CR₈R₉)_earilo(C₆-C₁₀) y -(CR₈R₉)_fS(O)_d(CR₈R₉)_eheterociclico de (4-10) miembros;
- 30 en la que R₆ y R₇ están ligados entre sí como un anillo de pirrolidinona, un anillo de imidazolidinona o un anillo bicíclico con puente de 4-12 miembros;
- 35 en la que R₈, R₉ y R₁₀ se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo(C₁-C₆), -(CR₁₁R₁₂)_ecicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_garilo(C₆-C₁₀) y -(CR₁₁R₁₂)_gheterociclico de (4-10) miembros;
- 40 cualquier átomo de carbono del alquilo(C₁-C₆), el cicloalquilo de (3-10) miembros, el arilo(C₆-C₁₀) y el heterociclico de (4-10) miembros de los anteriores R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁, R₁₂, R₁₃, R₁₄, R₁₅ y R₁₆ está opcionalmente sustituido independientemente con 1 a 3 sustituyentes R₁₄ cada uno seleccionado independientemente de halo, ciano, nitro, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, trifluorometoxi, azido, hidroxilo, -O-R₁₅, alcoxi(C₁-C₆), alqueno(C₂-C₆), alquinilo(C₂-C₆), -(C=O)-R₁₁, -(C=O)-R₁₅, -(C=O)-O-R₁₁, -(C=O)-O-R₁₅, -(O-C=O)-R₁₁, -(O-C=O)-R₁₅, -NR₁₁(C=O)-R₁₃, -(C=O)-NR₁₁R₁₂, -(C=O)-NR₁₁R₁₅, -NR₁₁R₁₂, -NR₁₁R₁₅, -NR₁₁OR₁₂, -NR₁₁OR₁₅, -S(O)_cNR₁₁R₁₂, -S(O)_dNR₁₁R₁₅, -S(O)_dalquilo(C₁-C₆), -S(O)_dR₁₅, -O-SO₂-R₁₁, -O-SO₂-R₁₅, -NR₁₁-S(O)_c, -NR₁₅-S(O)_c, -(CR₁₁R₁₂)_ecicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_f(C=O)(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₁₁R₁₂)_f(C=O)(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_eO(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₁₁R₁₂)_eO(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros;
- 45 en la que R₁₄ es carbono, el cicloalquilo de (3-10) miembros, el arilo(C₆-C₁₀) y el heterociclico de (4-10) miembros del anterior R₁₄ está opcionalmente sustituido independientemente con 1 a 3 sustituyentes R₁₆ cada uno seleccionado independientemente de halo, ciano, nitro, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, trifluorometoxi, azido, (CH₂)_eOH, alcoxi(C₁-C₆), alquilo(C₁-C₆), alquenilo(C₂-C₆), alquinilo(C₂-C₆), -(C=O)-R₁₁, -(C=O)-O-R₁₁, -(C=O)-O-R₁₅, -(O-C=O)-R₁₁, -(O-C=O)-R₁₅, -NR₁₁(C=O)-R₁₃, -(C=O)-NR₁₁R₁₂, -NR₁₁R₁₂ y -NR₁₁R₁₅; cualquier átomo de nitrógeno del heterociclico de (4-10) miembros de los anteriores R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₄ y R₁₅ está opcionalmente sustituido independientemente con alquilo(C₁-C₆), alquenilo(C₂-C₆), alquinilo(C₂-C₆), -(C=O)-R₁₁, -(C=O)-O-R₁₁, -(C=O)-NR₁₁R₁₂, -(CR₁₁R₁₂)_ecicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀), -(CR₁₁R₁₂)_fS(O)_d(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀) y -(CR₁₁R₁₂)_fS(O)_d(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros;

(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)f(C=O)(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀) o -
 (CR₁₁R₁₂)f(C=O)(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10) miembros;
 cada R₁₁, R₁₂ y R₁₃ es independientemente hidrógeno o alquilo(C₁-C₆);
 R₁₅ es -(CR₁₁R₁₂)_ecicloalquilo de (3-10) miembros, -(CR₁₁R₁₂)_earilo(C₆-C₁₀) o -(CR₁₁R₁₂)_eheterociclico de (4-10)
 miembros;
 a y b es cada uno independientemente 1, 2, 3 o 4;
 c es 1 o 2;
 d es 0, 1 o 2; y
 e, f y g es cada uno independientemente 0, 1, 2, 3, 4 o 5.

10 2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que cada uno de A, D, E, G, J, L, M y Q es carbono; cada uno de R₁ y R₂ se selecciona independientemente de hidrógeno o halo; R₄ es hidrógeno o alquilo(C₁-C₆) y R₃ y R₅ son hidrógeno.

15 3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es el enantiómero individual que porta una configuración (*R*) en C-3, cada uno de A, D, E, G, J, L, M y Q es carbono; cada uno de R₁ y R₂ se selecciona independientemente de hidrógeno o halo; R₄ es hidrógeno o alquilo(C₁-C₆) y R₃ y R₅ son hidrógeno.

4. El compuesto de la reivindicación 1 seleccionado del grupo que consiste en:

- 20 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
- 2-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;
- (1*R*,4*S*)-2-((*R*)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
- (*R*)-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;
- 25 (*R*)-1-((*R*)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
- (*S*)-1-((*S*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
- (*R*)-1-((*R*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona;
- 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona;
- 30 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)piperidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)pirrolidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropiperidin-2-ona;
- 35 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropiperidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-difluoropiperidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-dimetilpirrolidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-dimetilpiperidin-2-ona;
- 40 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-etylpirrolidin-2-ona;
- 3-ciclopentil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fenilpiperidin-2-ona;
- 3-ciclohexil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona;
- 3-ciclohexil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)piperidin-2-ona;
- 45 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-isopropilpirrolidin-2-ona;
- 3-ciclopentil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-etylpirrolidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-isopropilpiperidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-isopropilpiperidin-2-ona;
- 50 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpiperidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-metilpiperidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
- 55 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4,4-dimetilpirrolidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-etylpirrolidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-5-etylpirrolidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-4-metilpiperidin-2-ona;
- 60 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-6-metilpiperidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-6-metilpirrolidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-isopropilpirrolidin-2-ona;
- 65 4-ciclopropil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona;
- 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilpirrolidin-2-ona;

1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-4-metilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-etilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-4-etilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4,5-dimetilpirrolidin-2-ona;
 5 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilpiperidin-2-ona;
 3-ciclobutil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona;
 3-ciclobutil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)piperidin-2-ona;
 3-ciclobutil-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)piperidin-2-ona;
 10 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fenilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-metoxipiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-difluoropirrolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3,3-difluoropirrolidin-2-ona;
 15 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metoxipiperidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-6-metilpiperidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpiperidin-2-ona;
 20 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-ciclopropilpirrolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)piperidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)pirrolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)pirrolidin-2-ona;
 25 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,3-difluoropiperidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-eticlimidazolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona;
 30 1-ciclohexil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fenilimidazolidin-2-ona;
 1-ciclopentil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;
 1-ciclopentil-3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona;
 35 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-ciclobutilimidazolidin-2-ona;
 1-(3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-isopropilimidazolidin-2-ona;
 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3,4-dihidroquinazolin-2(1H)-ona;
 3-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3,4-dihidroquinazolin-2(1H)-ona;
 (1S,4R)-2-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
 40 (1S,4R)-2-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
 (1R,4S)-2-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
 (1R,4S)-2-((S)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona;
 (R)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
 (S)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
 45 (R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
 (S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
 (R)-1-((S)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpirrolidin-2-ona;
 (S)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
 (R)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
 50 (S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
 (R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-metilpirrolidin-2-ona;
 (S)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 55 (R)-1-((S)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (S)-1-((S)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (R)-1-((S)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 (S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxi-2-metilpropil)-3-fluoropirrolidin-2-ona;
 60 (S)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 (S)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 (R)-1-((R)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 (S)-1-((S)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 (R)-1-((S)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 65 (R)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-5-metilpiperidin-2-ona;
 (S)-1-((R)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona;

(*R*)-1-((*R*)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona
 (*S*)-1-((*R*)-3-(9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-4-metilimidazolidin-2-ona;
 y una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 5 5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 4 que es 1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona; o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 10 6. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 4 que es (1*R*,4*S*)-2-((*R*)-3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-ona; o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 15 7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 4 que es (*R*)-1-(3-(3,6-difluoro-9H-carbazol-9-il)-2-hidroxipropil)imidazolidin-2-ona; o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 20 8. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo, adyuvante o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 25 9. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8, que comprende además uno o más agentes terapéuticos adicionales, en la que dicho uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan del grupo que consiste en inhibidores de DPP-IV, inhibidores de SGLT2, metformina, sulfonilureas, pasireotida, ketoconazol, metirapona, mitotano, etomidato, mifepristona, inhibidores del receptor del factor de crecimiento epidérmico, el inhibidor LCI699 de la aldosterona sintasa/11β-hidroxilasa y levoketoconazol (COR-003).
- 30 10. La composición farmacéutica de la reivindicación 8 para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por Cry en un sujeto, en la que la enfermedad o trastorno mediado por Cry se selecciona del grupo que consiste en diabetes, complicaciones diabéticas tales como neuropatía diabética, retinopatía diabética, nefropatía diabética, formación de cataratas, glaucoma, angiopatía diabética, ateroesclerosis; esteatohepatitis no alcohólica (NASH); esteatosis hepática no alcohólica (NAFLD); asma; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD); síndrome metabólico; síndrome de resistencia a la insulina; obesidad; glaucoma; síndrome de Cushing; depresión psicótica; enfermedad de Alzheimer; dolor neuropático; drogadicción; osteoporosis; cáncer; degeneración macular; y miopatía.
- 35 11. La composición farmacéutica de la reivindicación 8 para su uso en el alivio de un síntoma de una enfermedad o trastorno mediado por Cry en un sujeto, en la que la enfermedad o trastorno mediado por Cry se selecciona del grupo que consiste en diabetes, complicaciones diabéticas tales como neuropatía diabética, retinopatía diabética, nefropatía diabética, formación de cataratas, glaucoma, angiopatía diabética, ateroesclerosis; esteatohepatitis no alcohólica (NASH); esteatosis hepática no alcohólica (NAFLD); asma; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD); síndrome metabólico; síndrome de resistencia a la insulina; obesidad; glaucoma; síndrome de Cushing; depresión psicótica; enfermedad de Alzheimer; dolor neuropático; drogadicción; osteoporosis; cáncer; degeneración macular; y miopatía.
- 40 12. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 10 u 11, que comprende además uno o más agentes terapéuticos adicionales, seleccionados del grupo que consiste en inhibidores de DPP-IV, inhibidores de SGLT2, metformina y sulfonilureas.
- 45 13. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en la que dicho uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan del grupo que consiste en pasireotida, ketoconazol, metirapona, mitotano, etomidato, mifepristona, inhibidores del receptor del factor de crecimiento epidérmico, el inhibidor LCI699 de la aldosterona sintasa/11β-hidroxilasa y levoketoconazol (COR-003).
- 50 14. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que A, D, E, G, J, L, M y Q son carbono.
- 55 15. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R₁ y R₂ son hidrógeno.
- 55 16. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R₁ y R₂ son flúor, y a y b son 1.
- 55 17. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R₃ y R₅ son hidrógeno.
- 55 18. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R₃, R₄ y R₅ son hidrógeno.
- 60 19. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el anillo formado por R₆ y R₇ está sustituido exclusivamente con flúor, grupos metilo, grupos etilo, grupos isopropilo, cicloalcanos C₃₋₆ o grupos fenilo.

Figura 1

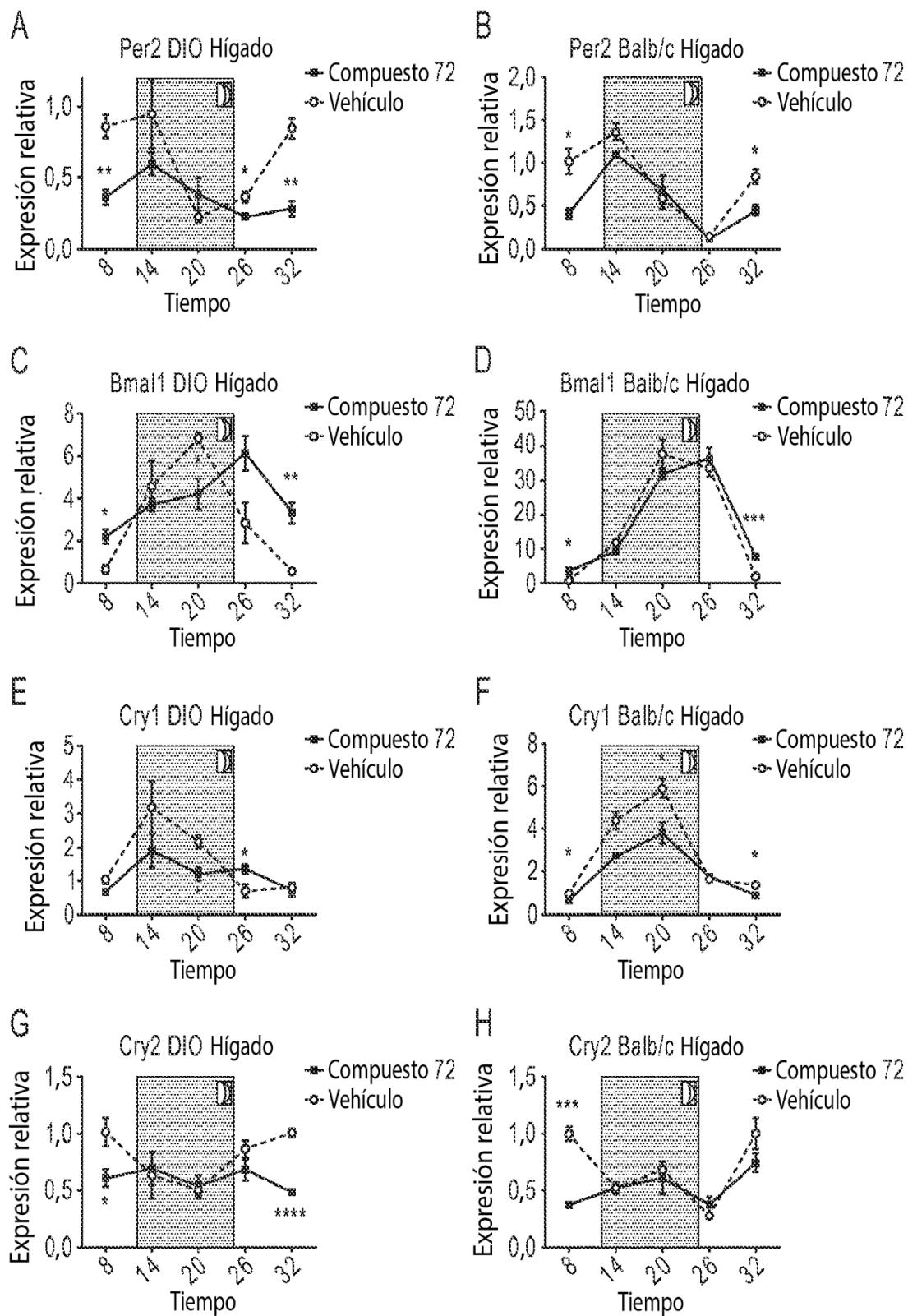


Figura 2

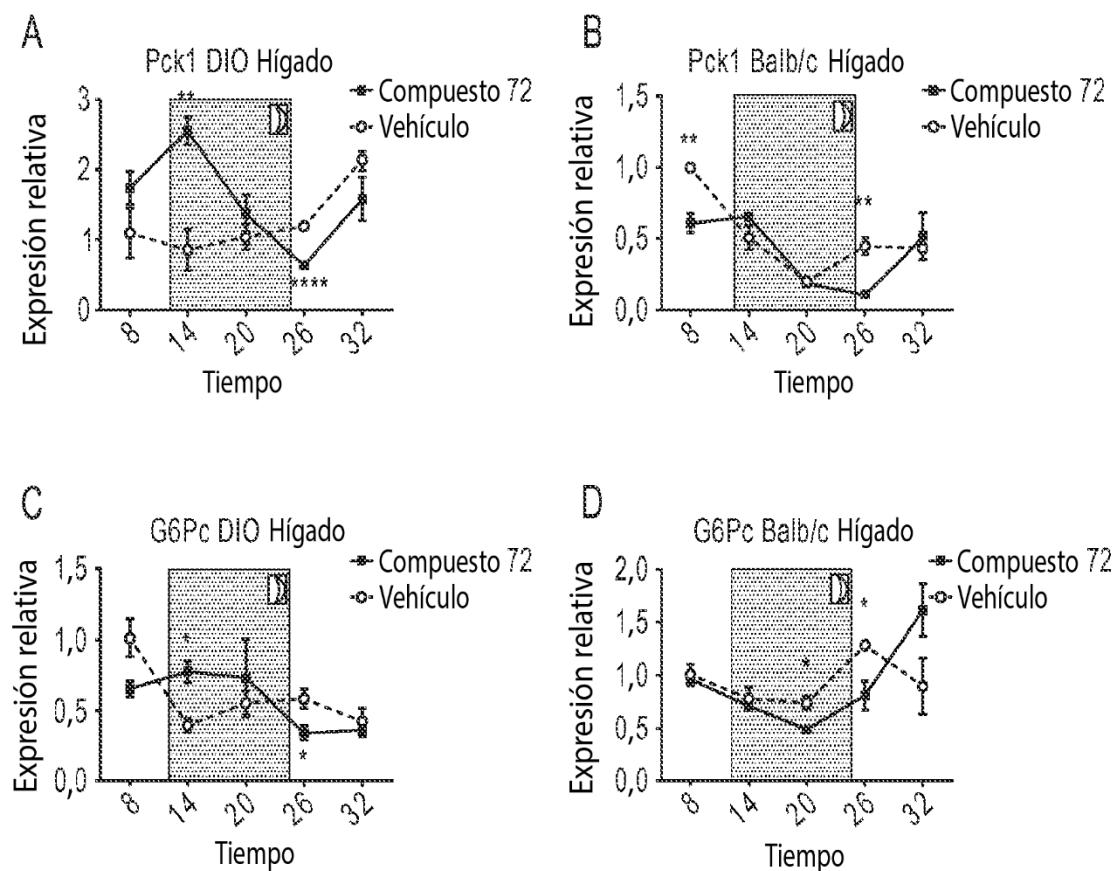


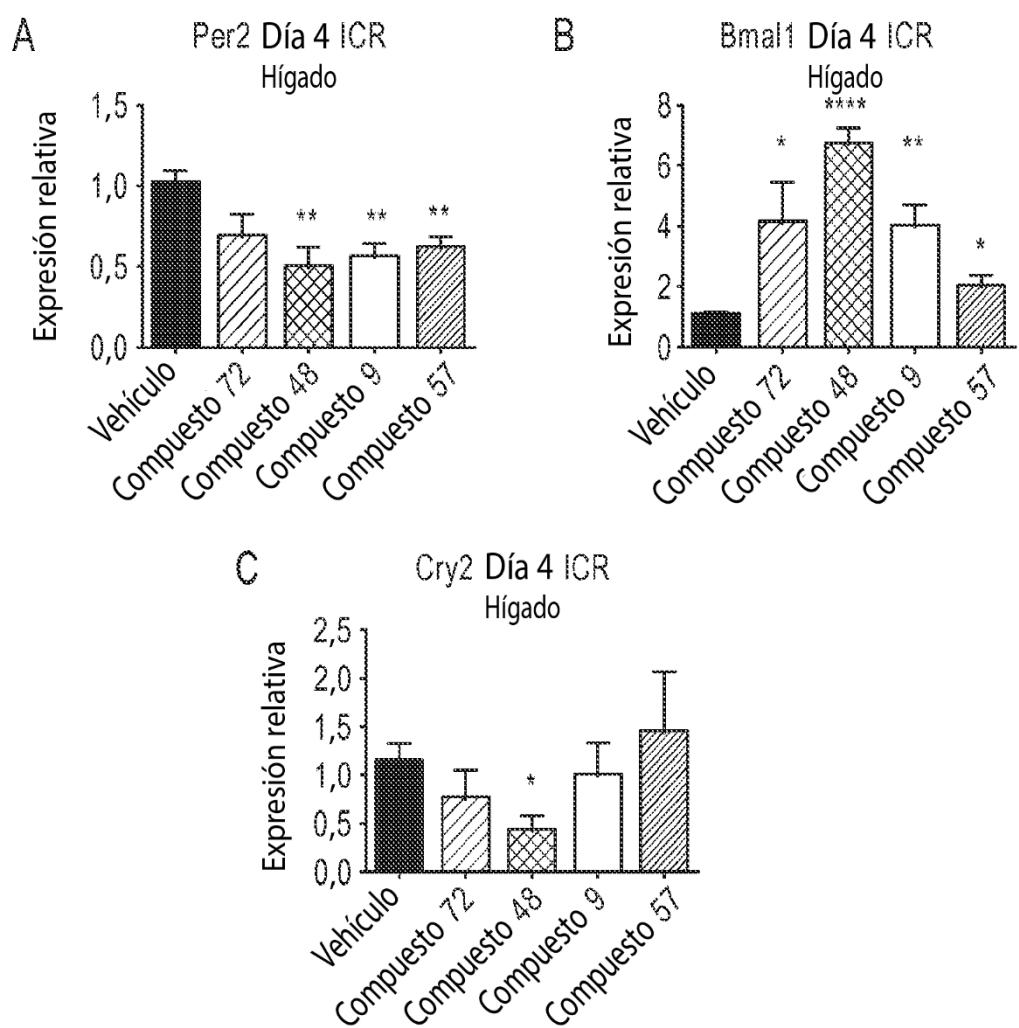
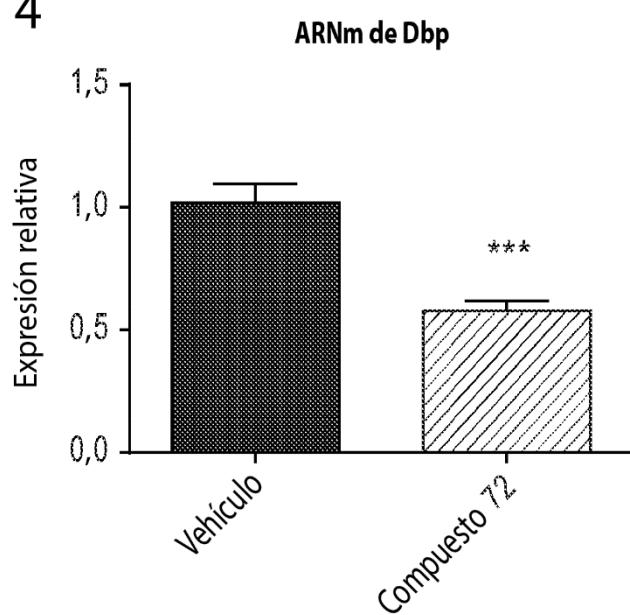
Figura 3**Figura 4**

Figura 5

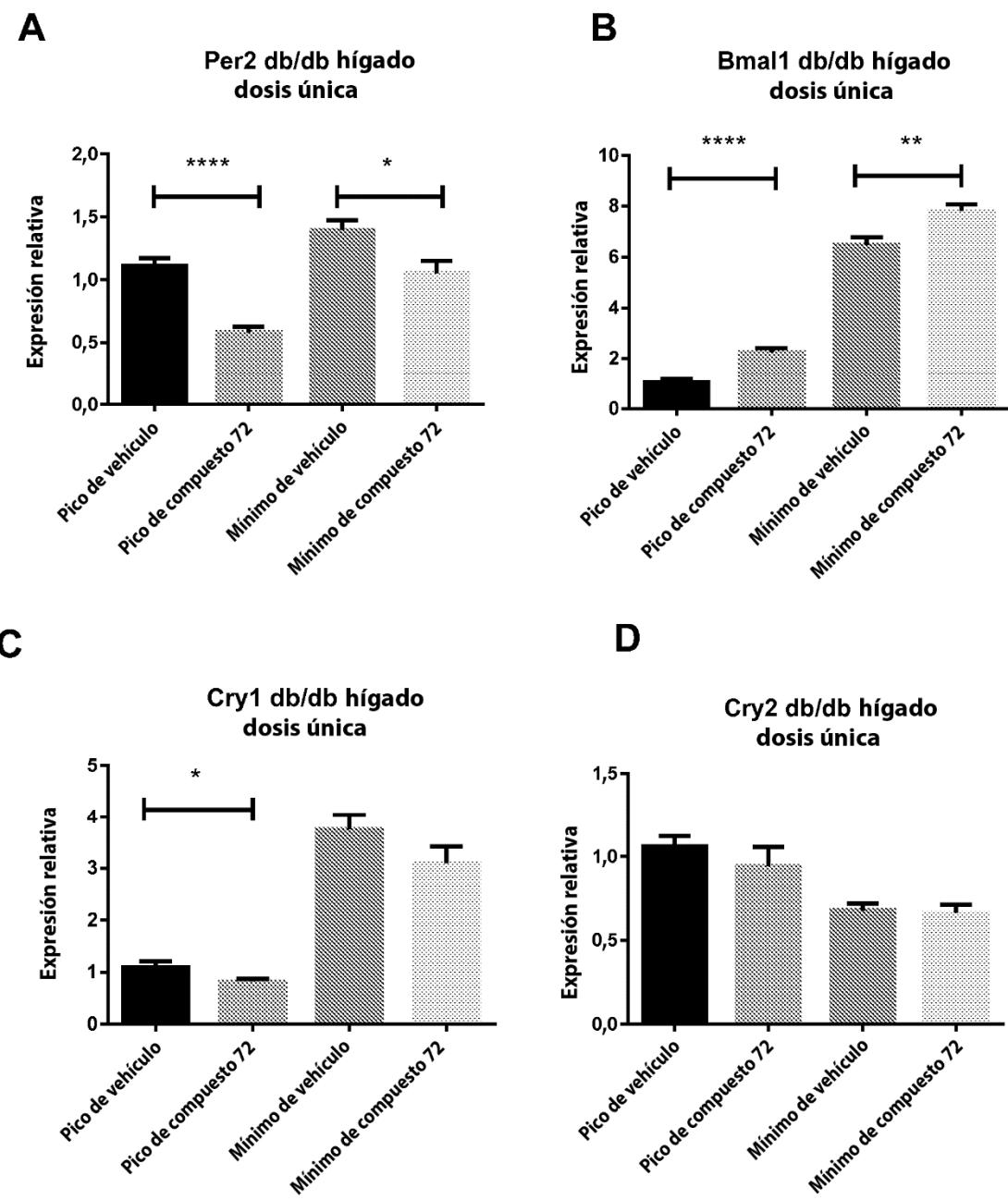


Figura 6

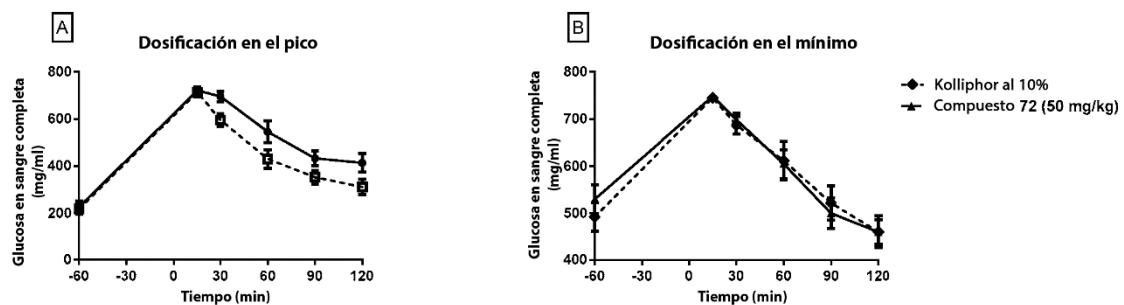


Figura 7

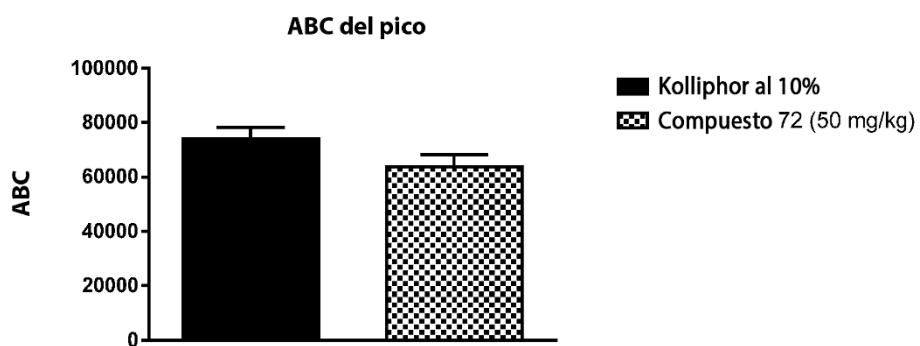
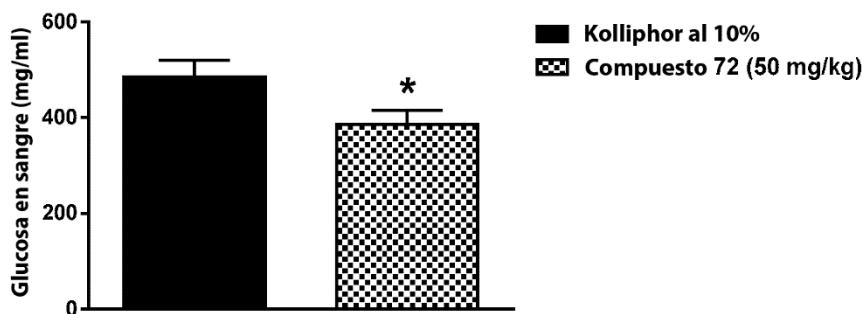
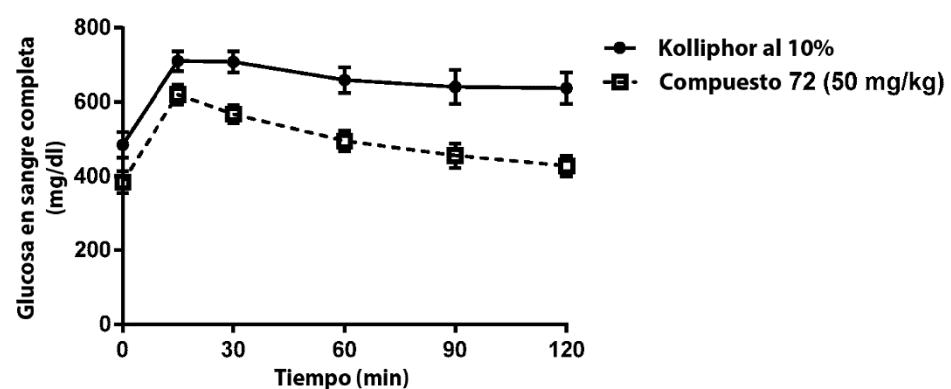


Figura 8

A.



B.



C.

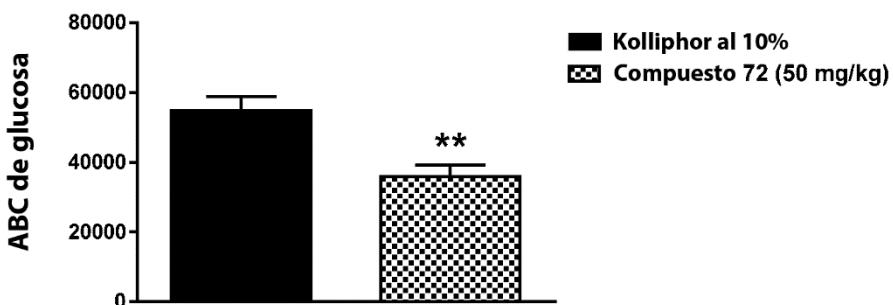
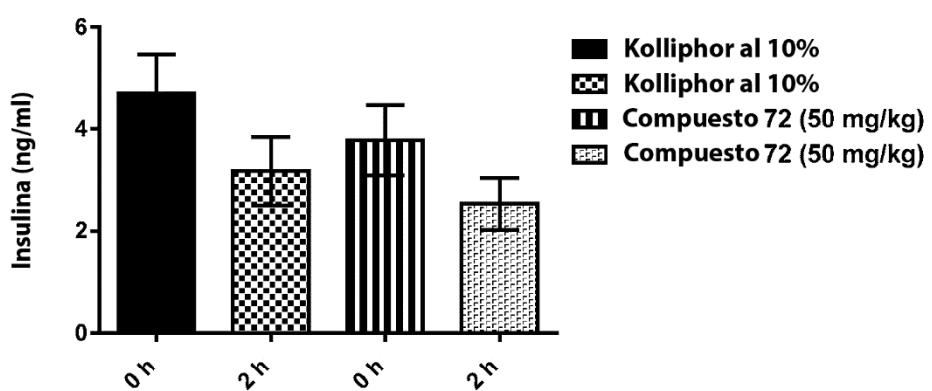


Figura 9

A.



B.

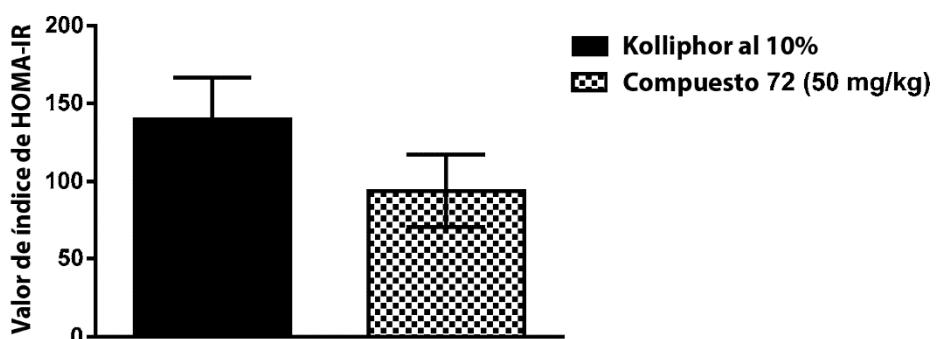


Figura 10

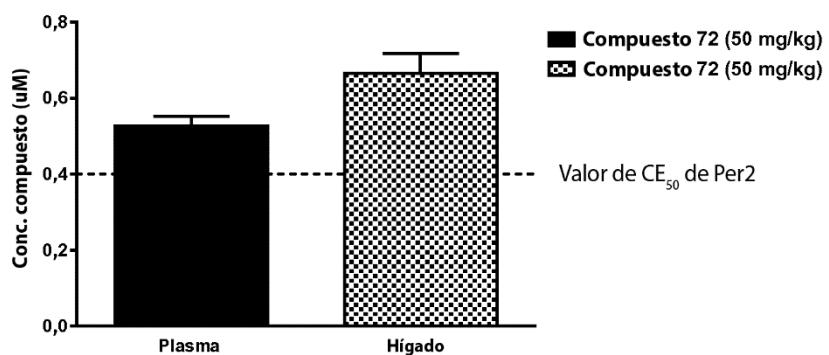
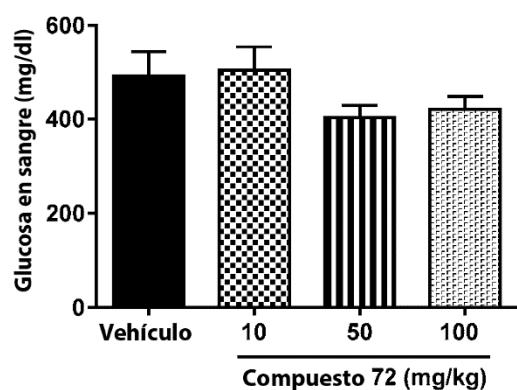
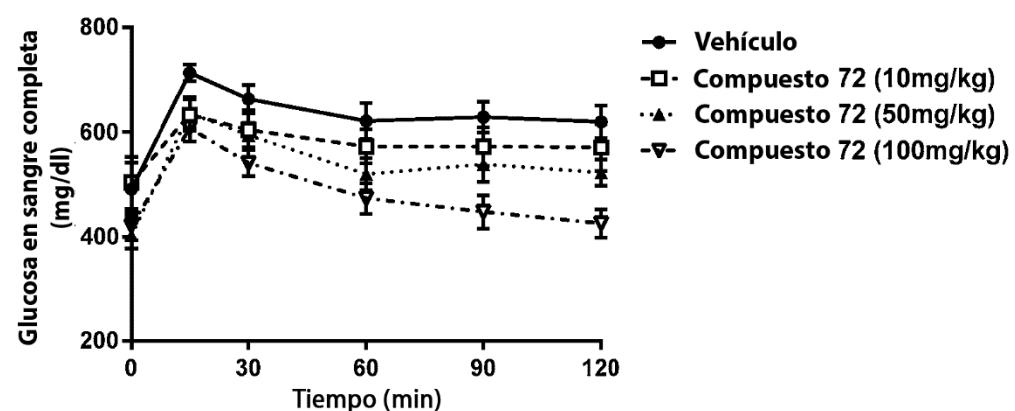


Figura 11

A



B



C

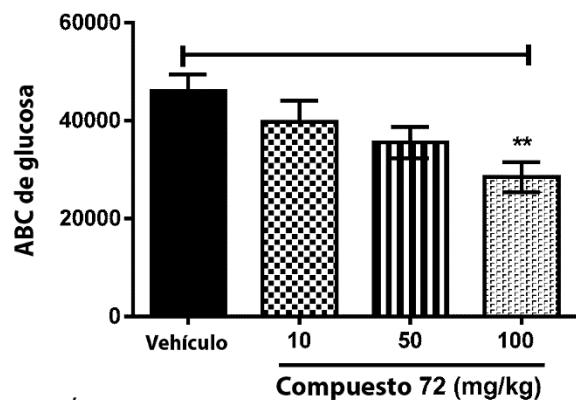
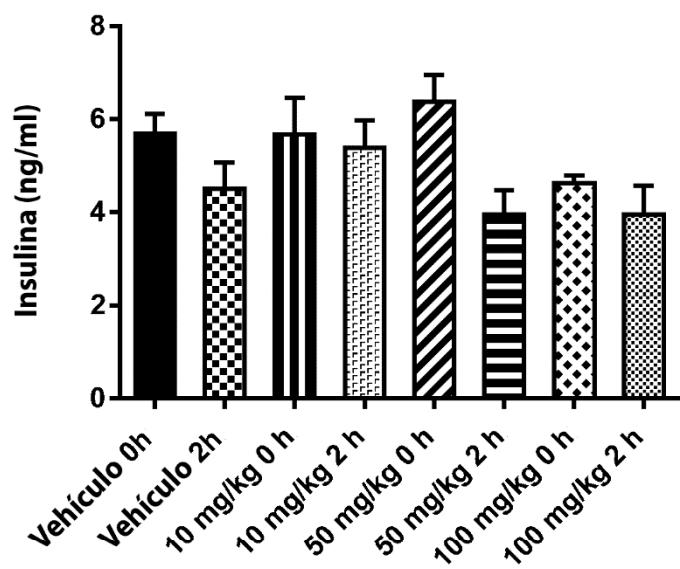


Figura 12
A



B

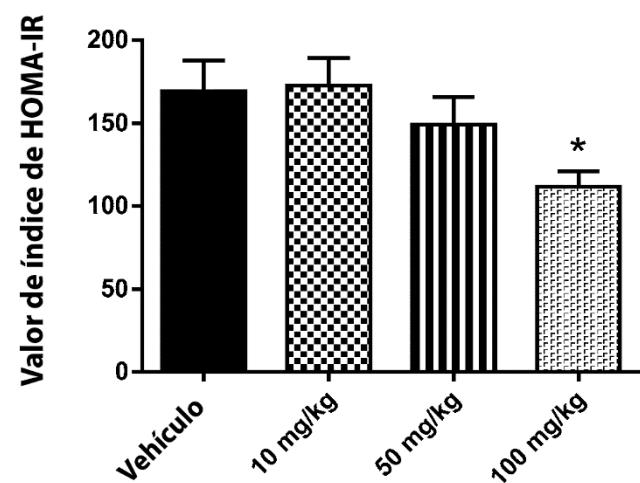


Figura 13

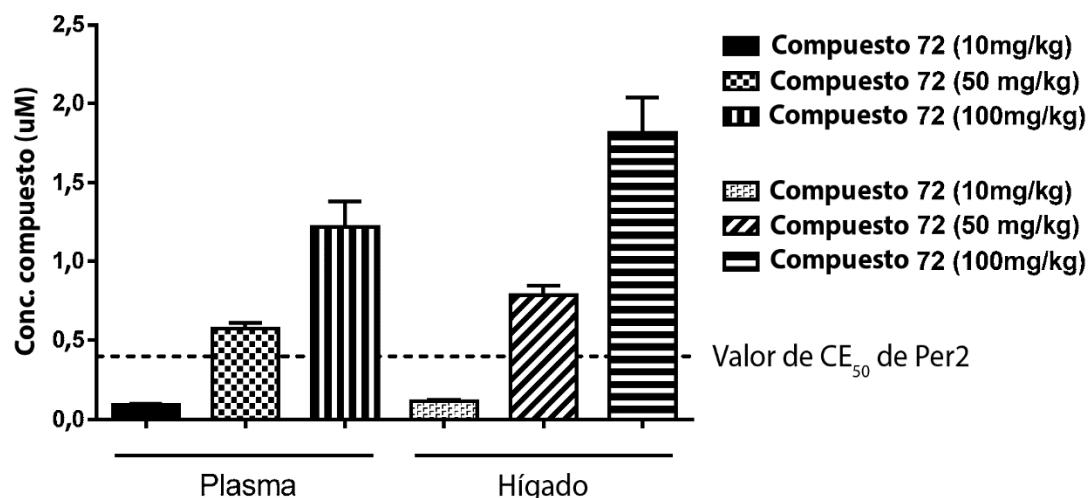
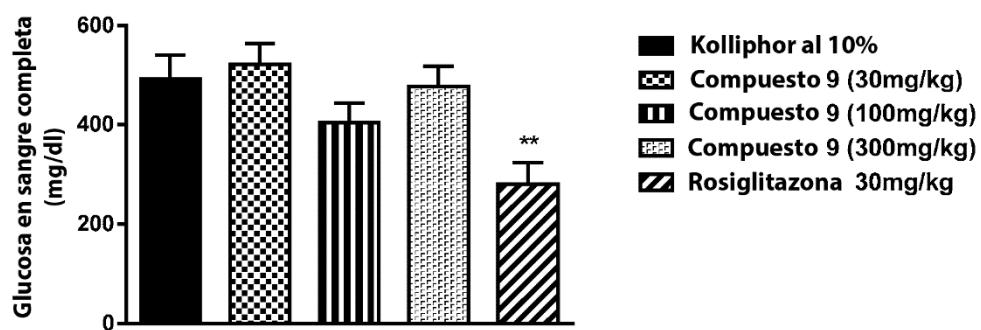
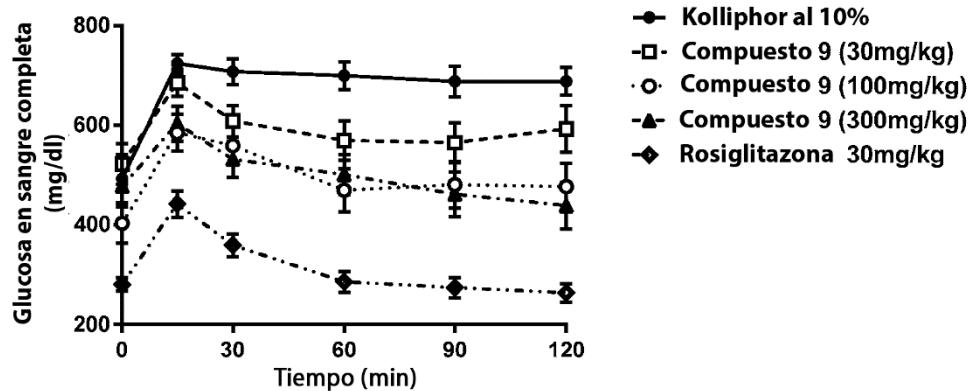


Figura 14

A



B



C

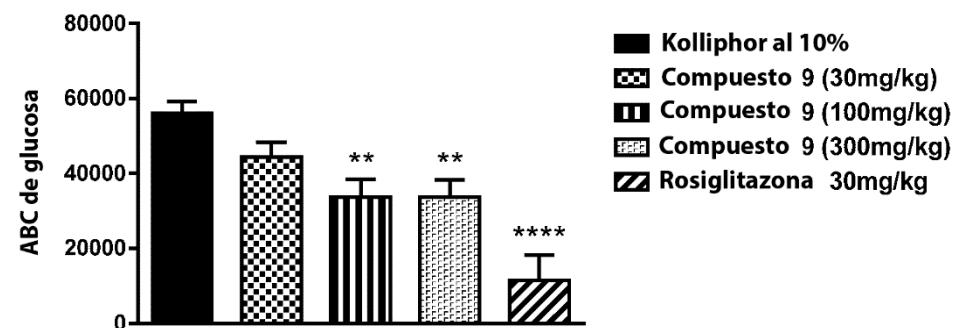
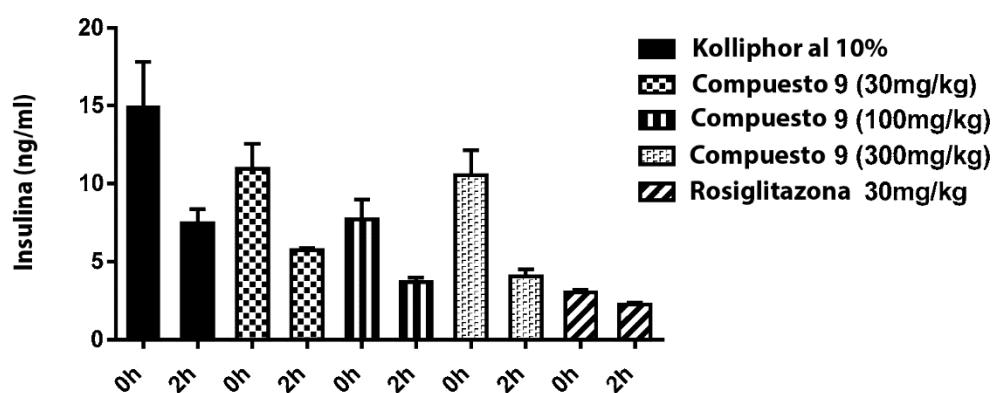


Figura 15

A



B

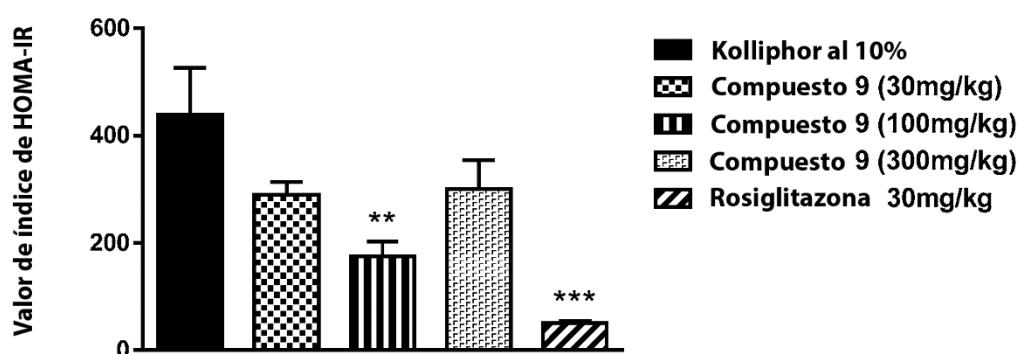


Figura 16

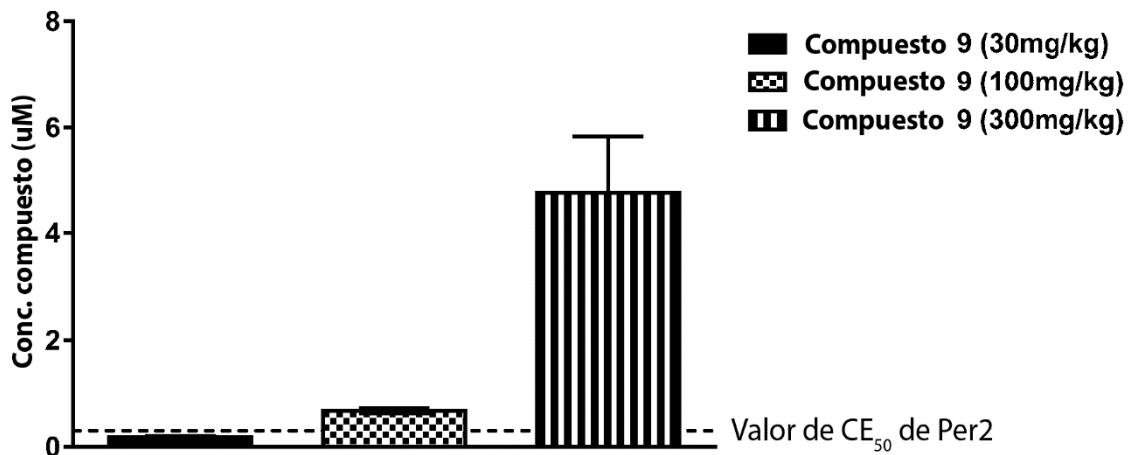
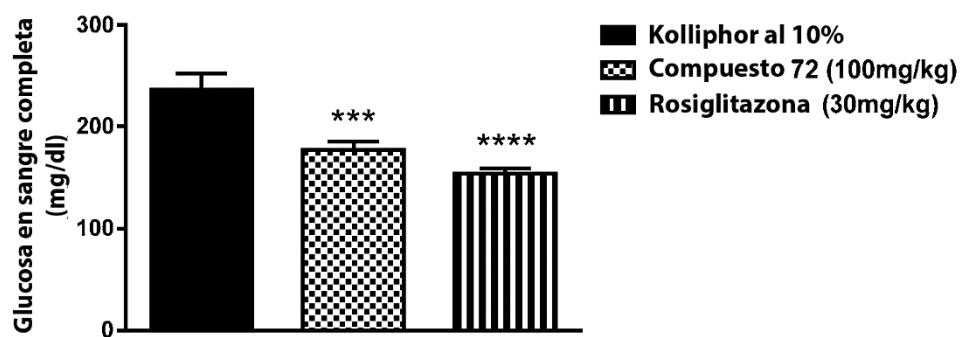
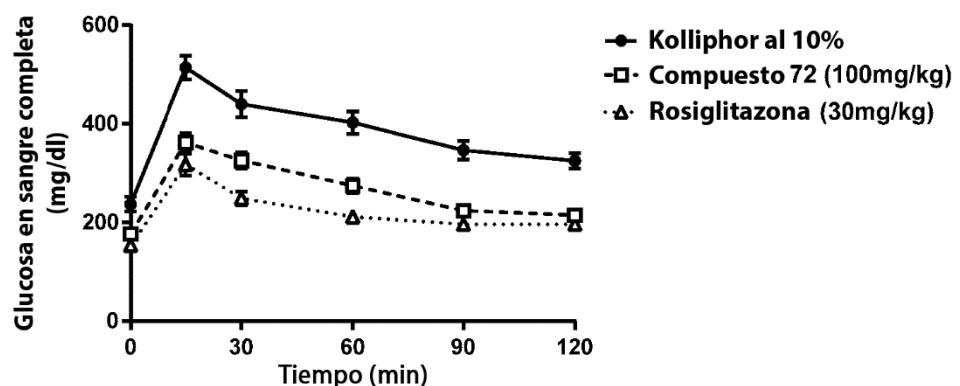


Figura 17

A



B



C

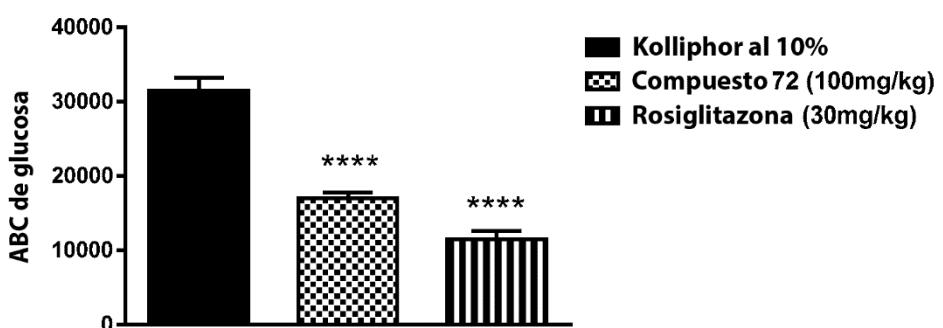
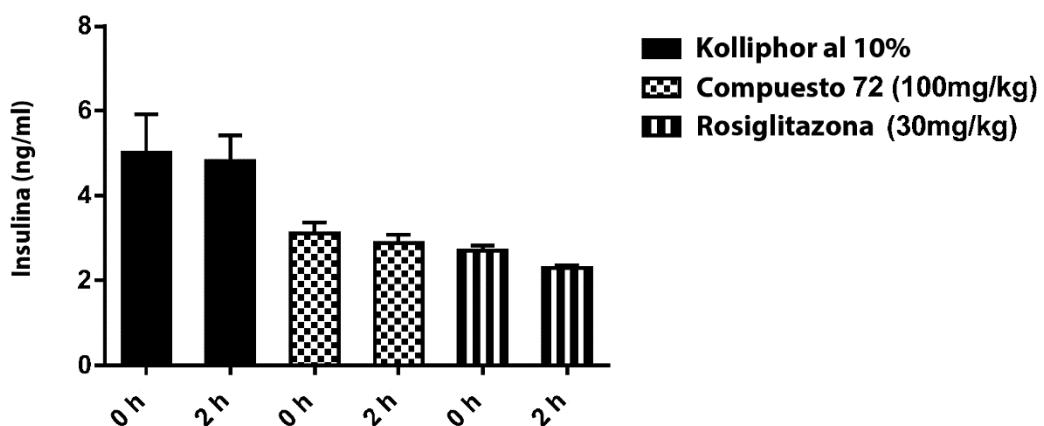


Figura 18

A



B

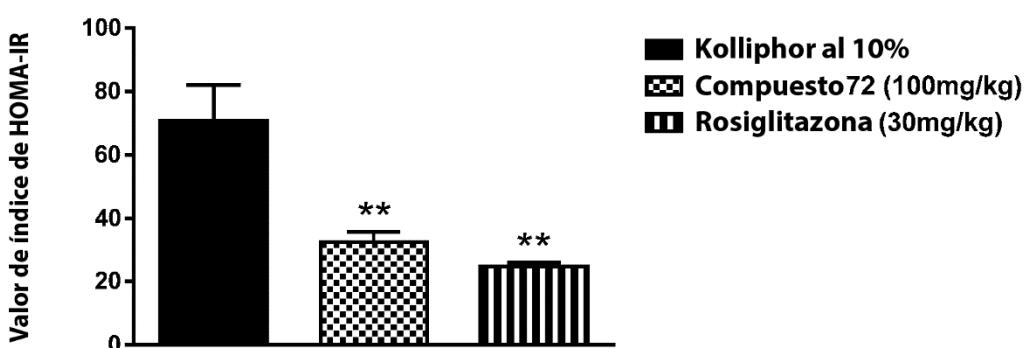


Figura 19

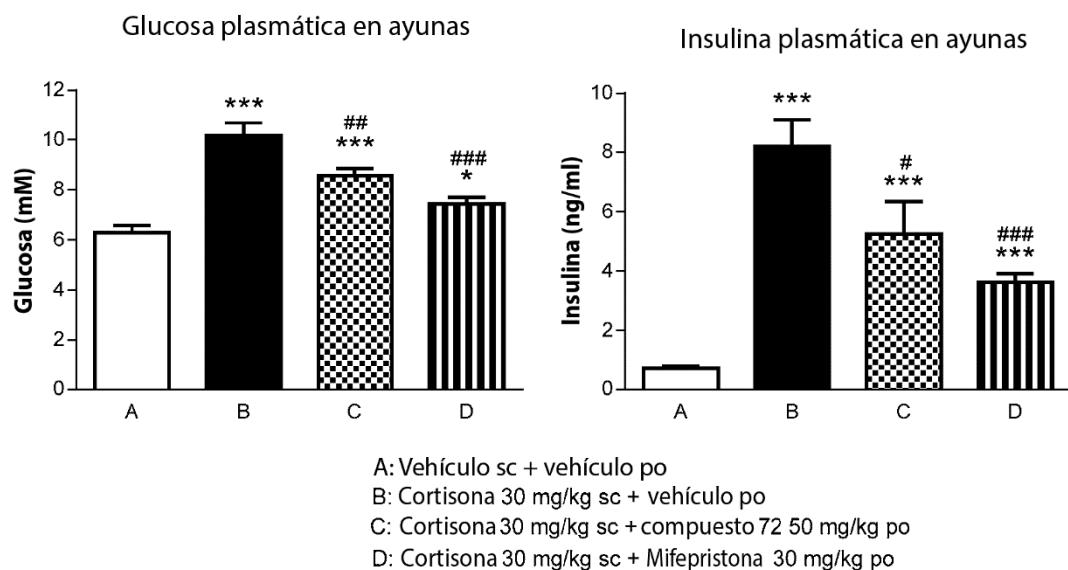


Figura 20

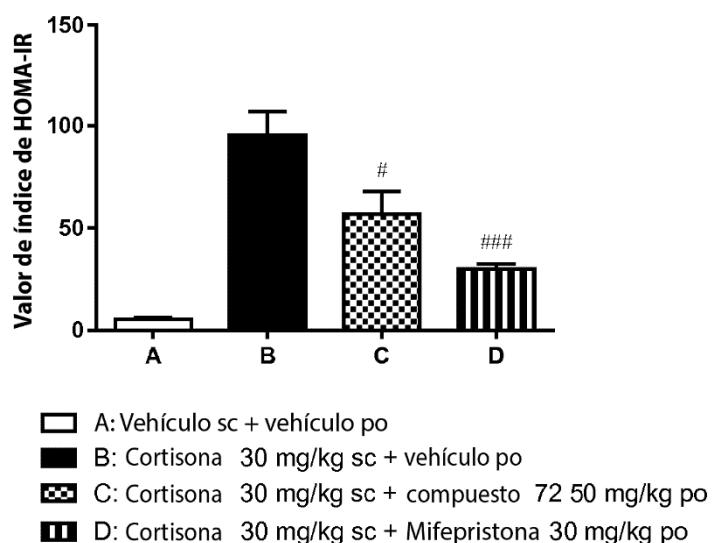


Figura 21

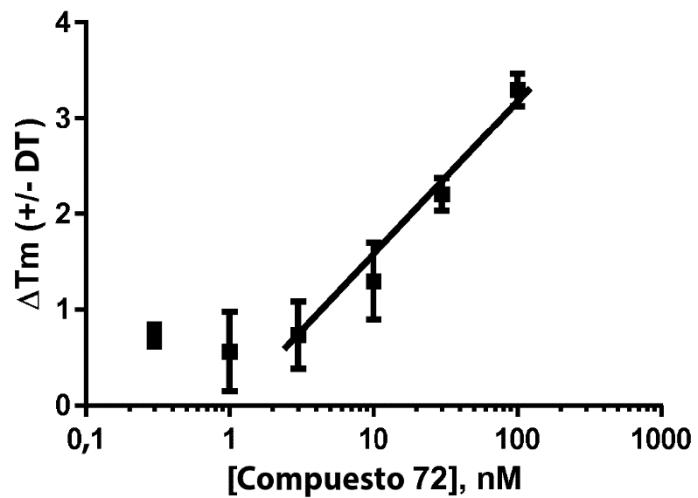
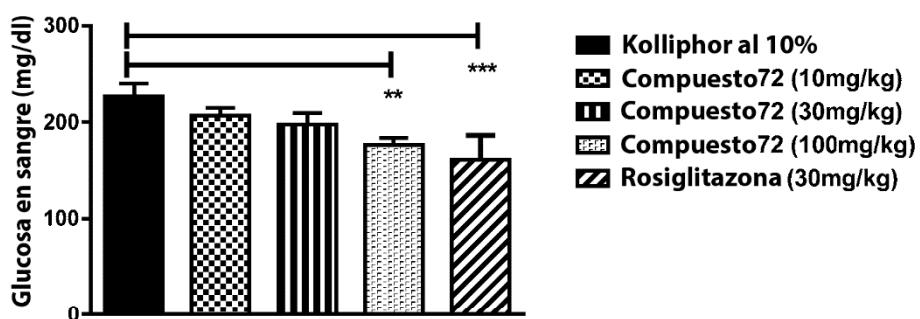
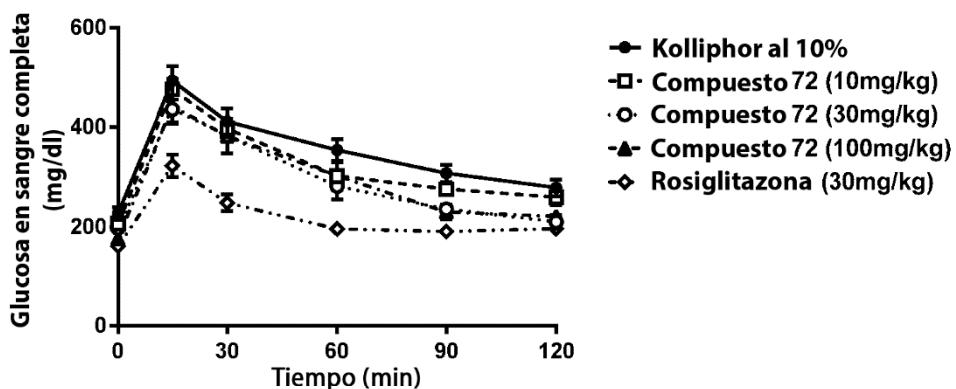


Figura 22

A



B



C

