

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 442 847**

51 Int. Cl.:

C07D 215/22 (2006.01)

C07D 405/04 (2006.01)

C07D 409/04 (2006.01)

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/435 (2006.01)

A61K 31/4375 (2006.01)

A61P 7/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.04.2008 E 08743008 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2013 EP 2142509**

54 Título: **Quinolonas y azaquinolonas que inhiben la prolil hidroxilasa**

30 Prioridad:

18.04.2007 US 925285 P

04.05.2007 US 927748 P

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

13.02.2014

73 Titular/es:

AMGEN, INC (100.0%)

One Amgen Center Drive

Thousand Oaks, California 91320-1799, US

72 Inventor/es:

ALLEN, JENNIFER R.;

BURLI, ROLAND;

BRYAN, MARIAN C.;

CAO, GUO-QIANG;

NEIRA, SUSANA C. y

REED, ANTHONY B.

74 Agente/Representante:

MILTENYI, Peter

ES 2 442 847 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

Quinolonas y azaquinolonas que inhiben la prolil hidroxilasa

Referencias cruzadas a las solicitudes relacionadas

- 5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional estadounidense n.º 60/925.285, presentada el 18 de abril de 2007, y la solicitud provisional estadounidense n.º 60/927.748, presentada el 4 de mayo de 2007, que se incorporan ambas como referencia en su totalidad y para todos los fines como si expusieran completamente en el presente documento.

Campo de la invención

- 10 La presente invención se refiere a compuestos que pueden inhibir prolil hidroxilasas tales como HIF prolil hidroxilasas, compuestos que modulan los niveles de HIF, a compuestos que estabilizan HIF, a composiciones que comprenden los compuestos y a métodos para su uso para controlar los niveles de HIF. Los compuestos y las composiciones pueden usarse para tratar enfermedades o estados modulados por HIF tales como isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer y trastornos inflamatorios.

15 Antecedentes de la invención

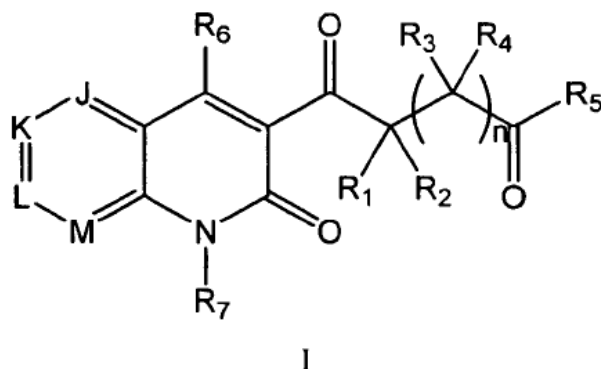
- El factor de transcripción celular HIF (factor inducible por hipoxia) ocupa una posición central en la homeostasis del oxígeno en una amplia gama de organismos y es un regulador clave de las respuestas frente a la hipoxia. Los genes regulados por la actividad transcripcional de HIF, pueden desempeñar papeles críticos en angiogénesis, eritropoyesis, producción de hemoglobina F, metabolismo energético, inflamación, función vasomotora, apoptosis y proliferación celular. HIF también puede desempeñar un papel en cáncer, en el que comúnmente está regulado por incremento, y en las respuestas fisiopatológicas a isquemia e hipoxia.

- 20 El complejo transcripcional de HIF comprende un heterodímero $\alpha\beta$: HIF- β es una proteína nuclear constitutiva que se dimeriza con subunidades HIF- α reguladas por oxígeno. La regulación por oxígeno se produce a través de la hidroxilación de las subunidades HIF- α , que entonces se destruyen rápidamente por el proteosoma. En células oxigenadas, la proteína supresora de tumores von Hippel-Lindau (pVHL) se une a las subunidades HIF- α hidroxiladas, promoviendo de ese modo su proteólisis dependiente de ubiquitina. Este proceso se suprime en condiciones de hipoxia, estabilizando HIF- α y promoviendo la activación transcripcional por el complejo HIF $\alpha\beta$. Véase, por ejemplo, la patente estadounidense 6.787.326.

- 25 La hidroxilación de las subunidades HIF- α puede producirse sobre residuos de prolina y asparagina y puede estar mediada por una familia de enzimas dependientes de 2-oxoglutarato. Esta familia incluye las isozimas HIF prolil hidroxilasa (PHD), que hidroxilan Pro 402 y Pro 564 de HIF1 α humana, así como factor que inhibe HIF (FIH), que hidroxila Asn 803 de HIF1 α humana. La inhibición de FIH o las PHD, conduce a la estabilización y activación transcripcional de HIF. Véase, por ejemplo, Schofield y Ratcliffe, Nature Rev. Mol. Cell Biol., vol. 5, páginas 343-354 (2004).

35 Sumario de la invención

En un aspecto, la invención proporciona al menos un compuesto de fórmula



- 40 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un tautómero del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero; o un solvato del mismo, un quelato del mismo, un complejo no covalente del mismo, un profármaco del mismo o una mezcla de cualquiera de los anteriores, en la que:

J, K, L y M se seleccionan independientemente de CR₈ o N, en la que 0, 1 ó 2 de J, K, L y M son N;

n es 1;

R₁ y R₂ son H;

R₃ y R₄ son H;

R₅ es OH;

5 R₆ es OH;

R₇ se selecciona de H o alquilo inferior;

10 cada R₈ se selecciona independientemente de H, F, Cl, Br, I, alquilo, alquilo sustituido, haloalquilo, perhaloalquilo, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, NR_bR_c, C(O)OR₉, OR₉, SR₉, SO₂R₉, CN, NO₂, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo, heteroarilalquilo sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, heterociclilalquilo, heterociclilalquilo sustituido, alcocarbonilo, alcocarbonilo sustituido o -Y-R₁₀, en el que:

Y se selecciona de -N(R₁₁)-Z- o -Z-N(R₁₁)-;

Z se selecciona de C(O), SO₂, alquilenos, alquilenos sustituidos, alquilenos, alquilenos sustituidos, alquilenos o alquilenos sustituidos;

15 R₉ se selecciona de H, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo o alquinilo sustituido;

R₁₀ se selecciona de H, heterociclilo, heterociclilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo o heteroarilo sustituido;

R₁₁ se selecciona de H, alquilo inferior o alquilo inferior sustituido; y

20 R_b y R_c se seleccionan independientemente de H, alquilo inferior, alquilo inferior sustituido, haloalquilo inferior o haloalquilo inferior sustituido, o R_d y R_e pueden unirse entre sí para formar un anillo de 3 a 6 miembros o un anillo de 3 a 6 miembros sustituido.

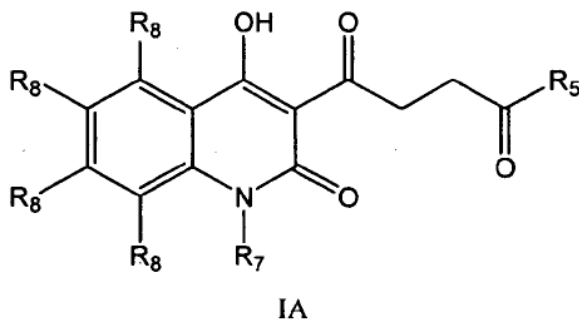
En algunas realizaciones del compuesto de fórmula I, cada uno de J, K, L y M es CR₈. En otras realizaciones, uno de J, K, L y M es N y los otros tres de J, K, L y M son CR₈. En algunas de tales realizaciones, J es N y K, L y M son CR₈. En otras de tales realizaciones, K es N y J, L y M son CR₈. Todavía en otras de tales realizaciones, L es N y J, K y M son CR₈. Todavía en otras de tales realizaciones, M es N y J, K y L son CR₈.

25 En algunas realizaciones del compuesto de fórmula I, al menos un caso de R₈ es un grupo arilo sustituido o no sustituido, un heteroarilo sustituido o no sustituido, un cicloalquilo sustituido o no sustituido o un heterociclilo sustituido o no sustituido. En algunas de tales realizaciones, al menos un caso de R₈ es un grupo heterociclilo. En otras de tales realizaciones, al menos un caso de R₈ es un grupo heteroarilo. En otras de tales realizaciones, al menos un caso de R₈ es un grupo fenilo o fenilo sustituido.

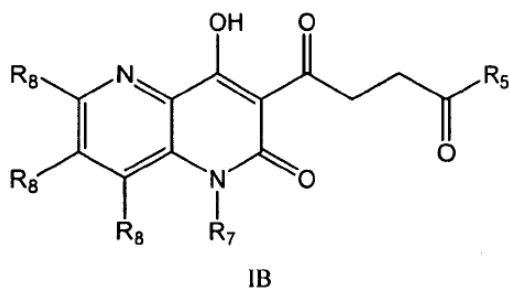
30 En algunas realizaciones del compuesto de fórmula I, al menos un caso de R₈ se selecciona independientemente de halo o un resto sustituido con al menos un halo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, al menos un caso de R₈ es haloalquilo. En algunas realizaciones, al menos un caso de R₈ es un perhaloalquilo. En algunas de tales realizaciones, el perhaloalquilo es un grupo perfluoroalquilo tal como CF₃.

35 En algunas realizaciones del compuesto de fórmula I, R₇ es H. En otras realizaciones, R₇ es un grupo alquilo inferior. En algunas de tales realizaciones, R₇ es un metilo.

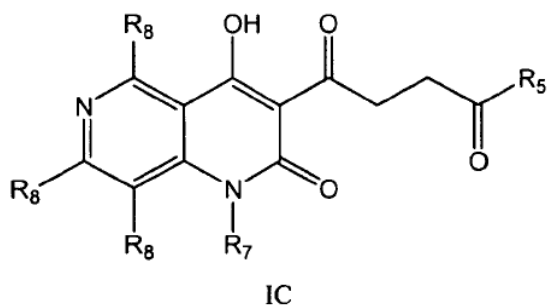
En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I tiene la fórmula IA y las variables R₇ y cada una de R₈ tienen las definiciones proporcionadas en cualquiera de los aspectos y realizaciones descritos anteriormente.



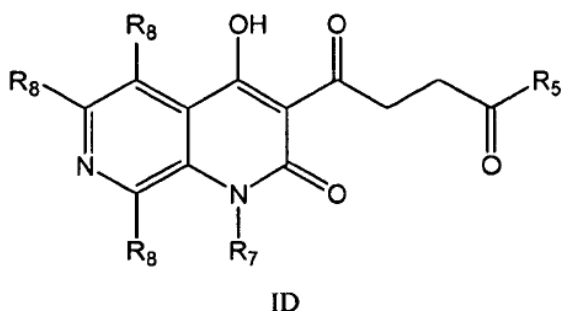
40 En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I tiene la fórmula IB y las variables R₇ y cada R₈ tienen las definiciones proporcionadas en cualquiera de los aspectos y realizaciones descritos anteriormente.



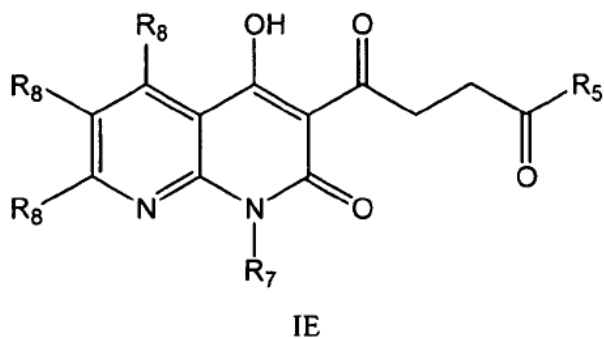
En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I tiene la fórmula IC y las variables R_7 y cada una de R_8 tienen las definiciones proporcionadas en cualquiera de los aspectos y realizaciones descritos anteriormente.



- 5 En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I tiene la fórmula ID y las variables R_7 y cada una de R_8 tienen las definiciones proporcionadas en cualquiera de los aspectos y realizaciones descritos anteriormente.



En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I tiene la fórmula IE y las variables R_7 y cada una de R_8 tienen las definiciones proporcionadas en cualquiera de los aspectos y realizaciones descritos anteriormente.



- 10 En otras realizaciones, el compuesto se selecciona de uno cualquiera o todos de los enumerados a continuación o es una sal del mismo, un tautómero del mismo o una sal del tautómero:

ácido 4-(4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(8-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

- 15 ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(7-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(1-bencil-7,8-difluoro-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(6-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(5-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

5 ácido 4-(5,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico; o

ácido 4-(3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-7-il)benzoico.

Todavía en otras realizaciones, el compuesto se selecciona de uno cualquiera o todos de los enumerados a continuación o es una sal del mismo, un tautómero del mismo o una sal del tautómero:

10 ácido 4-(6-ciclohexil-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(6-(4-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(6-ciclopentil-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidrofuran-2-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

15 ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidrofuran-3-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(6-(2-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(6-(3-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

20 ácido 4-(4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(6-(4-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(6-(3-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

25 ácido 4-(6-(2-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-6-il)benzoico;

ácido 4-(6-(3-carboxipropanoil)-5-hidroxi-8-metil-7-oxo-7,8-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)benzoico;

ácido 6-(3-carboxipropanoil)-5-hidroxi-8-metil-7-oxo-7,8-dihidro-1,8-naftiridin-3-carboxílico;

ácido 3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-6-carboxílico;

30 ácido 4-(6-ciclopropil-7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidrofuran-2-il)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(8-cloro-7-fluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(7,8-dicloro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-7-carboxílico;

35 ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidrofuran-3-il)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-fenil-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 3-(3-carboxipropanoil)-7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-6-carboxílico;

ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-7-(trifluorometil)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(tiofen-2-il)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

5 ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(tiofen-3-il)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tiofen-2-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tiofen-3-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(6-ciclopropil-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(1-bencil-7-bromo-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

10 ácido 4-(1-bencil-4-hidroxi-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(1-bencil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(1-bencil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(trifluorometil)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(7-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

15 ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(tiofen-2-il)-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(tiofen-3-il)-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,7-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidro-1,7-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

20 ácido 3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,7-naftiridin-6-carboxílico; o

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico.

En algunas realizaciones, el compuesto es una sal. Tales sales pueden ser anhídras o estar asociadas con agua como un hidrato.

25 En algunas de tales realizaciones, el compuesto es un éster alquílico (C₁-C₆) tal como un éster metílico, etílico, propílico, butílico, pentílico o hexílico.

En algunas realizaciones, el compuesto es un compuesto en el que el valor de Cl₅₀ de CPHI dividido entre el valor de Cl₅₀ de PHD2 es mayor de 5, mayor de 8, mayor de 10, mayor de 15, mayor de 20 o es incluso superior. En algunas de tales realizaciones, el valor de Cl₅₀ de CPHI dividido entre el valor de Cl₅₀ de PHD2 es mayor de 10.

30 En el presente documento también se proporcionan composiciones farmacéuticas que incluyen al menos un portador farmacéuticamente aceptable, y una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento. En tales realizaciones, el al menos un compuesto está presente en una cantidad eficaz para el tratamiento de al menos una enfermedad seleccionada de isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer o un trastorno inflamatorio.

35 En algunas realizaciones, la invención proporciona una composición farmacéutica que incluye un compuesto de cualquiera de las realizaciones en una cantidad eficaz para aumentar la cantidad de eritropoyetina en la sangre de un sujeto.

40 Además se proporcionan composiciones farmacéuticas que incluyen al menos un portador farmacéuticamente aceptable, y una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en combinación con al menos un compuesto adicional tal como un agente estimulador de la eritropoyesis o un agente quimioterápico.

Se proporciona adicionalmente un método de aumento o estabilización de los niveles o la actividad de HIF en un sujeto administrando al sujeto al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

- Se proporciona además un método de tratamiento de un estado en el que se desea modular la actividad de HIF que comprende administrar a un sujeto al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento. En algunas de tales realizaciones, el estado se selecciona de al menos uno de isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer o un trastorno inflamatorio.
- También se proporciona un método de tratamiento de un trastorno relacionado con hipoxia o isquemia en un sujeto que comprende administrar a un sujeto al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.
- También se proporciona un método de tratamiento de anemia en un sujeto que comprende administrar a un sujeto al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.
- También se proporciona un método para aumentar la cantidad de eritropoyetina en la sangre o el plasma de un sujeto. Tales métodos incluyen administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de una cualquiera de las realizaciones al sujeto. Por tanto, en algunas realizaciones, se usa un compuesto de una cualquiera de las realizaciones en un método para aumentar el nivel de eritropoyetina en la sangre de un sujeto.
- Se proporciona además un método de modulación de la cantidad de HIF en una célula que comprende poner en contacto la célula con al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.
- Se proporciona adicionalmente un método de aumento de la cantidad de hemoglobina F en un sujeto que comprende administrar al sujeto al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.
- También se proporciona un método de modulación de la angiogénesis en un sujeto que comprende administrar al sujeto al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.
- Se proporciona adicionalmente un método de tratamiento de al menos una enfermedad en un paciente que necesita tal tratamiento que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento. En algunas de tales realizaciones, la enfermedad se selecciona de isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer o un trastorno inflamatorio.
- También se proporciona un método de inhibición de la hidroxilación de HIF en un sujeto que comprende administrar al sujeto al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.
- En algunas realizaciones, el valor de CI_{50} de la actividad inhibidora de HIF PHD del compuesto es de 40 μM o menos. En otras realizaciones, el valor de CI_{50} de la actividad inhibidora de HIF PHD del compuesto es de 10 μM o menos.
- En algunas realizaciones, se usa el compuesto de cualquiera de las realizaciones en la preparación de un medicamento.
- En algunas de tales realizaciones, se usa el compuesto de cualquiera de las realizaciones en la preparación de un medicamento para aumentar o estabilizar los niveles o la actividad de HIF en un sujeto.
- En algunas de tales realizaciones, se usa el compuesto de cualquiera de las realizaciones en la preparación de un medicamento para tratar un estado en el que se desea modular la actividad de HIF. En algunas de tales realizaciones, el estado se selecciona de al menos uno de isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer o un trastorno inflamatorio.
- En algunas realizaciones, se usa el compuesto de cualquiera de las realizaciones en la preparación de un medicamento para tratar un trastorno relacionado con hipoxia o isquemia en un sujeto.
- En algunas realizaciones, se usa el compuesto de cualquiera de las realizaciones en la preparación de un medicamento para modular la cantidad de HIF en una célula. En algunas realizaciones, se usa el compuesto según cualquiera de las realizaciones para modular la cantidad de HIF en una célula.
- En algunas realizaciones, se usa el compuesto de cualquiera de las realizaciones en la preparación de un medicamento para modular la angiogénesis en un sujeto.
- En algunas realizaciones, se usa el compuesto de cualquiera de las realizaciones en la preparación de un medicamento para inhibir la hidroxilación de HIF en un sujeto.
- En algunas realizaciones, se usa el compuesto de cualquiera de las realizaciones en la preparación de un medicamento para tratar anemia.

Otros objetos, características y ventajas de la invención resultarán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la siguiente descripción y reivindicaciones.

Breve descripción de los dibujos

- 5 La figura 1 es un gráfico que ilustra la razón de señal de fluorescencia con respecto a fondo generada por la interacción de Eu-VCB con estreptavidina-APC-péptido de hidroxiprolil HIF1 α .
- Las figuras 2A y 2B son gráficos que ilustran la razón de señal de TR-FRET generada por la interacción de Eu-VCB con estreptavidina-APC-péptido de hidroxiprolil HIF1 α con respecto a la señal de fondo generada por la interacción de Eu-VCB con estreptavidina-APC-péptido de HIF1 α (no hidroxilado). La figura 2A ilustra un intervalo de péptido 0-125 nM y la figura 2B ilustra un intervalo de péptido 0-10 nM.
- 10 Las figuras 3A y 3B son gráficos que ilustran la unión a VCB y la detección mediante TR-FRET para determinar la hidroxilación por HIF PHD2 de un péptido de HIF1 α . La figura 3A ilustra un transcurso de tiempo para la hidroxilación del péptido de HIF1 α con cantidades crecientes de enzima HIF PHD2. La figura 3B ilustra las tasas iniciales con concentraciones enzimáticas crecientes.
- 15 La figura 4 es un gráfico que ilustra los niveles de eritropoyetina (Epo) en el plasma como función del tiempo tras la administración de vehículo (línea inferior), y 50 mg/kg v.o. de cada uno del ejemplo 4, ejemplo 7 y ejemplo 8.

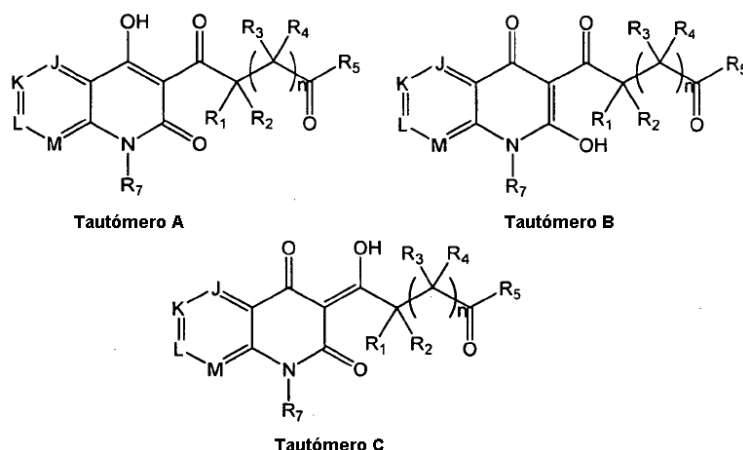
Descripción detallada de la invención

- 20 A menos que se indique lo contrario, todos los números que expresan cantidades de componentes, condiciones de reacción y así sucesivamente usados en la memoria descriptiva y las reivindicaciones debe entenderse que están modificados en todos los casos por el término "aproximadamente". Por consiguiente, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos expuestos en la siguiente memoria descriptiva y reivindicaciones adjuntas son aproximaciones que pueden variar dependiendo de la desviación estándar encontrada en sus respectivas mediciones de prueba.

- 25 Tal como se usa en el presente documento, si cualquier variable aparece más de una vez en una fórmula química, su definición en cada aparición es independiente de su definición en cada otra aparición. Si la estructura química y el nombre químico discrepan, la estructura química es determinante de la identidad del compuesto. Los compuestos de la presente descripción pueden contener uno o más centros quirales y/o dobles enlaces y, por tanto, pueden existir como estereoisómeros, tales como isómeros de doble enlace (es decir, isómeros geométricos), enantiómeros o diastereómeros. Por consiguiente, cualquier estructura química dentro del alcance de la memoria descriptiva representada, en su totalidad o en parte, con una configuración relativa abarca todos los posibles enantiómeros y
- 30 estereoisómeros de los compuestos ilustrados incluyendo la forma estereoisoméricamente pura (por ejemplo, geométricamente pura, enantioméricamente pura o diastereoméricamente pura) y mezclas enantioméricas y estereoisoméricas. Las mezclas enantioméricas y estereoisoméricas pueden resolverse en los enantiómeros o estereoisómeros componentes usando técnicas de separación o técnicas de síntesis quiral bien conocidas por el experto en la técnica.

- 35 Los compuestos de fórmula 1 incluyen, pero no se limitan a, isómeros ópticos de compuestos de fórmula I, racematos y otras mezclas de los mismos. En esas situaciones, pueden obtenerse los enantiómeros o diastereómeros individuales, es decir, formas ópticamente activas, mediante síntesis asimétrica o mediante resolución de los racematos. La resolución de los racematos puede lograrse, por ejemplo, mediante métodos convencionales tales como cristalización en presencia de un agente de resolución, o cromatografía, usando, por
- 40 ejemplo una columna de cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC) quiral. Además, los compuestos de fórmula I incluyen formas Z y E (o formas cis y trans) de compuestos con dobles enlaces.

Los compuestos de la invención pueden existir en múltiples formas tautoméricas. Estas formas se ilustran a continuación como "tautómero A", "tautómero B" y "tautómero C":



Los compuestos de la invención se representan estructuralmente y se nombran como compuestos en forma de “tautómero A”. Sin embargo, se contempla específicamente que los compuestos puedan existir también en forma de “tautómero B” y “tautómero C” y compuestos en forma de “tautómero B” o forma de “tautómero C” u otra forma tautomérica se considera expresamente que son parte de la invención.

Los compuestos de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, compuestos de fórmula I y todas las formas farmacéuticamente aceptables de los mismos. Las formas farmacéuticamente aceptables de los compuestos mencionados en el presente documento incluyen sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, formas cristalinas (incluyendo polimorfos y clatratos), quelatos, complejos no covalentes, y mezclas de los mismos. En determinadas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento están en forma de sales farmacéuticamente aceptables. Tal como se usa en el presente documento, el término “compuesto” abarca no sólo el propio compuesto, sino también una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un solvato del mismo, un quelato del mismo, un complejo no covalente del mismo, un profármaco del mismo, y mezclas de cualquiera de los anteriores.

Profármacos son, por ejemplo, derivados de éster o amida de los compuestos de fórmula I. El término “profármacos” incluye cualquier compuesto que se convierta en compuesto de fórmula I cuando se administra a un paciente, por ejemplo, tras procesamiento metabólico del profármaco. Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, acetato, formiato, benzoato, carbometoxilo, carboetoxilo y derivados similares de grupos funcionales (tales como grupos alcohol, ácido carboxílico, éter, éster o amina) en los compuestos de fórmula I. En algunas realizaciones, los profármacos de los compuestos de fórmula I son ésteres tales como ésteres metílico, etílico, propílico, butílico, pentílico y hexílico.

El término “solvato” se refiere al compuesto formado por la interacción de un disolvente y un compuesto. Solvatos adecuados son solvatos farmacéuticamente aceptables, tales como hidratos, incluyendo monohidratos y hemihidratos.

“Alquilo” se refiere a un grupo hidrocarbonado monovalente saturado, ramificado, de cadena lineal o cíclico derivado por la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono individual de un alcano original. Los grupos alquilo típicos incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilos tales como propan-1-ilo, propan-2-ilo y ciclopropan-1-ilo, butilos tales como butan-1-ilo, butan-2-ilo, 2-metil-propan-1-ilo, 2-metil-propan-2-ilo, ciclobutan-1-ilo, terc-butilo, y similares. En determinadas realizaciones, un grupo alquilo comprende desde 1 hasta 20 átomos de carbono. Tal como se usa en el presente documento, el término “alquilo inferior” se refiere a un grupo alquilo que comprende desde 1 hasta 6 átomos de carbono.

“Alquenilo” se refiere a un grupo hidrocarbonado insaturado ramificado, de cadena lineal o cíclico que tiene al menos un doble enlace carbono-carbono derivado por la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono individual de un alqueno original. El grupo puede estar en la forma o bien Z o bien E (cis o trans) alrededor del/de los doble(s) enlace(s). Los grupos alquenilo típicos incluyen, pero no se limitan a, etenilo; propenilos tales como prop-1-en-1-ilo, prop-1-en-2-ilo, prop-2-en-1-ilo (alilo), prop-2-en-2-ilo, cicloprop-1-en-1-ilo; cicloprop-2-en-1-ilo; butenilos tales como but-1-en-1-ilo, but-1-en-2-ilo, 2-metil-prop-1-en-1-ilo, but-2-en-1-ilo, but-2-en-1-ilo, but-2-en-2-ilo, buta-1,3-dien-1-ilo, buta-1,3-dien-2-ilo, ciclobut-1-en-1-ilo, ciclobut-1-en-3-ilo, ciclobuta-1,3-dien-1-ilo; y similares. En determinadas realizaciones, un grupo alquenilo tiene desde 2 hasta 20 átomos de carbono y, en otras realizaciones, desde 2 hasta 6 átomos de carbono, es decir, “alquenilo inferior”.

“Alquinilo” se refiere a un hidrocarburo insaturado ramificado o de cadena lineal que tiene al menos un triple enlace carbono-carbono derivado por la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono individual de un alquino original. Los grupos alquinilo típicos incluyen, pero no se limitan a, etinilo; propinilo; butinilo, 2-pentinilo, 3-pentinilo, 2-hexinilo, 3-hexinilo y similares. En determinadas realizaciones, un grupo alquinilo tiene desde 2 hasta 20 átomos de carbono y, en otras realizaciones, desde 2 hasta 6 átomos de carbono, es decir, “alquinilo inferior”.

- “Alcoxilo” se refiere a un radical -OR en el que R representa un grupo alquilo tal como se define en el presente documento. Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metoxilo, etoxilo, propoxilo, butoxilo, ciclohexiloxilo y similares. Los grupos alcoxilo típicos incluyen desde 1 hasta 10 átomos de carbono, desde 1 hasta 6 átomos de carbono o desde 1 hasta 4 átomos de carbono en el grupo R. Los grupos alcoxilo inferiores incluyen grupos alquilo (C_{1-6}) y, en algunas realizaciones, pueden incluir grupos alquilo (C_{1-4}).
- “Alcoxicarbonilo” se refiere a un radical -C(O)-OR en el que R es tal como se definió anteriormente con respecto a “alcoxilo”.
- “Alquileno” se refiere a un grupo hidrocarbonado saturado divalente derivado de un alcano original por la eliminación de dos átomos de hidrógeno. Los ejemplos de grupo alquileno incluyen, pero no se limitan a, $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH(CH_3)-$, $-CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2C(CH_3)(H)-$, y similares.
- “Alquenileno” se refiere a un grupo hidrocarbonado insaturado divalente que tiene al menos un doble enlace carbono-carbono derivado por la eliminación de dos átomos de hidrógeno de un alqueno original. El grupo puede estar en la forma o bien Z o bien E (cis o trans) alrededor del/de los doble(s) enlace(s). Los ejemplos de grupos alquenileno incluyen, pero no se limitan a, $-CH=CH-$, $-CH=C(H)CH_2-$, $-CH_2C(H)=C(H)CH_2-$, y similares.
- “Alquinileno” se refiere a un grupo hidrocarbonado insaturado divalente que tiene al menos un triple enlace carbono-carbono derivado por la eliminación de dos átomos de hidrógeno de un alquino original. Los ejemplos de grupos alquinileno incluyen, pero no se limitan a, $-C\equiv C-$, $-CH_2C\equiv C-$, $-CH_2C\equiv CCH_2-$.
- “Arilo” se refiere a un grupo hidrocarbonado aromático monovalente derivado por la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono individual de un sistema de anillos aromáticos original. Arilo abarca anillos aromáticos carbocíclicos de 5 y 6 miembros, por ejemplo, benceno; sistemas de anillos bicíclicos en los que al menos un anillo es carbocíclico y aromático, por ejemplo, naftaleno, indano y tetralina; y sistemas de anillos tricíclicos en los que al menos un anillo es carbocíclico y aromático, por ejemplo, fluoreno. Por ejemplo, arilo incluye anillos aromáticos carbocíclicos de 5 y 6 miembros condensados con un anillo heterocíclico de 5 a 7 miembros que contiene 1 o más heteroátomos elegidos de N, O y S. En determinadas realizaciones, un grupo arilo puede comprender desde 6 hasta 10 átomos de carbono. Sin embargo, arilo no abarca ni se solapa de ningún modo con heteroarilo, definido por separado a continuación. Por tanto, si uno o más anillos aromáticos carbocíclicos se condensan con un anillo aromático heterocíclico, el sistema de anillos resultante es heteroarilo, no arilo, tal como se define en el presente documento.
- “Aralalquilo” o “aralquilo” se refiere a un grupo alquilo acíclico en el que uno de los átomos de hidrógeno unidos a un átomo de carbono, normalmente, pero no necesariamente, un átomo de carbono terminal, se reemplaza por un grupo arilo. Los grupos arilalquilo típicos incluyen, pero no se limitan a, bencilo, 2-feniletan-1-ilo, naftilmetilo, 2-naftiletan-1-ilo, naftobencilo, 2-naftofeniletan-1-ilo y similares. En determinadas realizaciones, un grupo arilalquilo puede ser arilalquilo (C_{6-30}), por ejemplo, el grupo alquilo del grupo arilalquilo puede ser (C_{1-10}) y el resto arilo puede ser (C_{5-20}).
- “Aralalquenilo” se refiere a un grupo alquenilo en el que un enlace a uno de los átomos de hidrógeno del grupo alquenilo se reemplaza por un enlace a un grupo arilo.
- “Aralalquinilo” se refiere a un grupo alquinilo en el que un enlace a uno de los átomos de hidrógeno del grupo alquinilo se reemplaza por un enlace a un grupo arilo.
- “Carbonilo” se refiere al radical grupo -C(O).
- “Carboxilo” se refiere al radical -C(O)OH.
- “Ciano” se refiere al radical -CN.
- “Cicloalquilo” se refiere a un grupo alquilo cíclico saturado o insaturado. Cuando se pretende un nivel de saturación específico, se usa la nomenclatura “cicloalcanilo” o “cicloalquenilo”. Los grupos cicloalquilo típicos incluyen, pero no se limitan a, grupos derivados de ciclopropano, ciclobutano, ciclopentano, ciclohexano y similares. En determinadas realizaciones, el grupo cicloalquilo puede ser cicloalquilo C_{3-10} , tal como, por ejemplo, cicloalquilo C_{3-6} .
- “Heterocíclico”, “heterociclo” o “heterocicilo” se refieren a un grupo hidrocarbonado cíclico saturado o insaturado, pero no aromático en el que uno o más átomos de carbono (y cualquier átomo de hidrógeno asociado) se reemplazan independientemente por el mismo o diferente heteroátomo y sus átomos de hidrógeno asociados, cuando sea apropiado. Los heteroátomos típicos para reemplazar el/los átomo(s) de carbono incluyen, pero no se limitan a, N, O y S. Los grupos heterocicilo típicos incluyen, pero no se limitan a, grupos derivados de epóxidos, imidazolidina, morfolina, piperazina, piperidina, pirazolidina, pirrolidina, quinuclidina, tetrahidrofurano, tetrahidropirano y similares. Heterocicilo sustituido también incluye sistemas de anillos sustituidos con uno o más sustituyentes de oxo (=O) u óxido (-O⁻), tales como N-óxido de piperidinilo, N-óxido de morfolinilo, 1-oxo-1-tiomorfolinilo y 1,1-dioxo-1-tiomorfolinilo.

“Heterociclicualquilo” se refiere a un grupo alquilo en el que uno de los átomos de hidrógeno del alquilo se reemplaza por un enlace a un grupo heterocíclico. Los ejemplos de grupos heterociclicualquilo incluyen, pero no se limitan a, morfolinilmetilo, morfoliniletilo, tetrahidrofuranilmetilo, piperidinilmetilo y similares.

“Enfermedad” se refiere a cualquier enfermedad, trastorno, estado, síntoma o indicación.

5 “Halo” o “halógeno” se refiere a un grupo flúor, cloro, bromo o yodo.

“Haloalquilo” se refiere a un grupo alquilo en el que al menos un hidrógeno se reemplaza por un halógeno. Por tanto, el término “haloalquilo” incluye monohaloalquilo (alquilo sustituido con un átomo de halógeno) y polihaloalquilo (alquilo sustituido con dos o más átomos de halógeno). El término “perhaloalquilo” significa, a menos que se establezca lo contrario, un grupo alquilo en el que cada uno de los átomos de hidrógeno se reemplaza por un átomo de halógeno. Por ejemplo, el término “perhaloalquilo”, incluye, pero no se limita a, trifluorometilo, pentacloroetilo, 1,1,1-trifluoro-2-bromo-2-cloroetilo, y similares.

“Heteroarilo” se refiere a un grupo heteroaromático monovalente derivado por la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo individual de un sistema de anillos heteroaromáticos original. Heteroarilo abarca anillos aromáticos, monocíclicos de 5 a 7 miembros que contienen uno o más, por ejemplo, desde 1 hasta 4, o en determinadas realizaciones, desde 1 hasta 3, heteroátomos elegidos de N, O y S, siendo los átomos de anillo restantes carbono; y sistemas de anillos policíclicos que contienen uno o más, por ejemplo, desde 1 hasta 4, o en determinadas realizaciones, desde 1 hasta 3, heteroátomos elegidos de N, O y S, siendo los átomos de anillo restantes carbono y en los que al menos un heteroátomo está presente en un anillo aromático. Por ejemplo, heteroarilo incluye un anillo heteroaromático de 5 a 7 miembros condensado con un anillo de cicloalquilo de 5 a 7 miembros o un anillo aromático carbocíclico y un anillo heteroaromático de 5 a 7 miembros condensado con un anillo heterocíclico de 5 a 7 miembros. Para sistemas de anillos de heteroarilo bicíclicos, condensados en los que sólo uno de los anillos contiene uno o más heteroátomos, el punto de unión puede estar en el anillo heteroaromático o el anillo carbocíclico. Cuando el número total de átomos de S y O en el grupo heteroarilo supera 1, esos heteroátomos no están adyacentes entre sí. En determinadas realizaciones, el número total de átomos de S y O en el grupo heteroarilo no es mayor de 2. En determinadas realizaciones, el número total de átomos de S y O en el heterociclo aromático no es mayor de 1. Heteroarilo no abarca ni se solapa con arilo tal como se definió anteriormente. Los grupos heteroarilo típicos incluyen, pero no se limitan a, grupos derivados de acridina, arsindol, carbazol, β -carbolina, cromano, cromeno, cinolina, furano, imidazol, indazol, indol, indolina, indolizina, isobenzofurano, isocromeno, isoindol, isoindolina, isoquinolina, isotiazol, isoxazol, naftiridina, oxadiazol, oxazol, perimidina, fenantridina, fenantrolina, fenazina, ftalazina, pteridina, purina, pirano, pirazina, pirazol, piridazina, piridina, pirimidina, pirrol, pirrolizina, quinazolina, quinolina, quinolizina, quinoxalina, tetrazol, tiadiazol, tiazol, tiofeno, triazol, xanteno y similares. En determinadas realizaciones, el grupo heteroarilo puede ser heteroarilo de entre 5 y 20 miembros, tal como, por ejemplo, un heteroarilo de 5 a 10 miembros. En determinadas realizaciones, grupos heteroarilo pueden ser los derivados de tiofeno, pirrol, benzotiofeno, benzofurano, indol, piridina, quinolina, imidazol, oxazol y pirazina.

“Heteroarilalquilo” o “heteroaralquilo” se refiere a un grupo alquilo acíclico en el que uno de los átomos de hidrógeno unidos a un átomo de carbono, normalmente un átomo de carbono terminal o sp^3 , se reemplaza por un grupo heteroarilo. Cuando se pretenden restos alquilo específicos, se usa la nomenclatura heteroarilalcanilo, heteroarilalquenilo y/o heteroarilalquinilo. En determinadas realizaciones, el grupo heteroarilalquilo puede ser un heteroalquilo de 6 a 30 miembros, por ejemplo, el resto alquilo del heteroarilalquilo puede incluir de 1 a 10 miembros y el resto heteroarilo del heteroarilalquilo puede incluir de desde 5 hasta 20 miembros.

“Sulfonilo” se refiere a un radical $-S(O)_2R$ en el que R es un grupo alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo sustituido, heterocíclico sustituido, arilo sustituido o heteroarilo sustituido tal como se define en el presente documento. Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metilsulfonilo, etilsulfonilo, propilsulfonilo, butilsulfonilo y similares.

“Sulfanilo” se refiere a un radical $-SR$ en el que R es un grupo alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo sustituido, heterocíclico sustituido, arilo sustituido o heteroarilo sustituido tal como se define en el presente documento que puede estar opcionalmente sustituido tal como se define en el presente documento. Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metiltio, etiltio, propiltio, butiltio y similares.

50 “Farmacéuticamente aceptable” se refiere a generalmente reconocido para su uso en animales, y más particularmente en seres humanos.

“Sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a una sal de un compuesto que es farmacéuticamente aceptable y que presenta la actividad farmacológica deseada del compuesto original. Tales sales incluyen: (1) sales de adición de ácido, formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares; o formadas con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico y similares; o (2) sales formadas

cuando un protón ácido presente en el compuesto original o bien se reemplaza por un ión metálico, por ejemplo, un ión de metal alcalino, un ión alcalinotérreo o un ión de aluminio; o bien se coordina con una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, N-metilglucamina, dicitclohexilamina y similares.

5 “Excipiente farmacéuticamente aceptable”, “portador farmacéuticamente aceptable” o “adyuvante farmacéuticamente aceptable” se refieren, respectivamente, a un excipiente, portador o adyuvante con el que se administra al menos un compuesto de la presente descripción. “Vehículo farmacéuticamente aceptable” se refiere a cualquiera de un diluyente, adyuvante, excipiente o portador con el que se administra al menos un compuesto de la presente descripción.

10 “Estereoisómero” se refiere a un isómero que difiere en la disposición de los átomos constituyentes en el espacio. Estereoisómeros que son imágenes especulares entre sí y ópticamente activos se denominan “enantiómeros”, y estereoisómeros que no son imágenes especulares entre sí y son ópticamente activos se denominan “diastereómeros”.

“Sujeto” incluye mamíferos y seres humanos. Los términos “ser humano” y “sujeto” se usan de manera intercambiable en el presente documento.

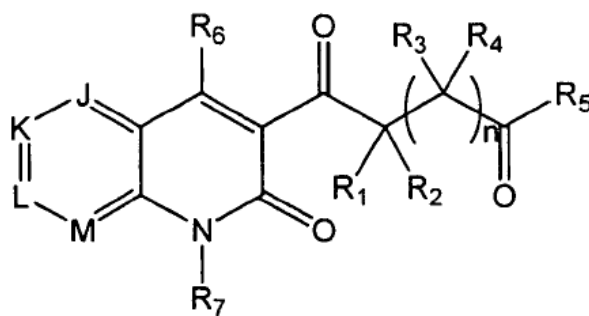
15 “Sustituido” se refiere a un grupo en el que uno o más átomos de hidrógeno se reemplazan cada uno independientemente por el/los mismo(s) o diferente(s) sustituyente(s). Los sustituyentes típicos incluyen, pero no se limitan a, -X, -R₁₁, -OH, =O, -OR₁₁, -SR₁₁, -SH, =S, -NR₁₁R₁₂, =NR₁₁, -CX₃, -CF₃, -CN, -NO₂, -S(O)₂R₁₁, -OS(O)₂OH, -OS(O)₂R₁₁, -OP(O)(OR₁₁)(OR₁₂), -C(O)R₁₁, -C(S)R₁₁, -C(O)OR₁₁, -C(O)NR₁₁R₁₂, -C(O)OH, -C(S)OR₁₁, -NR₁₃C(O)NR₁₁R₁₂, -NR₁₃C(S)NR₁₁R₁₂, -NR₁₃C(NR₁₁)NR₁₁R₁₂, -C(NR₁₁)NR₁₁R₁₂, -S(O)₂NR₁₁R₁₂, -NR₁₃S(O)₂R₁₁, -NR₁₃C(O)R₁₁ y -S(O)R₁₁ en los que cada X es independientemente un halo; cada R₁₁ y R₁₂ son independientemente hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquilo interrumpido por uno o más grupos -O- o -S-, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo, heteroarilalquilo sustituido, -NR₁₃R₁₄, -C(O)R₁₃ o -S(O)₂R₁₃ u opcionalmente R₁₁ y R₁₂ junto con el átomo al que R₁₁ y R₁₂ están unidos forman uno o más anillos de heterociclilo, heterociclilo sustituido, heteroarilo o heteroarilo sustituido; y R₁₃ y R₁₄ son independientemente hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo o heteroarilalquilo sustituido u opcionalmente R₁₃ y R₁₄ junto con el átomo de nitrógeno al que R₁₃ y R₁₄ están unidos forman uno o más anillos de heterociclilo, heterociclilo sustituido, heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, una amina terciaria o un nitrógeno aromático pueden sustituirse con uno o más átomos de oxígeno para formar el óxido de nitrógeno correspondiente.

20 “Cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a la cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un sujeto para tratar una enfermedad, o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad o trastorno, es suficiente para afectar a tal tratamiento para la enfermedad, el trastorno o el síntoma. La “cantidad terapéuticamente eficaz” puede variar dependiendo del compuesto, la enfermedad, el trastorno y/o los síntomas de la enfermedad o el trastorno, la gravedad de la enfermedad, el trastorno y/o los síntomas de la enfermedad o el trastorno, la edad del sujeto que va a tratarse y/o el peso del sujeto que va a tratarse. Una cantidad apropiada en cualquier caso dado puede resultar fácilmente evidente para los expertos en la técnica o puede determinarse mediante experimentación de rutina.

35 “Tratar” o “tratamiento” de cualquier enfermedad o trastorno se refiere a detener o mejorar una enfermedad, un trastorno o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad o trastorno, reducir el riesgo de adquirir una enfermedad, un trastorno o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad o trastorno, reducir el desarrollo de una enfermedad, un trastorno o al menos uno de los síntomas clínicos de la enfermedad o el trastorno, o reducir el riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad o trastorno. “Tratar” o “tratamiento” también se refiere a inhibir la enfermedad o el trastorno, o bien físicamente, (por ejemplo, estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente, (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico) o bien ambos, o inhibir al menos un parámetro físico que puede no ser discernible para el sujeto. Además, “tratar” o “tratamiento” se refiere a retrasar la aparición de la enfermedad o el trastorno o al menos síntomas del mismo en un sujeto que puede estar expuesto a o predispuesto a una enfermedad o trastorno aún cuando ese sujeto no experimente o presente aún síntomas de la enfermedad o el trastorno.

40 Ahora se hará referencia en detalle a realizaciones de la presente descripción. Aunque se describirán determinadas realizaciones de la presente descripción, se entenderá que no se pretende limitar las realizaciones de la presente descripción a las realizaciones descritas. Al contrario, se pretende que las referencias a realizaciones de la presente descripción cubran alternativas, modificaciones y equivalentes que pueden incluirse dentro del espíritu y alcance de las realizaciones de la presente descripción tal como se define en las reivindicaciones adjuntas.

55 En un aspecto, la invención proporciona al menos un compuesto de fórmula I:



I

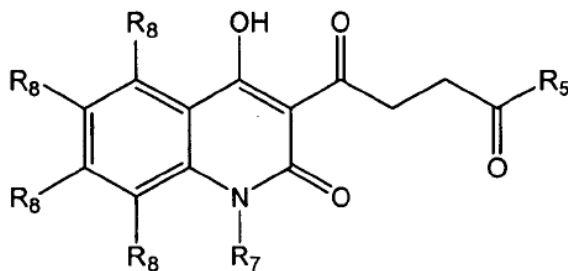
una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un tautómero del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero; o un solvato del mismo, un quelato del mismo, un complejo no covalente del mismo o una mezcla de cualquiera de los anteriores, en la que:

- 5 J, K, L y M se seleccionan independientemente de CR₈ o N, en la que 0, 1 ó 2 de J, K, L y M son N;
n es 1;
R₁ y R₂ son H;
R₃ y R₄ son H;
R₅ es OH;
 - 10 R₆ es OH;
R₇ se selecciona de H o alquilo inferior;
cada R₈ se selecciona independientemente de H, F, Cl, Br, I, alquilo, alquilo sustituido, haloalquilo, perhaloalquilo, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, NR_bR_c, C(O)OR₉, OR₉, SR₉, SO₂R₉, CN, NO₂, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo, heteroarilalquilo sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, heterocicilalquilo, heterocicilalquilo sustituido, alcocarbonilo, alcocarbonilo sustituido o -Y-R₁₀, en el que:
Y se selecciona de -N(R₁₁)-Z- o -Z-N(R₁₁)-;
Z se selecciona de C(O), SO₂, alqueno, alqueno sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alqueno o alqueno sustituido;
 - 20 R₉ se selecciona de H, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino o alquino sustituido;
R₁₀ se selecciona de H, heterociclilo, heterociclilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo o heteroarilo sustituido;
R₁₁ se selecciona de H, alquilo inferior o alquilo inferior sustituido; y R_b y R_c se seleccionan independientemente de H, alquilo inferior, alquilo inferior sustituido, haloalquilo inferior o haloalquilo inferior sustituido, o R_d y R_e pueden unirse entre sí para formar un anillo de 3 a 6 miembros o un anillo de 3 a 6 miembros sustituido.
 - 25 En algunas realizaciones del compuesto de fórmula I, cada uno de J, K, L y M es CR₈. En otras realizaciones, uno de J, K, L y M es N y los otros tres de J, K, L y M son CR₈. En algunas de tales realizaciones, J es N y K, L y M son CR₈. En otras de tales realizaciones, K es N y J, L y M son CR₈. Todavía en otras de tales realizaciones, L es N y J, K y M son CR₈. Todavía en otras de tales realizaciones, M es N y J, K y L son CR₈.
 - 30 En algunas realizaciones del compuesto de fórmula I, al menos un caso de R₈ es un grupo arilo sustituido o no sustituido, un heteroarilo sustituido o no sustituido, un cicloalquilo sustituido o no sustituido o un heterociclilo sustituido o no sustituido. En algunas de tales realizaciones, al menos un caso de R₈ es un grupo heterociclilo. En otras de tales realizaciones, al menos un caso de R₈ es un grupo heteroarilo. En otras de tales realizaciones, al menos un caso de R₈ es un grupo fenilo o fenilo sustituido.
 - 35 En algunas realizaciones del compuesto de fórmula I, al menos un caso de R₈ se selecciona independientemente de halo o un resto sustituido con al menos un halo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, al menos un caso de R₈ es haloalquilo. En algunas realizaciones, al menos un caso de R₈ es un perhaloalquilo. En algunas de tales realizaciones, el perhaloalquilo es un grupo perfluoroalquilo tal como CF₃.
- En algunas realizaciones del compuesto de fórmula I, al menos un caso de R₈ es cualquiera de los grupos que corresponden a R₈ en cualquiera de los compuestos de ejemplo.

En algunas realizaciones del compuesto de fórmula I, R_7 es H. En otras realizaciones, R_7 es un grupo alquilo inferior. En algunas de tales realizaciones, R_7 es un metilo.

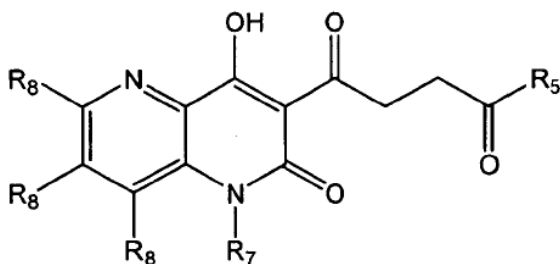
En una realización, el compuesto de fórmula I es uno cualquiera de los compuestos de ejemplo descritos en el presente documento.

- 5 En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I tiene la fórmula IA y las variables R_7 y cada una de R_8 tienen las definiciones proporcionadas en cualquiera de los aspectos y realizaciones descritos anteriormente.



IA

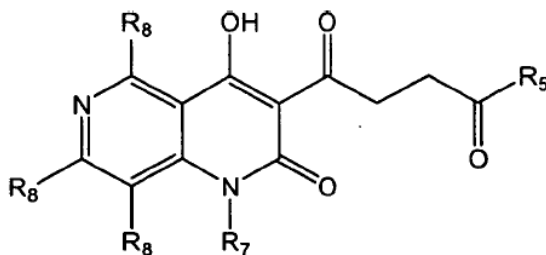
En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I tiene la fórmula IB y las variables R_7 y cada una de R_8 tienen las definiciones proporcionadas en cualquiera de los aspectos y realizaciones descritos anteriormente.



IB

10

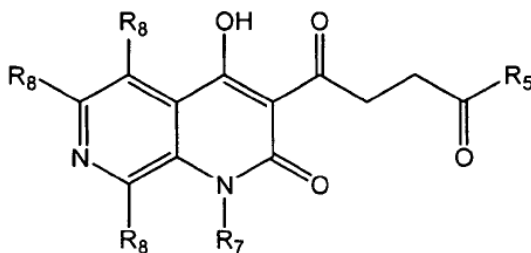
En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I tiene la fórmula IC y las variables R_7 y cada una de R_8 tienen las definiciones proporcionadas en cualquiera de los aspectos y realizaciones descritos anteriormente.



IC

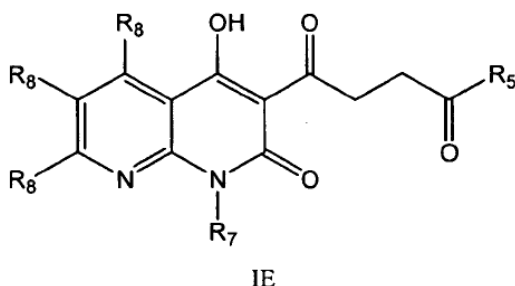
15

En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I tiene la fórmula ID y las variables R_7 y cada una de R_8 tienen las definiciones proporcionadas en cualquiera de los aspectos y realizaciones descritos anteriormente.



ID

En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I tiene la fórmula IE y las variables R_7 y cada una de R_8 tienen las definiciones proporcionadas en cualquiera de los aspectos y realizaciones descritos anteriormente.



- 5 Los compuestos de la presente descripción pueden contener uno o más centros quirales. Tales compuestos pueden prepararse o aislarse como estereoisómeros puros, es decir, como enantiómeros o diastereómeros individuales, o como mezclas enriquecidas en estereoisómeros. Todos de tales estereoisómeros, y mezclas enriquecidas de los mismos, se incluyen dentro del alcance de la presente descripción. Pueden prepararse estereoisómeros puros, y mezclas enriquecidas de los mismos usando, por ejemplo, materiales de partida ópticamente activos o reactivos estereoselectivos bien conocidos en la técnica. Alternativamente, pueden separarse mezclas racémicas de tales compuestos usando, por ejemplo, cromatografía en columna quiral, agentes de resolución quirales y similares.

En algunas realizaciones, el al menos un compuesto es una sal. Tales sales pueden ser anhidras o estar asociadas con una o más moléculas de agua como un hidrato.

El compuesto puede formar un profármaco. En algunos de tales profármacos, el compuesto es un éster alquílico (C_1C_6) tal como un éster metílico, etílico, propílico, butílico, pentílico o hexílico.

- 15 En otras realizaciones, el compuesto se selecciona de uno cualquiera o todos de los enumerados a continuación o es una sal del mismo, un tautómero del mismo o una sal del tautómero:

ácido 4-(4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(8-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

- 20 ácido 4-(7-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(1-bencil-7,8-difluoro-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(6-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(5-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

- 25 ácido 4-(5,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico; o

ácido 4-(3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-7-il)benzoico.

En otras realizaciones, el compuesto se selecciona de uno cualquiera o todos de los enumerados a continuación o es una sal del mismo, un tautómero del mismo o una sal del tautómero:

- 30 ácido 4-(6-ciclohexil-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(6-(4-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(6-ciclopentil-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidrofuran-2-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

- 35 ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidrofuran-3-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(6-(2-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(6-(3-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- 5 ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(6-(4-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(6-(3-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(6-(2-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- 10 ácido 4-(3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-6-il)benzoico;
- ácido 4-(6-(3-carboxipropanoil)-5-hidroxi-8-metil-7-oxo-7,8-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)benzoico;
- ácido 6-(3-carboxipropanoil)-5-hidroxi-8-metil-7-oxo-7,8-dihidro-1,8-naftiridin-3-carboxílico;
- ácido 3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-6-carboxílico;
- ácido 4-(6-ciclopropil-7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- 15 ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahydrofuran-2-il)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(8-cloro-7-fluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(7,8-dicloro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-7-carboxílico;
- ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahydrofuran-3-il)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- 20 ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-fenil-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 3-(3-carboxipropanoil)-7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-6-carboxílico;
- ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-7-(trifluorometil)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- 25 ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(tiofen-2-il)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(tiofen-3-il)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tiofen-2-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tiofen-3-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(6-ciclopropil-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- 30 ácido 4-(1-bencil-7-bromo-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(1-bencil-4-hidroxi-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(1-bencil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(1-bencil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(trifluorometil)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- 35 ácido 4-(7-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(tiofen-2-il)-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(tiofen-3-il)-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,7-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidro-1,7-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,7-naftiridin-6-carboxílico; o

- 5 ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico.

En algunas realizaciones, el compuesto es un compuesto en el que el valor de CI_{50} de CPHI dividido entre el valor de CI_{50} de PHD2 es mayor de 5, mayor de 8, mayor de 10, mayor de 15, mayor de 20 o es incluso superior. En algunas de tales realizaciones, el valor de CI_{50} de CPHI dividido entre el valor de CI_{50} de PHD2 es mayor de 10.

- 10 En el presente documento también se proporcionan composiciones farmacéuticas que incluyen al menos un portador, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable, y una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento. En tales realizaciones, el compuesto está presente en una cantidad eficaz para el tratamiento de al menos una enfermedad seleccionada de isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer o un trastorno inflamatorio.

- 15 Además se proporcionan composiciones farmacéuticas que incluyen al menos un portador farmacéuticamente aceptable, y una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en combinación con al menos un compuesto adicional tal como un agente estimulador de la eritropoyesis o un agente quimioterápico.

- 20 Se proporciona adicionalmente un método de aumento o estabilización de los niveles o la actividad de HIF en un sujeto administrando al sujeto al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

- 25 Se proporciona además un método de tratamiento de un estado en el que se desea modular la actividad de HIF que comprende administrar a un sujeto al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento. En algunas de tales realizaciones, el estado se selecciona de al menos uno de isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer o un trastorno inflamatorio.

También se proporciona un método de tratamiento de un trastorno relacionado con hipoxia o isquemia en un sujeto que comprende administrar a un sujeto al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

- 30 También se proporciona un método de tratamiento de anemia en un sujeto que comprende administrar a un sujeto al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

Se proporciona además un método de modulación de la cantidad de HIF en una célula que comprende poner en contacto la célula con al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

- 35 Los compuestos de la invención también pueden usarse para preparar medicamentos o en métodos para estimular la eritropoyesis en un sujeto. Tales métodos y medicamentos utilizan un compuesto de cualquiera de las realizaciones de la invención. En tales métodos, se administra normalmente un compuesto de cualquiera de las realizaciones a un sujeto tal como un sujeto humano en una cantidad terapéuticamente eficaz. Por tanto, en algunas realizaciones, se usa un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en un método para aumentar el nivel de eritropoyetina en la sangre de un sujeto. En tales métodos, se administra un compuesto de cualquiera de las realizaciones al sujeto en una cantidad eficaz para aumentar la cantidad de eritropoyetina en la sangre del sujeto.

- 45 Se proporciona adicionalmente un método de aumento de la cantidad de hemoglobina F en un sujeto que comprende administrar al sujeto al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

También se proporciona un método de modulación de la angiogénesis en un sujeto que comprende administrar al sujeto al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

- 50 Se proporciona adicionalmente un método de tratamiento de al menos una enfermedad en un paciente que necesita tal tratamiento que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento. En algunas de tales realizaciones, la al menos una enfermedad se selecciona de isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer o un trastorno inflamatorio.

También se proporciona un método de inhibición de la hidroxilación de HIF en un sujeto que comprende administrar al sujeto al menos un compuesto de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

5 En algunas realizaciones, el valor de CI_{50} de la actividad inhibidora de HIF PHD del compuesto es de 40 μ M o menos. En otras realizaciones, el valor de CI_{50} de la actividad inhibidora de HIF PHD del compuesto es de 10 μ M o menos. Todavía en otras realizaciones, el valor de CI_{50} de la actividad inhibidora de HIF PHD del compuesto es de 100 nM o menos, mientras que en otras es de 10 nM o menos.

En algunas realizaciones, se usa el compuesto de cualquiera de las realizaciones en la preparación de un medicamento.

10 En algunas de tales realizaciones, se usa el compuesto de cualquiera de las realizaciones en la preparación de un medicamento para aumentar o estabilizar los niveles o la actividad de HIF en un sujeto.

15 En algunas de tales realizaciones, se usa el compuesto de cualquiera de las realizaciones en la preparación de un medicamento para tratar un estado en el que se desea modular la actividad de HIF. En algunas de tales realizaciones, el estado se selecciona de al menos uno de isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer o un trastorno inflamatorio.

En algunas realizaciones, se usa el compuesto de cualquiera de las realizaciones en la preparación de un medicamento para tratar un trastorno relacionado con hipoxia o isquemia en un sujeto.

20 En algunas realizaciones, se usa el compuesto de cualquiera de las realizaciones en la preparación de un medicamento para modular la cantidad de HIF en una célula. En algunas realizaciones, el al menos un compuesto según cualquiera de las realizaciones se usa para modular la cantidad de HIF en una célula.

En algunas realizaciones, se usa el compuesto de cualquiera de las realizaciones en la preparación de un medicamento para modular la angiogénesis en un sujeto.

En algunas realizaciones, se usa el compuesto de cualquiera de las realizaciones en la preparación de un medicamento para inhibir la hidroxilación de HIF en un sujeto.

25 En algunas realizaciones, se usa el compuesto de cualquiera de las realizaciones en la preparación de un medicamento para tratar anemia.

30 El término "composición" tal como se usa en el presente documento pretende abarcar un producto que comprende los componentes especificados (y en las cantidades especificadas, si se indica), así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de la combinación de los componentes especificados en las cantidades especificadas. Por "farmacéuticamente aceptable" quiere decirse que el portador, excipiente o diluyente es compatible con los otros componentes de la formulación y no es perjudicial para el receptor del mismo.

La formulación de la composición puede mejorar una o más propiedades farmacocinéticas (por ejemplo, biodisponibilidad oral, permeabilidad por la membrana) de un compuesto de la invención (en el presente documento denominado principio activo).

35 Las composiciones farmacéuticas para la administración de los compuestos de esta invención pueden presentarse convenientemente en forma farmacéutica unitaria y pueden prepararse mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica. Todos los métodos incluyen la etapa de poner el principio activo en asociación con el portador que constituye uno o más componentes auxiliares. En general, las composiciones farmacéuticas se preparan poniendo el principio activo uniforme e íntimamente en asociación con un portador líquido o un portador sólido finamente dividido o ambos, y entonces, si es necesario, conformando el producto para dar la formulación deseada. En la composición farmacéutica, el compuesto objeto activo se incluye en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado sobre el proceso o estado de las enfermedades.

45 Las composiciones farmacéuticas que contienen el principio activo pueden estar en una forma adecuada para uso oral, por ejemplo, como comprimidos, trociscos, pastillas para chupar, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Pueden prepararse composiciones previstas para uso oral según cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas. Tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados de agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes con el fin de proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y agradables. Los comprimidos contienen el principio activo en mezcla con otros excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes disgregantes y de granulación, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; agentes de unión, por ejemplo almidón, gelatina o goma arábiga, y agentes lubricantes, por ejemplo estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden estar no recubiertos o pueden recubrirse mediante técnicas conocidas para retrasar la disgregación y absorción en el tracto

gastrointestinal y de ese modo proporcionar una acción sostenida a lo largo de un periodo más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retraso temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. También pueden recubrirse mediante las técnicas descritas en las patentes estadounidenses n.ºs 4.256.108, 4.160.452 y 4.265.874 para formar comprimidos terapéuticos osmóticos para liberación controlada.

- 5 También pueden presentarse formulaciones para uso oral como cápsulas de gelatina duras en las que el principio activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blandas en las que el principio activo se mezcla con agua o un medio de aceite, por ejemplo aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

- 10 Las suspensiones acuosas contienen los materiales activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma arábiga; los agentes humectantes o de dispersión pueden ser un fosfátido que se produce de manera natural, por ejemplo lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos, por ejemplo estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de
- 15 cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoxietanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato de polioxietilen-sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de polietilen-sorbitano. Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes, por ejemplo p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes
- 20 aromatizantes y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

- Pueden formularse suspensiones oleosas suspendiendo el principio activo en un aceite vegetal, por ejemplo aceite de maní, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Pueden añadirse agentes edulcorantes tales como los expuestos anteriormente y agentes aromatizantes
- 25 para proporcionar una preparación oral agradable. Estas composiciones pueden conservarse mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.

- Polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el principio activo en mezcla con un agente humectante o de dispersión, agente de suspensión y uno o más conservantes. Se muestran a modo de ejemplo agentes de suspensión y agentes humectantes o de dispersión adecuados mediante los ya mencionados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes
- 30 adicionales, por ejemplo agentes edulcorantes, aromatizantes y colorantes.

- Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo aceite de oliva o aceite de maní, o un aceite mineral, por ejemplo parafina líquida o mezclas de éstos. Agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas que se producen de manera natural, por ejemplo goma arábiga o goma tragacanto, fosfátidos que se producen de manera natural, por
- 35 ejemplo soja, lecitina y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de sorbitano, y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo monooleato de polioxietilen-sorbitano. Las emulsiones también pueden contener agentes edulcorantes y aromatizantes.

- 40 Pueden formularse jarabes y elixires con agentes edulcorantes, por ejemplo glicerol, propilenglicol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones también pueden contener un demulcente, un conservante y agentes aromatizantes y colorantes.

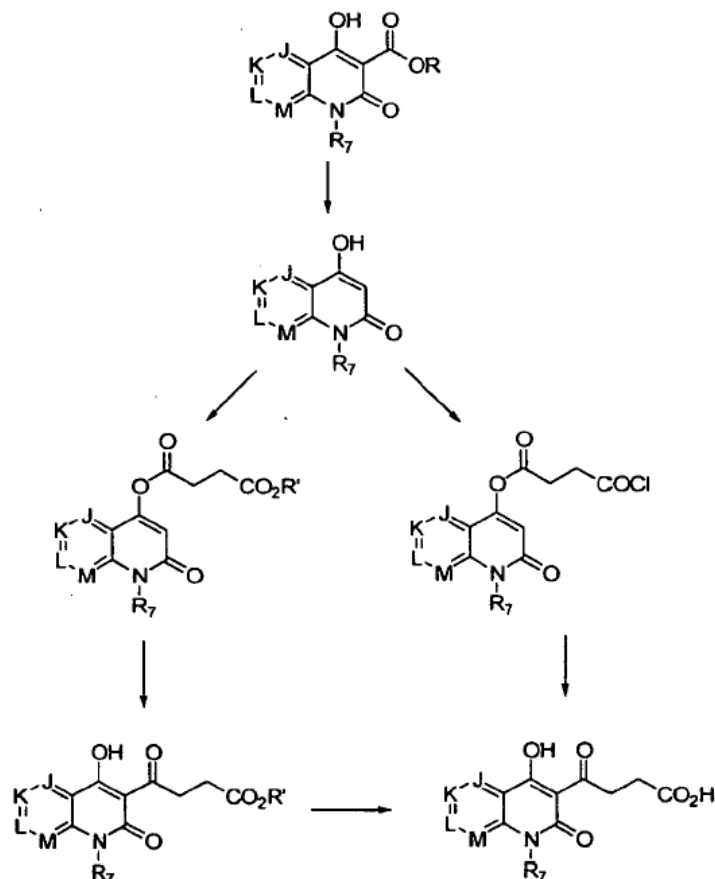
- Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión puede formularse según la técnica conocida usando los agentes de suspensión y agentes humectantes o de dispersión adecuados que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril también puede ser una disolución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente aceptable por vía
- 45 parenteral no tóxico, por ejemplo como disolución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están agua, disolución de Ringer y disolución isotónica de cloruro de sodio. Además, se emplean convencionalmente aceites fijos, estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite fijo insípido incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, ácidos grasos tales como ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.
- 50

- Las composiciones farmacéuticas también pueden administrarse en forma de supositorios para administración rectal del fármaco. Estas composiciones pueden prepararse mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas habituales pero líquido a la temperatura rectal y por tanto se fundirá en el recto liberando el fármaco. Tales materiales incluyen, por ejemplo, manteca de cacao y polietilenglicoles.
- 55

Para uso tópico, se emplean cremas, pomadas, jaleas, disoluciones o suspensiones, etc., que contienen los compuestos de la invención. Tal como se usa en el presente documento, aplicación tópica también pretende incluir el uso de colutorios y gargarismos.

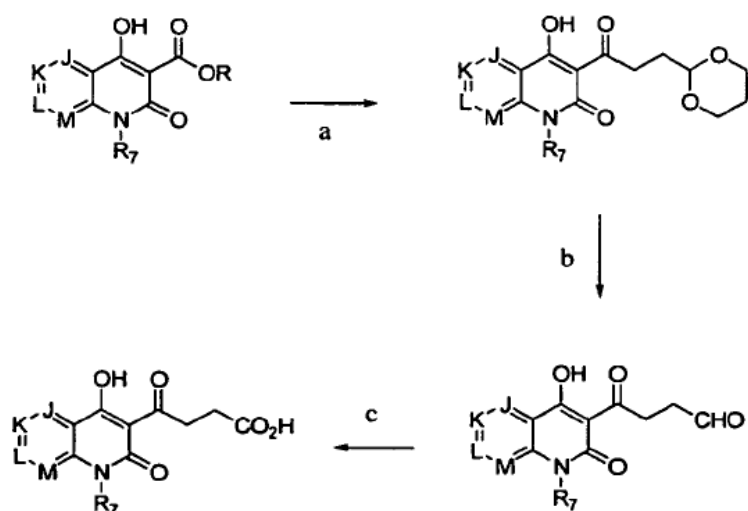
Los compuestos de la invención pueden prepararse usando las rutas sintéticas generales mostradas a continuación en el esquema 1 y el esquema 2 y descritas más completamente en los ejemplos.

Esquema 1



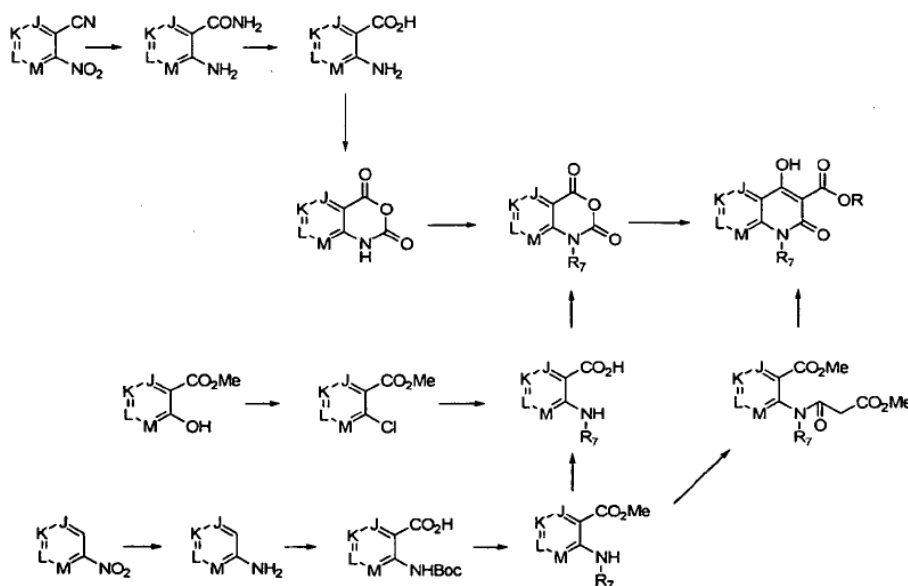
5

Esquema 2



Los productos intermedios sintéticos usados para preparar los compuestos de la invención pueden sintetizarse mediante la metodología mostrada en el esquema 3 y descrita más completamente en los ejemplos.

Esquema 3

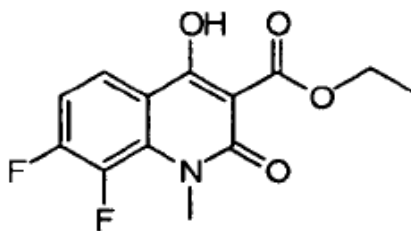


La invención se describe adicionalmente mediante la referencia a los siguientes ejemplos, que pretenden mostrar a modo de ejemplo la invención reivindicada pero sin limitarla de ninguna manera.

Ejemplos

- 5 A menos que se establezca lo contrario, se obtuvieron todos los compuestos de fuentes comerciales o se prepararon usando los métodos y procedimientos experimentales descritos en el presente documento. Se usan las siguientes abreviaturas para referirse a diversos reactivos y disolventes:

	AcOH	Ácido acético
	DCM	Diclorometano
10	DMF	N,N-Dimetilformamida
	DMSO	Dimetilsulfóxido
	EtOAc	Acetato de etilo
	EtOH	Etanol
	MeI	Yoduro de metilo
15	MeOH	Metanol
	TEA	Trietilamina
	TFA	Ácido trifluoroacético
	THF	Tetrahidrofurano
	TR-FRET	Transferencia de energía por resonancia de fluorescencia de resolución temporal
20	Método 1. Preparación de 7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxilato de etilo.	



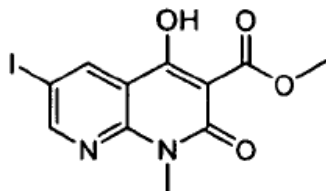
(a) 3,4-Difluoro-2-(metilamino)benzoato de metilo. Se trató una mezcla de 2,3,4-trifluorobenzoato de metilo (disponible de Oakwood Products, West Columbia, SC)(5,00 g, 26 mmol) y carbonato de potasio (4,0 g, 29 mmol)

con metilamina 2 M en THF (17 ml, 34 mmol) y se agitó a 24°C durante 18 horas. Se diluyó la mezcla con EtOAc, se lavó con agua, se secó sobre MgSO₄ y se evaporó. Se purificó el producto bruto mediante cromatografía ultrarrápida (EtOAc/hexanos) dando el compuesto del título. EM (ESI) m/z: Calculado; 201,2: Observado; 202,1. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,54 - 7,67 (1 H, m), 6,26 - 6,43 (1 H, m), 3,94 (1 H, s), 3,84 (3 H, s), 3,15 (3 H, dd, J=6,8, 5,5 Hz).

(b) 2-(3-Etoxi-N-metil-3-oxopropanamido)-3,4-difluorobenzoato de metilo. A 0°C, se trató gota a gota una suspensión de 3,4-difluoro-2-(metilamino)benzoato de metilo (1,10 g, 5,47 mmol) y carbonato de potasio (0,98 g, 7,1 mmol) en THF (10 ml) con 3-cloro-3-oxopropanoato de etilo (0,90 ml, 7,11 mmol). Se calentó la mezcla hasta 24°C, se agitó durante 3 horas, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre MgSO₄ y se evaporaron. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida (EtOAc/hexanos) dio el compuesto del título. EM (ESI) m/z: Calculado; 315,3: Observado; 316,1. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,81 - 7,91 (1 H, m), 7,28 - 7,37 (1 H, m), 4,12 (2 H, q, J=7,1 Hz), 3,92 (3 H, s), 3,23 (3 H, s), 3,10 (2 H, s), 1,23 (3 H, t, J=7,2 Hz).

(c) 7,8-Difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxilato de etilo. Se trató una disolución de 2-(3-etoxi-N-metil-3-oxopropanamido)-3,4-difluorobenzoato de etilo (1,26 g, 4,00 mmol) en EtOH (3 ml) a 0-10°C con una disolución de NaOEt en EtOH (8 ml, 8 mmol). Tras la adición, se formó un precipitado de color blanco que se recogió mediante filtración, se enjuagó con Et₂O y se secó a vacío dando el compuesto del título. EM (ESI) m/z: Calculado; 283,2: Observado; 284,0. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7,77 - 7,85 (1 H, m), 6,94 - 7,04 (1 H, m), 4,05 (2 H, q, J=7,0 Hz), 3,55 (3 H, d, J=8,8 Hz), 1,19 (3 H, t, J=7,0 Hz).

Método 2. Preparación de 4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-carboxilato de metilo.



(a) 2-Hidroxinicotinato de metilo. A una disolución de ácido 2-hidroxinicotínico (disponible de Aldrich) (100 g, 0,72 mol) en MeOH (1000 ml) se le añadió cloruro de tionilo (157 ml) gota a gota con enfriamiento a 0°C con un baño de hielo-agua. Tras la adición, se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. Se evaporó la mezcla de reacción a presión reducida y se diluyó el residuo con agua (500 ml). Se ajustó el pH de la disolución acuosa a pH = 8-9 con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃. Se extrajo la mezcla con CHCl₃ (5x300 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre Na₂SO₄ y se filtraron. Se evaporó el filtrado a presión reducida y se secó el residuo a vacío dando el compuesto del título como un sólido de color blanco.

(b) 2-Hidroxi-5-yodonicotinato de metilo. Se calentó una disolución de 2-hidroxinicotinato de metilo (100 g, 0,65 mol) y N-yodosuccinimida (192 g, 0,85 mol) en DCM seco (2,5 l) a reflujo en la oscuridad durante 48 horas. Se concentró la mezcla hasta 500 ml a presión reducida. Se recogió el sólido que precipitó mediante filtración, se lavó con porciones pequeñas de DCM frío y se secó a vacío dando el compuesto del título como un sólido de color amarillo pálido.

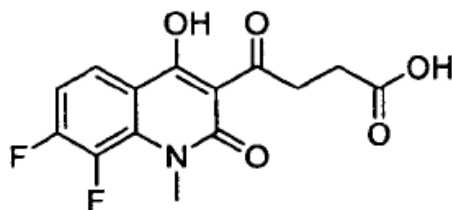
(c) 2-Cloro-5-yodonicotinato de metilo. A una disolución de DMF anhidro (21,45 ml) y POCl₃ destilado (26,13 ml) en DCM anhidro (900 ml) se le añadió 2-hidroxi-5-yodonicotinato de metilo (39 g, 0,14 mol) en una porción. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 28 horas bajo una atmósfera de N₂. Se eliminó el disolvente a presión reducida y se diluyó el residuo con H₂O. Se ajustó el pH de la disolución acuosa a pH = 8-9 con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃. Se extrajo la mezcla con DCM (5 x). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre Na₂SO₄ y se filtraron. Se evaporó el filtrado a presión reducida y se purificó el residuo oleoso mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/hexanos 1:10) dando el compuesto del título como un sólido de color blanco.

(d) 5-Yodo-2-(metilamino)nicotinato de metilo y 5-yodo-2-(metilamino)nicotinato de etilo. Se calentó una mezcla de 2-cloro-5-yodonicotinato de metilo (10 g, 33,6 mmol) y una disolución al 30% de MeNH₂ en EtOH (14,3 ml, 460 mmol) en EtOH (100 ml) a 65°C durante 4 horas. Se dejó que la mezcla de reacción alcanzara temperatura ambiente y se evaporó a presión reducida. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/éter de petróleo 1:10) dando los compuestos del título como una mezcla.

(e) 6-Yodo-1-metil-1H-pirido[2,3-d][1,3]oxazin-2,4-diona. A una mezcla de 5-yodo-2-(metilamino)nicotinato de metilo y 5-yodo-2-(metilamino)nicotinato de etilo (10,5 g) y 1,4-dioxano (10 ml) en 1,2-dicloroetano anhidro (1000 ml) se le añadió cloroformiato de triclorometilo (15,43 ml, 128,45 mmol) gota a gota a lo largo de 1 hora, con agitación y calentamiento a 80°C. Tras la adición, se agitó la mezcla de reacción a 80°C durante 4 horas y se dejó que alcanzara temperatura ambiente. Se evaporó el disolvente y se lavó el residuo con una mezcla 1:1 de EtOAc/hexanos (100 ml) y se secó a vacío dando el compuesto del título.

(f) 4-Hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-carboxilato de metilo. A una disolución de malonato de dimetilo (25,5 g, 196 mmol) en N,N-dimetilacetamida anhidra (50 ml) se le añadió NaH (suspensión al 60% en aceite mineral, 0,97 g, 23 mmol) en pequeñas porciones a lo largo de 1 hora, con agitación y enfriamiento con un baño de hielo. Cuando cesó el desprendimiento de hidrógeno, se añadió 6-yodo-1-metil-1H-pirido[2,3-d][1,3]oxazin-2,4-diona (5,0 g, 19,5 mmol) y se elevó lentamente la temperatura de la mezcla de reacción hasta 160°C y se mantuvo a la misma temperatura durante 3,5 horas (se desprendió dióxido de carbono). Se dejó que la mezcla alcanzara temperatura ambiente, se vertió en hielo-agua y se acidificó hasta pH = 2-3. Se recogieron los cristales precipitados mediante filtración, se lavaron con MeOH y se secaron a vacío dando el compuesto del título.

Método 3 A. Preparación de ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico.

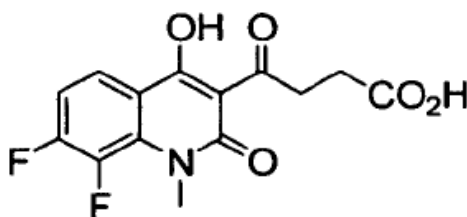


(a) 7,8-Difluoro-4-hidroxi-1-metilquinolin-2(1H)-ona.

Se añadió HCl acuoso concentrado (36,5-37,5%, 5 ml) a una disolución de 7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxilato de etilo (método 1) (0,500 g, 1,77 mmol) en TFA (5 ml). Se calentó la mezcla a 80°C durante 18 horas. Se eliminó el disolvente a presión reducida y se enjuagó el residuo con agua y dietil éter. Se secó el sólido resultante a vacío a 50°C proporcionando 7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metilquinolin-2(1H)-ona con un rendimiento del 85%. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1 1,70 (1 H, s), 7,74-7,71 (1 H, m), 7,30-7,25 (1 H, m), 5,88 (1 H, s), 3,70 (3 H, d, J= 8,3 Hz). EM m/z: 210 (M⁺).

(b) Ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico. A 24°C, se añadió cloruro de succinilo (0,029 ml, 0,26 mmol) mediante jeringuilla a una suspensión de color amarillo de 7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metilquinolin-2(1H)-ona (0,045 g, 0,21 mmol) en 1,2-dicloroetano (3 ml). Se calentó la mezcla hasta 80°C. Tras 10 minutos, se trató la suspensión con cloruro de succinilo adicional (0,029 ml, 0,26 mmol) y se agitó. Tras 10 minutos, se trató la mezcla con AlCl₃ (0,034 g, 0,26 mmol) y se mantuvo a 80°C durante 2 días. Se trató la mezcla con NaOH acuoso (5 N, 2 ml) y se separaron las fases. Se acidificó la fase acuosa usando HCl acuoso 1 M hasta pH = 1. Se aisló el precipitado resultante mediante filtración, se enjuagó con agua y se secó a vacío a 50°C proporcionando el compuesto del título con un rendimiento del 33%. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 12,17 (1 H, s. a.), 8,04-8,01 (1 H, m), 7,44 - 7,41 (1 H, m), 3,74 (3 H, d, J= 8,6 Hz), 3,44 (2 H, t, J= 5,9 Hz), 2,59 (2 t, J= 5,9 Hz). EM m/z: 310 (M⁺).

Método 3B. Preparación de ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico.

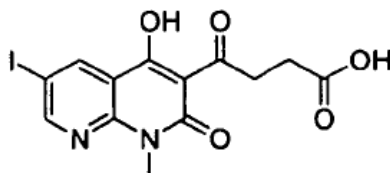


(a) 3-(3-(1,3-Dioxan-2-il)propanoil)-7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metilquinolin-2(1H)-ona. Se agitó una mezcla de 7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxilato de etilo (método 1) (0,85 g, 3 mmol) en 40 ml de THF a temperatura ambiente y se trató con hidruro de sodio (0,4 ml, 15 mmol) y se agitó durante 30 minutos. Se trató la mezcla con bromuro de 2-[2-(1,3-dioxanil)]etil magnesio (7 ml, 3 mmol) gota a gota. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas. Se extinguió la mezcla con agua (10 ml) y se neutralizó con HCl 2 N hasta pH= 5. Se extrajo la mezcla con EtOAc (3 x 50 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con NH₄Cl saturado (20 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron. Se purificó el producto resultante mediante cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 20-30%/hexano dando 0,83 g del producto como un sólido de color blanco. EM m/e: 354 (M+H)⁺.

(b) 4-(7,8-Difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanal. Se calentó una mezcla de 3-(3-(1,3-dioxan-2-il)propanoil)-7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metilquinolin-2(1H)-ona (0,83 g, 2,3 mmol) en 25 ml de AcOH/agua (4:1) hasta 82°C y se agitó durante 1 hora. Entonces se calentó la mezcla a 97°C y se agitó durante 30 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con 20 ml de agua, se enfrió hasta temperatura ambiente y se diluyó con 200 ml de agua. Se filtró el precipitado y se lavó con 20 ml de H₂O y entonces se secó a vacío dando 0,61 g del producto como un sólido de color amarillo pálido. EM m/e: 296 (M+H)⁺.

(c) Ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico. Se agitó una mezcla de 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanal (0,61 g, 2,1 mmol) en 6 ml de DMF a temperatura ambiente y se trató con oxona(r) (1,2 ml, 2,1 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas. Se extinguió la mezcla con 50 ml de H₂O y se ajustó a pH = 5. Se formó un precipitado y se recogió el sólido mediante un filtro y se lavó con 20 ml de H₂O. Se secó el producto resultante a alto vacío dando 0,62 g del producto como un sólido de color blanco. EM m/e: 312(M+H)⁺. Calculado para C₁₄H₁₁F₂NO₅: 311 ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 12,17 (1 H, s. a.), 8,04-8,01 (1 H, m), 7,44-7,41 (1 H, m), 3,74 (3 H, d, J = 8,6 Hz), 3,44 (2 H, t, J = 5,9 Hz), 2,59 (2 t, J = 5,9 Hz). EM m/z: 310 (M⁺).

Método 4. Preparación de ácido 4-(4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico.



(a) 4-hidroxi-6-yodo-1-metil-1,8-naftiridin-2(1H)-ona.

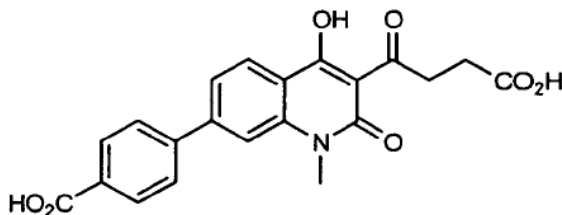
Se añadió HCl acuoso concentrado (10 ml) a una disolución de 4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-carboxilato de metilo (método 2) (1,00 g, 2,78 mmol) en TFA (10 ml). Se calentó la mezcla a 80°C durante 18 horas. Se eliminó el disolvente y se enjuagó el residuo con agua y dietil éter. Se secó el producto en un horno de vacío a 50°C proporcionando el compuesto del título con un rendimiento del 96%. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 11,84 (1 H, s), 8,82 (1 H, d, J = 2,3 Hz), 8,43 (1 H, d, J = 2,3 Hz), 5,89 (1 H, s), 3,39 (3 H, s). EM m/z: 303 (M⁺).

(b) Metilsuccinato de 6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-4-ilo. Se añadió 4-cloro-4-oxobutirato de metilo (0,08 ml, 0,662 mmol) a una suspensión de 4-hidroxi-6-yodo-1-metil-1,8-naftiridin-2(1H)-ona (0,20 g, 0,66 mmol), TEA (0,092 ml, 0,66 mmol) en 1,2-dicloroetano (3 ml). Se agitó la mezcla durante 15 minutos y se evaporó. Se purificaron los sólidos restantes mediante cromatografía ultrarrápida usando EtOAc/hexano proporcionando el compuesto del título con un rendimiento del 60%. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,78 (1 H, d, J = 2,2 Hz), 8,34 (1 H, d, J = 2,2 Hz), 6,68 (1 H, s), 3,78 (3 H, s), 3,77 (3H, s), 3,02-2,98 (2 H, m), 2,84-2,79 (2 H, m). EM m/z: 417 (M⁺).

(c) 4-(4-Hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoato de metilo. Se calentó una mezcla de metilsuccinato de 6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-4-ilo (0,096 g, 0,23 mmol) y acetato de sodio (0,019 g, 0,23 mmol) a 140°C durante 5 minutos. Se enfrió la reacción hasta temperatura ambiente y se enjuagaron los sólidos con DCM. Se purificó el filtrado mediante cromatografía ultrarrápida usando EtOAc/hexano proporcionando el compuesto del título con un rendimiento del 27%. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,85 (1 H, d, J = 2,3 Hz), 8,71 (1 H, d, J = 2,2 Hz), 3,72 (3 H, s), 3,71 (3 H, s), 3,65 (2 H, t, J = 6,3 Hz), 2,73 (2 H, t, J = 6,3 Hz). EM m/z: 417 (M⁺).

(d) Ácido 4-(4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico. Se añadió una disolución de NaOH acuoso (5 M, 2 ml) a una suspensión de 4-(4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoato de metilo (0,026 g, 0,062 mmol) en THF (1 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora, se acidificó hasta pH = 1 usando HCl acuoso y se evaporó. Se enjuagaron los sólidos resultantes con MeOH/EtOAc, se purificaron mediante cromatografía ultrarrápida usando MeOH/AcOH al 2% en CHCl₃ proporcionando el compuesto del título con un rendimiento del 35%. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8,98 (1 H, d, J = 1,9 Hz), 8,66 (1 H, d, J = 2,0 Hz), 3,59 (3 H, s), 3,43 (2 H, t, J = 6,1 Hz), 2,58 (2 H, t, J = 6,0 Hz). EM m/z: 403 (M⁺).

Método 5. Preparación de ácido 4-(3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-7-il)benzoico.



(a) 7-(4-(terc-Butoxicarbonil)fenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxilato de metilo. A una mezcla de 7-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxilato de metilo (método 7) (3,82 g, 12,2 mmol), ácido 4-(terc-butoxicarbonil)fenilborónico (2,72 g, 12,2 mmol), fluoruro de cesio (5,58 g, 36,7 mmol) y tetrakis(trifenilfosfina)paladio [0] (0,424 g, 0,367 mmol) en un vial, se le añadió MeOH (61 ml). Se selló el vial y se calentó a 80°C durante 2 horas. Entonces se enfrió la mezcla de reacción, se diluyó con 200 ml de EtOAc, se añadió

a un embudo de decantación, se repartió con bicarbonato de sodio (saturado, acuoso), se lavó 2 veces con 75 ml de bicarbonato de sodio (saturado, acuoso), se separó, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró mediante evaporación rotatoria dando el producto. Se purificó el producto resultante mediante cromatografía ultrarrápida (gel de sílice) proporcionando el compuesto del título como un sólido de color blanquecino.

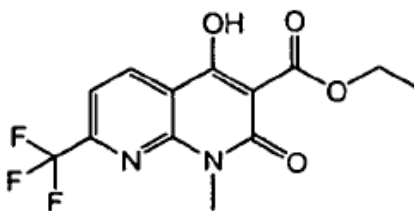
5 (b) 4-(3-(3-(1,3-Dioxan-2-il)propanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-7-il)benzoato de terc-butilo. Se disolvió 7-(4-(terc-butoxicarbonil)fenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxilato de metilo (452 mg, 1104 μ mol) en THF (11 ml). Entonces se añadió hidruro de sodio (al 60% en aceite, 442 mg, 11040 μ mol) y se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 1 hora. Entonces se añadió gota a gota bromuro de 2-[2-(1,3-dioxanil)]etilmagnesio en THF (2208 μ l, 1104 μ mol) y entonces se agitó la mezcla de reacción durante 1 hora. Se diluyó la mezcla de reacción con 150 ml de EtOAc, se añadió a un embudo de decantación, se repartió con HCl 3 N (acuoso), se lavó 2 veces con 75 ml de salmuera (saturada, acuosa), se separó, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró mediante evaporación rotatoria dando el producto inicial. Se purificó el producto inicial mediante cromatografía ultrarrápida (gel de sílice) proporcionando el compuesto del título como un sólido de color beis.

15 (c) 4-(4-Hidroxi-1-metil-2-oxo-3-(4-oxobutanoil)-1,2-dihidroquinolin-7-il)benzoato de terc-butilo. Se añadió AcOH (al 80%, 15 ml) a 4-(3-(3-(1,3-dioxan-2-il)propanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-7-il)benzoato de terc-butilo (150 mg, 304 μ mol) y se calentó la mezcla resultante a 90°C durante 1 hora. Se extinguió la mezcla de reacción con agua y se enfrió hasta temperatura ambiente. Precipitó un sólido de la disolución y se filtró y se adhirió a la frita. Se lavó la frita con EtOAc (5x) dando el compuesto del título como un sólido de color beis.

20 (d) Ácido 4-(7-(4-(terc-butoxicarbonil)fenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico. Se disolvió 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-3-(4-oxobutanoil)-1,2-dihidroquinolin-7-il)benzoato de terc-butilo (130 mg, 299 μ mol) en DMF (1493 μ l). Se añadió oxona (184 mg, 299 μ mol) a la mezcla a temperatura ambiente y se agitó la mezcla resultante durante 1 hora. Se añadió agua para precipitar el producto de la disolución. Se filtró la mezcla, se lavó con agua y éter y se secó en un horno de vacío dando el compuesto del título como un sólido de color blanquecino.

25 (e) Ácido 4-(3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-7-il)benzoico. Se disolvió ácido 4-(7-(4-(terc-butoxicarbonil)fenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico (270 mg, 598 μ mol) en TFA (1 ml) a temperatura ambiente durante 15 minutos y entonces se añadió agua para precipitar el producto como un sólido de color blanco. Se filtró la mezcla resultante y se lavó el producto sólido con agua y una pequeña cantidad de éter y entonces se secó en un horno de vacío dando el compuesto del título como un sólido de color beis. ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 13,00 (sa, 1 H) 12,22 (sa, 1 H) 8,22 (d, J=8,53 Hz, 1 H) 8,04 - 8,13 (m, 2 H) 7,96 - 8,04 (m, 2 H) 7,80 (s, 1 H) 7,71 (d, J=8,53 Hz, 1 H) 3,71 (s, 3 H) 3,45 - 3,52 (m, 2 H) 2,60 (t, J=6,02 Hz, 2 H).

Método 6. Preparación de 4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-carboxilato de etilo.



35 (a) 2-Cloro-6-(trifluorometil)nicotinato de metilo. A una mezcla de ácido 2-cloro-6-(trifluorometil)nicotínico (disponible de Fluorochem Products, West Columbia, SC) (6,66 g) y K₂CO₃ (15,7 g, 114 mmol) en acetona (125 ml) se le añadió yodometano (2,60 ml, 41,7 mmol) gota a gota con agitación a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. Se agitó la mezcla de reacción a 35°C durante 18 horas y entonces se filtró a través de un lecho de Celite®. Se evaporó el filtrado a presión reducida dando el compuesto del título. EM (ESI, pos. ion) m/z: 240 (M+1).

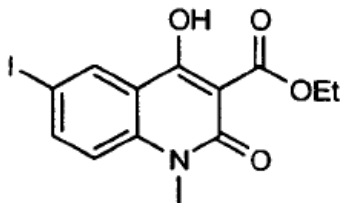
40 (b) 2-(Metilamino)-6-(trifluorometil)nicotinato de metilo. Se agitó una mezcla de 2-cloro-6-(trifluorometil)nicotinato de metilo (3,82 g) y K₂CO₃ (5,6 g, 40 mmol) en THF (25 ml) bajo nitrógeno durante 15 minutos. A la mezcla se le añadió una disolución 2 M de metilamina en THF (10 ml, 20 mmol) y se continuó agitando durante 63 horas. Se filtró la mezcla de reacción sobre Celite® y se evaporó el filtrado a presión reducida. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna de gel de sílice (DCM) dando el compuesto del título. EM (ESI, pos. ion) m/z: 235 (M+1).

45 (c) 2-(3-Etoxi-N-metil-3-oxopropanamido)-6-(trifluorometil)nicotinato de metilo. Se calentó una mezcla de 2-(metilamino)-6-(trifluorometil)nicotinato de metilo (0,300 g) y malonoilcloruro de etilo (0,19 ml, 1,6 mmol) en 1,2-dicloroetano (50 ml) hasta 80°C durante 63 horas. Se dejó que la mezcla de reacción alcanzara temperatura ambiente y entonces se evaporó a presión reducida. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna de gel de sílice (gradiente: EtOAc al 0-30%/hexanos) dando el compuesto del título. EM (ESI, pos. ion) m/z: 349 (M+1).

50 (d) 4-Hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-carboxilato de etilo. A una disolución de 2-(3-etoxi-N-metil-3-oxopropanamido)-6-(trifluorometil)nicotinato de metilo en EtOH (25 ml) se le añadió una disolución al

20% de NaOEt en EtOH (3,2 ml, 9,2 mmol) gota a gota con agitación a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción durante 15 minutos y se filtró el sólido de color blanco que precipitó. Se separó la torta de filtro y se secó a vacío dando el compuesto del título. EM (ESI, pos. ion) m/z : 317 ($M+1$).

Método 7. Preparación de 4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxilato de etilo.

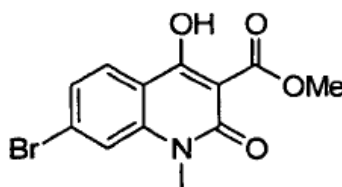


(a) Ácido yodo-2-(metilamino)benzoico. En un matraz de 3 bocas de 1 l se añadieron ácido 2-(metilamino)benzoico (disponible de Aldrich) (40 g, 265 mmol), agua (300 ml) y HCl (26,7 ml, 871 mmol). Se preparó una disolución de monoclóruo de yodo añadiendo monoclóruo de yodo (43 g, 265 mmol) a una disolución enfriada (0°C) de HCl (45 ml, 1469 mmol) y agua (167 ml, 9272 mmol). Se añadió rápidamente la disolución de monoclóruo de yodo a la disolución agitada del ácido 2-(metilamino)benzoico. Se dejó que se agitara la mezcla durante 2 horas y entonces se filtró en un embudo de fritura media. Se lavaron los sólidos con agua y se secaron a vacío dando un rendimiento cuantitativo del producto como un polvo de color verde brillante.

(b) 6-Yodo-1-metil-1H-benzo[d][1,3]oxazin-2,4-diona. A una disolución agitada de ácido 5-yodo-2-(metilamino)benzoico (10 g, 36 mmol), carbonato de sodio (4 g, 36 mmol) y agua (130 ml, 7218 mmol), enfriada hasta 0°C, se le añadió lentamente, mediante embudo de adición, una disolución de fosgeno 2 M (18 ml, 36 mmol) en tolueno. Tras 2 horas, se aisló el producto precipitado mediante filtración. Se lavaron los sólidos con 100 ml de agua, 150 ml de una mezcla 1:1 de EtOH y éter, 100 ml de éter y se secaron a vacío dando el compuesto del título.

(c) 4-Hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxilato de etilo. Se añadió en porciones hidruro de sodio al 60% (1,2 ml, 28 mmol) a una mezcla de éster dietílico del ácido malónico (17 ml, 10 mmol) y DMF (75 ml) con agitación a temperatura ambiente. Se añadió una mezcla de 6-yodo-1-metil-1H-benzo[d][1,3]oxazin-2,4-diona (7,12 g, 23 mmol) y DMF (75 ml) a esta disolución seguido por agitación a 120°C durante 2,5 horas. Se recogió el precipitado que se formó mediante filtración y se disolvió en agua y se añadió HCl al 30% a la mezcla. Se recogieron los cristales precipitados mediante filtración y se secaron dando el compuesto del título.

Método 8. Preparación de 7-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxilato de metilo.

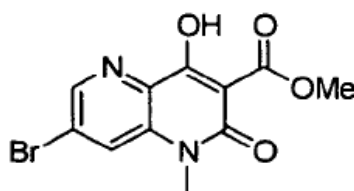


(a) 7-Bromo-1H-benzo[d][1,3]oxazin-2,4-diona. En un matraz de fondo redondo de 250 ml bajo N_2 , se disolvió ácido 2-amino-4-bromobenzoico (disponible de Aldrich) (11,69 g) en 100 ml de 1,4-dioxano. Se enfrió la disolución hasta 0°C y se añadió fosgeno (36 ml, 68 mmol) a esta disolución mediante un embudo de goteo. Se agitó la mezcla de reacción durante 24 horas permitiendo que se calentara hasta 23°C (temperatura ambiente). Se separó por filtración el sólido de color blanco resultante y se lavó con 1,4-dioxano y Et_2O .

(b) 7-Bromo-1-metil-1H-benzo[d][1,3]oxazin-2,4-diona. Se añadió hidruro de sodio (0,47 g, 12 mmol) a un matraz de fondo redondo de 250 ml de 3 bocas bajo nitrógeno y entonces se lavó con hexanos. Una vez que se decantaron los hexanos, se añadió DMF (20,0 ml, 11 mmol). Se enfrió la mezcla resultante hasta 0°C usando un baño de hielo-agua y entonces se añadió de una vez 7-bromo-1H-benzo[d][1,3]oxazin-2,4-diona (2,7 g, 11 mmol). Tras agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, se añadió gota a gota yodometano (0,70 ml, 11 mmol) a la disolución de color amarillo y se agitó la mezcla de reacción durante 16 horas. Se añadió agua (50 ml) y se recogió el precipitado resultante que se formó mediante filtración. Se lavó el sólido con agua adicional (100 ml), seguido por éter (100 ml). El secado en un horno de vacío durante la noche a 50°C proporcionó el compuesto del título como un sólido de color blanquecino (2,1 g, rendimiento del 74%).

(c) 7-Bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxilato de metilo. Se preparó el compuesto del título según el método de 6(c) usando 7-bromo-1-metil-1H-benzo[d][1,3]oxazin-2,4-diona y éster dimetilico del ácido malónico.

Método 9. Preparación de 7-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-carboxilato de metilo.

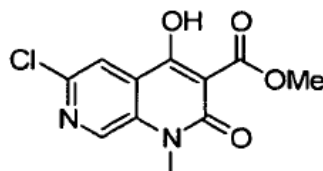


(a) 3-Amino-5-bromopicolinamida. Se agitó una mezcla de 5-bromo-3-nitropicolinonitrilo (disponible de Aldrich) (40 g, 0,17 mol) y Ni Raney (22 g) en EtOH (1500 ml) bajo atmósfera de H₂ de 45 psi a temperatura ambiente durante 5 horas. Se filtró la mezcla de reacción y se evaporó el filtrado a presión reducida y se secó a vacío dando el compuesto del título.

(b) Ácido 3-amino-5-bromopicolínico. Se calentó una mezcla de 3-amino-5-bromopicolinamida (28,2 g, 0,13 mol) y HCl concentrado (361 ml) a reflujo durante 12 horas. Se dejó que la mezcla de reacción alcanzara temperatura ambiente y se filtró el sólido que precipitó. Se disolvió la torta de filtro en agua y se ajustó el pH de la disolución acuosa a pH = 4 con NaOAc saturado y se extrajo con EtOAc (3 x). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre MgSO₄ anhidro y se filtraron. Se evaporó el filtrado a presión reducida y se secó el residuo a vacío proporcionando el compuesto del título como un sólido.

(c) 7-Bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-carboxilato de metilo. Se preparó el compuesto del título usando un método análogo al método 8 partiendo de ácido 3-amino-5-bromopicolínico.

Método 10. Preparación de 6-cloro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,7-naftiridin-3-carboxilato de metilo.



(a) 6-Cloropiridin-3-amina. Se agitó una mezcla de 2-cloro-5-nitropiridina (disponible de Aldrich) (100 g, 0,63 mol) y Ni Raney (60 g) en MeOH (500 ml) bajo atmósfera de H₂ de 45 psi a temperatura ambiente durante 5 horas. Se filtró la mezcla de reacción y se evaporó el filtrado a presión reducida proporcionando el compuesto del título bruto, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

(b) 6-Cloropiridin-S-ilcarbamato de terc-butilo. A una disolución de la 6-cloropiridin-3-amina bruta de la etapa anterior en dioxano (800 ml) se le añadió (BOC)₂O a temperatura ambiente y se calentó la disolución resultante a reflujo durante la noche. Se dejó que la mezcla de reacción alcanzara temperatura ambiente y se evaporó a presión reducida. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna dando el compuesto del título.

(c) Ácido 5-(terc-butoxicarbonil)-2-cloroisonicotínico. A una disolución de 6-cloropiridin-3-ilcarbamato de terc-butilo (10 g, 0,045 mol) y N,N,N',N'-tetrametiletilendiamina (20 ml) en dietil éter seco (200 ml) se le añadió n-BuLi (disolución 2,5 M en hexanos, 84 ml) gota a gota con agitación a -78°C. Tras la adición, se calentó la mezcla de reacción hasta -15°C y se agitó la reacción a esta temperatura durante 2 horas. Se enfrió la mezcla hasta -78°C y se burbujó gas CO₂ en la disolución de reacción a -78°C durante 1 hora. Entonces se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche, se enfrió hasta 0°C y se extinguió con agua. Se ajustó el pH de la fase acuosa a pH=3 con HCl 1 N. Se separó la fase orgánica y se extrajo la fase acuosa dos veces con EtOAc. Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre MgSO₄ anhidro y se filtraron. Se evaporó el filtrado a presión reducida y se secó el residuo a vacío dando el compuesto del título.

(d) 5-(terc-Butoxicarbonil)-2-cloroisonicotinato de metilo. A una disolución de ácido 5-(terc-butoxicarbonil)-2-cloroisonicotínico (1 g, 3,7 mmol) en DMF seca (10 ml) se le añadió NaH (suspensión al 60% en aceite mineral, 0,37 g, 9,24 mmol) en pequeñas porciones con agitación y enfriamiento usando un baño de hielo. Tras la adición, se trató la mezcla de reacción con MeI (0,524 ml, 9,24 mmol) gota a gota y entonces se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se vertió la mezcla de reacción en agua y se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Se filtró el precipitado y se secó a vacío proporcionando el compuesto del título como un sólido.

(e) 2-Cloro-5-(metilamino)isonicotinato de metilo. A una disolución de 5-(terc-butoxicarbonil)-2-cloroisonicotinato de metilo (0,5 g, 1,7 mmol) en DCM seco (10 ml) se le añadió TFA (4,4 ml) con agitación y enfriamiento usando un baño de hielo. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas y entonces se evaporó a presión reducida. Se disolvió el residuo en agua y se ajustó la disolución a pH=8 mediante tratamiento con NaHCO₃ saturado. Se extrajo la mezcla dos veces con EtOAc. Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre MgSO₄ anhidro y se filtraron. Se evaporó el filtrado a presión reducida y se secó el residuo a vacío dando el compuesto del título.

(f) Ácido 2-cloro-5-(metilamino)isonicotínico. Se calentó una mezcla de 2-cloro-5-(metilamino)isonicotinato de metilo

(10 g, 0,05 mol) y NaOH 2 N (50 ml) en EtOH (50 ml) a 55°C durante 2 horas. Se enfrió la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y se evaporó la mayor parte del EtOH a presión reducida. Se ajustó el pH del residuo acuoso a pH=3 con HCl 1 N y se filtró el precipitado sólido y se secó a vacío dando el compuesto del título.

5 (g) 6-Cloro-1-metil-1H-pirido[3,4-d][1,3]oxazin-2,4-diona. Se preparó el compuesto del título de manera análoga al método 6(b) a partir de ácido 2-cloro-5-(metilamino)isonicotínico y fosgeno.

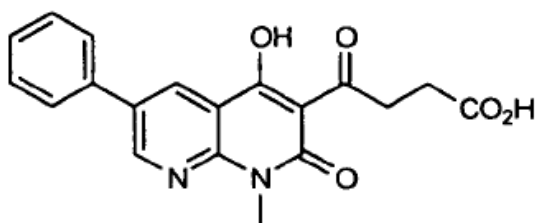
(h) 6-Cloro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,7-naftiridin-3-carboxilato de metilo. Se preparó el compuesto del título de manera análoga al método 6(c) a partir de 6-cloro-1-metil-1H-pirido[3,4-d][1,3]oxazin-2,4-diona y malonato de metilo.

Tabla 1. La siguiente tabla enumera compuestos que se prepararon mediante los métodos descritos anteriormente.

Ej.	Estructura	Nombre	¹ H-RMN (δ ppm)	Método
1		ácido 4-(4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	8,98 (1H, d, J=1,9 Hz), 8,66 (1 H, d, J= 2,0 Hz), 3,59 (3 H, s), 3,43 (2 H t, J= 6,1 Hz), 2, 58 (2H, t, J=6,0 Hz)	2, 4 o 3B
2		ácido 4-(8-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	12,14 (sa, 1H), 8,14 (dd, J=7,92, 1,27 Hz, 1H), 8,09 (d, J=7,63 Hz, 1H), 7,27 (t, J= 7,92 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,45 (t, J=6,36 Hz, 2H), 2,59 (J=6,36 Hz, 2H), 2,59 (J= 6,36 Hz, 2H)	3B
3		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	8,74 (d, J=8,03 Hz, 1H), 7,82 (d, J=8,03 Hz, 1H), 3,63 (s, 3H), 3,48 (t, J=8,0 Hz, 2H), 2,61 (t, J=8,0 Hz, 2H)	3B
4		ácido 4-(7-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	12,16 (sa, 1H), 8,02 (d, J=8,61 Hz, 1H), 7,79 (d, J=1,17 Hz, 1H), 7,52 (dd, J=8,51, 1,47 Hz, 1H), 3,57 (s, 3H), 3,44 (t, J=6,36 Hz, 2H), 2,58 (t, J=6,46 Hz, 2H)	3B
5		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	12,14 (sa, 1H), 8,13 (dd, J=8,02, 1,17 Hz, 1H), 7,77-7,86 (m, 1H), 7,56 (d, J=8,61, 1H), 7,34 (t, J=7,63 Hz, 1H), 3,59 (s, 3H), 3,46 (t, J=6,36 Hz, 2H), 2,59 (t, J=6,36 Hz, 2H)	3B
6		ácido 4-(1-bencil-7,8-difluoro-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	12,18 (s, 1H), 8,04-8,10 (m, 1H), 7,42 (td, J=9,24, 6,80 Hz, 1 H), 7,15-7,35 (m, 5H), 5,55 (s, 2H), 3,46 (t, J=6,36 Hz, 2H), 2,59 (t, J=6,36 Hz, 2H)	3B

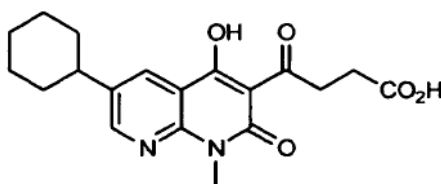
7		ácido 4-(6-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	12,15 (sa, 1H), 8,16 (s, 1H), 7,91-7,98 (s, 1H), 7,53 (d, J=9,54 Hz, 1H), 3,56 (s, 3H), 3,45 (t, J=6,27 Hz, 2H), 2,58 (t, J=6,27 Hz, 2H)	3B
8		ácido 4-(5-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	12,16 (sa, 1H), 8,15 (d, J=2,35 Hz, 1H), 7,95 (dd, J=9,00, 2,35 Hz, 1H), 7,53 (d, J=9,19 Hz, 1H), 3,56 (s, 3H), 3,45 (t, J=6,46 Hz, 2H), 2,59 (t, J=6,36 Hz, 2H)	3B
9		ácido 4-(5,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	12,13 (sa, 1H), 7,63-7,79 (m, 1H), 7,04-7,21 (m, 1H), 3,69 (d, J=9,78 Hz, 3H), 3,44 (t, J=6,36 Hz, 2H), 2,58 (t, J=6,26 Hz, 2H)	3B
10		ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	12,17 (1H, s. a.), 8,04-8,01 (1H, m), 7,44-7,41 (1H, m), 3,74 (3H, d, J=8,6 Hz, 1H), 3,44 (2H, t, J=5,9 Hz), 2,59 (2 t, J=5,9 Hz)	1, 3A o 3B
11		ácido 4-(3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-7-il)benzoico	13,00 (sa, 1H), 12,22 (sa, 1H), 8,22 (d, J=8,53 Hz, 1H), 8,04-8,13 (m, 2H), 7,96-8,04 (m, 2H), 7,80 (s, 1H), 7,71 (d, J=8,53 Hz, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,45-3,52 (m, 2H), 2,60 (t, J=6,02 Hz, 2H)	5

Método 11. Preparación de ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico.



- 5 (a) 4-(4-Hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoato de metilo. Se prepara el compuesto del título mediante la reacción de acoplamiento cruzado de Suzuki mediada por paladio de ácido fenilborónico y 4-(4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoato de metilo (método 4) según el procedimiento expuesto en Miyaura, N.; Suzuki, A. Chem. Rev., 95, 2457-83 (1995). Alternativamente, se prepara el compuesto del título mediante la reacción de acoplamiento de Stille mediada por paladio de tributil(fenil)estano y 4-(4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoato de metilo según el procedimiento expuesto en Stille, J. K. Angew. Chem. Int. Ed. Engl, 25, 508-24 (1986).
- 10 (b) Ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico. Se prepara el compuesto del título mediante saponificación de 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoato de metilo usando hidróxido de sodio en THF.

Método 12. Preparación de ácido 4-(6-ciclohexil-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico.

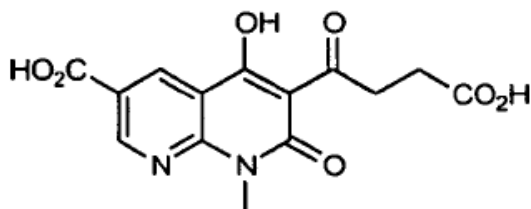


(a) 4-(6-Ciclohexenil-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoato de metilo. Se prepara el compuesto del título mediante reacción de acoplamiento cruzado de Heck mediada por paladio de ciclohexeno y 4-(4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoato de metilo (método 4) según el procedimiento expuesto en Heck, R. F.; Nolley, J.P.J. Org Chem., 37, 2320-22 (1971).

(b) 4-(6-Ciclohexil-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoato de metilo. Se prepara el compuesto del título mediante hidrogenación con negro de paladio en presencia de gas hidrógeno en un disolvente adecuado tal como acetato etilo o etanol.

(c) Ácido 4-(6-ciclohexil-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico. Se prepara el compuesto del título mediante condiciones de saponificación análogas al método 8(b).

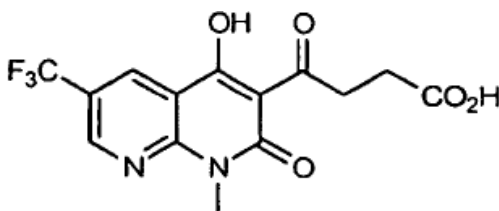
Método 13. Preparación de ácido 6-(3-carboxipropanoil)-5-hidroxi-8-metil-7-oxo-7,8-dihidro-1,8-naftiridin-3-carboxílico.



(a) 5-Hidroxi-6-(4-metoxi-4-oxobutanoil)-8-metil-7-oxo-7,8-dihidro-1,8-naftiridin-3-carboxilato de metilo. Se prepara el compuesto del título mediante carbonilación mediada por metal de 4-(4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoato de metilo (método 4) con monóxido de carbono en MeOH según el procedimiento expuesto en Tsuji, J. Palladium Reagents and catalysts: Innovations in Organic Synthesis Publisher: (Wiley, Chichester, RU), 340-45 (1995).

(b) Ácido 6-(3-carboxipropanoil)-5-hidroxi-8-metil-7-oxo-7,8-dihidro-1,8-naftiridin-3-carboxílico. Se prepara el compuesto del título mediante condiciones de saponificación análogas al método 8(b) usando 5-hidroxi-6-(4-metoxi-4-oxobutanoil)-8-metil-7-oxo-7,8-dihidro-1,8-naftiridin-3-carboxilato de metilo.

Método 14. Preparación de ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(trifluorometil)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico.



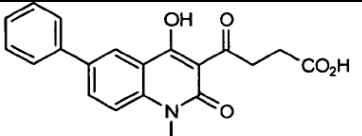
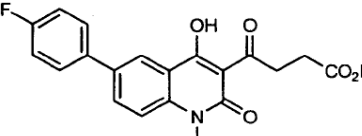
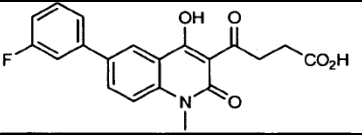
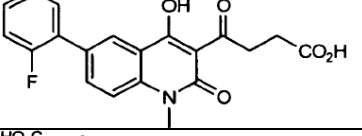
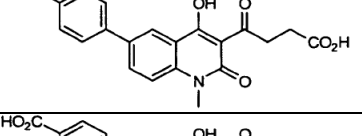
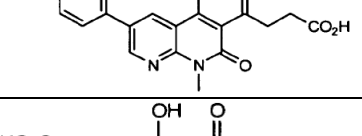
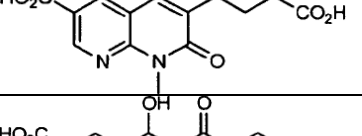
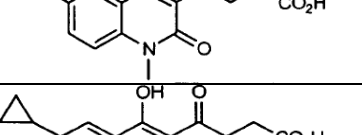
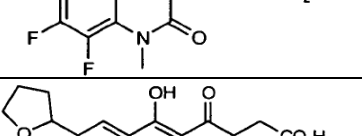
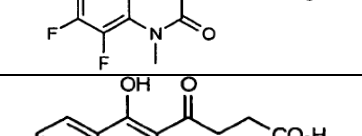
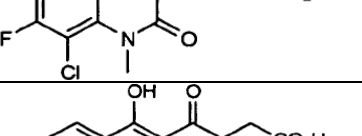
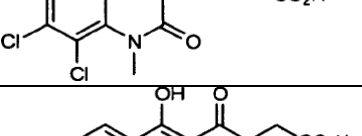
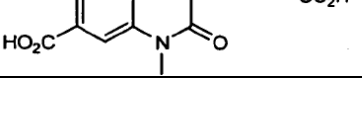
(a) 4-(4-Hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(trifluorometil)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoato de metilo. Se prepara el compuesto del título mediante acoplamiento cruzado mediado por cobre de 4-(4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoato de metilo (método 4) con el supuesto CuCF_3 formado *in situ* mediante reacción de trifluorometiltrimetilsilano y yoduro de cobre según el procedimiento expuesto en Shreeve, J.M. Tetrahedron, 56, 7613-7632 (2000).

(b) Ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(trifluorometil)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico. Se prepara el compuesto del título mediante condiciones de saponificación análogas al método 8(b).

Tabla 2. La siguiente tabla enumera compuestos que se preparan mediante los métodos descritos anteriormente.

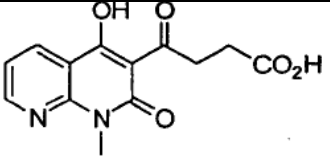
Ej.	Estructura	Nombre	PM	Método
-----	------------	--------	----	--------

12		ácido 4-(6-ciclohexil-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	358	2, 4, 12
13		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	352	2, 4, 11
14		ácido 4-(6-(4-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	370	2, 4, 11
15		ácido 4-(6-ciclopentil-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	344	2, 4, 12
16		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidrofuran-2-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	346	2, 4, 12
17		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidrofuran-3-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	346	2, 4, 12
18		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	360	2, 4, 12
19		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	360	2, 4, 12
20		ácido 4-(6-(2-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	370	2, 4, 11
21		ácido 4-(6-(3-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	370	2, 4, 11
22		ácido 4-(4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	401	7, 3B
23		ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	437	1, 3B

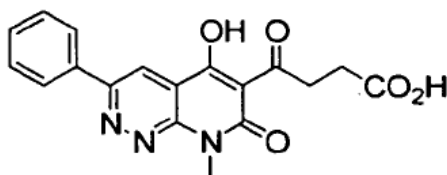
24		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	351	7, 3B, 11
25		ácido 4-(6-(4-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	369	7, 3B, 11
26		ácido 4-(6-(3-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	369	7, 3B, 11
27		ácido 4-(6-(2-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	369	7, 3B, 11
28		ácido 4-(3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	395	7, 3B, 11
29		ácido 4-(6-(3-carboxipropanoil)-5-hidroxi-8-metil-7-oxo-7,8-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)benzoico	396	7, 5, 11
30		ácido 6-(3-carboxipropanoil)-5-hidroxi-8-metil-7-oxo-7,8-dihidro-1,8-naftiridin-3-carboxílico	320	2, 4, 13
31		ácido 3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-6-carboxílico	319	7, 4, 13
32		ácido 4-(6-ciclopropil-7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	351	1, 3B, 11
33		ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidrofuran-2-il)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	381	1, 3B, 12
34		ácido 4-(8-cloro-7-fluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	327	1, 3B
35		ácido 4-(7,8-dicloro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	344	1, 3B
36		ácido 3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-7-carboxílico	319	8, 3B, 13

37		ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidrofuran-3-il)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	381	1, 3B, 12
38		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	343	8, 3B
39		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-fenil-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	351	8, 3B, 11
40		ácido 3-(3-carboxipropanoil)-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-6-carboxílico)	355	1, 3B, 11
41		ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	387	1, 3B, 11
42		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-7-(trifluorometil)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	419	8, 7, 3B, 11
43		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(tiofen-2-il)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	357	8, 3B, 11
44		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(tiofen-3-il)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	357	8, 3B, 11
45		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tiofen-2-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	358	2, 3B, 11
46		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tiofen-3-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	358	2, 3B, 11
47		ácido 4-(6-ciclopropil-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	383	8, 7, 3B, 11
48		ácido 4-(1-bencil-7-bromo-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	430	8, 3B

49		ácido 4-(1-bencil-4-hidroxi-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	420	6, 3B
50		ácido 4-(1-bencil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico	351	7, 8, 3B
51		ácido 4-(1-bencil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	352	7, 8, 3B, 12(b)
52		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(trifluorometil)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	344	2, 3B, 14
53		ácido 4-(7-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	355	9, 3B
54		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	276	9, 3B, 12(b)
55		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(tiofen-2-il)-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	358	9, 3B, 11
56		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(tiofen-3-il)-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	358	9, 3B, 11
57		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,7-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	276	10, 3B, 12(b)
58		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidro-1,7-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	352	10, 3B, 11
59		ácido 3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,7-naftiridin-6-carboxílico	320	10, 3B, 13

60		ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico	276	2, 12(b) 3B,
----	---	--	-----	--------------

Método 15. Preparación de ácido 4-(5-hidroxi-8-metil-7-oxo-3-fenil-7,8-dihidropirido[2,3-c]piridazin-6-il)-4-oxobutanoico.

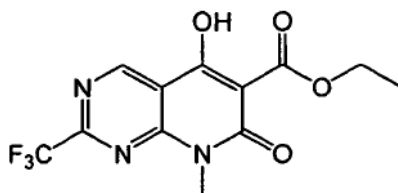


- (a) 3,6-Dicloropiridazin-4-carboxilato de etilo. A una disolución de ácido 3,6-dicloropiridazin-4-carboxílico (5,0 g, 26 mmol, comercialmente disponible de Aldrich, Milwaukee, WI) en THF (5,0 ml) y EtOH (5,0 ml, 26 mmol) se le añadió DMAP (0,32 g, 2,6 mmol) y clorhidrato de n-(3-dimetilaminopropil)-n'-etilcarbodiimida (5,0 g, 28 mmol). Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 12 horas. Se eliminó el disolvente a presión reducida proporcionando un aceite. Se repartió el aceite entre EtOAc y agua y se combinaron los extractos orgánicos, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron proporcionando un aceite de color amarillo. Se purificó el producto bruto mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (EtOAc al 10%/hexano) proporcionando un aceite incoloro. EM (ESI) m/z: Calculado: 221,0; Observado: 221,0. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,85 (s, 1 H), 4,48 (q, J= 7,24 Hz, 2 H), 1,44 (t, J=7,24 Hz, 3 H).
- (b) 6-Cloro-3-(metilamino)piridazin-4-carboxilato de etilo. A un tubo sellado se le añadió 3,6-dicloropiridazin-4-carboxilato de etilo (2,0 g, 9 mmol), K₂CO₃ anhidro (1,0 g, 10 mmol) y MeNH₂ 2,0 M en THF (6 ml, 12 mmol). Se selló el tubo, se agitó la mezcla de color amarillo resultante a temperatura ambiente durante 16 horas y entonces se recogieron los sólidos mediante filtración y se lavaron con EtOAc proporcionando un sólido de color blanco. EM (ESI) m/z: Calculado: 215,6; Observado: 216,1.
- (c) 6-Cloro-3-(3-etoxi-N-metil-3-oxopropanamido)piridazin-4-carboxilato de etilo. A una mezcla de 6-cloro-3-(metilamino)piridazin-4-carboxilato de etilo (1,6 g, 7,4 mmol) y K₂CO₃ anhidro (1,3 g, 9,6 mmol) en THF (50,0 ml) se le añadió gota a gota éster etílico del ácido 3-cloro-3-oxo-propanoico, (1,1 ml, 8,9 mmol, comercialmente disponible de Aldrich, Milwaukee, WI). Tras agitar la reacción a temperatura ambiente durante 16 horas, se eliminaron los sólidos mediante filtración y se concentró el filtrado proporcionando un aceite oscuro. Se purificó el producto bruto mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (EtOAc al 40%/hexano) proporcionando un aceite de color amarillo. EM (ESI) m/z: Calculado: 329,7; Observado: 330,0.
- (d) 3-Cloro-6-(etoxicarbonil)-8-metil-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-c]piridazin-5-olato de sodio. A una disolución helada de EtOH (5,0 ml) se le añadieron pequeños trozos de metal de sodio (0,17 g, 7,3 mmol). Se retiró el baño de hielo y se agitó la mezcla a temperatura ambiente hasta que el sodio ya no era visible. Se transfirió gota a gota la disolución de NaOEt a una disolución de 6-cloro-3-(3-etoxi-N-metil-3-oxopropanamido)piridazin-4-carboxilato de etilo (1,2 g, 3,6 mmol) en EtOH (3 ml). Tras completarse la adición, se agitó la mezcla durante 2 minutos adicionales, y entonces se recogieron los sólidos mediante filtración y se lavaron con éter. EM (ESI) m/z: Calculado: 283,7; Observado: 284,0. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7,84 (s, 1 H), 4,06 (q, J=7,16 Hz, 2 H), 3,54 (s, 3 H), 1,19 (t, J=7,16 Hz, 3 H).
- (e) 5-Hidroxi-8-metil-7-oxo-3-fenil-7,8-dihidropirido[2,3-c]piridazin-6-carboxilato de etilo. En un tubo sellado se combinaron 3-cloro-6-(etoxicarbonil)-8-metil-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-c]piridazin-5-olato de sodio (0,50 g, 1,8 mmol), ácido fenilborónico (3,5 mmol, comercialmente disponible de Aldrich, Milwaukee, WI), Pd(PPh₃)₄ (0,20 g, 0,18 mmol), Na₂CO₃ ac. 2,0 M (2,6 ml, 5,3 mmol) y 1,2-dimetoxietano (10,0 ml, 1,8 mmol). Se purgó el tubo con argón, se selló y entonces se calentó en un baño de aceite a 100°C durante 16 horas. Se adsorbió la mezcla de reacción bruta sobre sílice y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (MeOH del 5% al 20%/CHCl₃).
- (f) 5-Hidroxi-8-metil-3-fenilpirido[2,3-c]piridazin-7(8H)-ona. Se prepara el compuesto del título calentando 5-hidroxi-8-metil-7-oxo-3-fenil-7,8-dihidropirido[2,3-c]piridazin-6-carboxilato de etilo en ácido clorhídrico según el procedimiento del método 3A.
- (g) 8-Metil-7-oxo-3-fenil-7,8-dihidropirido[2,3-c]piridazin-5-il-succinato de etilo. Se prepara el compuesto del título mediante acilación de 5-hidroxi-8-metil-3-fenilpirido[2,3-c]piridazin-7(8H)-ona con 4-cloro-4-oxobutanoato de etilo según lo descrito en el método 4 (etapa b).
- (h) 4-(5-Hidroxi-8-metil-7-oxo-3-fenil-7,8-dihidropirido[2,3-c]piridazin-6-il)-4-oxobutanoato de etilo. Se preparan los compuestos del título mediante reorganización de 8-metil-7-oxo-3-fenil-7,8-dihidropirido[2,3-c]piridazin-5-il-succinato

de etilo usando acetato de sodio según los procedimientos de la bibliografía. Alternativamente, se prepara el compuesto del título mediante reorganización de 8-metil-7-oxo-3-fenil-7,8-dihidropirido[2,3-c]piridazin-5-il-succinato de etilo usando cloruro de amonio según lo descrito en el método 4 (etapa c).

- 5 (i) Ácido 4-(5-hidroxi-8-metil-7-oxo-3-fenil-7,8-dihidropirido[2,3-c]piridazin-6-il)-4-oxobutanoico. Se prepara el compuesto del título mediante saponificación de 4-(5-hidroxi-8-metil-7-oxo-3-fenil-7,8-dihidropirido[2,3-c]piridazin-6-il)-4-oxobutanoato de etilo usando hidróxido de litio según lo descrito en el método 4 (etapa d).

Método 16. Preparación de 5-hidroxi-8-metil-7-oxo-2-(trifluorometil)-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-6-carboxilato de etilo.



- 10 (a) 4-(Metilamino)-2-(trifluorometil)pirimidin-5-carboxilato de etilo. Se agitó una mezcla de 4-cloro-2-(trifluorometil)pirimidin-5-carboxilato de etilo (1 g, 4 mmol, comercialmente disponible de Maybridge), K_2CO_3 (2 g, 12 mmol) y metilamina (disolución 2,0 M en THF (20 ml)) a temperatura ambiente durante la noche. Se filtró la mezcla de reacción a través de Celite y se concentró a presión reducida dando el producto bruto como un sólido de color melocotón claro. EM m/z: Calculado: 249,19; Observado; 250.
- 15 (b) 4-(3-Etoxi-N-metil-3-oxopropanamido)-2-(trifluorometil)pirimidin-5-carboxilato de etilo. A una disolución de 4-(metilamino)-2-(trifluorometil)pirimidin-5-carboxilato de etilo (200 mg, 0,80 mmol) en DCM (10 ml) se le añadieron malonilcloruro de etilo (0,21 ml, 1,6 mmol) y una suspensión de cianuro de plata (0,027 ml, 0,8 mmol) en ACN (10 ml). Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 10 días. Se añadió otro equivalente de $AgCN$ y se añadió 1 ml de malonilcloruro de etilo y se calentó la reacción a reflujo y se agitó durante 3 días. Se separó por filtración el sólido y se concentró el filtrado dando un aceite de color naranja. El rendimiento fue de aproximadamente el 48% tal como se determinó mediante CLEM. Se usó el producto en la siguiente etapa sin purificación adicional.
- 20 (c) 5-Hidroxi-8-metil-7-oxo-2-(trifluorometil)-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-6-carboxilato de etilo. Se diluyó 4-(3-etoxi-N-metil-3-oxopropanamido)-2-(trifluorometil)pirimidin-5-carboxilato de etilo (140 mg, 0,39 mmol) en EtOH (10 ml) y entonces se trató con $NaOEt$ al 20% en peso (5 ml, 0,39 mmol) a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se filtró un precipitado de color amarillo y se recuperó parte del sólido pero el filtrado estaba turbio. Se añadió $AcOH$ al filtrado que entonces se concentró a presión reducida dando un sólido aceitoso. Se añadió éter y se lavó la mezcla con agua y salmuera y entonces se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró a presión reducida dando un aceite de color amarillo. Se usó el producto en la siguiente etapa sin purificación adicional.
- 25

Tabla 3. La siguiente tabla enumera compuestos que se preparan mediante los métodos descritos anteriormente.

Ej.	Estructura	Nombre	PM	Método
61		ácido 4-(5-hidroxi-8-metil-7-oxo-3-fenil-7,8-dihidropirido[2,3-c]piridazin-6-il)-4-oxobutanoico	353	15
62		ácido 4-(5-hidroxi-8-metil-7-oxo-2-(trifluorometil)-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidin-6-il)-4-oxobutanoico	345	3B, 16

- 30 Los siguientes son ejemplos de métodos que pueden usarse para cuantificar la actividad de HIF PHD y la inhibición de la actividad de HIF PHD por compuestos de la presente invención.

Expresión, purificación y marcaje con europio de VCB y diseño de un ensayo de TR-FRET basado en Eu-VCB para la detección de péptidos de hidroxiprolil HIF1 α

- 35 El complejo de VCB se define como el complejo heterotrimérico de proteína de Von Hippel-Lindau (pVHL), elongina B y elongina C. VCB se une específicamente a residuos de hidroxiprolina de HIF1 α , iniciando la poliubiquitinilación de HIF1 α y su posterior destrucción proteolítica. En ausencia de actividad de prolil hidroxilasa, VCB no se une a

HIF1 α no modificado. Se expresó el complejo de VCB en *E. coli* y se purificó a partir de la fracción soluble. Las secuencias de aminoácidos de los tres componentes proteicos son las siguientes:

VHL (aminoácidos 54-213)

5 MHHHHHHEAGRPRPVLRVNSREPSQVIFCNRSRVLVPLVWLNFDGEPQPYPTLPPGTGRRHSYRGHLWLFDRDAG
THDGLLVNQTELFVPSLVNDGQPIFANITLPVYTLKERCLQVVRSLVKPENYRRLDIVRSLYEDLEDHPNVQKDLERLT
QERIAHQRMGD (SEQ ID NO: 1)

Elongina B

MDVFLMIRRHKTITFTDAKESSTVFELKRIVEGILKRPPDEQRLYKDDQLDDGKTLGECGFTSQTARPPQAPATVGLAF
RADDTFEALCIEPFSSPPELPDVMKPQDSGSSANEQAVQ* (SEQ ID NO: 2)

10 Elongina C (aminoácidos 17-112)

MYVKLISSDGHEFIVKREHALTSGTIKAMLSGPGQFAENETNEVNFREIPSHVLSKVCMYFTYKVRYSSTEIPEFP
PEIALELLMAANFLDC (SEQ ID NO: 3)

El extremo N-terminal de VHL contiene una etiqueta de afinidad de seis histidinas para fines de purificación.

15 Un ensayo basado en VCB permite una medición directa y altamente sensible de la formación de producto
enzimático (proteína HIF1 α o fragmentos de la misma que contienen un residuo de prolina hidroxilado) y es
adecuado para selección de alto rendimiento.

20 Para la expresión en *E. coli*, se clonó VHL 54-213 en pAMG21 (promotor Plux) entre el sitio NdeI-XhoI.
Inmediatamente en el sentido de 3' de esto, está el gen de elongina C clonado en el sitio XhoI hasta SacII. Hay un
espaciador de 13 pb entre el codón de terminación de VHL y el codón de iniciación de elongina C. El plásmido de
expresión pAMG21 es un plásmido de 6118 pares de bases que se derivó del vector de expresión pCFM1656
(ATCC n.º 69576), que a su vez puede derivarse del sistema de vectores de expresión descrito en la patente
estadounidense n.º 4.710.473. Este diseño permite la inducción química en vez de térmica de la expresión de
proteína mediante la sustitución de la región promotora, reemplazando un promotor de bacteriófago lambda pl
sintético por un segmento de ADN que contiene el gen de LuxR y el promotor LuxPR, y permite la regulación de la
25 expresión por la proteína LuxR codificada por el plásmido, permitiendo de ese modo que cualquier cepa de *E. coli*
sirva como huésped.

30 Se clonó elongina B en pTA2 (vector basado en pACYC 184.1) bajo el control de un promotor Lac. Se transformaron
células de *E. coli* competentes con el constructo pAMG21-VHL-elongina C. Se hicieron competentes de nuevo estas
células de *E. coli* antes de la transformación con el constructo pTA2-elongina B para producir la cepa de *E. coli* final
que contiene ambos constructos de plásmido. Se inició la inducción de la expresión de proteína mediante la adición
de IPTG y N-(3-oxo-hexanoil)-homoserina lactona (HSL) a 30°C.

35 Se lisaron las células bacterianas en un microfluidizador en tampón acuoso de pH 8,0 y se separó la fracción soluble
mediante centrifugación. Se sometió la fracción de *E. coli* soluble a cromatografía de quelación de níquel-NTA
utilizando la etiqueta de afinidad de seis histidinas ubicada en el constructo pVHL. Se aplicaron las fracciones
agrupadas de la columna de níquel a una columna de cromatografía de exclusión molecular Superdex 200 (SEC). La
proteína eluyó como un monómero en SEC, lo que indica que los tres componentes proteicos formaban un complejo
en disolución. Se agruparon las fracciones de la columna de SEC y se aplicaron a una columna de intercambio
aniónico de Q Sepharose para su purificación final. Se visualizó el complejo purificado mediante SDS-PAGE y se
confirmaron las identidades de los tres componentes proteicos mediante secuenciación de los aminoácidos N-
40 terminales.

Se intercambió VCB purificada en tampón carbonato de sodio 50 mM pH 9,2 y se marcó con un quelato de europio
durante la noche. Se usó el quelato de europio LANCE™ (PerkinElmer, Inc; quelato Eu-W1024 ITC; el número de
catálogo es AD0013) para marcar los residuos de lisina del complejo de VCB. El quelato contiene un grupo reactivo
isotiocianato que marca específicamente proteínas en residuos de lisina (hay quince residuos de lisina en el
45 complejo de proteína VCB). Se purificó la VCB europilada resultante mediante columnas de desalación y se
cuantificó por medios convencionales. Se determinó que el rendimiento de marcaje era de 6,6 grupos europio por un
complejo de VCB.

Se produjeron dos péptidos por SynPep, Inc.: un péptido modificado con hidroxiprolina y un péptido control no
modificado. Se esperaba que VCB se uniese específicamente al péptido modificado con hidroxiprolina (una imitación
50 de la hidroxilación enzimática por prolil hidroxilasa). No se esperaba que VCB se uniese al péptido no modificado. Se
produjeron ambos péptidos con un grupo biotina en el extremo N-terminal para permitir la unión mediante el aceptor
fluorescente marcado con estreptavidina alofocianina (estreptavidina APC; Prozyme, Inc.).

La secuencia de los péptidos de HIF1 α sintetizados a la medida (aminoácidos 556-575, con residuos de metionina
reemplazados por residuos de alanina para evitar la oxidación) eran las siguientes:

(no modificado) biotina-DLDLEALAPYIPADDDFQLR-CONH₂ (SEQ ID NO: 4)

(modificado) biotina-DLDLEALA[hyP]YIPADDDFQLR-CONH₂ (SEQ ID NO: 5)

Se adquirieron los péptidos de SynPep como sólidos liofilizados y se suspendieron en DMSO para uso experimental. Se cuantificaron los péptidos según su absorbancia a 280 nm.

5 Se realizaron los experimentos en placas de poliestireno Costar de 96 pocillos. Se suspendieron péptidos biotinilados y VCB europilada en el siguiente tampón: HEPES 100 mM 7,5, NaCl 0,1 M, BSA al 0,1% y Tween 20 al 0,05%. Se permitió que los reactivos alcanzaran el equilibrio agitando durante 1 hora antes de que se leyera las placas en el instrumento Discovery (Packard). La salida de datos es la razón de señal de emisión a 665 nm y 620 nm que resulta de la excitación a 320 nm.

10 Tal como se muestra en la figura 1, la interacción específica de VCB europilada con el péptido de HIF1 α modificado con hidroxiprolina acoplado a estreptavidina APC generó una señal de fluorescencia detectable con respecto a la señal de fondo. Estos resultados demuestran una señal de fluorescencia generada por la interacción específica de Eu-VCB con péptido de hyp-HIF1 α . Cada barra representa los datos de un único pocillo de una placa de ensayo de 96 pocillos. Se calculó la razón de señal con respecto a fondo a partir de los datos de una placa control (péptido no modificado). Se tituló la concentración de Eu-VCB a través de las filas (nM) y se titularon las concentraciones de estreptavidina APC en las columnas. Se fijó la concentración de péptido a 100 nM.

Detección de hidroxiprolil HIF-1 α convertida enzimáticamente mediante HIF PHD2 e inhibición de la actividad de HIF PHD2

20 Se validó la unión del péptido P564-HIF1 α a VCB utilizando la tecnología de FRET de resolución temporal (TR-FRET) homogénea. Se sintetizó internamente un péptido de 17 aminoácidos (17 aa) con un extremo N-terminal marcado con una molécula de biotina correspondiente a las secuencias de aminoácidos 558 a 574 de la proteína HIF1 α proteína (DLEMLAPYIPMDDDFQL (SEQ ID NO: 6)). Se generó químicamente un segundo péptido de 17 aa que contenía una prolina hidroxilada en la posición 564 para imitar la forma de producto convertido por la enzima PHD de la proteína que se reconoce por VCB. Se realizó el ensayo en un volumen final de 100 μ l en tampón que contenía Tris-HCl 50 mM (pH 8), NaCl 100 mM, FBS inactivado por calor al 0,05%, Tween-20 al 0,05% y NaN₃ al 0,5%. Se determinó la señal óptima con respecto al fondo y el intervalo lineal de detección titulando el péptido hidroxilado o no hidroxilado a concentraciones variadas entre 0 y 1 μ M con una titulación de VCB-Eu a concentraciones variables entre 0 y 50 nM con 50 nM de estreptavidina APC. Se permitió que los reactivos de unión alcanzaran el equilibrio agitando durante 1 hora antes de que se leyera en el instrumento Discovery (Packard). La salida de datos es la razón de la señal de emisión a 665 nm y 620 nm resultante de la excitación a 320 nm.

35 Se detectó la actividad de HIF PHD2 mediante la unión del péptido P564-HIF1 α y VCB en el formato de TR-FRET. Se sometió a ensayo HIF PHD2 a diversas concentraciones entre 0 y 400 nM con péptido de HIF1 α 3 μ M en tampón que contenía Tris-HCl 50 mM (pH 7,5), NaCl 100 mM, Tween 20 al 0,05%, 2-oxoglutarato 2 mM (2-OG), ácido ascórbico 2 mM y FeCl₂ 100 μ M en un volumen final de 100 μ l. Se determinó el transcurso de tiempo transfiriendo periódicamente 2,5 μ l de la reacción a 250 μ l de tampón de TR-FRET 10x que contenía HEPES 500 mM (pH 7,5), NaCl 1 M, BSA al 1% y Tween-20 al 0,5% para terminar la reacción enzimática. Se añadió péptido de HIF-1 α 15 nM a partir de la reacción terminada a estreptavidina-APC 35 nM y VCB-Eu 10 nM hasta un volumen final de 100 μ l en tampón de TR-FRET 10X. Se colocaron los reactivos de TR-FRET en un agitador durante 1 hora antes de la detección en la plataforma Discovery.

40 Tal como se demuestra en las figuras 2A y 2B, hubo un aumento dependiente de la dosis en la señal de TR-FRET resultante de la unión del péptido P564-HIF1 α hidroxilado a VCB-Eu en comparación con la forma no hidroxilada del péptido dando como resultado una razón de señal con respecto a ruido de 14 veces a péptido de HIF1 α 125 nM. La unión de VCB al péptido unido a APC permite una transferencia FRET entre el Eu y APC. La señal era lineal hasta péptido 2 nM con VCB 3,125 nM, pero aumenta hasta péptido 62,5 nM con VCB 50 nM dando como resultado un intervalo lineal más grande.

45 La detección mediante TR-FRET utilizando VCB marcada con Eu es un sistema práctico para determinar la actividad catalítica de HIF PHD2. La hidroxilación por HIF PHD2 del péptido de HIF1 α da como resultado el aumento de afinidad de VCB por el péptido y por tanto una señal de FRET aumentada. Tal como se muestra en las figuras 3A y 3B, se verificó la actividad con una señal de TR-FRET creciente y casi lineal a lo largo del tiempo. Hubo un aumento dependiente de la dosis en las tasas iniciales con una concentración de enzima HIF PHD2 creciente hasta 400 nM. Las tasas lineales eran lineales hasta enzima 100 nM.

50 Se cuantificó la inhibición de la actividad de HIF PHD2 utilizando la tecnología de TR-FRET. HIF PHD2 cataliza una modificación con hidroxilo en el residuo de prolina del sustrato peptídico P564-HIF1 α (biotina-DLEMLAPYIPMDDDFQL (SEQ ID NO: 7)) dando como resultado el reconocimiento y la unión del complejo heterotrimérico de proteína de Von Hippel-Lindau (pVHL) europilada, elongina B y elongina C (VCB-Eu).

Se ejecutó el ensayo de inhibición de PHD2 mediante la adición de FeCl₂ recién disuelto hasta 178,57 μ M

(concentración final de 100 μ M) en tampón de reacción de PHD2 que contenía MES 30 mM, pH 6, NaCl 10 mM, Brij-35 al 0,25%, BSA al 0,01% y DMSO al 1%. Se añadieron 28 μ l de la disolución de hierro y 2 μ l de compuestos inhibidores diluidos en serie en DMSO al 100% (DMSO al 5% final) a placas de microtitulación de 96 pocillos de polipropileno negras. A eso, se añadieron 10 μ l de PHD2 10 nM (2 nM final) a todos los pocillos de la placa excepto para los 8 pocillos de la columna 12 (control LO), y se permitió incubar a temperatura ambiente en el agitador durante una hora. La columna 6 era el control HI que contenía enzima PHD2 y vehículo de DMSO al 5%, pero no compuesto inhibidor. Para iniciar la reacción enzimática de PHD2, se añadieron a todos los pocillos de la placa 10 μ l de una disolución que contenía péptido P564-HIF1 α 500 nM (100 nM final), ácido ascórbico 10 mM (2 mM final) y 2-oxoglutarato 1,25 μ M (α -cetoglutarato; 0,25 μ M final) en tampón de reacción de PHD2 y se permitió incubar en el agitador a temperatura ambiente durante una hora.

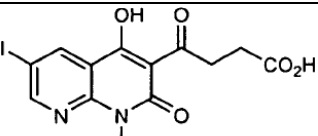
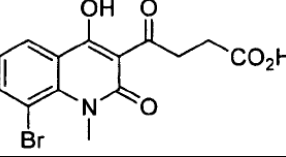
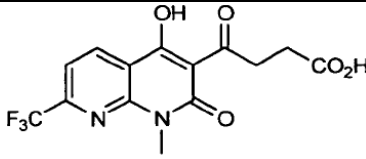
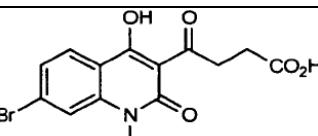
Se terminó la reacción mediante la adición de 25 μ l de tampón de TR-FRET (TRIS-HCl 50 mM, pH 9, NaCl 100 mM, BSA al 0,05% y Tween-20 al 0,5%) que contenía succinato 150 mM (inhibidor de producto; 50 mM final), estreptavidina-APC 75 nM (25 nM final) y VCB-Eu 7,5 nM (2,5 nM final). Se colocaron los reactivos de detección de TR-FRET en un agitador durante 1 hora para alcanzar el equilibrio de unión antes de la lectura en la plataforma Discovery (PerkinElmer). El europio se excita a 315 nm y emite fosforescencia a 615 nm con un desplazamiento de Stoke grande. APC, a su vez, emite a 655 nm tras la excitación a 615 nm. Se mide la señal de TR-FRET como la razón de la señal a 655 nm de APC dividida entre la señal de emisión a 615 nm de referencia de europio interno.

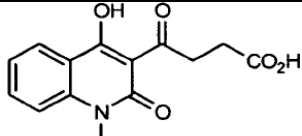
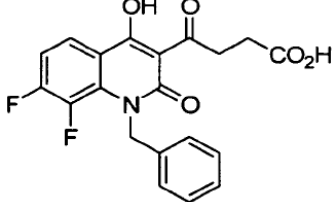
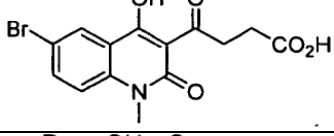
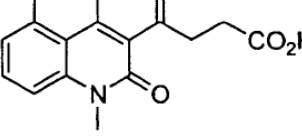
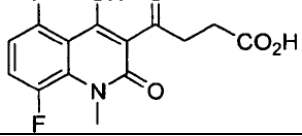
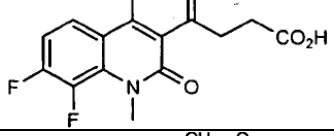
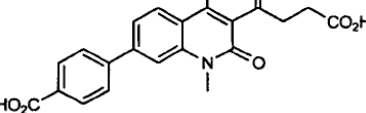
Se determinó el POC (porcentaje del control) comparando la señal del sustrato peptídico hidroxilado en la reacción enzimática que contenía compuesto inhibidor con la de la enzima PHD2 con vehículo de DMSO solo (control HI), y sin enzima (control LO). Se calculó el POC usando la fórmula: % del control (POC) = (comp. – LO promedio) / (HI promedio – LO promedio) * 100. Se ajustaron los datos (que consisten en la concentración de POC e inhibidor en μ M) a una ecuación de 4 parámetros ($y = A + ((B-A) / (1 + ((x/C)^D)))$), en la que A es el valor de y mínimo (POC), B es la y máxima (POC), C es la x (concentración de comp.) en el punto de inflexión y D es el factor de pendiente) usando un algoritmo de regresión no lineal de Levenburg-Marquardt.

En determinadas realizaciones, los compuestos de la presente invención presentan un valor de CI_{50} de actividad inhibidora de HIF PHD de 40 μ M o menos. En realizaciones adicionales, los compuestos de la presente invención presentan un valor de CI_{50} de actividad inhibidora de HIF PHD de 10 μ M o menos y, en realizaciones adicionales, los compuestos de la presente invención presentan un valor de CI_{50} de actividad inhibidora de HIP PHD de 5 μ M o menos.

La siguiente tabla incluye valores de CI_{50} de PHD2 obtenidos usando los procedimientos expuestos en el presente documento para diversos compuestos de los ejemplos descritos en el presente documento.

Tabla 4. Valores de CI_{50} de PHD2 de compuestos de los ejemplos

Ejemplo	Estructura	CI_{50} de PHD2 (μ M)
1		0,208
2		0,775
3		0,0645
4		0,0649

5		0,566
6		0,135
7		0,309
8		0,343
9		0,779
10		0,285
11		0,0114

Actividad de colágeno prolil hidroxilasa I y II determinada mediante medición de HPLC radiométrica de la conversión de 2-oxoglutarato en ácido succínico

Se obtuvieron valores de CI_{50} de los compuestos de ejemplo con respecto a colágeno prolil hidroxilasa I (CPH1) y colágeno prolil hidroxilasa II (CPH2) usando los métodos de ensayo descritos a continuación. Sorprendentemente, la sustitución de un N de amida en la cadena lateral de la molécula por un átomo de C potenció altamente la selectividad de los compuestos de ejemplo para PHD2 con respecto a CPH1 y CPH2.

Se establecieron las condiciones de ensayo en estudios separados para definir la dependencia de ditioneitol (DTT), ascorbato y catalasa, y para definir la linealidad de la reacción y los valores de K_m para 2-oxoglutarato (2-OG; PerkinElmer LAS, Shelton, CT o Moravek Biochemicals, Brea, CA), $FeSO_4$ y péptido (Pro-Pro-Gly)₁₀ (PPG₁₀; Peptides International, Louisville, KY). La linealidad era evidente hasta al menos el 40% de conversión pero normalmente las reacciones no superaron el 30% de conversión de 2-OG en ácido succínico (SA). El producto de inhibición no era evidente. Se disolvieron los compuestos y se diluyeron en serie en DMSO al 100% para la determinación de la potencia. El tampón de ensayo consistía en Tris-HCl, pH 7,5, DTT 0,2 mM y catalasa 0,5 mg/ml. Se disolvió el péptido PPG₁₀ en ácido acético al 0,25% y se desnaturizó mediante ebullición durante 5 minutos, entonces se colocó sobre hielo durante 5 minutos. Entonces se mezcló previamente el PPG₁₀ desnaturizado con ascorbato 1 M, preparado en agua, y se diluyó la mezcla con tampón de ensayo para producir una disolución de trabajo de péptido 5X y ascorbato. Se disolvió de manera reciente $FeSO_4$ en agua y se diluyó hasta una concentración 2,8X en tampón de ensayo. Se diluyeron disoluciones madre de enzima hasta una concentración 5X en tampón de ensayo. Se mezclaron compuestos de ejemplo más disolución de $FeSO_4$, seguido por la adición de disoluciones de enzima 5X. Tras 10 minutos de mezclado suave a temperatura ambiente, se añadió la disolución de péptido 5X. Tras otros 10 minutos de mezclado suave a temperatura ambiente, se añadió una disolución madre 5X de 2-OG para iniciar la reacción. Las concentraciones finales en el ensayo eran: Tris-HCl 50 mM, pH 7,5, DTT

0,2 mM, catalasa 0,5 mg/ml, FeSO₄ 10 μ M, PPG₁₀ 100 μ M, 5-[¹⁴C]-2-oxoglutarato 50 μ M (23-37 cpm/pmol), ascorbato 1 mM y DMSO al 4%. Se mezclaron suavemente las reacciones a temperatura ambiente durante 1 hora y se terminaron mediante la adición de un volumen igual de H₂SO₄ 0,02 N. A menos que se indique lo contrario, se obtuvieron todos los reactivos de Sigma y era de la mayor calidad disponible.

- 5 Se autoinyectó una porción de cada reacción terminada en una columna Polypore H (PerkinElmer, Waltham, MA) a una velocidad de 0,3 ml/min. con H₂SO₄ 0,01 N como fase móvil. El método de HPLC empleado aprovecha la diferencia de pKa de los carboxilatos de 2-OG y SA para separar cromatográficamente el sustrato del producto a pH bajo en una resina de intercambio iónico, tal como describen Cunliffe *et al* (Biochem J., 240, 617-619 (1986)) y Kaule y Gunzler (Anal. Biochem., 184, 291-297 (1990)). Se usó un sistema de HPLC 1100 de Agilent con bombas
- 10 cuaternarias dobles, válvula de cambio de columna y columnas dobles para resolver el producto del sustrato. El detector de longitud de onda múltiple 1100 de Agilent indicó la absorción UV de los picos de sustrato y producto a 210 nm y un detector de radiación Beta-RAM Model 2 con cóctel de centelleo In-Flow 2:1 (IN/US Systems Inc.) permitió la cuantificación de los 2 picos radiactivos. Se usó el software Laura Lite (IN/US, Tampa, FL) para recoger y analizar los datos radiométricos. Se convirtieron las mediciones de AUC en recambio en porcentaje de 2-OG. Para
- 15 estandarizar entre estudios, se normalizó la conversión de 2-OG con respecto a los valores de porcentaje del control (POC) usando reacciones que carecían de enzima o inhibidor como controles bajo y alto, respectivamente. Se ajustaron los datos de POC al modelo logístico de cuatro parámetros ($A + ((B-A)/(1 + ((x/C)^D)))$) usando ActivityBase (IDBS, Alameda CA) en el que A es el valor de POC mínimo, B es el valor de POC máximo, D es el factor de pendiente y C es la concentración de compuesto en el punto de identificación (CI₅₀, micromolar).

20 Clonación y expresión de enzimas CPH1 y CPH2

- Se usó el sistema de vector de expresión de baculovirus (BEVS) de Invitrogen para expresar colágeno prolil 4-hidroxilasa (CPH) en células de insecto *Trichoplusia ni*. La colágeno prolil 4-hidroxilasa activa es una proteína oligomérica que existe como un tetrámero $\alpha_2\beta_2$. Las subunidades alfa incorporadas en el tetrámero pueden ser o bien colágeno prolil 4-hidroxilas α_1 (secuencia de referencia de GenBank NM_000917) o colágeno prolil 4-hidroxilasa α_2 (secuencia de referencia de GenBank NM_004199). La subunidad beta, colágeno prolil 4-hidroxilasa β (secuencia de referencia de GenBank NM_000918), es común para ambas formas del tetrámero. Se clonaron individualmente los genes que codifican para las tres subunidades, α_1 , α_2 y β , en vectores lanzadera pFastBacI separados (Invitrogen) en sus formas precursoras, que incluyen las secuencias de señal de secreción humana
- 25 nativas. Para el fin de identificar la proteína expresada, los genes de la subunidad α incluían una secuencia de afinidad por metal de seis histidinas escindible por caspasa-3 en el extremo 5' del gen. En la proteína expresada, se colocó la etiqueta de afinidad por metal (MAHHHHHHDEVD)(SEQ ID NO: 8) en el extremo N-terminal de la subunidad α en el sentido de 5' de la secuencia de señal de secreción. Para el fin de identificación y purificación, se diseñó el gen de la subunidad β para que codificase para una etiqueta de afinidad por metal de seis histidinas colocada en el sentido de 3' del péptido de señal de secreción de modo que la etiqueta de afinidad por metal se mantuviese tras la escisión y secreción en el retículo endoplasmático. Se usó cada uno de estos vectores lanzadera
- 30 pFastBacI recombinantes para generar baculovirus que pueden expresar sus respectivos polipéptidos de subunidad. Se generó la forma tetramérica, activa de la enzima expresando conjuntamente o bien CPH- α_1 y CPH- β o bien CPH- α_2 y CPH- β en baculovirus a 27°C. Se recogieron las células 48 horas tras la infección mediante centrifugación.

Secuencias de proteínas

- 40 Se eliminaron las secuencias antes del símbolo de la barra oblicua (/) *in vivo* tras secreción en el retículo endoplasmático. En los siguientes párrafos, SS significa secuencia de señal de secreción.

CPH- α_1 (MAH₆DEVD)-SS-CPH α_1)

- MAHHHHHHDEVDIWIYILIIGILLPQSLA/HPGFFTSIGQMTDLIHTKDLVTSKDYIKAEEKLEQIKKWAEEKLDRLTSTA
TKDPEGFVGHPVNAFKLMKRLNTEWSELENLVKDMSDGFISNLTIQRQYFPNDEDQVGAACKALLRLQDITYNLDTDTI
45 SKGNLPGVKHKSFLTAEDECFELGKVAYTEADYYHTELWMEQALRQLDEGEISTIDKVSVDILSYAVYQQGDLDKALL
TKLLELDPEHQRANGNLKYFEYIMAKEKDVKNSASDDQSDQKTTTPKKKGVAVDILPERQKYEMLCRGEIGIKMTPRR
QKKLFCRYHDGNRNPFIAPAKQEDEWDKPRIIRFHDIIISDAEIEIVKDLAKPRLSRATVHDPETGKLTAAQYRVSKSA
WLSGYENPVVSRINMRIQDLTGLDVSTAEELQVANYGVGGQYEPHFDFAKDEPDFAKELGTGNRIATWLFYMSDVS
AGGATVFPEVGASVWPKKGTAVFWYNLFASGEGDYSTRHAACPVLVGNKWVSNKWLHERGQEFRRPCTLSELE
50 (SEQ ID NO: 9)

CPH- α_2 (MAH₆DEVD-SS-CPH α_2)

- MAHHHHHHDEVDKLWVSALLMAWFGVLSCVQA/EEFTSIGHMTDLIYAEKELVQSLKEYILVEEAKLSKIKSWANKME
ALTSKSAADAEGILAHVPVNAFKLVKRLNTDWPALDLVLQDSAAGFIANLSVQRQFFPTDEDEIGAALKMRLQDITYRL
DPGTISRGEPLGTYQAMLSVDDCFGMGRSAYNEGDDYYHTVLWMEQVLKQLDAGEEATTTKSQVLDILSYAVFQLG
55 DLHRAELTRRLSLDPSHERAGGNLRYFEQLLEEREKTLTNQTEAELATPEGIYERPVDILPERDVYESLCRGEIGVK
LTPRRQKRLFCRYHHGNRAPQLLIAPFKEEDEWDSPHIVRYDDVMSDEEIERIKEIAKPKLARATVRDPKTGVLTVASY
RVSKQWLEEDDDPVVARVNRMRQHTGLTVKTAELLQVANYGVGGQYEPHFDFAKDEPDFAKELGTGNRIATWLFYMSDVS
MSDVEAGGATVFPDLGAAIWPKKGTAVFWYNLLRSGEGRYRTRHAACPVLVGCWKVSNKWFHERGQEFRLPCGST

EVD (SEQ ID NO: 10)

CPH- β (SS-H₆-CPH β)

MLRRALLCLAVAALVRA/HHHHHHDAPEEEDHVLVLRKSNFAEALAAHKILLVEFYAPWCGHCKALAPEYAKAAGKLIK
 AEGSEIRLAKVDATEESDLAQQYGVGRGYPTIKFFRNGDTASPKKEYTAGREADDIVNWLKKRTGPAATTLPGAAAESL
 5 VESSEVAVIGFFKDVESDSAKQFLQAAEAIDDPFGITSNSDVFSKYQLDKDGVVLFKKFDEGRNNFEGEVTKENLLDFI
 KHNQLPLVIEFTEQTAPKIFGGEIKTHILLFLPKSVSDYDGKLSNFKTAAESFGKILFIFIDSDHTDNQRILEFFGLKKEE
 CPAVRLITLEEEMTKYKPESEELTAERITEFCHRFLEGKIKPHLMSQELPEDWDKQPVKVLVGKNFEDVAFDEKKNVF
 VEFYAPWCGHCKQLAPIWDKLGETYKDHENIVIAKMDSTANEVAVKVHSFPTLKFFPASADRTVIDYNGERTLDGFK
 KFLESGGQDGAGDDDDLEDLEEAEEPDMEEEDDDQKAVKDEL (SEQ ID NO: 11)

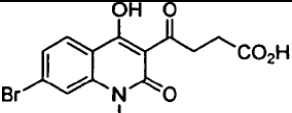
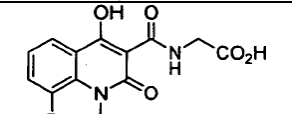
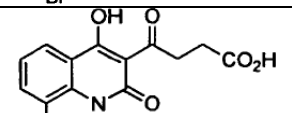
10 Purificación y caracterización de enzimas CPH

Se resuspendieron células de *T. ni* en Tris 25 mM (pH 7,8), NaCl 0,15 M, glicerol al 10%, Triton X-100 al 0,1% y cóctel de inhibidor de proteasa "libre" completo (Roche) y se lisaron mediante un microfluidizador. Se enjuagó el lisado mediante centrifugación y se filtró a través de una membrana de acetato de celulosa de 0,45 μ m antes de la aplicación en una columna Ni-NTA a 2 ml/min. Se lavó la columna con imidazol 25 mM y se eluyó la proteína con un
 15 tampón que contenía; Tris 20 mM 7,8, NaCl 0,15 M, glicerol al 10%, CHAPS al 0,1% e imidazol 250 mM. Se agruparon las fracciones de pico y se aplicaron en una columna Superdex 200 XK 26/60 (GE Biosciences) equilibrada con; Tris 20 mM (pH 7,8), NaCl 0,15 M, glicerol al 10% y CHAPS al 0,1%. Se confirmó la identidad de proteína mediante secuenciación de Edman y se detectó la formación de un heterodímero $\alpha 2\beta 2$ mediante dispersión de luz. Se determinó la concentración de proteína según el coeficiente de extinción molar calculado a 280 nm y
 20 normalmente se congeló inmediatamente la enzima en nitrógeno líquido y se almacenó a -80°C.

La siguiente tabla incluye valores de Cl_{50} de PHD2, CPH1 y CPH2 obtenidos usando los procedimientos expuestos en el presente documento para los compuestos de ejemplo y comparativos descritos en el presente documento. Tal como se muestra en la siguiente tabla, la sustitución del átomo de N átomo por un átomo de C en la cadena lateral da como resultado un aumento significativo y sorprendente en la selectividad de un compuesto para PHD2 con respecto tanto a CPH1 como a CPH2 en los compuestos de la invención. Por tanto, en algunas realizaciones, la invención proporciona un compuesto de cualquiera de las realizaciones en el que la selectividad del compuesto para PHD2 con respecto a CPH1 es mayor de 5, mayor de 8, mayor de 10, mayor de 15, mayor de 20 o es incluso superior. La selectividad para estos fines puede determinarse dividiendo el valor de Cl_{50} de CPH1 del compuesto entre el valor de Cl_{50} de PHD2 del compuesto determinándose los valores de Cl_{50} usando los métodos presentados en el presente documento.

Tabla 5. Valores de Cl_{50} de PHD2, CPH1 y CPH2 de compuestos de ejemplo y comparativos

Estructura	Compuesto	Cl_{50} de PHD2 (μ M)	Cl_{50} de CPH1 (μ M)	Cl_{50} de CPH2 (μ M)
	Compuesto comparativo 1	0,188	0,341	0,058
	Ejemplo 8	0,343	>40	5,285
	Compuesto comparativo 2	0,351	0,404	0,115
	Ejemplo 7	0,309	>40	3,82
	Compuesto comparativo 3	0,046	0,351	0,111

	Ejemplo 4	0,0649	>40	13,4
	Compuesto comparativo 4	0,104	0,503	0,261
	Ejemplo 2	0,775	22,7	1,87

Estimulación de eritropoyetina mediante compuestos de la invención

5 A ratas Sprague-Dawley hembras (Charles River Laboratories, Wilmington, MA) que pesaban aproximadamente 220-240 gramos, se les dio una administración por vía oral individual del/de los compuesto(s) de prueba o vehículo (hidroxipropilmetilcelulosa al 2%, Tween 80 al 1%, NaOH 0,075 N, pH 9 con HCl) mediante sonda oral con una aguja de alimentación desechable de 2" de calibre 18 (Popper and Sons, New Hyde Park, NY). Se recogieron

10 aproximadamente 150 μ l de sangre de la vena de la cola usando una aguja de mariposa de $\frac{3}{4}$ " de calibre 23 a diversos puntos de tiempo de entre 0,5 y 48 horas tras la administración. Se transfirió sangre a tubos de recogida que contenían EDTA (Greiner Bio-One, Kremsmunster, Austria) y se centrifugaron a 10.000 rpm a 4 grados centígrados durante 8 minutos para la recogida de plasma. A las 48 horas tras la administración, se sacrificaron los

15 animales mediante inhalación de CO₂ y se recogieron 3-4 ml de sangre mediante punción cardiaca con una aguja de 1" de calibre 20 y se alicuotaron en tubos de recogida que contenían EDTA y en tubos de separación de suero (Greiner Bio-One, Kremsmunster, Austria). Se centrifugó la sangre tal como se describió anteriormente para la recogida de plasma y suero. Se analizó el plasma resultante de cada punto de tiempo para determinar eritropoyetina usando un ensayo de EPO de rata de MSD (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD) y se muestran los resultados en la figura 4. Cada uno de los compuestos de ejemplo 4, 7 y 8 produjeron un aumento drástico en eritropoyetina tras la administración como queda claro cuando se compara con los datos que corresponden a la administración de vehículo.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Amgen Inc.

20 <120> QUINOLONAS Y AZAQUINOLONAS QUE INHIBEN PROLIL HIDROXILASA

<130> Documento EP67433HVpau

<140> 08 743 008.8

<141> 16/04/2008

<150> Documento PCT/US2008/004965

25 <151> 16/04/2008

<150> 60/925.285

<151> 18/04/2007

<150> 60/927.748

<151> 04/05/2007

30 <160> 11

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 166

<212> PRT

35 <213> *Homo sapiens*

ES 2 442 847 T3

<400> 1

Met His His His His His His Glu Ala Gly Arg Pro Arg Pro Val Leu
1 5 10 15

Arg Ser Val Asn Ser Arg Glu Pro Ser Gln Val Ile Phe Cys Asn Arg
20 25 30

Ser Pro Arg Val Val Leu Pro Val Trp Leu Asn Phe Asp Gly Glu Pro
35 40 45

Gln Pro Tyr Pro Thr Leu Pro Pro Gly Thr Gly Arg Arg Ile His Ser
50 55 60

Tyr Arg Gly His Leu Trp Leu Phe Arg Asp Ala Gly Thr His Asp Gly
65 70 75 80

Leu Leu Val Asn Gln Thr Glu Leu Phe Val Pro Ser Leu Asn Val Asp
85 90 95

Gly Gln Pro Ile Phe Ala Asn Ile Thr Leu Pro Val Tyr Thr Leu Lys
100 105 110

Glu Arg Cys Leu Gln Val Val Arg Ser Leu Val Lys Pro Glu Asn Tyr
115 120 125

Arg Arg Leu Asp Ile Val Arg Ser Leu Tyr Glu Asp Leu Glu Asp His
130 135 140

Pro Asn Val Gln Lys Asp Leu Glu Arg Leu Thr Gln Glu Arg Ile Ala
145 150 155

160

His Gln Arg Met Gly Asp
165

<210> 2

5 <211> 118

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 2

Met Asp Val Phe Leu Met Ile Arg Arg His Lys Thr Thr Ile Phe Thr
1 5 10 15

Asp Ala Lys Glu Ser Ser Thr Val Phe Glu Leu Lys Arg Ile Val Glu
20 25 30

Gly Ile Leu Lys Arg Pro Pro Asp Glu Gln Arg Leu Tyr Lys Asp Asp
35 40 45

Gln Leu Leu Asp Asp Gly Lys Thr Leu Gly Glu Cys Gly Phe Thr Ser
50 55 60

Gln Thr Ala Arg Pro Gln Ala Pro Ala Thr Val Gly Leu Ala Phe Arg
65 70 75 80

Ala Asp Asp Thr Phe Glu Ala Leu Cys Ile Glu Pro Phe Ser Ser Pro
85 90 95

Pro Glu Leu Pro Asp Val Met Lys Pro Gln Asp Ser Gly Ser Ser Ala
100 105 110

Asn Glu Gln Ala Val Gln
115

<210> 3

<211> 96

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 3

Met Tyr Val Lys Leu Ile Ser Ser Asp Gly His Glu Phe Ile Val Lys
1 5 10 15

Arg Glu His Ala Leu Thr Ser Gly Thr Ile Lys Ala Met Leu Ser Gly
20 25 30

Pro Gly Gln Phe Ala Glu Asn Glu Thr Asn Glu Val Asn Phe Arg Glu
35 40 45

Ile Pro Ser His Val Leu Ser Lys Val Cys Met Tyr Phe Thr Tyr Lys
50 55 60

Val Arg Tyr Thr Asn Ser Ser Thr Glu Ile Pro Glu Phe Pro Ile Ala
65 70 75 80

Pro Glu Ile Ala Leu Glu Leu Leu Met Ala Ala Asn Phe Leu Asp Cys
85 90 95

<210> 4

<211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Péptido sintético
 <220>
 <221>MISC_FEATURE
 <222>(1) .. (1)
 <223> Biotinilación
 10 <220>
 <221>MISC_FEATURE
 <222>(20) .. (20)
 <223> Carboxilación
 <400> 4
 Asp Leu Asp Leu Glu Ala Leu Ala Pro Tyr Ile Pro Ala Asp Asp Asp
 1 5 10 15
 Phe Gln Leu Arg
 15 20
 <210> 5
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Péptido sintético
 <220>
 <221>MISC_FEATURE
 <222>(1) .. (1)
 25 <223> Biotinilación
 <220>
 <221>MISC_FEATURE
 <222>(9) .. (9)
 <223> Xaa en la posición 9 es hidroxiprolina
 30 <220>
 <221>MISC_FEATURE
 <222>(20) .. (20)
 <223> Carboxiamidado
 <400> 5

Asp Leu Asp Leu Glu Ala Leu Ala Xaa Tyr Ile Pro Ala Asp Asp Asp Phe Gln Leu Arg
1 5 10 15 20

<210> 6

<211> 17

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 6

Asp Leu Glu Met Leu Ala Pro Tyr Ile Pro Met Asp Asp Asp Phe Gln
1 5 10 15

Leu

10 <210> 7

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <221>MISC_FEATURE

<222>(1) .. (1)

<223> Biotinilación

<400> 7

Asp Leu Glu Met Leu Ala Pro Tyr Ile Pro Met Asp Asp Asp Phe Gln
1 5 10 15

Leu

20 <210> 8

<211> 12

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

25 <221>MISC_FEATURE

<222>(1) .. (12)

<223> Etiqueta de afinidad por metal que incluye histidinas en las posiciones 3 a 8

<400> 8

Met Ala His His His His His His Asp Glu Val Asp
1 5 10

30 <210> 9

<211> 545

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

5 <221>MISC_FEATURE

<222>(1) .. (12)

<223> Etiqueta de afinidad por metal que incluye histidinas en las posiciones 3 a 8

<220>

<221>MISC_FEATURE

10 <222>(13) .. (28)

<223> Secuencia de señal de secreción

<400> 9

Met Ala His His His His His Asp Glu Val Asp Ile Trp Tyr Ile
1 5 10 15

Leu Ile Ile Gly Ile Leu Leu Pro Gln Ser Leu Ala His Pro Gly Phe
20 25 30

Phe Thr Ser Ile Gly Gln Met Thr Asp Leu Ile His Thr Glu Lys Asp
35 40 45

Leu Val Thr Ser Leu Lys Asp Tyr Ile Lys Ala Glu Glu Asp Lys Leu
50 55 60

Glu Gln Ile Lys Lys Trp Ala Glu Lys Leu Asp Arg Leu Thr Ser Thr
65 70 75 80

Ala Thr Lys Asp Pro Glu Gly Phe Val Gly His Pro Val Asn Ala Phe
85 90 95

Lys Leu Met Lys Arg Leu Asn Thr Glu Trp Ser Glu Leu Glu Asn Leu
100 105 110

Val Leu Lys Asp Met Ser Asp Gly Phe Ile Ser Asn Leu Thr Ile Gln
115 120 125

Arg Gln Tyr Phe Pro Asn Asp Glu Asp Gln Val Gly Ala Ala Lys Ala
130 135 140

Leu Leu Arg Leu Gln Asp Thr Tyr Asn Leu Asp Thr Asp Thr Ile Ser
145 150 155 160

Lys Gly Asn Leu Pro Gly Val Lys His Lys Ser Phe Leu Thr Ala Glu
165 170 175

Asp Cys Phe Glu Leu Gly Lys Val Ala Tyr Thr Glu Ala Asp Tyr Tyr
180 185 190

His Thr Glu Leu Trp Met Glu Gln Ala Leu Arg Gln Leu Asp Glu Gly
195 200 205

Glu Ile Ser Thr Ile Asp Lys Val Ser Val Leu Asp Tyr Leu Ser Tyr

ES 2 442 847 T3

210 215 220

Ala Val Tyr Gln Gln Gly Asp Leu Asp Lys Ala Leu Leu Leu Thr Lys
 225 230 235 240

Lys Leu Leu Glu Leu Asp Pro Glu His Gln Arg Ala Asn Gly Asn Leu
 245 250 255

Lys Tyr Phe Glu Tyr Ile Met Ala Lys Glu Lys Asp Val Asn Lys Ser
 260 265 270

Ala Ser Asp Asp Gln Ser Asp Gln Lys Thr Thr Pro Lys Lys Lys Gly
 275 280 285

Val Ala Val Asp Tyr Leu Pro Glu Arg Gln Lys Tyr Glu Met Leu Cys
 290 295 300

Arg Gly Glu Gly Ile Lys Met Thr Pro Arg Arg Gln Lys Lys Leu Phe
 305 310 315 320

Cys Arg Tyr His Asp Gly Asn Arg Asn Pro Lys Phe Ile Leu Ala Pro
 325 330 335

Ala Lys Gln Glu Asp Glu Trp Asp Lys Pro Arg Ile Ile Arg Phe His
 340 345 350

Asp Ile Ile Ser Asp Ala Glu Ile Glu Ile Val Lys Asp Leu Ala Lys
 355 360 365

Pro Arg Leu Ser Arg Ala Thr Val His Asp Pro Glu Thr Gly Lys Leu
 370 375 380

Thr Thr Ala Gln Tyr Arg Val Ser Lys Ser Ala Trp Leu Ser Gly Tyr
 385 390 395 400

Glu Asn Pro Val Val Ser Arg Ile Asn Met Arg Ile Gln Asp Leu Thr
 405 410 415

Gly Leu Asp Val Ser Thr Ala Glu Glu Leu Gln Val Ala Asn Tyr Gly
 420 425 430

Val Gly Gly Gln Tyr Glu Pro His Phe Asp Phe Ala Arg Lys Asp Glu
 435 440 445

Pro Asp Ala Phe Lys Glu Leu Gly Thr Gly Asn Arg Ile Ala Thr Trp
 450 455 460

Leu Phe Tyr Met Ser Asp Val Ser Ala Gly Gly Ala Thr Val Phe Pro
 465 470 475 480

Glu Val Gly Ala Ser Val Trp Pro Lys Lys Gly Thr Ala Val Phe Trp

485

490

495

Tyr Asn Leu Phe Ala Ser Gly Glu Gly Asp Tyr Ser Thr Arg His Ala
500 505 510

Ala Cys Pro Val Leu Val Gly Asn Lys Trp Val Ser Asn Lys Trp Leu
515 520 525

His Glu Arg Gly Gln Glu Phe Arg Arg Pro Cys Thr Leu Ser Glu Leu
530 535 540

Glu
545

<210> 10

<211> 544

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<220>

<221>MISC_FEATURE

<222>(1) .. (12)

<223> Etiqueta de afinidad por metal que incluye histidinas en las posiciones 3 a 8

10 <220>

<221>MISC_FEATURE

<222>(13) .. (32)

<223> Secuencia de señal de secreción

<400> 10

ES 2 442 847 T3

Met Ala His His His His His His Asp Glu Val Asp Lys Leu Trp Val
 1 5 10 15
 Ser Ala Leu Leu Met Ala Trp Phe Gly Val Leu Ser Cys Val Gln Ala
 20 25 30
 Glu Phe Phe Thr Ser Ile Gly His Met Thr Asp Leu Ile Tyr Ala Glu
 35 40 45
 Lys Glu Leu Val Gln Ser Leu Lys Glu Tyr Ile Leu Val Glu Glu Ala
 50 55 60
 Lys Leu Ser Lys Ile Lys Ser Trp Ala Asn Lys Met Glu Ala Leu Thr
 65 70 75 80
 Ser Lys Ser Ala Ala Asp Ala Glu Gly Tyr Leu Ala His Pro Val Asn
 85 90 95
 Ala Tyr Lys Leu Val Lys Arg Leu Asn Thr Asp Trp Pro Ala Leu Glu
 100 105 110
 Asp Leu Val Leu Gln Asp Ser Ala Ala Gly Phe Ile Ala Asn Leu Ser
 115 120 125

Val Gln Arg Gln Phe Phe Pro Thr Asp Glu Asp Glu Ile Gly Ala Ala
130 135 140

Lys Ala Leu Met Arg Leu Gln Asp Thr Tyr Arg Leu Asp Pro Gly Thr
145 150 155 160

Ile Ser Arg Gly Glu Leu Pro Gly Thr Lys Tyr Gln Ala Met Leu Ser
165 170 175

Val Asp Asp Cys Phe Gly Met Gly Arg Ser Ala Tyr Asn Glu Gly Asp
180 185 190

Tyr Tyr His Thr Val Leu Trp Met Glu Gln Val Leu Lys Gln Leu Asp
195 200 205

Ala Gly Glu Glu Ala Thr Thr Thr Lys Ser Gln Val Leu Asp Tyr Leu
210 215 220

Ser Tyr Ala Val Phe Gln Leu Gly Asp Leu His Arg Ala Leu Glu Leu
225 230 235 240

Thr Arg Arg Leu Leu Ser Leu Asp Pro Ser His Glu Arg Ala Gly Gly
245 250 255

Asn Leu Arg Tyr Phe Glu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Arg Glu Lys Thr
260 265 270

Leu Thr Asn Gln Thr Glu Ala Glu Leu Ala Thr Pro Glu Gly Ile Tyr
275 280 285

Glu Arg Pro Val Asp Tyr Leu Pro Glu Arg Asp Val Tyr Glu Ser Leu
290 295 300

Cys Arg Gly Glu Gly Val Lys Leu Thr Pro Arg Arg Gln Lys Arg Leu
305 310 315 320

Phe Cys Arg Tyr His His Gly Asn Arg Ala Pro Gln Leu Leu Ile Ala
325 330 335

Pro Phe Lys Glu Glu Asp Glu Trp Asp Ser Pro His Ile Val Arg Tyr
340 345 350

Tyr Asp Val Met Ser Asp Glu Glu Ile Glu Arg Ile Lys Glu Ile Ala
355 360 365

Lys Pro Lys Leu Ala Arg Ala Thr Val Arg Asp Pro Lys Thr Gly Val
370 375 380

Leu Thr Val Ala Ser Tyr Arg Val Ser Lys Ser Ser Trp Leu Glu Glu
385 390 395 400

Asp Asp Asp Pro Val Val Ala Arg Val Asn Arg Arg Met Gln His Ile
405 410 415

Thr Gly Leu Thr Val Lys Thr Ala Glu Leu Leu Gln Val Ala Asn Tyr
420 425 430

Gly Val Gly Gly Gln Tyr Glu Pro His Phe Asp Phe Ser Arg Arg Pro
435 440 445

Phe Asp Ser Gly Leu Lys Thr Glu Gly Asn Arg Leu Ala Thr Phe Leu
450 455 460

Asn Tyr Met Ser Asp Val Glu Ala Gly Gly Ala Thr Val Phe Pro Asp
465 470 475 480

Leu Gly Ala Ala Ile Trp Pro Lys Lys Gly Thr Ala Val Phe Trp Tyr
485 490 495

Asn Leu Leu Arg Ser Gly Glu Gly Asp Tyr Arg Thr Arg His Ala Ala
500 505 510

Cys Pro Val Leu Val Gly Cys Lys Trp Val Ser Asn Lys Trp Phe His
515 520 525

Glu Arg Gly Gln Glu Phe Leu Arg Pro Cys Gly Ser Thr Glu Val Asp
530 535 540

<210> 11

<211> 514

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<220>

<221>MISC_FEATURE

<222>(1) .. (17)

<223> Secuencia de señal de secreción

10 <220>

<221>MISC_FEATURE

<222>(18) .. (23)

<223> Etiqueta de afinidad por metal de seis histidinas

<400> 11

Met Leu Arg Arg Ala Leu Leu Cys Leu Ala Val Ala Ala Leu Val Arg
1 5 10 15

Ala His His His His His His Asp Ala Pro Glu Glu Glu Asp His Val
20 25 30

Leu Val Leu Arg Lys Ser Asn Phe Ala Glu Ala Leu Ala Ala His Lys
35 40 45

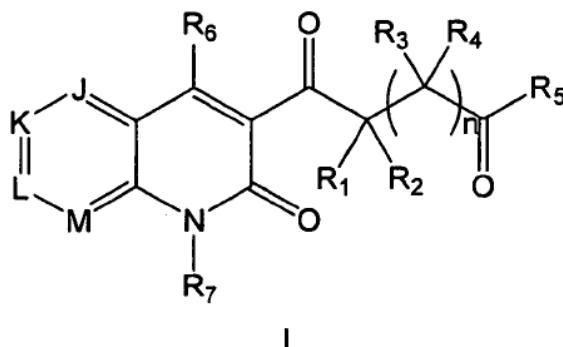
15

Tyr Leu Leu Val Glu Phe Tyr Ala Pro Trp Cys Gly His Cys Lys Ala
 50 55 60
 Leu Ala Pro Glu Tyr Ala Lys Ala Ala Gly Lys Leu Lys Ala Glu Gly
 65 70 75 80
 Ser Glu Ile Arg Leu Ala Lys Val Asp Ala Thr Glu Glu Ser Asp Leu
 85 90 95
 Ala Gln Gln Tyr Gly Val Arg Gly Tyr Pro Thr Ile Lys Phe Phe Arg
 100 105 110
 Asn Gly Asp Thr Ala Ser Pro Lys Glu Tyr Thr Ala Gly Arg Glu Ala
 115 120 125
 Asp Asp Ile Val Asn Trp Leu Lys Lys Arg Thr Gly Pro Ala Ala Thr
 130 135 140
 Thr Leu Pro Asp Gly Ala Ala Ala Glu Ser Leu Val Glu Ser Ser Glu
 145 150 155 160
 Val Ala Val Ile Gly Phe Phe Lys Asp Val Glu Ser Asp Ser Ala Lys
 165 170 175
 Gln Phe Leu Gln Ala Ala Glu Ala Ile Asp Asp Ile Pro Phe Gly Ile
 180 185 190
 Thr Ser Asn Ser Asp Val Phe Ser Lys Tyr Gln Leu Asp Lys Asp Gly
 195 200 205
 Val Val Leu Phe Lys Lys Phe Asp Glu Gly Arg Asn Asn Phe Glu Gly
 210 215 220
 Glu Val Thr Lys Glu Asn Leu Leu Asp Phe Ile Lys His Asn Gln Leu
 225 230 235 240
 Pro Leu Val Ile Glu Phe Thr Glu Gln Thr Ala Pro Lys Ile Phe Gly
 245 250 255
 Gly Glu Ile Lys Thr His Ile Leu Leu Phe Leu Pro Lys Ser Val Ser
 260 265 270
 Asp Tyr Asp Gly Lys Leu Ser Asn Phe Lys Thr Ala Ala Glu Ser Phe
 275 280 285
 Lys Gly Lys Ile Leu Phe Ile Phe Ile Asp Ser Asp His Thr Asp Asn
 290 295 300
 Gln Arg Ile Leu Glu Phe Phe Gly Leu Lys Lys Glu Glu Cys Pro Ala
 305 310 315 320

Val Arg Leu Ile Thr Leu Glu Glu Glu Met Thr Lys Tyr Lys Pro Glu
 325 330 335
 Ser Glu Glu Leu Thr Ala Glu Arg Ile Thr Glu Phe Cys His Arg Phe
 340 345 350
 Leu Glu Gly Lys Ile Lys Pro His Leu Met Ser Gln Glu Leu Pro Glu
 355 360 365
 Asp Trp Asp Lys Gln Pro Val Lys Val Leu Val Gly Lys Asn Phe Glu
 370 375 380
 Asp Val Ala Phe Asp Glu Lys Lys Asn Val Phe Val Glu Phe Tyr Ala
 385 390 395 400
 Pro Trp Cys Gly His Cys Lys Gln Leu Ala Pro Ile Trp Asp Lys Leu
 405 410 415
 Gly Glu Thr Tyr Lys Asp His Glu Asn Ile Val Ile Ala Lys Met Asp
 420 425 430
 Ser Thr Ala Asn Glu Val Glu Ala Val Lys Val His Ser Phe Pro Thr
 435 440 445
 Leu Lys Phe Phe Pro Ala Ser Ala Asp Arg Thr Val Ile Asp Tyr Asn
 450 455 460
 Gly Glu Arg Thr Leu Asp Gly Phe Lys Lys Phe Leu Glu Ser Gly Gly
 465 470 475 480
 Gln Asp Gly Ala Gly Asp Asp Asp Asp Leu Glu Asp Leu Glu Glu Ala
 485 490 495
 Glu Glu Pro Asp Met Glu Glu Asp Asp Asp Gln Lys Ala Val Lys Asp
 500 505 510
 Glu Leu

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula I:



- 5 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un tautómero del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero; o un solvato del mismo; o una mezcla de cualquiera de los anteriores, en la que:

J, K, L y M se seleccionan independientemente de CR₈ o N, en la que 0, 1 ó 2 de J, K, L y M son N;

n es 1;

R₁ y R₂ son H;

R₃ y R₄ son H;

- 10 R₅ es OH;

R₆ es OH;

R₇ se selecciona de H o alquilo C₁-C₆;

- 15 cada R₈ se selecciona independientemente de H, F, Cl, Br, I, alquilo, alquilo sustituido, haloalquilo, perhaloalquilo, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, NR₆R₆, C(O)OR₉, OR₉, SR₉, SO₂R₉, CN, NO₂, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo, heteroarilalquilo sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, heterocicilalquilo, heterocicilalquilo sustituido, alcóxicarbonilo, alcóxicarbonilo sustituido o -Y-R₁₀, en el que:

Y se selecciona de -N(R₁₁)-Z- o -Z-N(R₁₁)-;

- 20 Z se selecciona de C(O), SO₂, alqueno, alqueno sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino o alquino sustituido;

R₉ se selecciona de H, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino o alquino sustituido;

R₁₀ se selecciona de H, heterociclilo, heterociclilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo o heteroarilo sustituido;

- 25 R₁₁ se selecciona de H, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido; y

R_b y R_c se seleccionan independientemente de H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, haloalquilo C₁-C₆ o haloalquilo C₁-C₆ sustituido, o R_d y R_e pueden unirse entre sí para formar un anillo de 3 a 6 miembros o un anillo de 3 a 6 miembros sustituido.

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que cada uno de J, K, L y M es CR₈.

- 30 3. Compuesto según la reivindicación 1, en el que uno de J, K, L y M es N, y los otros tres de J, K, L y M son CR₈.

4. Compuesto según la reivindicación 3, en el que

(i) J es N y K, L y M son CR₈;

(ii) K es N y J, L y M son CR₈;

- 35 (iii) L es N y J, K y M son CR₈; o

(iv) M es N y J, K y L son CR₈.

5. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que al menos un caso de R₈ es un grupo arilo sustituido o no sustituido, un heteroarilo sustituido o no sustituido, un cicloalquilo sustituido o no sustituido o un heterociclilo sustituido o no sustituido.
- 5 6. Compuesto según la reivindicación 5, en el que al menos un caso de R₈ es un grupo heterociclilo; o en el que al menos un caso de R₈ es un grupo heteroarilo.
7. Compuesto según la reivindicación 5, en el que al menos un caso de R₈ es un grupo fenilo o fenilo sustituido.
8. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que al menos un caso de R₈ se elige de un halo o un resto sustituido con al menos un halo.
- 10 9. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que
 - (i) R₇ es H;
 - (ii) R₇ es alquilo C₁-C₆; o
 - (iii) R₇ es metilo.
- 15 10. Compuesto según la reivindicación 1, seleccionándose el compuesto de uno de los siguientes compuestos o siendo una sal del mismo, un tautómero del mismo o una sal del tautómero:

ácido 4-(4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(8-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

- 20 ácido 4-(7-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(1-bencil-7,8-difluoro-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(6-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(5-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

- 25 ácido 4-(5,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico; o

ácido 4-(3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-7-il)benzoico.

- 11. Compuesto según la reivindicación 1, seleccionándose el compuesto de uno de los siguientes compuestos o siendo una sal del mismo, un tautómero del mismo o una sal del tautómero:

ácido 4-(6-ciclohexil-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(6-(4-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(6-ciclopentil-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidrofuran-2-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

- 35 ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidrofuran-3-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(6-(2-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 4-(6-(3-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

- ácido 4-(4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-6-yodo-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(6-(4-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- 5 ácido 4-(6-(3-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(6-(2-fluorofenil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-6-il)benzoico;
- ácido 4-(6-(3-carboxipropanoil)-5-hidroxi-8-metil-7-oxo-7,8-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)benzoico;
- ácido 6-(3-carboxipropanoil)-5-hidroxi-8-metil-7-oxo-7,8-dihidro-1,8-naftiridin-3-carboxílico;
- 10 ácido 3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-6-carboxílico;
- ácido 4-(6-ciclopropil-7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidrofuran-2-il)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(8-cloro-7-fluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(7,8-dicloro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- 15 ácido 3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-7-carboxílico;
- ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tetrahidrofuran-3-il)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-fenil-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 3-(3-carboxipropanoil)-7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-6-carboxílico;
- 20 ácido 4-(7,8-difluoro-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-7-(trifluorometil)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(tiofen-2-il)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(tiofen-3-il)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tiofen-2-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- 25 ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(tiofen-3-il)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(6-ciclopropil-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(1-bencil-7-bromo-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(1-bencil-4-hidroxi-2-oxo-7-(trifluorometil)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(1-bencil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)-4-oxobutanoico;
- 30 ácido 4-(1-bencil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-(trifluorometil)-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(7-bromo-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(tiofen-2-il)-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- 35 ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-7-(tiofen-3-il)-1,2-dihidro-1,5-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,7-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;
- ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-6-fenil-1,2-dihidro-1,7-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico;

ácido 3-(3-carboxipropanoil)-4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,7-naftiridin-6-carboxílico; o

ácido 4-(4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-1,8-naftiridin-3-il)-4-oxobutanoico.

12. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que el valor de CI_{50} de CPHI dividido entre el valor de CI_{50} de PHD2 es mayor de 10.
- 5 13. Composición farmacéutica que comprende al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, y una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12.
14. Uso del compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en la preparación de un medicamento para aumentar la cantidad de eritropoyetina en la sangre de un sujeto.
- 10 15. Uso del compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en la preparación de un medicamento para tratar un trastorno relacionado con hipoxia o isquemia en un sujeto.
16. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, para su uso en el aumento del nivel de eritropoyetina en la sangre de un sujeto.

FIG. 1

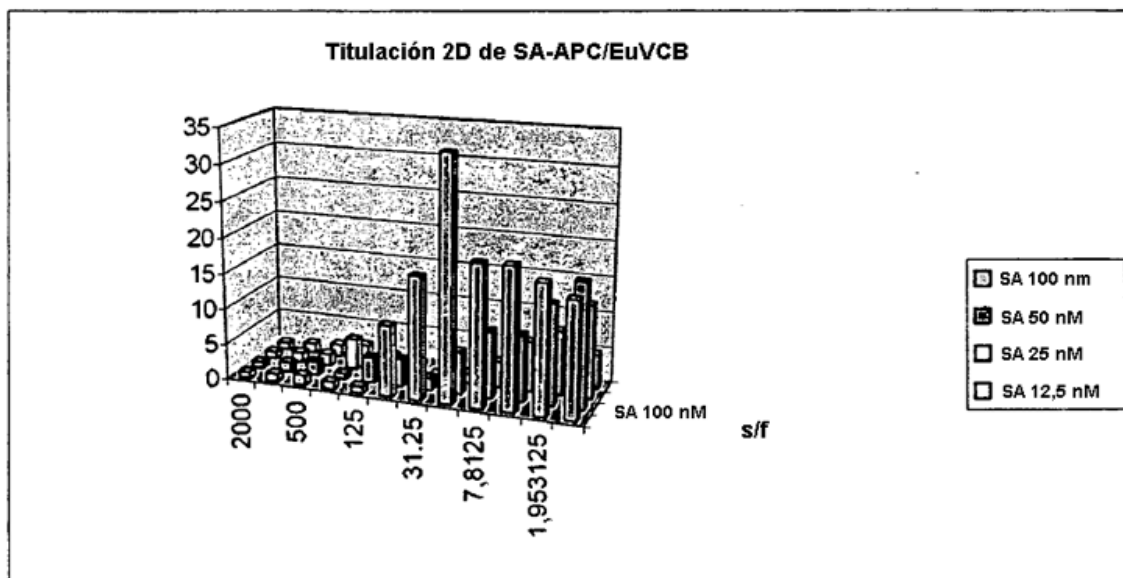


FIG. 2A

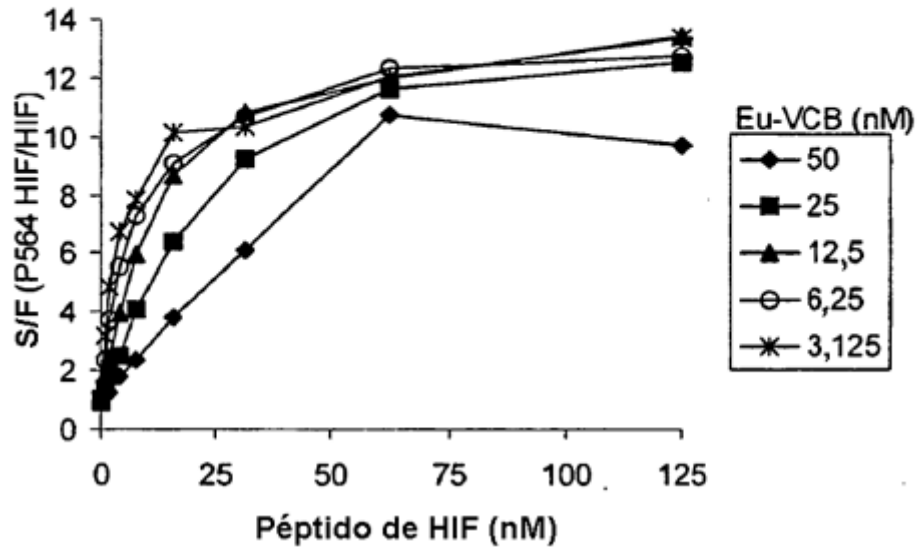


FIG 2B

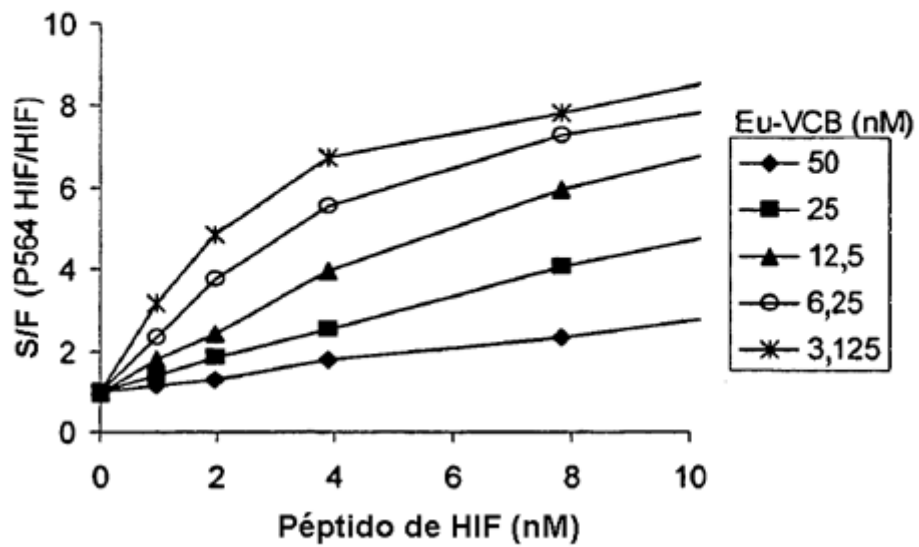


FIG. 3A

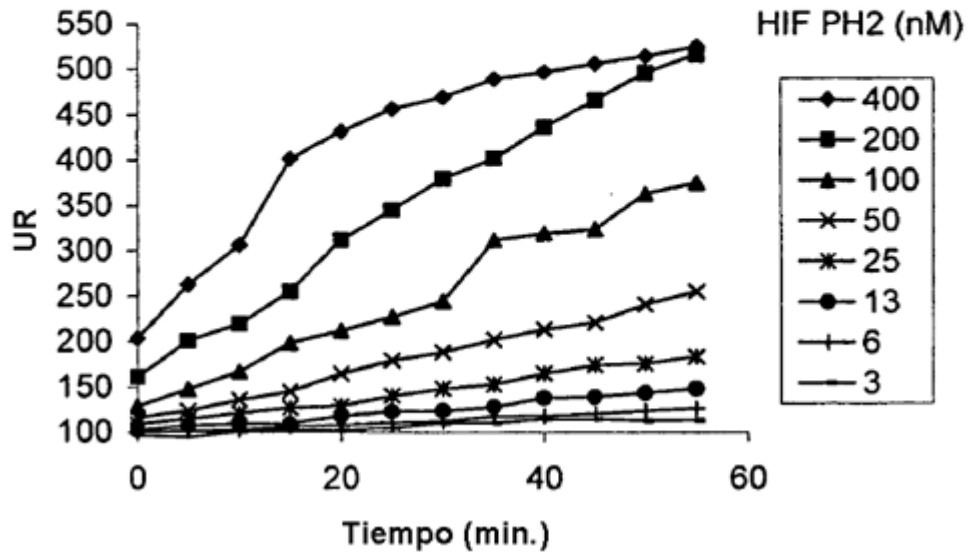


FIG. 3B

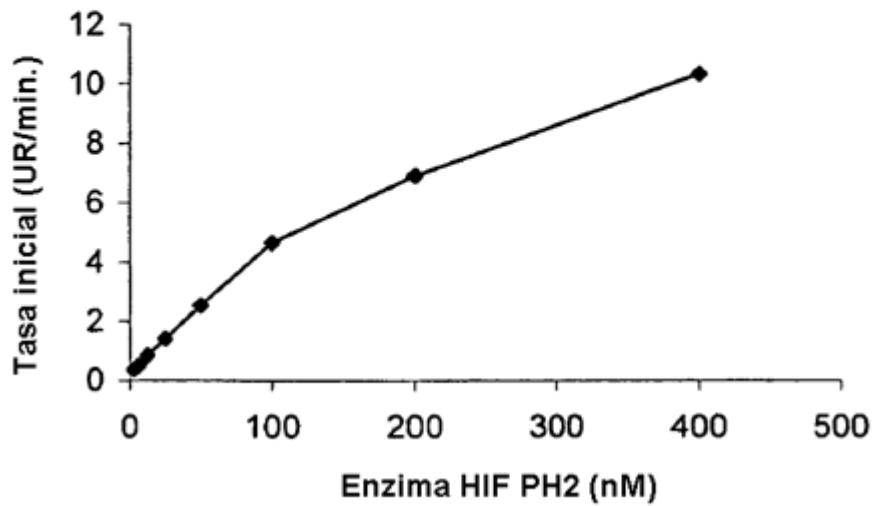


FIG. 4