

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 906 248**

51 Int. Cl.:

A61K 31/40	(2006.01) C07D 403/04	(2006.01)
A61P 11/00	(2006.01) A61K 31/4439	(2006.01)
A61P 37/06	(2006.01) A61K 31/4545	(2006.01)
A61P 17/00	(2006.01) A61K 31/506	(2006.01)
A61P 19/02	(2006.01)	
A61K 31/44	(2006.01)	
A61K 31/455	(2006.01)	
A61K 31/497	(2006.01)	
C07D 401/00	(2006.01)	
C07D 401/06	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.03.2016 PCT/US2016/024623**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **06.10.2016 WO16160755**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.03.2016 E 16714724 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.12.2021 EP 3277379**

54 Título: **Compuestos de aldehído para el tratamiento de fibrosis pulmonar, hipoxia y tejido conectivo y enfermedad autoinmunitaria**

30 Prioridad:

30.03.2015 US 201562140418 P
23.06.2015 US 201562183399 P
06.11.2015 US 201562252400 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.04.2022

73 Titular/es:

GLOBAL BLOOD THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
181 Oyster Point Blvd.
South San Francisco, CA 94080, US

72 Inventor/es:

LI, ZHE;
HARRIS, JASON R.;
DUFU, KOBINA N.;
GENG, XIN y
SINHA, UMA

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 906 248 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

Compuestos de aldehído para el tratamiento de fibrosis pulmonar, hipoxia y tejido conectivo y enfermedad autoinmunitaria

5 CAMPO

[0001] En el presente documento se proporcionan compuestos de aldehído para usar en el tratamiento de enfermedades tales como fibrosis pulmonar, hipoxia y tejido conjuntivo y enfermedades autoinmunitarias tales como esclerodermia, lupus, artritis y afecciones relacionadas en un mamífero.

10

ANTECEDENTES

15

[0002] La fibrosis pulmonar idiopática (FPI) es una enfermedad pulmonar mortal que provoca fibrosis crónica, progresiva e irreversible en los pulmones. Se caracteriza por daño alveolar y producción exagerada de tejido fibroso que da como resultado la obliteration del parénquima pulmonar y la subsiguiente disfunción pulmonar (*consulte* Wilson, MS y TA Wynn (2009). "Pulmonary fibrosis: pathogenesis, etiology and regulator". Mucosal Immunol 2(2): 103-121). Actualmente, alrededor de 5 millones de personas en todo el mundo se ven afectadas por la **FPI** con más de 128 000 pacientes en los Estados Unidos con una mediana de supervivencia de aproximadamente 2,5 años desde el momento del diagnóstico (*ver* Raghu, G., D. Weycker, J. Edelsberg, WZ Bradford y G. Oster (2006), "Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis", Am J Respir Crit Care Med 174(7): 810-816). Aunque se han aprobado dos fármacos antifibróticos, pirfenidona y nintedanib, para el tratamiento de la FPI, las opciones de tratamiento aún son limitadas para esta grave enfermedad (*ver* Harari, S. y A. Caminati (2015). pruebas a experiencias de la vida real." Eur Respir Rev 24(137): 420-427).

20

25

[0003] La hipoxemia y la hipoxia surgen en pacientes con FPI porque el cuerpo (o un tejido o una célula) está privado de oxígeno. Una de las manifestaciones clínicas de la hipoxia es la disnea de esfuerzo para la cual no hay fármacos disponibles hasta la fecha (*ver* Baddini Martínez, JA, TY Martinez, FP Lovetro Galhardo y CA de Castro Pereira (2002) "Dyspnea scales as a measure of healthrelated quality of life in patients with idiopathic pulmonary fibrosis" Med Sci Monit 8(6): CR405-410; *ver también* Parshall, MB, RM Schwartzstein, L. Adams, RB Banzett, HL Manning, J. Bourbeau, PM Calverley, AG Gift, A. Harver, SC Lareau, DA Mahler, PM Meek, DE O'Donnell y D. American Thoracic Comité de la Sociedad en (2012). "An official American Thoracic Society statement: update on the mechanisms, assessment, and management of dyspnea". Am J Respir Crit Care Med 185 (4): 435-452).

30

35

[0004] La privación de oxígeno que resulta de la hipoxemia y/o la hipoxia puede, a su vez, causar daños severos en los órganos e incluso la muerte. Por lo tanto, continúa existiendo una necesidad significativa de fármacos útiles en el tratamiento de las enfermedades o condiciones anteriores.

RESUMEN

40

[0005] La carga de oxígeno de la hemoglobina se ve comprometida en muchas condiciones, incluidas las enfermedades pulmonares que dan como resultado una menor difusión de oxígeno en los pulmones, como la fibrosis pulmonar idiopática (IPF), o con una mayor altitud (es decir, baja disponibilidad de oxígeno alveolar). Los compuestos proporcionados y/o divulgados en este documento aumentan la afinidad por el oxígeno de la hemoglobina y mejoran la absorción de oxígeno en condiciones hipóxicas o enfermedades en las que los pulmones pierden su capacidad de transferir oxígeno al torrente sanguíneo (como la FPI y la lesión pulmonar) y aumentan el suministro de oxígeno a las células y tejidos.

45

50

[0006] Además, en un modelo de FPI de ratón bien establecido (*ver* Degryse, AL y WE Lawson (2011). "Progress toward improving animal models for idiopathic pulmonary fibrosis". Am J Med Sci 341(6): 444-449; Moore, BB, WE Lawson, TD Oury, TH Sisson, K. Raghavendran y CM Hogaboam (2013), "Animal models of fibrotic lung disease". Am J Respir Cell Mol Biol 49(2): 167-179), el solicitante estudiado la capacidad de (S)-2-hidroxi-6-((1-nicotinilpiperidin-2-il)metoxi)benzaldehído (Compuesto de referencia 1) para mejorar la hipoxemia asociada con la fibrosis pulmonar inducida por bleomicina, y descubrió inesperadamente que el Compuesto de referencia 1 no solo mejoró significativamente la hipoxemia, pero también atenuó la inflamación pulmonar y la fibrosis pulmonar.

55

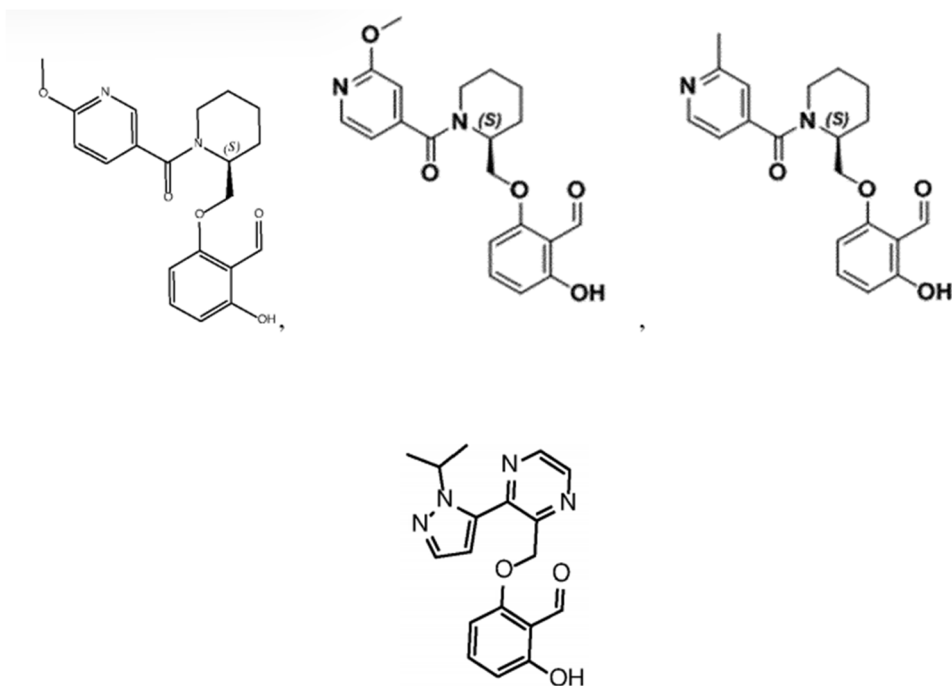
60

[0007] Sin estar ligado a ninguna teoría, se cree que el Compuesto de referencia 1 se une de forma covalente y reversible a través de la base de Schiff a la valina N-terminal de la cadena alfa de la hemoglobina (Hb) y modula alostéricamente la afinidad de Hb-oxígeno (Hb-O₂). Sin estar ligado a ninguna teoría, también creía que el Compuesto de referencia 1 provoca un desplazamiento a la izquierda dependiente de la concentración en la curva de equilibrio de oxígeno con el aumento subsiguiente en la afinidad de Hb-O₂ y la carga de oxígeno arterial. En consecuencia, además de tratar la hipoxemia, los compuestos que aumentan la afinidad de la Hb-O₂ podrían ser útiles en el tratamiento de la fibrosis pulmonar, incluida la inflamación asociada con la misma, y también en el tratamiento del tejido conectivo y enfermedades autoinmunitarias como la esclerodermia, el lupus, la artritis reumatoide, la polimiositis y la dermatomiositis.

65

[0008] El alcance de la presente invención se define en las reivindicaciones; cualquier otra divulgación se proporciona únicamente con fines referenciales.

[0009] En un primer aspecto, se proporciona aquí un compuesto seleccionado de:

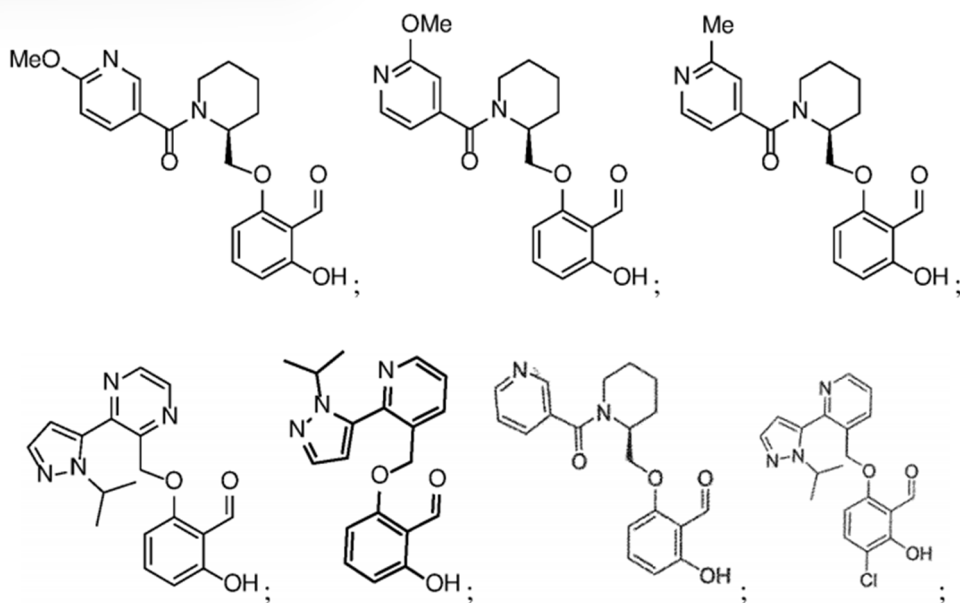


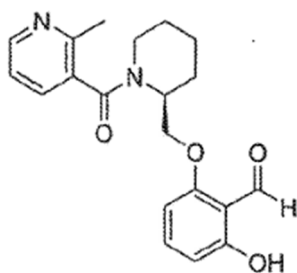
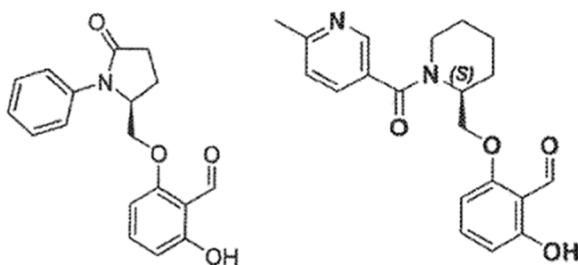
es decir, los compuestos 6, 8, 9 y 10, respectivamente, o un estereoisómero de los mismos, o una sal farmacéuticamente aceptable de cada uno de ellos, o un solvato farmacéuticamente aceptable de cada uno de los anteriores.

[0010] En un segundo aspecto, se proporciona aquí una composición farmacéutica que comprende un compuesto del primer aspecto y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

[0011] En un tercer aspecto, se proporciona aquí un compuesto del primer aspecto para usar en un método para tratar la hipoxia en un paciente.

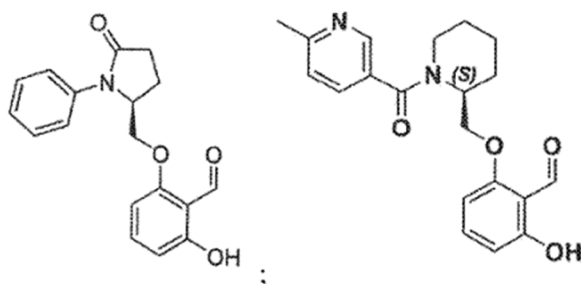
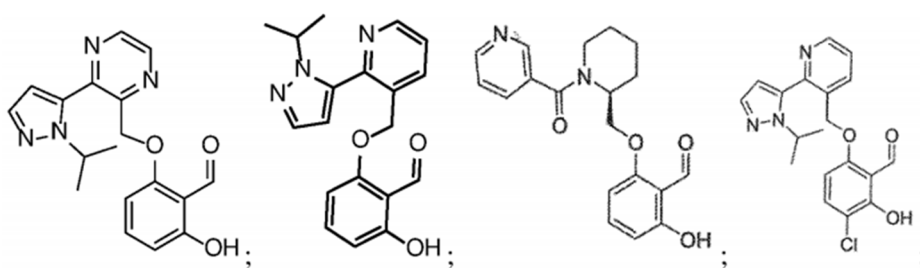
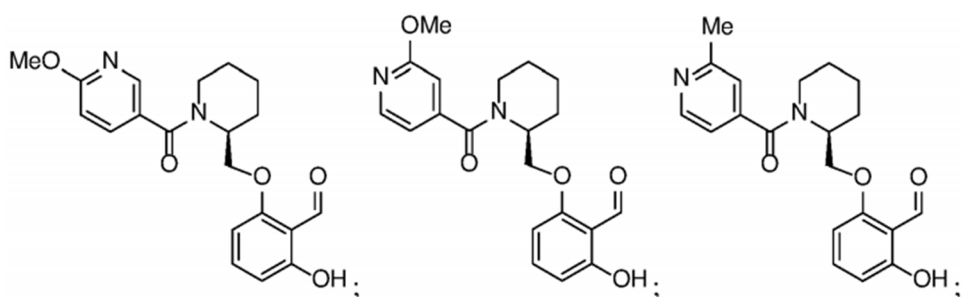
[0012] En un cuarto aspecto, aquí se describe un compuesto seleccionado de:

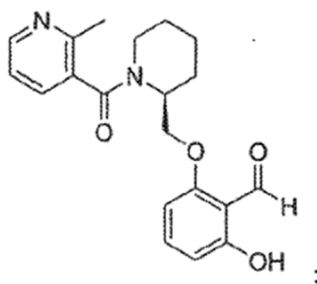




o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de la hipoxia en un paciente que padece fibrosis pulmonar idiopática.

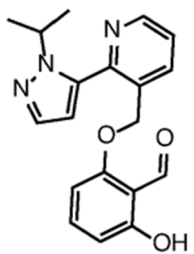
[0013] En un quinto aspecto, aquí se describe un compuesto seleccionado de:



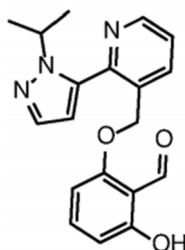


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en el tratamiento de la fibrosis pulmonar idiopática.

[0014] En otra descripción de los aspectos cuarto y quinto, el compuesto se administra en una cantidad terapéuticamente eficaz de 900 mg/día. En una divulgación adicional de los aspectos cuarto y quinto, el compuesto para usar según la invención es



[0015] En un aspecto adicional de la divulgación, el compuesto para usar según la invención es



en el que el compuesto es la Forma II cristalina caracterizada por radiación Cu K α con picos de difracción de polvo de rayos X a 13,37°2 θ , 14,37°2 θ , 19,95°2 θ y 23,92°2 θ , cada \pm 0,2°2 θ .

[0016] En otro aspecto más, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para su uso en un método para tratar la hipoxia en un paciente, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto. En una forma de realización de este aspecto, el paciente necesita tal tratamiento y el paciente sufre de FPI.

[0017] En otro aspecto más, se proporciona aquí un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para usar en un método para aumentar la saturación de oxígeno de la sangre arterial en un paciente con hipoxia, que comprende administrar al paciente un agente terapéuticamente eficaz. cantidad de dicho compuesto. En una forma de realización de este aspecto, el paciente necesita dicho tratamiento.

[0018] En otro aspecto más, se proporciona aquí un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para usar en un método para mejorar el suministro de oxígeno a un tejido o una célula de un paciente con hipoxia que sufre de FPI, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto. En otra forma de realización de este aspecto, el paciente ha estado o estará expuesto a gran altura. En otra forma de realización más de este aspecto, el paciente sufre hipoxia a gran altura. En otra forma de realización más de este aspecto, el paciente con hipoxia ha estado o estará buceando bajo el agua. En otra forma de realización más de este aspecto, el paciente sufre desmayo por aguas profundas o poco profundas.

[0019] En otro aspecto más, se proporciona aquí un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para usar en un método para aumentar el consumo de oxígeno en los pulmones de pacientes con acidosis en los fluidos acumulados en los pulmones, que comprende administrar a al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto. En una forma de realización de este aspecto, el paciente necesita dicho tratamiento.

[0020] En otro aspecto más, se proporciona aquí un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para usar en un método para reducir la acumulación de lactato en un tejido o una célula de un paciente con hipoxia, que comprende administrar a al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto. En una forma de realización de este aspecto, el paciente necesita dicho tratamiento.

[0021] En otro aspecto más, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para su uso en un método para reducir la acidosis de la sangre arterial de un paciente con hipoxia, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto. En una forma de realización de este aspecto, el paciente necesita dicho tratamiento.

[0022] En una forma de realización del tercer aspecto, la hipoxia es hipoxia aguda. En otra forma de realización del tercer aspecto, la hipoxia es hipoxia crónica.

[0023] En una forma de realización del tercer aspecto, la hipoxia está provocada por la disminución del consumo de oxígeno en los pulmones. En una forma de realización del tercer aspecto, la hipoxia está provocada por una enfermedad pulmonar, como síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfisema, bronquitis, edema pulmonar, fibrosis quística de los pulmones, asma, neumonía, enfermedad pulmonar reumatoide, lesión pulmonar aguda (p. ej., causada por el síndrome de disfunción multiorgánica [MODS], lesión pulmonar asociada al ventilador, lesión pulmonar inducida por inhalación de humo o quemadura química o térmica de los pulmones) o ENI. En una forma de realización del tercer aspecto, la hipoxia está provocada por cáncer de pulmón. En una forma de realización del tercer aspecto, la hipoxia está provocada por tromboembolismo venoso pulmonar, insuficiencia cardíaca, hipertensión pulmonar o insuficiencia cardíaca congestiva. En una forma de realización del tercer aspecto, la hipoxia está provocada por trastornos respiratorios durante el sueño, por ejemplo, apnea obstructiva del sueño y apnea central del sueño. En una forma de realización del tercer aspecto, la hipoxia está provocada por el mal de altura. En algunas formas de realización del tercer aspecto, la hipoxia está provocada por IPF.

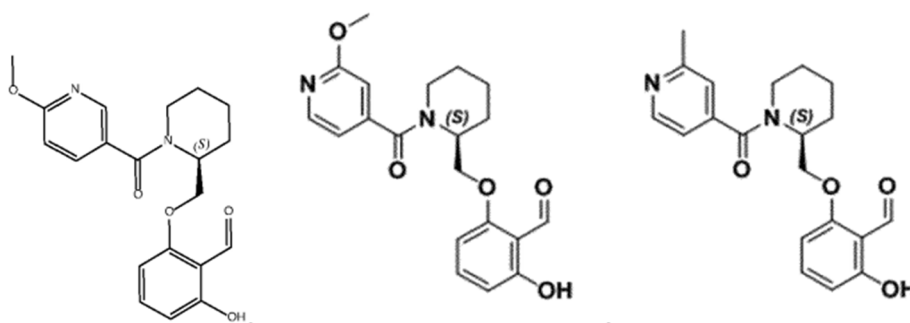
[0024] En una forma de realización del tercer aspecto, la hipoxia es causada por SDRA, y el SDRA resulta al menos en parte de uno o más de: inhalar vómito en los pulmones (aspiración), inhalar productos químicos, trasplante de pulmón, neumonía, enfermedad séptica shock (por ejemplo, por infección en todo el cuerpo) y trauma.

[0025] Sin estar ligado a la teoría, se cree que el tratamiento conjunto de un paciente que se somete a una terapia que reduce el recuento de glóbulos rojos (RBC) con los compuestos seleccionados de los compuestos 6, 8, 9 y 10 y una composición o el régimen de tratamiento para aumentar los glóbulos rojos da como resultado una mejor reducción de los síntomas, por ejemplo, hipoxia. Por ejemplo, los pacientes con cáncer pueden ser tratados con radiación o quimioterapia que da como resultado toxicidad pulmonar y/o disminución del recuento de glóbulos rojos. En una realización, el compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para usar en el tratamiento como se describe en el presente documento se usa en combinación con una composición o régimen de tratamiento para aumentar los glóbulos rojos en un paciente. En una realización, el tratamiento del cáncer es un fármaco de quimioterapia que induce toxicidad pulmonar, cuyos ejemplos no limitantes incluyen etopósido, ciclofosfamida, clorambucilo, busulfano y bleomicina.

[0026] En una forma de realización del tercer aspecto, la hipoxia se caracteriza por una presión de oxígeno parcial de menos de 80 mm Hg, preferiblemente menos de 60 mm Hg, más preferiblemente menos de 40 mm Hg y aún más preferiblemente menos de 20 mm Hg.

[0027] En una realización, el compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para su uso en el tratamiento proporcionado en el presente documento puede administrarse con uno o más de un agente antiinfeccioso tal como un antibiótico, un agente antiinflamatorio, un antifibrótico como pirfenidona o nintedanib, un antioxidante, un sedante y un agente que ayuda a eliminar el líquido de los pulmones como un surfactante.

[0028] En otro aspecto más, en el presente documento se proporciona una composición farmacéuticamente aceptable que comprende un compuesto seleccionado entre:



[0030] En el presente documento se proporcionan otros aspectos y formas de realización.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0031]

FIGURA 1A (TABLA 1) muestra un resumen de los efectos del compuesto de referencia 1 sobre la afinidad de Hb O₂ en sangre entera.

FIGURA 1B ilustra el efecto del compuesto de referencia 1 sobre la afinidad de Hb 02 en sangre entera.

FIGURA 1C ilustra el Efecto Bohr del compuesto de referencia 1 en sangre total.

FIGURA 1D (TABLA 2) muestra un resumen de los efectos del compuesto de referencia 2 sobre la afinidad de la Hb O₂ en sangre entera.

FIGURA 1E ilustra el efecto del compuesto de referencia 2 sobre la afinidad de Hb O₂ en sangre completa.

FIGURA 1F ilustra el Efecto Bohr del compuesto de referencia 2 en sangre entera.

FIGURA 1G (TABLA 3) muestra un resumen de los efectos del compuesto de referencia 3 sobre la afinidad de la Hb O₂ en sangre completa.

FIGURA 1H ilustra el efecto del compuesto de referencia 3 sobre la afinidad de Hb 02 en sangre entera.

FIGURA 11 ilustra el efecto Bohr del compuesto de referencia 3 en sangre entera.

FIGURA 1J (TABLA 4) muestra un resumen de los efectos del compuesto de referencia 4 sobre la afinidad de la Hb O₂ en sangre entera.

FIGURA 1K ilustra el efecto del compuesto de referencia 4 sobre la afinidad de Hb 02 en sangre entera.

FIGURA 1L ilustra el Efecto Bohr del compuesto de referencia 4 en sangre completa.

FIGURA 1M (TABLA 5) muestra un resumen de los efectos del compuesto de referencia 5 sobre la afinidad de la Hb O2 en sangre total.

FIGURA 1N ilustra el efecto del compuesto de referencia 5 sobre la afinidad de Hb 02 en sangre entera.

FIGURA 10 ilustra el Efecto Bohr del compuesto de referencia 5 en sangre completa.

FIGURA 1P (TABLA 6) muestra un resumen de los efectos del compuesto 6 sobre la afinidad de la Hb O2 en sangre completa.

FIGURA 1Q ilustra el efecto del compuesto 6 sobre la afinidad de Hb 02 en sangre entera.

FIGURA 1R ilustra el efecto Bohr del compuesto 6 en sangre total.

FIGURA 1S (TABLA 7) muestra un resumen de los efectos del compuesto de referencia 7 sobre la afinidad de Hb O₂ en sangre total.

FIGURA 1T ilustra el efecto del compuesto de referencia 7 sobre la afinidad de Hb 02 en sangre entera.

FIGURA 1U ilustra el Efecto Bohr del compuesto de referencia 7 en sangre completa.

FIGURA 1V (TABLA 8) muestra un resumen de los efectos del compuesto 8 sobre la afinidad de la Hb O2 en sangre completa.

FIGURA 1W ilustra el efecto del compuesto 8 sobre la afinidad de Hb O2 en sangre entera.

FIGURA 1X ilustra el efecto Bohr del compuesto 8 en sangre entera.

FIGURA 1Y (TABLA 9) muestra un resumen de los efectos del compuesto 9 sobre la afinidad de Hb O₂ en sangre total.

FIGURA 1Z ilustra el efecto del compuesto 9 sobre la afinidad de Hb O₂ en sangre total.

FIGURA 1AA ilustra el efecto Bohr del compuesto 9 en sangre total.

FIGURA 1AB (TABLA 10) muestra un resumen de los efectos del compuesto 10 sobre la afinidad de Hb O2 en sangre total.

FIGURA 1AC ilustra el efecto del compuesto 10 sobre la afinidad de Hb O₂ en sangre total.

FIGURA 1AD (TABLA 11) muestra un resumen de los efectos del compuesto de referencia 11 sobre la afinidad de Hb O₂ en sangre total.

FIGURA 1AE ilustra el efecto del compuesto de referencia 11 sobre la afinidad de Hb O₂ en sangre entera.

FIGURA 1AF ilustra el Efecto Bohr del compuesto de referencia 11 en sangre total.

FIGURAS 1AG y 1AH muestran los efectos del compuesto de referencia 1 sobre el estallido oxidativo en neutrófilos activados.

FIGURAS 1AI, 1AJ y 1AK muestran los efectos del compuesto de referencia 1 sobre la producción de TNF- α e IL-6 por macrófagos.

FIGURA 2A ilustra el efecto del compuesto de referencia 1 sobre la afinidad de Hb O₂ en ratones sanos.

FIGURAS 2B y 2C ilustran, respectivamente, los efectos del compuesto de referencia 1 sobre la PaO₂ y la SaO₂ durante la provocación hipóxica.

FIGURAS 2D y 2E ilustran respectivamente el efecto del compuesto de referencia 1 sobre la acidosis y el lactato en sangre durante la provocación hipóxica.

FIGURAS 2F y 2G ilustran, respectivamente, el efecto del compuesto de referencia 1 sobre la presión arterial y la frecuencia cardíaca durante la provocación hipóxica.

FIGURAS 2H y 2I, respectivamente, ilustran el efecto del compuesto de referencia 1 sobre la hipoxia tisular y la supervivencia durante la provocación hipóxica.

FIGURA 3A ilustra el efecto del Compuesto 1 de referencia sobre la afinidad de Hb O₂ en ratones con LPA inducida por LPS.

FIGURAS 3B, 3C, 3D y 3E ilustran el efecto del Compuesto 1 de referencia sobre la inflamación inducida por la administración intratraqueal de LPS.

FIGURA 3F ilustra el efecto del Compuesto 1 de referencia sobre la saturación de O₂ arterial periférico en ratones con LPA inducida por LPS.

FIGURA 3G ilustra el efecto del Compuesto 1 de referencia sobre la supervivencia en ratones con LPA inducida por LPS.

FIGURA 4A (TABLA 12) resume la farmacocinética del compuesto de referencia 1 en ratones.

FIGURA 4B ilustra los efectos PD del Compuesto 1 de referencia en ratones con fibrosis inducida por bleomicina.

FIGURAS 4C y 4D ilustran el efecto del Compuesto de referencia 1 sobre la saturación de O₂ en ratones con fibrosis inducida por bleomicina.

FIGURA 4E ilustra el efecto del Compuesto 1 de referencia sobre la infiltración de leucocitos en ratones con fibrosis inducida por bleomicina.

FIGURA 4F ilustra el efecto del Compuesto 1 de referencia sobre la deposición de colágeno en ratones con fibrosis inducida por bleomicina.

FIGURA 4G ilustra el efecto del Compuesto 1 de referencia sobre el peso pulmonar de ratones con fibrosis inducida por bleomicina.

FIGURAS 4H y 4I ilustran el efecto del Compuesto 1 de referencia sobre la fibrosis en ratones tratados con fibrosis inducida por bleomicina.

FIGURA 5 muestra un perfil de XRPD y la indexación contemplada para la Forma II de base libre.

TABLAS 1-12 se incluyen en las FIGURAS 1A (TABLA 1), 1D (TABLA 2), 1G (TABLA 3), 1J (TABLA 4), 1M (TABLA 5), 1P (TABLA 6), 1S (TABLA 7), 1V (TABLA 8), 1Y (TABLA 9), 1AB (TABLA 10), 1AD (TABLA 11) y 4A (TABLA 12).

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Definiciones:

[0032] Debe señalarse que tal como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una", "el" y "ella" incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

[0033] Como se usa en este documento, el término "hipoxia" se refiere a oxígeno insuficiente. Hipoxia, como se usa en este documento, incluye hipoxemia (bajo nivel de oxígeno en sangre), así como bajo nivel de oxígeno en una célula o uno o más tejidos/órganos.

[0034] Como se usa en el presente documento, el término "que comprende" o "comprende" pretende significar que las composiciones y los métodos incluyen los elementos enumerados, pero sin excluir otros. "Constituido esencialmente de" cuando se usa para definir composiciones y métodos, significará la exclusión de otros elementos de importancia esencial para la combinación para el propósito declarado. Por lo tanto, una composición o proceso que consta esencialmente de los elementos definidos en este documento no excluiría otros materiales o pasos que no afecten materialmente las características básicas y novedosas de los aspectos y realizaciones proporcionados en este documento. "Consistente en" significará excluir más que elementos traza de otros ingredientes y pasos sustanciales del método. Las formas de realización definidas por cada uno de estos términos de transición están dentro del alcance de la presente descripción.

[0035] A menos que se indique lo contrario, todos los números que expresan cantidades de ingredientes, condiciones de reacción, etc. utilizados en la memoria descriptiva y las reivindicaciones deben entenderse modificados en todos los casos por el término "aproximadamente". En consecuencia, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos establecidos en la siguiente memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones. Cada parámetro numérico debe interpretarse al menos a la luz del número de dígitos significativos notificados y aplicando técnicas de redondeo ordinarias. El término "aproximadamente" cuando se usa antes de una designación numérica, por ejemplo,

temperatura, tiempo, cantidad y concentración, incluido el rango, indica aproximaciones que pueden variar en (+) o (-) 10 %, 5 % o 1 %.

[0036] "Paciente" se refiere a un mamífero, preferiblemente, un ser humano.

[0037] El término "farmacéuticamente aceptable" se refiere a una administración generalmente segura y no tóxica para *in vivo*, preferiblemente en seres humanos.

[0038] El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal que es farmacéuticamente aceptable. Cualquier compuesto descrito en el presente documento puede administrarse como una sal farmacéuticamente aceptable.

[0039] El término "sal" se refiere a un compuesto iónico formado entre un ácido y una base. Cuando el compuesto proporcionado en el presente documento contiene una funcionalidad ácida, tales sales incluyen, sin limitación, sales de metales alcalinos, metales alcalinotérreos y amonio. Como se usa aquí, las sales de amonio incluyen sales que contienen bases nitrogenadas protonadas y bases nitrogenadas alquiladas. Cationes ejemplares y no limitantes útiles en sales farmacéuticamente aceptables incluyen Na, K, Rb, Cs, NH₄, Ca, Ba, imidazolio y cationes de amonio basados en aminoácidos naturales. Cuando los compuestos utilizados aquí contienen funcionalidad básica, tales sales incluyen, sin limitación, sales de ácidos orgánicos, tales como ácidos carboxílicos y ácidos sulfónicos, y ácidos minerales, tales como haluros de hidrógeno, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y similares. Los aniones ilustrativos y no limitativos útiles en las sales farmacéuticamente aceptables incluyen oxalato, maleato, acetato, propionato, succinato, tartrato, cloruro, sulfato, bisulfato, fosfato mono, di y tribásico, mesilato, tosilato y similares.

[0040] Los términos "tratar", "tratado" o "tratamiento", tal como se usan en el presente documento, incluyen aliviar, eliminar o mejorar una enfermedad o afección o uno o más de sus síntomas, prevenir síntomas adicionales, mejorar o prevenir las causas metabólicas subyacentes de síntomas, inhibiendo la enfermedad o condición, por ejemplo, deteniendo o suprimiendo el desarrollo de la enfermedad o condición, aliviando la enfermedad o condición, provocando la regresión de la enfermedad o condición, aliviando una condición causada por la enfermedad o condición, o suprimiendo los síntomas de la enfermedad o condición, y están destinados a incluir la profilaxis. Los términos también incluyen aliviar la enfermedad o las condiciones, por ejemplo, provocando la regresión de los síntomas clínicos. Los términos incluyen además lograr un beneficio terapéutico y/o un beneficio profiláctico. Por beneficio terapéutico se entiende la erradicación o mejora del trastorno subyacente que se está tratando. Además, se logra un beneficio terapéutico con la erradicación o mejora de uno o más de los síntomas fisiológicos asociados con el trastorno subyacente de tal manera que se observa una mejora en el individuo, a pesar de que el individuo todavía esté afectado por el trastorno subyacente. Para beneficio profiláctico, las composiciones se administran a un individuo en riesgo de desarrollar una enfermedad particular, oa un individuo que presenta uno o más de los síntomas fisiológicos de una enfermedad, aunque no se haya realizado un diagnóstico de esta enfermedad.

[0041] Los términos "prevención" o "prevenir" se refieren a una reducción en el riesgo de adquirir una enfermedad o trastorno (es decir, hacer que al menos uno de los síntomas clínicos de la enfermedad no se desarrolle en un sujeto que puede estar expuesto o predispuestos a la enfermedad pero aún no experimentan ni muestran síntomas de la enfermedad). Los términos incluyen además hacer que los síntomas clínicos no se desarrollen, por ejemplo en un sujeto en riesgo de padecer dicha enfermedad o trastorno, evitando así sustancialmente la aparición de la enfermedad o trastorno.

[0042] El término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad que es eficaz para el tratamiento de una afección o trastorno por un compuesto o composición descritos en el presente documento. En algunas formas de realización, una cantidad eficaz de cualquiera de los compuestos seleccionados de los compuestos 6, 8, 9 y 10, composiciones o formas de dosificación es la cantidad utilizada para tratar la hipoxia o una afección asociada a la hipoxia, o para reducir uno o más de sus efectos negativos en un paciente que lo necesite. En otras realizaciones, una cantidad efectiva de cualquiera de los compuestos seleccionados de los compuestos 6, 8, 9 y 10 es la cantidad utilizada para tratar la fibrosis y/o la inflamación en la FPI, o para reducir uno o más de sus efectos negativos en un paciente. en necesidad de ello.

[0043] Una "condición asociada con hipoxia" es cualquier enfermedad o condición que contribuye a la hipoxia en un paciente o es el resultado de ella. En el presente documento se describen condiciones ejemplares asociadas con la hipoxia.

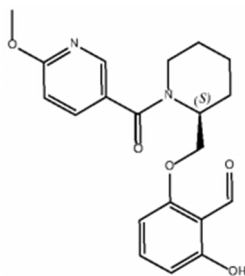
[0044] Como se usa en el presente documento, "hemoglobina A" se refiere a hemoglobina adulta, o $\alpha_2\beta_2$, el tipo de hemoglobina principal que se encuentra en adultos normales. Sin estar ligado a ninguna teoría, se cree que las enfermedades pulmonares hipoxémicas o hipoxia altitudinal y enfermedades relacionadas que se tratan mediante los métodos y compuestos descritos en el presente documento se tratan, al menos en parte, mediante el aumento de la afinidad por el oxígeno de la hemoglobina A.

[0045] Como se usa en el presente documento, "hemoglobina S" se refiere al tipo de hemoglobina anormal más común que se encuentra en pacientes con enfermedad de células falciformes. La hemoglobina S difiere de la hemoglobina A sólo por una sustitución de un solo aminoácido (es decir, la valina sustituyó a la glutamina en la 6ª posición de la cadena beta

de la globina). Sin estar ligado a ninguna teoría, se cree que el tratamiento de la enfermedad de células falciformes por los métodos y compuestos descritos en el presente documento se debe, al menos en parte, a una mayor afinidad por el oxígeno de la hemoglobina S.

Compuestos:

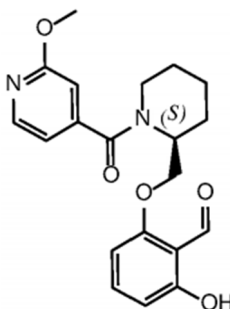
[0046] Se proporciona:
Un compuesto de fórmula:



Compuesto 6

o un estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de cada uno de ellos, o un solvato farmacéuticamente aceptable de cada uno de los anteriores.

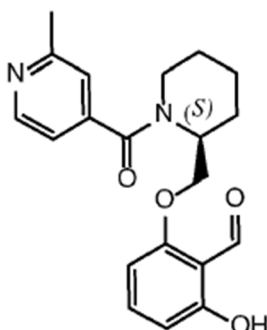
[0047] Un compuesto de la siguiente fórmula:



Compuesto 8

o un estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de cada uno de ellos, o un solvato farmacéuticamente aceptable de cada uno de los anteriores.

[0048] Un compuesto de la siguiente fórmula:

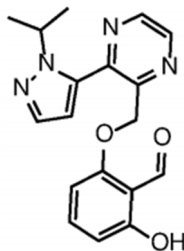


Compuesto 9

o un estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de cada uno de ellos, o un solvato farmacéuticamente aceptable de cada uno de los anteriores.

[0049] Los compuestos de fórmula 6 y 8-9 se pueden preparar siguiendo modificaciones de procedimientos bien conocidos por un experto en la materia, como modificando los procedimientos descritos en el documento WO 2014/150268.

[0050] También se proporciona un compuesto de la siguiente fórmula:

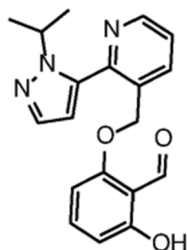


Compuesto 10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un solvato farmacéuticamente aceptable de cada uno de los anteriores.

[0051] El compuesto de fórmula 10 se puede preparar siguiendo modificaciones de procedimientos bien conocidos por un experto en la materia, como modificando los procedimientos descritos en US 2013/0190315.

[0052] También se describe un compuesto de la siguiente fórmula:



Compuesto de referencia 5

o una de sus sales o formas polimórficas farmacéuticamente aceptables.

[0053] En algunos aspectos de la divulgación, el polimorfo del Compuesto de referencia 5 comprende un ansovato cristalino de la base libre del Compuesto de referencia 5. En algunos aspectos de la divulgación, el ansovato cristalino de la base libre del Compuesto de referencia 5 comprende un ansovato cristalino forma anhidra.

[0054] En algunos aspectos de la divulgación, el ansovato cristalino de la base libre del Compuesto de referencia 5 comprende la Forma II, que se caracteriza por un pico endotérmico a (97,6 ± 2) °C medido por calorimetría diferencial de barrido. En otro aspecto de la divulgación, la Forma cristalina II de la base libre del Compuesto de referencia 5 se caracteriza por la ausencia sustancial de eventos térmicos a temperaturas por debajo del pico endotérmico a (97,6 ± 2) °C medido por calorimetría diferencial de barrido. En otro aspecto de la divulgación, la forma cristalina II de la base libre del compuesto de referencia cristalino 5 se caracteriza por un pico de difracción de rayos X en polvo (radiación Cu Kα en uno o más de 13,37°2θ, 14,37°2θ, 19,95°2θ o 23,92°2θ). En otro aspecto de la descripción, la forma cristalina II de la base libre del compuesto de referencia cristalino 5 se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo (radiación Cu Kα) sustancialmente similar al de la FIGURA 5.

[0055] En otro aspecto de la divulgación, la Forma II cristalina de la base libre del Compuesto de referencia cristalino 5 se caracteriza por al menos un pico de difracción de rayos X en polvo (radiación Cu Kα) seleccionado entre 13,37°2θ, 14,37°2θ, 19,95°2θ y 23,92°2θ (cada uno de ± 0,2°2θ). En otro aspecto de la descripción, la forma cristalina II de la base libre del compuesto cristalino de referencia 5 se caracteriza por al menos dos picos de difracción de rayos X en polvo (radiación Cu Kα) seleccionados entre 13,37°2θ, 14,37°2θ, 19,95°2θ y 23,92°2θ (cada ± 0,2°2θ). En otro aspecto de la divulgación, la forma cristalina II de la base libre del compuesto de referencia cristalino 5 se caracteriza por al menos tres picos de difracción de rayos X en polvo (radiación Cu Kα) seleccionados entre 13,37°2θ, 14,37°2θ, 19,95°2θ y 23,92°2θ (± 0,2°2θ).

[0056] En otro aspecto de la divulgación, la Forma II se caracteriza por 1, 2, 3, 4 o más picos como se tabula a continuación en la Tabla A.

Tabla A. Picos observados para Forma II, XRPD archivo 613881.

	2θ	Espacio d (Å)	Intensidad (%)
5	$5,62 \pm 0,20$	$15,735 \pm 0,581$	24
	$12,85 \pm 0,20$	$6,888 \pm 0,108$	22
	$12,97 \pm 0,20$	$6,826 \pm 0,106$	21
	$13,37 \pm 0,20$	$6,622 \pm 0,100$	100
	$14,37 \pm 0,20$	$6,162 \pm 0,087$	56
10	$15,31 \pm 0,20$	$5,788 \pm 0,076$	21
	$16,09 \pm 0,20$	$5,507 \pm 0,069$	23
	$16,45 \pm 0,20$	$5,390 \pm 0,066$	69
	$16,75 \pm 0,20$	$5,294 \pm 0,064$	32
	$16,96 \pm 0,20$	$5,227 \pm 0,062$	53
15	$19,95 \pm 0,20$	$4,450 \pm 0,045$	39
	$20,22 \pm 0,20$	$4,391 \pm 0,043$	20
	$23,18 \pm 0,20$	$3,837 \pm 0,033$	38
	$23,92 \pm 0,20$	$3,721 \pm 0,031$	41
	$24,40 \pm 0,20$	$3,648 \pm 0,030$	44
20	$24,73 \pm 0,20$	$3,600 \pm 0,029$	22
	$24,99 \pm 0,20$	$3,564 \pm 0,028$	50
	$25,12 \pm 0,20$	$3,545 \pm 0,028$	28
	$25,39 \pm 0,20$	$3,509 \pm 0,027$	51
	$25,70 \pm 0,20$	$3,466 \pm 0,027$	21
25	$26,19 \pm 0,20$	$3,403 \pm 0,026$	27
	$26,72 \pm 0,20$	$3,336 \pm 0,025$	30
	$27,02 \pm 0,20$	$3,300 \pm 0,024$	25
	$27,34 \pm 0,20$	$3,262 \pm 0,024$	23
	$28,44 \pm 0,20$	$3,138 \pm 0,022$	20

30

35

40

45

50

55

60

65

[0057] En algunas formas de realización, los Compuestos 6 y 8-10 son para uso en los métodos de tratamiento proporcionados en el presente documento. Otros compuestos para uso en los métodos de tratamiento descritos en este documento son 3-cloro-2-hidroxi-6-((2-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)piridin-3-il)metoxi)benzaldehído, 2-hidroxi-6-((2-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)piridin-3-il)metoxi)benzaldehído (Compuesto de referencia 5), y otros incluidos en las FIGURAS y TABLAS adjuntas al presente, o un sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Los compuestos 1-5, 7 y 11 se proporcionan como referencia. Compuestos adicionales que pueden usarse en los métodos de tratamiento descritos en el presente documento. Los métodos para preparar los compuestos adicionales, así como los compuestos proporcionados en el presente documento, se describen en las publicaciones de patentes de EE. UU. 2014/0275152, 2014/0271591, 2014/0274961, 2015/0057251, 2014/0275176, y 2014/0275181; Publicaciones PCT N^{os} WO2015/031285 y WO2015/031284; y Patente de EE. UU. N^o 8.952.171 (columnas 1-14). Las formas polimórficas de 2-hidroxi-6-((2-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)piridin-3-il)metoxi)-benzaldehído (Compuesto de referencia 5), incluidos los métodos para fabricar tales formas polimórficas son divulgadas en la Publicación de Patente de EE. UU. N^o 2015/0225366 (*véanse, por ejemplo*, Ejemplos 15, 20 y 21) y la Publicación PCT N^o WO2015/120133 (*véanse, por ejemplo, los ejemplos 15, 20 y 21*). En particular, la Forma II cristalina de la base libre del Compuesto de referencia 5 caracterizada por al menos un pico de difracción de rayos X en polvo (radiación Cu K α) seleccionado entre $13,37^\circ 2\theta$, $14,37^\circ 2\theta$, $19,95^\circ 2\theta$ y $23,92^\circ 2\theta$ (cada $\pm 0,2^\circ 2\theta$), preferentemente caracterizado por al menos dos picos de difracción de rayos X en polvo (radiación Cu K α) seleccionados entre $13,37^\circ 2\theta$, $14,37^\circ 2\theta$, $19,95^\circ 2\theta$ y $23,92^\circ 2\theta$ (cada $\pm 0,2^\circ 2\theta$), más preferentemente caracterizado por al menos tres picos de difracción de rayos X en polvo (radiación Cu K α) seleccionados entre $13,37^\circ 2\theta$, $14,37^\circ 2\theta$, $19,95^\circ 2\theta$ y $23,92^\circ 2\theta$ (cada $\pm 0,2^\circ 2\theta$).

[0058] En otro aspecto, un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se utiliza en el tratamiento de la hipoxia en un paciente que padece una enfermedad pulmonar. En un aspecto de la divulgación, la enfermedad pulmonar es fibrosis pulmonar idiopática y el compuesto es 2-hidroxi-6-((2-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)piridin-3-il)metoxi)benzaldehído (compuesto de referencia 5). En un aspecto de la divulgación, la enfermedad pulmonar es fibrosis pulmonar idiopática y el compuesto es la Forma II cristalina caracterizada por al menos dos picos de difracción de rayos X en polvo (radiación Cu K α) seleccionados entre $13,37^\circ 2\theta$, $14,37^\circ 2\theta$, $19,95^\circ 2\theta$ y $23,92^\circ 2\theta$ ($\pm 0,2^\circ 2\theta$).

[0059] En otro aspecto, un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, es para uso en el tratamiento de la enfermedad pulmonar idiopática en un paciente que sufre de la enfermedad pulmonar.

[0060] En otro aspecto, un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se utiliza en el tratamiento de la fibrosis en un paciente que padece una enfermedad pulmonar idiopática.

[0061] En otro aspecto, un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se utiliza para aumentar la afinidad por el oxígeno de la hemoglobina S en un paciente.

[0062] En otro aspecto, un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, es para usar en el tratamiento de la deficiencia de oxígeno asociada con la anemia de células falciformes o el síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) en un paciente.

[0063] En una forma de realización, también se administra al paciente al menos un agente comúnmente usado para tratar el SDRA. En una forma de realización, el al menos un agente es un agente bloqueante neuromuscular. En algunas formas de realización, el agente bloqueante neuromuscular es pancuronio, vecuronio, rocuronio, succinilcolina o cisatracurio.

Composiciones farmacéuticas:

[0064] En aspectos adicionales, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto seleccionado de los compuestos 6 y 8-10, y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. En general, los compuestos de esta descripción se administrarán en una cantidad terapéuticamente eficaz mediante cualquiera de los modos de administración aceptados para agentes que tienen utilidades similares. Las cantidades terapéuticamente eficaces de los compuestos de esta descripción pueden oscilar entre aproximadamente 100 mg/día, 200 mg/día, 300 mg/día, 400 mg/día, 500 mg/día, 550 mg/día, 600 mg/día, 650 mg/día, 700 mg/día, 750 mg/día, 800 mg/día, 850 mg/día, 900 mg/día, 950 mg/día o 1 g/día. Preferiblemente, desde aproximadamente 400 mg/día, 500 mg/día, 550 mg/día, 600 mg/día, 650 mg/día, 700 mg/día, 750 mg/día, 800 mg/día o 850 mg/día. Las cantidades terapéuticamente eficaces de los compuestos de esta divulgación también pueden oscilar entre aproximadamente 500 y 1000 mg/día, o entre 600 y 900 mg/día. La cantidad real del compuesto de esta divulgación, es decir, el ingrediente activo, dependerá de numerosos factores tales como la gravedad de la enfermedad a tratar, la edad y salud relativa del paciente, la potencia del compuesto que se utiliza, la vía y forma de administración, y otros factores. Tales composiciones se pueden formular para diferentes vías de administración. Las rutas que pueden usarse incluyen las rutas intravenosa, intraarterial, intramuscular, intraperitoneal, intracutánea, percutánea, transdérmica, oral, pulmonar, rectal, nasal, vaginal, lingual, intracraneal y subcutánea. Las formas de dosificación adecuadas para administrar cualquiera de los compuestos descritos en este documento incluyen tabletas, cápsulas, píldoras, polvos, aerosoles, supositorios, parenterales y líquidos, incluidas suspensiones, soluciones y emulsiones. En realizaciones preferidas, las composiciones son adecuadas para inyección, por ejemplo, y sin limitación, por vía intravenosa, intraarterial, intramuscular, intraperitoneal, intracutánea, intracraneal y subcutánea. También pueden usarse formas de dosificación de liberación sostenida, por ejemplo, en forma de parche transdérmico. Todas las formas de dosificación se pueden preparar utilizando métodos que son estándar en la técnica (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 16ª ed., A. Oslo editor, Easton PA. 1980).

[0065] Los excipientes farmacéuticamente aceptables no son tóxicos, ayudan a la administración y no afectan negativamente al beneficio terapéutico de los compuestos descritos en el presente documento. Dichos excipientes pueden ser cualquier excipiente sólido, líquido, semisólido o, en el caso de una composición de aerosol, gaseoso que generalmente está disponible para un experto en la técnica. Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con los aspectos y realizaciones proporcionados en el presente documento se preparan por medios convencionales utilizando métodos conocidos en la técnica.

[0066] Las composiciones descritas en este documento se pueden usar junto con cualquiera de los vehículos y excipientes comúnmente empleados en preparaciones farmacéuticas, por ejemplo, talco, goma arábiga, lactosa, almidón, estearato de magnesio, manteca de cacao, solventes acuosos o no acuosos, aceites, derivados de parafina, glicoles, etc. También se pueden añadir colorantes y aromatizantes a los preparados, en particular a los de administración oral. Las soluciones, suspensiones, emulsiones y similares se pueden preparar utilizando agua o disolventes orgánicos fisiológicamente compatibles, como etanol, 1,2-propilenglicol, poliglicoles, dimetilsulfóxido, alcoholes grasos, triglicéridos, ésteres parciales de glicerina y similares.

[0067] Los excipientes farmacéuticos sólidos incluyen almidón, celulosa, hidroxipropilcelulosa, talco, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, tiza, gel de sílice, estearato de magnesio, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, cloruro de sodio, leche descremada en polvo, y similares. Los excipientes líquidos y semisólidos se pueden seleccionar de glicerol, propilenglicol, agua, etanol y diversos aceites, incluidos los de origen petrolífero, animal, vegetal o sintético, por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, etc.

[0068] En una forma de realización, en el presente documento se proporcionan formulaciones de liberación sostenida tales como parches o depósitos de fármacos que comprenden una cantidad eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento. En otra forma de realización, el parche comprende además goma arábiga o hidroxipropilcelulosa por separado o en combinación, en presencia de alfa-tocoferol. Preferiblemente, la hidroxipropilcelulosa tiene un PM medio de 10.000 a 100.000. En una forma de realización más preferida, la hidroxipropilcelulosa tiene un PM medio de 5.000 a 50.000.

[0069] Los compuestos y las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden usarse solos o en combinación con otros compuestos. Cuando se administra con otro agente, la coadministración puede ser de cualquier manera en la que los efectos farmacológicos de ambos se manifiestan en el paciente al mismo tiempo. Por lo tanto, la

coadministración no requiere que se use una sola composición farmacéutica, la misma forma de dosificación o incluso la misma vía de administración para la administración tanto de los compuestos descritos en este documento como del otro agente o que los dos agentes se administren exactamente al mismo tiempo. Sin embargo, la coadministración se puede realizar convenientemente mediante la misma forma de dosificación y la misma vía de administración, sustancialmente al mismo tiempo. Tal administración procede más ventajosamente entregando los ingredientes activos por separado o simultáneamente en una o más composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente divulgación.

[0070] En un aspecto, un compuesto o una composición farmacéutica descrita en el presente documento se coadministra con un agente que aumenta el recuento de glóbulos rojos. En una forma de realización, el agente es una transfusión de sangre. En una forma de realización preferida, el agente es un agente estimulante de la eritropoyesis.

Utilidad

[0071] En un aspecto, un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 es para uso en el tratamiento de una condición asociada con hipoxia. En otro aspecto, un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 se usa para tratar uno o más síntomas asociados con la afección (hipoxia). En otro aspecto, un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 es para uso en sujetos sanos en los que existe la necesidad de una oxigenación a corto o largo plazo. En otro aspecto adicional, un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 es para uso en el tratamiento de enfermedades que se manifiestan como hipoxemia y que requieren soporte de oxigenación. En otro aspecto más, un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 es para uso en el tratamiento de enfermedades que no se manifiestan como hipoxemia pero en las que puede ser beneficioso el aumento del suministro de O₂ al tejido.

[0072] En una forma de realización, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para su uso en un método para tratar el síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente una sustancia terapéuticamente cantidad efectiva de dicho compuesto. El "síndrome de dificultad respiratoria aguda" se refiere a una afección pulmonar potencialmente mortal que impide que llegue suficiente oxígeno a los pulmones y a la sangre. El SDRA también se conoce como edema pulmonar no cardiogénico, edema pulmonar de permeabilidad aumentada, pulmón rígido, pulmón en shock o lesión pulmonar aguda. El SDRA puede ser causado por cualquier lesión importante en el pulmón. Algunas causas comunes incluyen, entre otras: respirar vómito en los pulmones (aspiración), inhalar productos químicos, trasplante de pulmón, neumonía, shock séptico (infección en todo el cuerpo) y traumatismo. En una forma de realización, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para su uso en un método para tratar la hipoxia asociada con el cáncer de pulmón en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto.

[0073] En otra forma de realización, se proporciona aquí un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para usar en un método para tratar la hipoxia asociada con la disminución del recuento de glóbulos rojos en un paciente que está siendo tratado por cáncer, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto. En una forma de realización del tercer aspecto, el paciente está siendo tratado por cáncer, y en el que el paciente está siendo tratado por cáncer usando quimioterapia. En una forma de realización del tercer aspecto, el paciente está siendo tratado por cáncer y en el que el paciente está siendo tratado por cáncer usando radioterapia. En una forma de realización, el método comprende además tratar al paciente con un agente para aumentar el recuento de glóbulos rojos. Los agentes para aumentar el recuento de glóbulos rojos son conocidos en la técnica, incluidos los agentes estimulantes de la transfusión de sangre o de la eritropoyesis. En una forma de realización, el agente estimulante de la eritropoyesis es eritropoyetina, epoetina alfa, epoetina beta, darbepoetina alfa o metoxipolietilenglicol-epoetina beta. En una forma de realización preferida, el agente estimulante de la eritropoyesis es epoetina alfa o darbepoetina alfa.

[0074] En otra forma de realización más, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para su uso en un método para tratar la hipoxia asociada con la EPOC en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto. "EPOC" se refiere a una enfermedad pulmonar progresiva que compromete la función pulmonar y disminuye la cantidad de oxígeno que llega a los pulmones y a la sangre. La EPOC incluye enfisema y bronquitis crónica. Las causas más comunes de la EPOC incluyen el tabaquismo y la contaminación.

[0075] En una forma de realización, se coadministra al paciente al menos un agente comúnmente usado para tratar la EPOC. En una forma de realización, el al menos un agente es un corticosteroide administrado sistémicamente, un corticosteroide administrado localmente, xolair, un broncodilatador betaadrenérgico, un antihistamínico o un agente desgranulador de células cebadas.

[0076] En otra forma de realización más, se proporciona en el presente documento un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para su uso en un método para tratar la hipoxia asociada con edema pulmonar en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente una sustancia terapéuticamente eficaz cantidad de dicho compuesto.

[0077] En otra forma de realización más, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para usar en un método para tratar la hipoxia asociada con la fibrosis quística de los pulmones en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho

compuesto.

[0078] En otra forma de realización más, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para su uso en un método para tratar la hipoxia asociada con el asma en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto.

[0079] En una forma de realización, se coadministra al paciente al menos un agente comúnmente usado para tratar el asma. En una forma de realización, el al menos un agente es un corticosteroide administrado sistémicamente, un corticosteroide administrado localmente, xolair, un broncodilatador betaadrenérgico, un antihistamínico o un agente desgranulador de células cebadas.

[0080] En otra forma de realización más, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para su uso en un método para tratar la hipoxia asociada con neumonía en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente un agente terapéuticamente eficaz cantidad de dicho compuesto.

[0081] En otra forma de realización más, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para su uso en un método para tratar la hipoxia asociada con la enfermedad pulmonar reumatoide en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente una sustancia terapéuticamente cantidad efectiva de dicho compuesto.

[0082] En otra forma de realización más, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para su uso en un método para tratar la hipoxia asociada con una lesión pulmonar aguda en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente una sustancia terapéuticamente cantidad efectiva de dicho compuesto.

[0083] En otra forma de realización más, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para usar en un método para tratar la hipoxia asociada con la fibrosis pulmonar idiopática (FPI) en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto. Además de la hipoxemia, la patología de la enfermedad de la FPI implica inflamación y lesión pulmonar causada por especies reactivas de oxígeno (ROS) producidas por leucocitos y fibrosis. En una forma de realización, se coadministra un compuesto antiinflamatorio. En una forma de realización, se coadministra al paciente un agente antifibrosis. En una forma de realización, el agente antifibrosis se selecciona del grupo que consiste en pirfenidona, nintebib, superóxido dismutasa lecitinada y corticosteroides sistémicos.

[0084] En otra forma de realización más, se proporciona en el presente documento un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para su uso en un método para tratar la hipoxia asociada con la apnea del sueño en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente una sustancia terapéuticamente eficaz cantidad de dicho compuesto.

[0085] En otra forma de realización más, se proporciona en el presente documento un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para su uso en un método para tratar la hipoxia asociada con el mal de altura en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente una sustancia terapéuticamente eficaz cantidad de dicho compuesto.

[0086] En otra forma de realización más, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para usar en un método para tratar la hipoxia asociada con un desmayo por aguas profundas o poco profundas en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto.

[0087] En otra forma de realización más, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para usar en un método para tratar un síntoma o condición asociada con la hipoxia. En una forma de realización, se proporciona aquí un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para usar en un método para aumentar la saturación de la sangre arterial en un paciente con hipoxia, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto. En otra forma de realización, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para su uso en un método para mejorar el suministro de oxígeno a un tejido de un paciente con hipoxia, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto. En otra forma de realización, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para su uso en un método para reducir la acumulación de lactato en un tejido de un paciente con hipoxia, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto. En otra forma de realización, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para usar en un método para reducir la acidosis de la sangre arterial de un paciente con hipoxia, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto. En una forma de realización del tercer aspecto, la hipoxia es aguda. En una forma de realización del tercer aspecto, la hipoxia es crónica.

[0088] En ciertos aspectos, se contempla que los compuestos 6, 8, 9 y 10, sus composiciones y su uso en los métodos proporcionados en el presente documento se usen para tratar una variedad de afecciones inflamatorias vasculares. Los métodos comprenden administrar una cantidad eficaz inhibidora de la inflamación de dicho compuesto o dicha composición. En algunas formas de realización, la condición inflamatoria está asociada con enfermedad arterial coronaria,

isquemia cerebral y enfermedad arterial periférica. En algunas formas de realización, la condición inflamatoria tratada está asociada con una enfermedad autoinmunitaria, tal como, sin limitación, lupus eritematoso, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, inflamación ocular y enfermedad de Crohn. En otras realizaciones, la afección es una afección inflamatoria aguda o crónica, tal como la asociada con alergia, asma, síndrome del intestino irritable, colitis ulcerosa y psoriasis. En otras realizaciones, la afección es una inflamación sistémica del cuerpo, tal como sepsis, shock grampositivo o gramnegativo. En otras realizaciones, la condición es una malignidad, tal como leucemia/linfoma agudo, que muestra manifestaciones inflamatorias o alérgicas. En otras realizaciones, la afección es una afección inflamatoria asociada con la FPI.

[0089] En otro aspecto más, los compuestos 6, 8, 9 y 10 y sus composiciones son para uso en un método para tratar la fibrosis pulmonar en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto o dicha composición. En algunas formas de realización, la fibrosis pulmonar está provocada por el uso de determinados medicamentos, incluidos, por ejemplo, determinados fármacos quimioterapéuticos (p. ej., metotrexato y ciclofosfamida), medicamentos para el corazón (p. ej., amiodarona y propranolol) y antibióticos (p. ej., nitrofurantoína y sulfasalazina). En algunas formas de realización, la fibrosis pulmonar está provocada por la exposición por inhalación a contaminantes ambientales y ocupacionales, incluidos, por ejemplo, asbesto, sílice y polvos de metales duros. En algunas formas de realización, la fibrosis pulmonar está provocada por enfermedades del tejido conectivo, que incluyen, por ejemplo, lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide y esclerodermia. En algunas formas de realización, la fibrosis pulmonar está provocada por enfermedades inflamatorias que incluyen, por ejemplo, sarcoidosis. En algunas formas de realización, la fibrosis pulmonar es causada por infecciones bacterianas o virales, que incluyen, por ejemplo, tuberculosis y neumonía.

[0090] En otro aspecto más, los compuestos 6, 8, 9 y 10 y sus composiciones se utilizan en un método para tratar la fibrosis pulmonar, en particular, la fibrosis asociada con la FPI en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto o dicha composición.

[0091] En otro aspecto más, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10 para su uso en un método para tratar la fibrosis pulmonar idiopática (FPI) en un paciente, comprendiendo el método administrar al paciente una sustancia terapéuticamente cantidad efectiva de dicho compuesto.

[0092] En algunos aspectos, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento se pueden administrar de forma profiláctica, por ejemplo, y sin limitación, para prevenir el enfisema.

[0093] En algunos aspectos, los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento se pueden administrar de forma profiláctica, por ejemplo, y sin limitación, para prevenir la hipoxia a gran altitud o el desmayo en aguas profundas o poco profundas.

[0094] En algunos aspectos, en el presente documento se proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos 6, 8, 9 y 10, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar en un método para reducir la proteína C reactiva (CRP) en un paciente que necesita de los mismos, como por tener un alto nivel de PCR indicativo de inflamación. Los métodos comprenden administrar una cantidad efectiva de dicho compuesto o composición.

EJEMPLOS

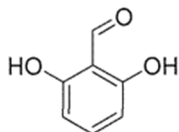
Abreviaturas:

[0095]

Hb	Hemoglobina
CEO	Curva de equilibrio de oxígeno
PO ₂	Presión parcial de oxígeno
Hb O ₂	Hemoglobina ligada a oxígeno
LPS	Lipopolisacárido
FiO ₂	Fracción de O ₂ inspirado
PK	Farmacocinética
PD	Farmacodinamia
LLB	Líquido de lavado broncoalveola
LPA	Lesión pulmonar aguda
SDRA	Síndrome de dificultad respiratoria aguda

Ejemplos sintéticos Preparación de 2,6-dihidroxibenzaldehído (INT-1).

[0096]



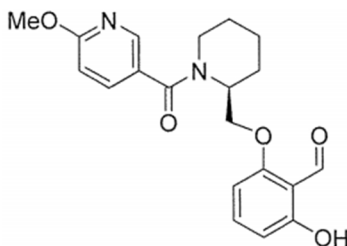
[0097] En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 3000 ml se colocó una solución de AlCl_3 (240 g, 1,80 mol, 3,00 equiv) en diclorometano (1200 ml). Se añadió gota a gota a la mezcla de reacción a 0°C una solución de 2,6-dimetoxibenzaldehído (100 g, 601,78 mmol, 1,00 equiv) en diclorometano (800 ml). La solución resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente y luego se inactivó con 200 ml de HCl diluido (2 M). La solución resultante se extrajo con 2 x 200 ml de diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se concentraron al vacío. El residuo se aplicó a una columna de gel de sílice con acetato de etilo/éter de petróleo (1:200-1:50) como eluyente para proporcionar 40 g (48%) de 2,6-dihidroxibenzaldehído como un sólido amarillo.

^1H RMN (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11,25(s, 2H), 10,25(s, 1H), 7,36(m, 1H), 6,36 (d, $J=8,4\text{Hz}$ 2H); EM (ESI) m/z 139 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ejemplo 1 (Compuesto 6)

Síntesis de (S)-2-hidroxi-6-((1-(6-metoxicotinoil)piperidin-2-il)metoxi)benzalaldehído

[0098]



Paso 1:

[0099] En un matraz de fondo redondo de 50 ml, se colocó una solución de ácido 6-metoxipiridin-3-carboxílico (613 mg, 4,0 mmol, 1,00 equiv), diclorometano (20 ml), (2S)-piperidin-2-ilmetanol (461 mg, 4,0 mmol, 1,00 equiv), DIEA (1,03 g, 8,0 mmol, 2,00 equiv) y HATU (1,67 g, 4,39 mmol, 1,10 equiv). La solución resultante se agitó durante 2 ha temperatura ambiente. Después de la concentración, el residuo se extrajo con 100 mL de EA y se lavó con 3x30 mL de salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante una columna de gel de sílice eluida con acetato de etilo/éter de petróleo (1:2). Esto dio como resultado 550 mg (55%) de [(2S)-1-[(6-metoxipiridin-3-il)carbonil]piperidin-2-il]metanol como un sólido blanco.

Paso 2:

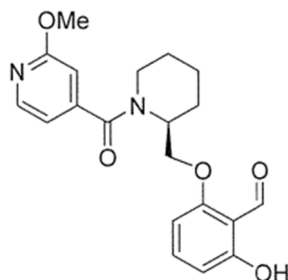
[0100] En un matraz de fondo redondo de 25 ml, purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó una solución de [(2S)-1-[(6-metoxipiridin-3-il)carbonil]piperidina-2-il]metanol (420 mg, 1,68 mmol, 1,00 equiv), tetrahidrofurano (10 ml) y 2,6-dihidroxibenzaldehído (278 mg, 2,02 mmol, 1,20 equiv) con agitación a 0°C , al que se añadió secuencialmente PPh_3 (529 mg, 2,02 mmol, 1,20 equiv) y DTAD (465 mg, 2,02 mmol, 1,20 equiv). La solución resultante se agitó durante 16 ha temperatura ambiente. Después de la concentración, el residuo se purificó mediante una columna de gel de sílice eluida con acetato de etilo/éter de petróleo (1:1) hasta un producto bruto (130 mg) que se purificó adicionalmente mediante TLC preparatoria eluida con DCM/EA (2:1). Esto dio como resultado 86,1 mg (14%) de 2-hidroxi-6-[[[(2S)-1-[(6-metoxipiridin-3-il)carbonil]piperidin-2-il]metoxi]benzalaldehído como un sólido amarillo.

[0101] CL-EM (ESI) m/z : calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$: 370,15; encontrado: 371 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Vt: 1,88 min. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 11,98 (s, 1H), 10,29 (s, 1H), 8,30 (s, 1H), 7,75 (d, $J = 8,7\text{ Hz}$, 1H), 7,42 (t, $J = 8,4\text{ Hz}$, 1H), 6,86 (d, $J = 8,7\text{ Hz}$, 1H), 6,57 (d, $J = 8,1\text{ Hz}$, 1H), 6,42 (d, $J = 7,2\text{ Hz}$, 1H), 5,05 (brs, 1H), 4,39-4,33 (m, 1H), 4,23-4,21 (m, 1H), 4,09-4,06 (m, 4H), 3,17-3,14 (m, 1H), 2,00-1,57 (m, 6H).

Ejemplo 2 (Compuesto 8)

Síntesis de (S)-2-hidroxi-6-((1-(2-metoxiisonicotinoil)piperidin-2-il)metoxi)benzalaldehído

[0102]



Paso 1:

[0103] En un recipiente de 50 ml matraz de fondo redondo, se colocó una solución de ácido 2-metoxiisonicotínico (1,00 g, 6,5 mmol, 1,00 equiv), diclorometano (15 mL), (2S)-piperidin-2-ilmetanol (827 mg, 7,2 mmol, 1,1 equiv), DIEA (1,7 g, 13,0 mmol, 2,00 equiv) y HATU (3,70 g, 9,75 mmol, 1,50 equiv). La solución resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. Después de la concentración, el residuo se disolvió con 100 mL de EA, se lavó con 3X 30 mL de salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice eluida con diclorometano/metanol (15:1). Esto dio como resultado 800 mg (50%) de (S)-2-((2-hidroximetil)piperidin-1-il)(2-metoxipiridin-4-il)metanona como un sólido amarillo claro.

Paso 2:

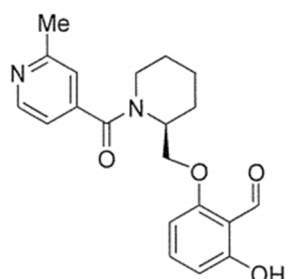
[0104] En un matraz de fondo redondo de 25 ml, purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó una solución de (S)-2-((2-hidroximetil)piperidin-1-il)(2-metoxipiridin-4-il)metanona (300 mg, 1,2 mmol, 1,00 equiv) y 2,6-dihidroxibenzaldehído (497 mg, 3,6 mmol, 3,0 equiv) en tolueno (10 ml) con agitación a 0 °C. A la solución anterior se añadió PPh₃ (943,2 mg, 3,6 mmol, 3,0 equiv), seguido de DTAD (828 mg, 3,6 mmol, 3,0 equiv). La solución resultante se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. Después de la concentración, el residuo se purificó por Prep-HPLC con las siguientes condiciones.

Columna: Waters XBridge C18 19*150 mm, 5 µm; fase móvil: H₂O (es un tampón de NH₄HCO₃ 10 mM + amoníaco al 0,05 %) y CH₃CN con un gradiente de 15 % a 45 % de acetonitrilo en 5 min y luego de 45 % a 75 % de acetonitrilo en 5 min; caudal: 15 ml/min; Longitud de onda UV del detector: 254 nm. Esto dio como resultado 129 mg (29%) de (S)-2-hidroxi-6-((1-(2-metoxiisonicotinoil)piperidin-2-il)metoxi)benzaldehído como un sólido amarillo claro. CL-EM (ESI) *m/z*: calculado para C₂₀H₂₂N₂O₅: 370,15; encontrado: 371[M+H]⁺. Vt: 1,82 min. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 12,00 (s, 1H), 10,34 (br. s, 1H), 8,25 (d, *J* = 5,1 Hz 1H), 7,42 (br. s, 1H), 6,84 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 6,71 (s, 1H), 6,60 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,46 (br. s, 1H), 5,31 (br. s, 1H), 4,33-4,22 (m, 2H), 3,98 (s, 3H), 3,58 (br. s, 1H), 3,12 (br. s, 1H), 1,94-1,57 (m, 6H).

Ejemplo 3 (Compuesto 9)

Síntesis de (S)-2-hidroxi-6-((1-(2-metilisonicotinoil)piperidin-2-il)metoxi)benzaldehído

[0105]



Paso 1:

[0106] En un recipiente de 50 ml matraz de fondo redondo, se colocó una solución de ácido 2-metilpiridin-4-carboxílico (548 mg, 4,00 mmol, 1,00 equiv), (2S)-piperidin-2-ilmetanol (460 mg, 3,99 mmol, 1,00 equiv), DIEA (1,29 g, 9,98 mmol, 2,50 equiv.) y HATU (1,67 g, 4,39 mmol, 1,10 equiv.) en diclorometano (20 ml). La solución resultante se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Después de la concentración, el residuo se disolvió con 200 mL de EA. Luego se lavó con 3

x 20 mL de salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró al vacío para dar un residuo. El producto bruto se purificó mediante una columna de gel de sílice eluida con diclorometano/metanol (10:1). Esto dio como resultado 426 mg (46 %, 97 % ee) de [(2S)-1-[(2-metilpiridin-4-il)carbonil]-piperidin-2-il]metanol como un aceite amarillo.

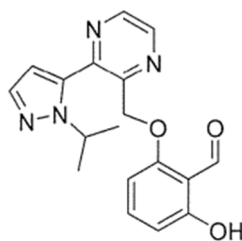
5 Paso 2:

10 **[0107]** En un matraz de fondo redondo de 100 ml, purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se colocó una solución de [(2S)-1-[(2-metilpiridin-4-il)carbonil]-piperidina-2-il]metanol (426 mg, 1,82 mmol, 1,00 equiv) y 2,6-dihidroxibenzaldehído (753 mg, 5,45 mmol, 3,00 equiv) en tolueno (30 ml) con agitación a 0 °C. A la solución anterior se
15 añadió PPh₃ (1,43 g, 5,45 mmol, 3,00 equiv), seguido de DTAD (1,25 g, 5,43 mmol, 3,00 equiv) a 0°C. La solución resultante se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. Después de la concentración, el residuo se purificó mediante una columna de gel de sílice eluida con diclorometano/acetato de etilo (1:1) para dar un producto bruto, que se purificó adicionalmente mediante Prep-HPLC con las siguientes condiciones. Columna: Waters XBridge C18 19*150 mm, 5 µm; fase móvil: H₂O (es un tampón de NH₄HCO₃ 10 mM + amoníaco al 0,05 %) y CH₃CN con un gradiente de 42 % a 46 %
20 de acetonitrilo en 8 min; caudal: 20 ml/min; Longitud de onda UV del detector: 254 nm. Esto dio como resultado 90,6 mg (14 %) de 2-hidroxi-6-[[[(2S)-1-[(2-metilpiridin-4-il)carbonil]-piperidin-2-il]metoxi]benzaldehído como un sólido amarillo claro. CL-EM (ESI) *m/z*: calculado para C₂₀H₂₂N₂O₄: 354; encontrado: 355[M+H]⁺. Hora: 1,00 min. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 11,99 (s, 1H), 10,34 (s, 1H), 8,58 (d, J=5,1 Hz, 1H), 7,43-7,40 (m, 1H), 7,12 (s, 1H), 7,05 (d, J=4,8 Hz, 1H), 6,59 (d, J=8,7 Hz, 1H), 6,48 (br., 1H), 5,34 (br., 1H), 4,38-4,05 (m, 2H), 3,55 (br., 1H), 3,10 (br., 1H), 2,61 (s, 3H), 1,96-1,64 (m, 6H).

Ejemplo 4 (Compuesto 10)

Síntesis de 2-hidroxi-6-((3-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)pirazin-2-il)metoxi)benzaldehído

25 **[0108]**



35 Paso 1:

40 **[0109]** Se disolvió ácido 3-cloropirazina-2-carboxílico (2,97 g, 18,73 mmol, 1 eq.) en tetrahidrofurano (75 ml). La solución se agitó en un baño de hielo y se añadió trietilamina (5,2 ml, 37,5 mmol, 2 eq.), seguido de la adición de cloroformiato de metilo (1,74 ml, 22,5 mmol, 1,2 eq.) gota a gota. Después de 30 minutos, la reacción se filtró y el sólido se enjuagó con más tetrahidrofurano (10 ml). La solución de tetrahidrofurano se agitó en un baño de hielo y se añadió una suspensión de borohidruro de sodio (1,4 g, 37,5 mmol, 2 eq.) en agua (3 ml). Después de 1 h, se añadió a la reacción una solución acuosa saturada de cloruro de amonio (100 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las fases orgánicas
45 combinadas se lavaron con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio (25 ml) y se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y la evaporación, el residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (5 - 70 % de acetato de etilo/hexanos) para dar (3-cloropirazin-2-il) metanol (0,84 g, 31 %) como un aceite de color débil.

50 Paso 2:

[0110] Se disolvió (3-cloropirazin-2-il)metanol (0,6 g, 4,15 mmol, 1 eq.) en 1,4-dioxano (16 ml) y agua (5 ml). La solución y el recipiente de reacción se purgaron con una corriente de gas N₂. 1-isopropil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (1,08 g, 4,57 mmol, 1,1 eq.), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II) (0,3 g, 0,41 mmol, 0,1 eq.) y carbonato de potasio (0,57 g, 4,15 mmol, 1 eq.) y la reacción se agitó en un bloque térmico a 100 °C. Después de 1 h, se consideró que la reacción se había completado por TLC (35 % de acetato de etilo/hexanos). La mezcla de reacción se enfrió a 25 °C y se recogió en una mezcla de acetato de etilo (100 ml) y una disolución acuosa saturada de sodio. solución de bicarbonato (100 mL). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo una vez más con acetato de etilo (50 mL). Las
55 fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio (50 mL) y se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y la evaporación, el residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (5 — 70 % de acetato de etilo/hexanos) para dar (3-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)pirazin-2-il)metanol (0,53 g, 59%) como un aceite de color amarillo claro.

60 Paso 3:

[0111] (3-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)pirazin-2-il)metanol (0,308 g, 1,41 mmol, 1 eq.) se disolvió en diclorometano (4 ml) y se agitó en un baño de hielo. Se añadió lentamente cloruro de tionilo (2,05 ml, 28,2 mmol, 20 eq.) y la mezcla de reacción

se agitó a 20 °C durante 2 h. A continuación, la reacción se evaporó hasta obtener un residuo, se volvió a disolver en tolueno (20 ml) y se evaporó hasta sequedad. Este ciclo de evaporación, disolución y evaporación se repitió dos veces más. El residuo resultante de cloruro de 5-(3-(clorometil)pirazin-2-il)-1-isopropil-1H-pirazol-1-io se usó directamente en el siguiente paso.

Paso 4:

[0112] Se disolvió 2-hidroxi-6-(metoximetoxi)benzaldehído (0,15 g, 0,823 mmol, 1 eq.) en N,N-dimetilformamida (5 ml). Cloruro de 5-(3-(clorometil)pirazin-2-il)-1-isopropil-1H-pirazol-1-io (0,247 g, 0,905 mmol, 1,1 eq.) y carbonato de potasio (0,45 g, 3,3 mmol, 4 eq.) y la reacción se agitó en un bloque térmico durante 2 h a 60 °C. La reacción se enfrió y se vertió en una mezcla de acetato de etilo (100 mL) y agua (50 mL). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con más acetato de etilo (2 x 50 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (25 ml), una solución acuosa saturada de cloruro de sodio (25 ml) y se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la concentración, el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (5 - 80 % de acetato de etilo/hexanos) para dar 2-((3-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)pirazin-2-il)metoxi)-6-(metoximetoxi)benzaldehído (0,22 g, 70%) como un sólido blanquecino.

Paso 5:

[0113] 2-((3-(1-Isopropil-1H-pirazol-5-il)pirazin-2-il)metoxi)-6-(metoximetoxi)-benzaldehído (0,22 g, 0,575 mmol, 1 eq.) se disolvió en THF seco (3 ml). A continuación, se añadió lentamente a la reacción HCl concentrado (0,19 ml, 2,3 mmol, 4 eq.). Después de 3 h, la reacción se completó según lo determinado por TLC (gel de sílice, acetato de etilo al 50 %/hexanos) y se vertió en acetato de etilo (50 ml) y una solución acuosa de bicarbonato de sodio (25 ml). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 30 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio (20 ml) y se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y la evaporación, el producto bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice (5 - 70 % de acetato de etilo/hexanos) para dar 2-hidroxi-6-((3-(1-isopropil-1H-pirazol-5-il)pirazina-2-il)metoxi)benzaldehído (0,127 g, 65%) como un sólido blanquecino después de la liofilización en agua/acetonitrilo. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 11,94 (s, 1H), 10,23 (dd, J = 0,59, 1,33 Hz, 1H), 8,74 (d, J = 2,41 Hz, 1H), 8,66 (d, J = 2,41 Hz, 1H), 7,61 (dd, J = 0,41, 1,90 Hz, 1H), 7,38 (t, J = 8,40 Hz, 1H), 6,56 (dt, J = 0,64, 8,50 Hz, 1H), 6,46 (d, J = 1,91 Hz, 1H), 6,40 (dd, J = 0,69, 8,30 Hz, 1H), 5,26 (s, 2H), 4,68 (hept, J = 6,67 Hz, 1H), 1,48 (d, J = 6,61 Hz, 6H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 194,01, 163,71, 160,87, 149,32, 144,06, 143,43, 138,46, 138,25, 110,85, 107,81, 102,18, 69,25, 51,83, 2. EM (ESI) m/z 339 [M+H]⁺.

Ejemplos biológicos

Ejemplo 1

Caracterización del compuesto

[0114] Se ensayó la capacidad de los compuestos representativos descritos en el presente documento para aumentar la afinidad por el oxígeno de la hemoglobina usando hemoximetría. Se incubó sangre (Hct al 20 % o al 40 %) con el compuesto a diversas concentraciones seguido de hemoximetría. Las curvas de equilibrio de oxígeno para sangre tratada con compuestos se obtuvieron mediante la desoxigenación de muestras equilibradas con O₂ en un tampón Hemox a 37 °C, utilizando un analizador Hemox. Las muestras de sangre se transfirieron a la cámara de muestra del hemoxímetro donde primero se saturaron con aire comprimido y luego se desoxigenaron con nitrógeno puro. Se registró la absorbancia a las longitudes de onda correspondientes al punto isobélico (570 nm) y desoxi Hb (560 nm) en función de la tensión de O₂ de la muestra (pO₂). Durante la desoxigenación, se recogieron los valores de pO₂ y porcentaje de saturación de O₂ para obtener los CEO y los valores de p50 (presión parcial de O₂ a la que la Hb está saturada al 50 % con O₂). Los valores de p50 se calcularon utilizando un análisis de regresión no lineal. Los compuestos descritos en el presente documento aumentaron la afinidad por el oxígeno de la hemoglobina en función de la dosis, como se observa en las FIGURAS 1B, 1E, 1H, 1K, 1N, 1Q, 1T, 1W, 1Z, 1AC y 1AE.

[0115] Efecto Bohr: el suministro de oxígeno a los tejidos estuvo mediado por la disminución de la afinidad de la hemoglobina-O₂ a través de cambios en el pH de la sangre (efecto Bohr) y por un aumento en la concentración de 2,3-difosfoglicerato en glóbulos rojos. Para la hipoxia causada por condiciones patológicas tales como SDRA o lesión pulmonar aguda, la acidosis respiratoria puede conducir a una reducción del pH de la sangre, lo que reduce la afinidad de la hemoglobina-O₂ y reduce la captación de oxígeno. Los compuestos descritos en el presente documento aumentaron la afinidad por el oxígeno en condiciones ácidas (pH bajo) como se observa en las FIGURAS 1C, 1F, 1I, 1L, 1O, 1R, 1U, 1X, 1AA y 1AF.

[0116] Las especies reactivas de oxígeno (ROS) liberadas de los glóbulos blancos activados provocan lesión pulmonar así como cambios fibróticos en pacientes con FPI. Sorprendentemente, el compuesto de referencia 1 descrito en el presente documento mostró actividad antioxidante (FIGURAS 1AG y 1AH) y antiinflamatoria (FIGURAS 1AI, 1AJ y 1AK) en sistemas experimentales *in vitro* que contenían neutrófilos y macrófagos. Un compuesto de aldehído descrito previamente, 5-hidroximetil-2-furfural (5-HMF), no muestra esta actividad (FIGURAS 1AG y 1AH). Por lo tanto, los compuestos descritos en el presente documento también podrían proporcionar un método para inhibir los efectos adversos de la inflamación en un paciente. La reducción de las citocinas proinflamatorias sistémicas (necrosis tumoral alfa e

interleucina-6) también tiene el potencial de ejercer un amplio efecto antiinflamatorio que complementaría el efecto beneficioso del alivio de la hipoxemia a través del aumento de la afinidad por la hemoglobina-O₂.

Ejemplo de referencia 2

Tolerancia a la hipoxia Modelo de ratón

[0117] Este estudio se realizó para evaluar el efecto del aumento de la afinidad de la Hb O₂ sobre el transporte de O₂ en los pulmones de ratones sanos durante la hipoxia. En este sentido, se estudió el efecto del Compuesto de referencia 1, que aumenta la afinidad de la Hb O₂, en ratones sanos (sin lesión pulmonar) sometidos a hipoxia extrema. En este modelo animal, al exponer a los ratones a la hipoxia, la cantidad de O₂ disponible para la captación en los pulmones se reduce proporcionando un modelo preclínico de hipoxemia pulmonar asociada con enfermedad pulmonar en el que la presión parcial de O₂ (pO₂) se reduce por debajo de normal. Este modelo animal también imita las condiciones de exposición a entornos de tensiones de O₂ reducidas (por ejemplo, tensiones de O₂ a gran altura).

Estudio:

[0118] Se equipó a ratones C57BL macho con una cámara de ventana de pliegue cutáneo dorsal para la visualización directa de un lecho microvascular intacto (Yalcin & Cabrales 2012). Después de implantar la cámara de ventana, se dejó que los animales se recuperaran durante al menos 2 días, antes de someterse a una segunda cirugía para la implantación del catéter arterial (carotídeo) (tubo PE50). Después de dos días de recuperación, a los ratones se les dosificó por vía oral el Compuesto 1 de referencia (70 ó 140 mg/kg) o solo el vehículo y se determinó la afinidad de Hb O₂ por hemoximetría. Dos horas después de la dosis, los ratones conscientes se colocaron en un tubo de contención con una hendidura longitudinal desde la cual la cámara de la ventana que sobresalía proporcionaba un escenario microscópico para la observación. En esta configuración, la tasa de flujo de gas (0,2 L/min) en el tubo se difunde mediante una barrera de filtro de algodón. Las mediciones de referencia para la normoxia (21 % de O₂) se completaron dentro de una hora de inmovilizar a los ratones. A continuación, los animales se expusieron a hipoxia gradual mediante la disminución de la concentración de O₂ al 15, 10 y 5 %. Los animales se mantuvieron en cada nivel hipóxico durante 30 min. A los ratones se les permitió 15 minutos de aclimatación a cada nuevo nivel de hipoxia antes de tomar las medidas. Durante la hipoxia, se evaluaron los cambios en la hemodinámica sistémica y microvascular, los gases sanguíneos, el lactato sanguíneo, la presión parcial tisular de O₂ (PO₂), la hipoxia tisular y la tolerancia a la hipoxia. En cada punto de tiempo, los ratones con presión arterial sistólica (PA) adecuada se contaron como sobrevivientes y los ratones con hipotensión grave (PA δ 60 mmHg) se contaron como no sobrevivientes y se sacrificaron.

Medición de parámetros sistémicos:

[0119] La PAM (presión arterial media) y la frecuencia cardíaca (FC) se registraron continuamente desde un catéter carotídeo. El Hct se midió a partir de muestras de sangre arterial centrifugadas tomadas en tubos capilares heparinizados. La sangre arterial se recogió en capilares de vidrio heparinizados (50 μ l) y se analizó inmediatamente para PO₂, PCO₂, exceso de base y pH. Las saturaciones de Hb arterial se midieron usando un CO-Oxímetro.

Curva de equilibrio de oxígeno en sangre:

[0120] Se obtuvieron curvas de equilibrio de oxígeno para sangre de ratones mediante desoxigenación de muestras equilibradas con O₂ en un tampón Hemox a 37°C, usando un analizador Hemox (TCS Scientific Corporation, New Hope, PA). Las muestras de sangre se transfirieron a la cámara de muestra del hemoxímetro donde primero se saturaron con aire comprimido y luego se desoxigenaron con nitrógeno puro. Se registró la absorbancia a las longitudes de onda correspondientes al punto isobéptico (570 nm) y desoxi Hb (560 nm) en función de la tensión de O₂ de la muestra (pO₂). Durante la desoxigenación, se recogieron los valores de PO₂ y porcentaje de saturación de O₂ para obtener los CEO y los valores de p50 (presión parcial de O₂ a la que la Hb está saturada al 50 % con O₂). Los valores de p50 se calcularon utilizando un análisis de regresión no lineal.

PO₂ de tejido microvascular:

[0121] Se realizaron mediciones de PO₂ microvascular no invasivas de alta resolución utilizando microscopía de extinción de fosforescencia (**PQM**). La PO₂ tisular se midió en regiones entre capilares funcionales (Yalcin & Cabrales 2012). Las saturaciones de Hb O₂ en la microcirculación se calculan utilizando las curvas de equilibrio de O₂ medidas.

Áreas tisulares hipóxicas:

[0122] La hipoxia tisular se estudió mediante tinción inmunohistoquímica para pimonidazol unido a zonas hipóxicas en tejidos vitales. Los ratones recibieron una inyección intraperitoneal (IP) en bolo del marcador hipóxico Hipoxisonda-1 (pimonidazol 40 mg/kg) y 5 mg/kg de Hoechst 33342 diluido en PBS (volumen total, 100 μ l). Al final del estudio, los ratones fueron sacrificados y se extrajeron tejidos para histología. Las secciones se tiñen con anticuerpo monoclonal contra pimonidazol. Se registraron imágenes para áreas teñidas con anticuerpos de pimonidazol y Hoechst. Los resultados se informan como la proporción de área teñida de pimonidazol al área celular total por colocación de pimonidazol y

Hoechst.

Análisis y resultados

5 Análisis PK/PD:

10 **[0123]** El análisis farmacocinético de sangre de ratones dosificados con 70 mg/kg o 140 mg/kg del Compuesto 1 de referencia reveló una ocupación calculada de Hb del Compuesto 1 de referencia de -30 y 60%, respectivamente. % de ocupación de Hb = $100 \times [\text{concentración de referencia del compuesto 1 en sangre (mM)}] / [(\text{Hct}/100) \times 5 \text{ mM}]$. Se usó hemoximetría para determinar el efecto PD del Compuesto 1 de referencia en sangre completa de ratones dosificados. En la FIGURA 2A se muestran curvas representativas de equilibrio de oxígeno (CEO) de sangre completa obtenida de ratones a los que se les dosificó el Compuesto 1 de referencia (líneas azul y roja) o solo vehículo (línea negra). El desplazamiento a la izquierda en el CEO indica un aumento dependiente de la dosis del Compuesto 1 de referencia en la afinidad de la Hb O₂ en relación con el control (solo vehículo).

15 Cambio en la saturación de O₂ en sangre arterial:

20 **[0124]** La FIGURA 2C representa los cambios en la SaO₂ en respuesta a los cambios en la PaO₂ (FIGURA 2B) durante la hipoxia. La presión parcial de sangre arterial de O₂ (PaO₂) disminuyó con el aumento del nivel de hipoxia. Dado que todos los animales estuvieron expuestos al mismo nivel de hipoxia, la PaO₂ fue la misma en los ratones tratados con el Compuesto 1 de referencia y en los ratones de control (FIGURA 2B). La saturación de oxígeno en sangre arterial (SaO₂) disminuyó con el aumento de la hipoxia. Sin embargo, el Compuesto 1 de referencia aumentó la SaO₂ de forma dependiente de la dosis en relación con el control durante la hipoxia, lo que indica que el Compuesto 1 de referencia aumentó la captación de O₂ durante la hipoxia (FIGURA 2C).

25 Cambio en el lactato y el pH de la sangre durante la hipoxia:

30 **[0125]** Las FIGURAS 2D y 2E muestran los cambios en el lactato y el pH de la sangre durante la hipoxia. Como se muestra en la FIGURA 2D, el pH de la sangre arterial disminuyó sustancialmente en los ratones de control durante la hipoxia de O₂ al 10% y al 5%, lo que indica acidosis. Por el contrario, el pH de la sangre arterial fue normal durante la hipoxia en ratones a los que se administró el Compuesto 1 de referencia, lo que indica que el Compuesto 1 de referencia redujo la acidosis. En apoyo de esto, el Compuesto de referencia 1 redujo los niveles de lactato en relación con el control durante la hipoxia extrema (5%O₂) (FIGURA 2E). Por tanto, al aumentar la afinidad de la Hb por el O₂, el Compuesto de referencia 1 mejoró el suministro de O₂ a los tejidos durante la hipoxia, como se evidencia por la reducción de los niveles de lactato en sangre en relación con el control.

35 Cambios en la presión arterial media (MAP) y la frecuencia cardíaca (HR) durante la exposición a hipoxia:

40 **[0126]** Las FIGURAS 2F y 2G muestran cambios en la presión arterial media (MAP) y la frecuencia cardíaca (HR) durante la exposición a hipoxia. Durante la hipoxia, la PAM y la frecuencia cardíaca (FC) disminuyeron en los ratones de control, mientras que los ratones a los que se administró el Compuesto 1 de referencia mantuvieron una PA (FIGURA 2F) y una FC (FIGURA 2G) medias más altas de una manera dependiente de la dosis. Por lo tanto, el aumento de la afinidad de Hb O₂ conduce a un aumento del suministro de O₂ a los tejidos durante la hipoxia, lo que minimiza los cambios sistemáticos en la presión arterial y la FC necesarios para adaptarse a la hipoxia.

45 Hipoxia tisular y supervivencia:

50 **[0127]** Las FIGURAS 2H y 2I, respectivamente, muestran el grado de hipoxia tisular y la supervivencia de los ratones durante la hipoxia. Como se muestra en la FIGURA 2H, el Compuesto de referencia 1 redujo los tejidos hipóxicos teñidos positivamente por pimonidazol en relación con el control durante la hipoxia extrema. Además, durante la hipoxia extrema, los ratones con PA sistólica adecuada se contaron como sobrevivientes y los ratones con hipotensión grave (PA ≤ 60 mmHg) se contaron como no sobrevivientes y se sacrificaron. Como se muestra en la FIGURA 2I, ninguno de los ratones de control sobrevivió más de 1 hora de exposición al 5 % de hipoxia de O₂, mientras que el 16 % de los ratones a los que se administró el Compuesto 1 de referencia de 70 mg/kg y el 83 % de los ratones a los que se administró el Compuesto 1 de referencia de 140 mg/kg sobrevivieron después de 1,5 horas de exposición al 5% de hipoxia de O₂. Estos datos muestran que el Compuesto 1 de referencia mejoró la oxigenación tisular y la supervivencia de los ratones durante la hipoxia extrema.

60 **[0128]** Este estudio demuestra que un compuesto que aumenta la afinidad por el O₂ de la hemoglobina aumenta la saturación arterial de O₂ y mejora el suministro de oxígeno a los tejidos durante la hipoxia. A nivel tisular, el medio local permite una extracción eficiente de O₂ que conduce a una mejor oxigenación medida por una disminución de la acidosis láctica, una mejor función cardiovascular y, en última instancia, la supervivencia.

65 Ejemplo de referencia 3

Modelo de ratón con lesión pulmonar aguda (LPA)

[0129] Este estudio se realizó para evaluar el efecto del aumento de la afinidad de Hb O₂ en condiciones de hipoxia aguda. En este sentido, se estudió el efecto del Compuesto de referencia 1, que aumenta la afinidad de la Hb O₂, en un modelo de ratón con lesión pulmonar aguda inducida por lipopolisacáridos que también fueron sometidos a hipoxia extrema. Este modelo animal es reproducible y captura la respuesta inflamatoria neutrofílica de la LPA/SDRA humana (Matute-bello, G., Frevert, CW & Martin, TR, 2008. Modelos animales de lesión pulmonar aguda). En combinación con el desafío hipóxico, la LPA inducida por LPS en animales proporciona un modelo preclínico para investigar el efecto de fármacos potenciales que pueden reducir la hipoxemia asociada con LPA (Matutebello et al. Id) (Vuichard, D. et al., 2005. Hypoxia aggravates lipopolysaccharide-induced lung injury. Clinical and Experimental Immunology, 141(2), pp.248-260).

Estudio:

[0130] Se anestesiaron ratones C57BL/6J macho adultos de 8-10 semanas de edad (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) con isoflurano, se les inyectó 100 µg de LPS (Sigma, St. Louis, MO) en 100 µl de PBS por inyección intratraqueal directa. Después de 24 horas, a los ratones se les administró el Compuesto de referencia 1 (70 o 140 mg/kg formulado en dimetilacetamida, polietilenglicol 400 (PEG400) y 40 % de cavitron en una proporción de 1:5:4, respectivamente) o vehículo solo (5 µl/kg) por sonda oral 2 horas antes de la colocación en una cámara de hipoxia. Los ratones se expusieron a O₂ al 10 o al 5% durante 4 horas. La saturación de oxígeno (SaO₂) se midió con un oxímetro de pulso (STARR Life Sciences, Oakmont, PA) al inicio del estudio y cada hora durante la exposición hipóxica. Durante la exposición hipóxica, los ratones fueron monitoreados continuamente y se realizó un control de moribundo cada 15 minutos. El tiempo hasta la muerte se evaluó por el tiempo hasta el estado moribundo. Se determinó que los ratones estaban moribundos si no podían enderezarse cuando se colocaban en posición supina.

[0131] La sangre se recogió mediante punción cardíaca en la cámara hipóxica. Los gases en sangre se midieron usando el analizador portátil iSTAT dentro del ambiente hipóxico (Abaxis, Union City, CA). Las muestras de sangre restantes se usaron para hemoximetría y análisis farmacocinético. Para la recolección de muestras, los ratones fueron sacrificados con sobredosis de pentobarbital. Se realizó un lavado broncoalveolar (BAL) con 900 µL de solución salina. La sangre se recogió mediante punción retroorbital y luego se centrifugó para recoger el plasma. Se extrajeron los pulmones y se congelaron instantáneamente. Todas las muestras se almacenaron a -80°C hasta su posterior estudio. Los recuentos y diferenciales de células inflamatorias del LBA se determinaron manualmente después de teñir los citospines con DiffQuik. La proteína BAL se midió utilizando un kit de ensayo de proteínas Pierce BCA (Thermo Scientific, Waltham, MA).

Análisis y resultados

Análisis PK/PD:

[0132] El análisis PK de sangre de ratones dosificados con 70 mg/kg o 140 mg/kg del Compuesto 1 de referencia reveló una ocupación de Hb del Compuesto 1 de referencia de ~19 % y 27 %, respectivamente. % de ocupación de Hb = $100 \times [\text{concentración de referencia del compuesto 1 en sangre (mM)}] / [(\text{Hct}/100) \times 5 \text{ mM}]$. Se usó hemoximetría para determinar el efecto PD del Compuesto 1 de referencia en sangre completa de ratones dosificados como se describe anteriormente. En la FIGURA 3A se muestran curvas representativas de equilibrio de oxígeno (CEO) de sangre entera obtenida de ratones a los que se les dosificó el Compuesto 1 de referencia (líneas azul y roja) o solo vehículo (línea negra). El desplazamiento a la izquierda en el CEO indica un aumento dependiente de la dosis del Compuesto 1 de referencia en la afinidad de la Hb O₂ en relación con el control (solo vehículo).

Lesión pulmonar inducida por LPS:

[0133] El tratamiento con 100 µg de LPS indujo inflamación como se evidenció por el aumento de los recuentos de células totales en LLB en relación con el grupo de control sin LPS (FIGURA 3B). Además, las LLB de animales tratados con LPS contenían neutrófilos (FIGURA 3C) y macrófagos (FIGURA 3D) que son marcadores inflamatorios típicos consistentes con lesión pulmonar inducida por LPS. Sin embargo, no se observaron diferencias importantes en la proteína total en LLB de grupos de control tratados con LPS versus (sin LPS) (FIGURA 3E), lo que confirma la ausencia de daño capilar alveolar significativo en este modelo de lesión pulmonar aguda. El Compuesto de referencia 1 no tuvo un efecto significativo sobre la inflamación o la lesión pulmonar.

Cambio en la saturación de O₂ arterial periférica:

[0134] Usando un MouseOx, se midió la saturación de O₂ arterial periférica (SpO₂) durante la hipoxia. La SpO₂ se midió para cada grupo cada hora durante la hipoxia. La SpO₂ promedio durante 4 horas de exposición a la hipoxia para cada grupo se muestra en la FIGURA 3F. En general, la SpO₂ disminuyó durante la hipoxia para todos los grupos. Sin embargo, durante hipoxia O₂ al 10% y 5%, la SpO₂ fue mayor en los ratones a los que se administró el Compuesto 1 de referencia en comparación con los ratones de control (o vehículo). Por ejemplo, durante una hipoxia de O₂ al 5%, el Compuesto de referencia 1 a 70 mg/kg o 140 mg/kg aumentó la SpO₂ en un 22 % o un 31% del valor de control, respectivamente. Por tanto, el Compuesto 1 de referencia aumentó la SpO₂ en relación con el control durante la hipoxia, lo que indica que el Compuesto 1 de referencia aumentó la captación de O₂ durante la hipoxia en presencia de una lesión pulmonar aguda.

Supervivencia:

[0135] Durante la exposición a la hipoxia, los ratones se monitorizaron continuamente y se realizó una comprobación de moribundos cada 15 minutos. El tiempo hasta la muerte se evaluó por el tiempo hasta el estado moribundo. Se determinó que los ratones estaban moribundos si no podían enderezarse cuando se colocaban en posición supina. Como se muestra en la FIGURA 3G, el 45 % de los ratones de control sobrevivieron después de 4 horas de exposición a hipoxia de O₂ al 5 %, mientras que el 60 % de los ratones a los que se administró el Compuesto 1 de referencia de 70 mg/kg y el 86 % de los ratones a los que se administró el Compuesto 1 de referencia de 140 mg/kg sobrevivieron. Por lo tanto, el Compuesto 1 de referencia mejoró la supervivencia de ratones con lesión pulmonar aguda de forma dependiente de la dosis durante la exposición a hipoxia extrema.

[0136] Este estudio demuestra que un compuesto que aumenta la afinidad por el O₂ de la hemoglobina mejora la captación de O₂ y el suministro de O₂ al tejido durante la hipoxia en presencia de lesión pulmonar y, por lo tanto, proporciona una nueva estrategia terapéutica para mejorar el suministro de O₂ y minimizar la necesidad por exceso de O₂ que a menudo agrava aún más la lesión pulmonar.

Ejemplo de referencia 4Modelo de ratón de hipoxemia y fibrosis pulmonar inducida por bleomicina

[0137] Este estudio se llevó a cabo para evaluar si el aumento de la afinidad de Hb O₂ podría mejorar la hipoxia asociada con la FPI. El Compuesto de referencia 1 se evaluó en un modelo de hipoxemia y fibrosis en ratón inducido por bleomicina. La fibrosis pulmonar inducida por bleomicina en animales proporciona un modelo preclínico para investigar el efecto de fármacos potenciales que pueden reducir la hipoxemia asociada con la FPI. En este estudio, la hipoxemia se determinó mediante el control de la saturación arterial de oxígeno (SaO₂), mientras que la gravedad de la fibrosis pulmonar se evaluó mediante evaluación histopatológica y determinación de los niveles de colágeno y leucocitos en el líquido de lavado broncoalveolar (LLB).

Estudio:

[0138] Se obtuvieron cuarenta y ocho ratones macho C57B/L6 de 7-8 semanas de edad de Simonsen Laboratory, Gilroy, CA. Los ratones fueron etiquetados en las orejas y pesados antes del comienzo del estudio. Los animales se distribuyeron en cuatro grupos con doce animales en cada grupo.

Los pesos corporales de todos los ratones se registraron diariamente durante el estudio. A los animales de los grupos 2, 3 y 4 se les administró 3U/kg de sulfato de bleomicina USP (Teva Pharmaceuticals) por vía orofaríngea durante 7 días (ver Walters, DM y SR Kleeberger (2008). "Mouse models of bleomycin-induced pulmonary fibrosis." Curr Protoc Pharmacol Chapter 5: Unit 5 46.) A los animales del grupo 1 se les administró solución salina normal por vía orofaríngea.

[0139] El compuesto de referencia 1 (formulado en dimetilacetamida: polietilenglicol 400 (PEG400): cavitron al 40 % en una proporción de 1:5:4) se administró en dosis bajas (el primer día 50 mg/kg seguido de 40 mg/kg al día.) o dosis alta (el primer día 150 mg/kg seguido de 85 mg/kg diarios) mediante sonda oral a ratones tratados con bleomicina una vez al día desde el día 8 hasta el día 15. A los animales del grupo 1 se les administró vehículo mediante sonda oral. El volumen de dosificación fue de 200 µl. Los animales de estudio se sacrificaron el día 15 a las 4 horas posteriores a la dosis final.

[0140] Se tomaron muestras para hemoximetría y farmacocinética (PK) 4 horas después de la última dosis del régimen de dosificación. El líquido BAL se recogió de los pulmones de los animales lavando el pulmón con 1 ml de medio salino equilibrado de Hanks (HBSS). Se recogieron los pulmones de cada animal y se pesaron. A continuación, se inflaron con ~0,5 ml de NBF al 10 % y se fijaron en un recipiente de formalina para su posterior análisis histopatológico.

Análisis y resultados:PK/ PD:PK:

[0141] Las concentraciones en sangre y plasma del Compuesto de referencia 1 se determinaron mediante CL-EM 4 horas después de la última dosis. Tanto las muestras de sangre estándar como las de control de calidad se preincubaron a 37 °C durante 1 hora. Después de la incubación, todas las muestras estándar y de control de calidad se diluyeron con el doble de volumen de agua para que coincidieran con la condición de las muestras. El estándar de plasma y el control de calidad se estaban realizando sin preincubación. Para todas las muestras, se mezclaron 10 µl de muestra de sangre o plasma con 240 µl de tampón de citrato de sodio (pH 3) en una placa de 96 pocillos de 2 ml. La mezcla se agitó durante 10 minutos. Un patrón interno, 500 µL de 200 ng/mL 2-hidroxi-6-((2-(1-(propan-2-il-d 7)-1H-pirazol-5-il)piridin-3-il)metoxi)benzaldehído en acetonitrilo, se añadió a todas las muestras y la mezcla se agitó durante 20 minutos. La placa de muestra se centrifugó a 4000 rpm durante 10 minutos. Se transfirieron diez µL de sobrenadante a una placa de inyección y se diluyeron con 190 µL de acetonitrilo al 50 % en agua antes de inyectar al CLEM. El compuesto de referencia 1 y 2-hidroxi-6-((2-(1-(propan-2-il-d 7)-1H-pirazol-5-il)piridin-3-il)metoxi)benzaldehído se separaron en un Thermo

Columna Aquasil C18 (2,1 x 20,5 µm). Se programó un gradiente de fase móvil con mezcla de 85% fase móvil A (0,1% ácido fórmico en agua) y 15% fase móvil B (0,1% ácido fórmico en 100% acetonitrilo) de 0,0-0,5 min, se cambió a 95% fase móvil B de 0,5 a 1,5 minutos, mantenga al 95 % la fase móvil B de 1,5 a 1,8 min. A los 1,9 min, la fase móvil volvió al 15 % de la fase móvil B y permaneció allí de 1,9 a 2,5 min. El área del pico del ion producto m/z 341 -> 203 (Compuesto de referencia 1) se midió frente al del ion producto m/z 345 -> 159 2-hidroxi-6-((2-(1-(propan-2-il-d7)-1H-pirazol-5-il)piridin-3-il)metoxi)benzaldehído en modo de ión positivo. El rango analítico fue de 50 a 100000 ng/mL para muestra de sangre y de 50 a 5000 ng/mL para muestra de plasma. Los ratones tratados con bleomicina con los regímenes de dosis baja y alta del Compuesto 1 de referencia alcanzaron el 18,0 % y el 36,7 % de la ocupación de Hb calculada, respectivamente. La proporción promedio de concentración de sangre/plasma fue de 22:1, lo que equivale a una proporción de glóbulos rojos/plasma de 102:1. La alta proporción RBC/plasma del Compuesto de referencia 1 indicó una partición preferencial del Compuesto de referencia 1 en los glóbulos rojos (Tabla 12).

Ocupación de hemoglobina:

[0142] La ocupación de hemoglobina por el Compuesto de referencia 1 se calculó dividiendo la concentración del Compuesto de referencia 1 en los glóbulos rojos por la concentración de Hb en los glóbulos rojos (5 mM). Los glóbulos rojos se calcularon a partir de los datos de concentración en sangre total y plasma utilizando la siguiente ecuación:

$$RBC = \frac{C_b - [(1 - Hct) * C_p]}{Hct}$$

aquí C_b = concentración en sangre del compuesto de referencia 1 en µg/mL

C_p = Concentración en plasma del compuesto de referencia 1 en µg/mL

Hct = Valor de hematocrito (0,21) Hemoximetría

PD

[0143] Las medidas de hemoximetría (análisis de PD) se realizaron en un analizador Hemox (TCS Scientific Corporation, New Hope, PA). Las muestras se transfirieron a la cámara de muestra del hemoxímetro donde primero se saturaron con aire comprimido y luego se desoxigenaron con nitrógeno puro. Se registró la absorbancia a las longitudes de onda correspondientes al punto isobéptico (570 nm) y desoxi Hb (560 nm) en función de la tensión de O_2 de la muestra (pO_2). Durante la desoxigenación, se recogieron los valores de PO_2 y porcentaje de saturación de O_2 para obtener los CEO y los valores de $p50$ (presión parcial de O_2 a la que la Hb está saturada al 50 % con O_2). Los valores de $p50$ se calculan utilizando un análisis de regresión no lineal. Como se muestra en la FIGURA 4B, los ratones tratados con el Compuesto 1 de referencia demostraron un desplazamiento a la izquierda significativo en la CEO en una forma de respuesta a la dosis que indica una mayor afinidad de unión de Hb-oxígeno.

Gases en sangre arterial y saturación de oxígeno:

[0144] La hipoxia es una característica de la FPI, y las mediciones de saturación de oxígeno se usan a menudo clínicamente para evaluar la presencia y la gravedad de la hipoxia. Las respuestas a la hipoxia en ratones tratados con el Compuesto 1 de referencia se evaluaron primero midiendo la saturación de oxígeno arterial (SAO_2). En los días 7 y 14 después de la instilación de bleomicina o solución salina, se usaron 50 µl de sangre arterial de la arteria de la cola para medir la saturación de oxígeno arterial (SAO_2) usando un cooxímetro GEM OPL de sangre total (Laboratorio de Instrumentación, MA). Se recogió una alícuota adicional de 100 µl de sangre de la arteria de la cola y se midieron los gases en sangre arterial con el i-STAT Handheld Blood Analyzer (ABBOTT) con cartuchos CG4+. Para cada ratón, se midieron la SAO_2 y la tensión arterial de oxígeno (pO_2). Como se muestra en la FIGURA 4C, ambos grupos tratados con el Compuesto 1 de referencia mostraron una disminución de SAO_2 antes del tratamiento con el Compuesto 1 de referencia el día 7 y un retorno posterior hacia los valores de control después del tratamiento con el Compuesto 1 de referencia durante siete días consecutivos (Dosis baja: Día 8 50 mg/kg; Día 9-15 40 mg/kg al día; Dosis alta: Día 8 150 mg/kg; Día 9-15 85 mg/kg al día). Por el contrario, los niveles de oxigenación arterial de los ratones tratados con vehículo disminuyeron aún más a lo largo del estudio (FIGURA 4C). Los gases en sangre arterial (ABG) también se analizaron el día 7 y el día 14 (FIGURA 4C). Los datos se expresan como media ± SEM. En el día 7, en ratones tratados con bleomicina, la tensión de oxígeno arterial (pO_2) disminuyó significativamente, lo que indica un deterioro del intercambio de gases pulmonares. En ratones con bleomicina tratados con vehículo, la PO_2 alcanzó una disminución adicional en el día 14. El tratamiento con el Compuesto de referencia 1 mostró una tendencia a un aumento de la PO_2 o la prevención de una mayor disminución de la PO_2 , lo que sugiere un efecto beneficioso sobre la progresión de la enfermedad (FIGURA 4D). En conjunto, estos hallazgos demuestran que el tratamiento con el Compuesto 1 de referencia mejora significativamente la hipoxemia, lo que conduce a una mejora fisiológica en ratones.

Análisis de leucocitos en fluido BAL:

[0145] En este modelo de bleomicina, los ratones desarrollan fibrosis pulmonar extensa así como inflamación pulmonar; por tanto, se examinó el efecto del tratamiento con el Compuesto 1 de referencia sobre el fenotipo de las células

inflamatorias pulmonares. El líquido BAL se centrifugó a 1000 rpm a 4 °C durante 5 minutos. Los sedimentos de células BAL se suspendieron en 2 ml de tampón Pharmalyse 1x (BD Bioscience) para lisar los glóbulos rojos. Se añadieron PBS + FBS al 2 % para detener la reacción de lisis y las células se centrifugaron de nuevo. Los leucocitos en el sedimento celular se contaron usando un hemocitómetro y el método de exclusión con azul de tripano.

[0146] El tratamiento con el compuesto de referencia 1 se asoció con una disminución de la inflamación, como es evidente por una reducción significativa en el total de células inflamatorias recuperadas en el líquido BAL el día 15 (*, $P < 0,05$; dosis baja: día 8 50 mg/kg; día 9- 15 40 mg/kg diarios; Dosis alta: Día 8 150 mg/kg; Días 9-15 85 mg/kg diarios) (FIGURA 4E). Este hallazgo demuestra que el tratamiento con el Compuesto 1 de referencia atenúa la inflamación pulmonar en este modelo.

Análisis de colágeno líquido de BAL:

[0147] Además de los efectos anti-hipoxemia y antiinflamatorios, el tratamiento con el Compuesto 1 de referencia mostró una mejora en las lesiones fibróticas. Se indujo fibrosis pulmonar administrando a ratones una dosis única de bleomicina. El contenido de colágeno se determinó cuantificando el colágeno soluble total en el sobrenadante de LLB utilizando el ensayo de unión de tinte de colágeno Sircol de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Biocolor Ltd, Carrick Fergus, Reino Unido). El tratamiento con el Compuesto de referencia 1 resultó en una reducción significativa de la proteína de colágeno en los pulmones (*, $P < 0,05$; Dosis baja: Día 8 50 mg/kg; Día 9-15 40 mg/kg al día; Dosis alta: Día 8 150 mg/kg; Día 9-15 85 mg/kg diarios) (FIGURA 4F). Estos resultados indican que el Compuesto 1 de referencia atenúa la fibrosis pulmonar en el modelo murino de bleomicina.

Medición del peso de los pulmones:

[0148] Se recogieron los pulmones de cada animal y se pesaron el día 15. Los pulmones de los ratones con bleomicina administrados con control de vehículo eran significativamente más pesados que los pulmones de los ratones tratados con el Compuesto 1 de referencia (**, $P < 0,01$), lo cual sugiere enfermedad fibrótica reducida en animales tratados (FIGURA 4G). Estos resultados confirman que el Compuesto 1 de referencia atenúa la fibrosis pulmonar en el modelo murino de bleomicina.

Análisis histopatológico:

[0149] El análisis histopatológico se realizó en Seventh Wave Laboratories, Chesterfield, MO. Las muestras de pulmón se procesaron e incluyeron todos los lóbulos de cada ratón en un bloque de parafina. Las secciones coronales a través de los cuatro lóbulos principales se tiñeron con tricrómico de Masson. Para cada animal, se examinaron campos pulmonares consecutivos en un patrón de trama usando una lente objetivo de 20X y una lente ocular de 10X o 40X (200X o 800X). Se registró una puntuación de Ashcroft modificada (Hubner et al. 2008) para cada campo. El índice fibrótico se calculó como la suma de las puntuaciones de campo de Ashcroft modificadas dividida por el número de campos examinados.

[0150] Se tiñeron secciones de pulmón de ratones del día 15 con tricrómico de Masson para visualizar el depósito de colágeno (azul). Los pulmones tratados con bleomicina con vehículo eran fibróticos y tenían un depósito extenso de colágeno, tabique interalveolar pulmonar engrosado y obliteración de los espacios aéreos alveolares por colágeno (FIGURA 4H). Por el contrario, los pulmones tratados con el Compuesto 1 de referencia (dosis baja: Día 8 50 mg/kg; Días 9-15 40 mg/kg al día; Dosis alta: Día 8 150 mg/kg; Días 9-15 85 mg/kg al día) mostraron una disminución de la deposición de colágeno.; muchos alvéolos no presentaban fibrosis septal y se parecían al parénquima de los pulmones sin exposición a bleomicina (FIGURA 4H). Se realizó la puntuación de Ashcroft para cuantificar la fibrosis morfológica, y el tratamiento con el Compuesto 1 de referencia mejoró las puntuaciones generales en aproximadamente un 50 % (**, $P < 0,01$; FIGURA 4I). Estos resultados sugieren que el Compuesto 1 de referencia inhibe la fibrosis pulmonar en este modelo de ratón con bleomicina.

[0151] Debe entenderse que otros compuestos como se describen en el presente documento pueden evaluarse de manera similar a como se describe anteriormente.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto seleccionado de:

5

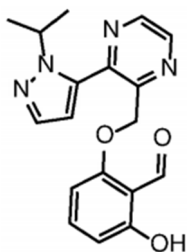
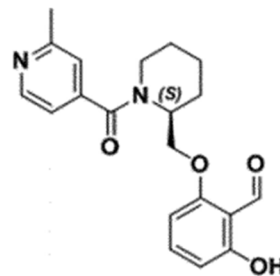
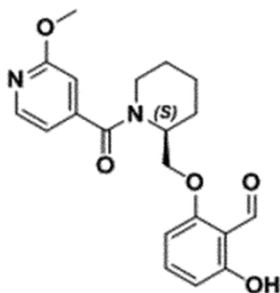
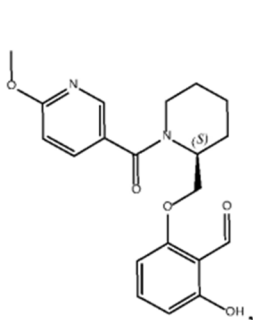
10

15

y

20

25

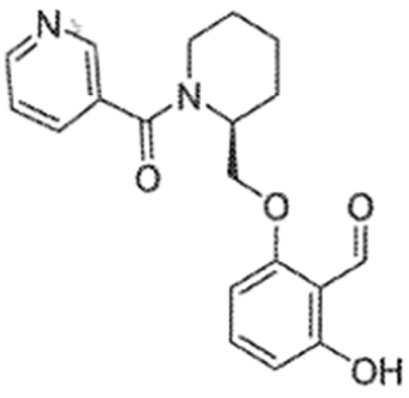


o un estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de cada uno de ellos, o un solvato farmacéuticamente aceptable de cada uno de los anteriores.

2. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 1 y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

3. Un compuesto de la reivindicación 1 para usar en un método para tratar la hipoxia en un paciente.

Tabla 1: Hemoximetría de Compuesto 1

Estructura	Hemox (sangre entera)	
 <p data-bbox="309 1330 491 1361">MW= 340.4</p> <p data-bbox="576 1330 730 1361">cLogP 1.8</p>	Hct= 20% ([Hb]=1mM)	
	%Δp50 (1mM)= 83%	N=1
	Hct= 40% ([Hb]=2mM)	
	%Δp50 (2mM)= 82%	N=3
	%Δp50 (1.2mM)= 46%	N=3
	%Δp50 (0.6mM)= 22%	N=3

$$\% \Delta p50 = 100 * \left(\frac{(p50_{control} - p50_{muestra})}{p50_{control}} \right)$$

FIG. 1A

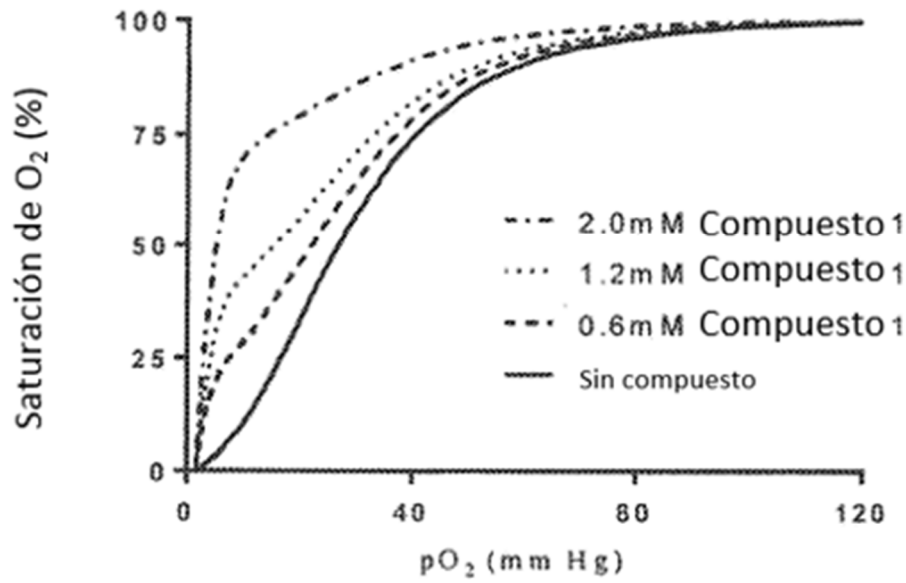


FIG. 1B

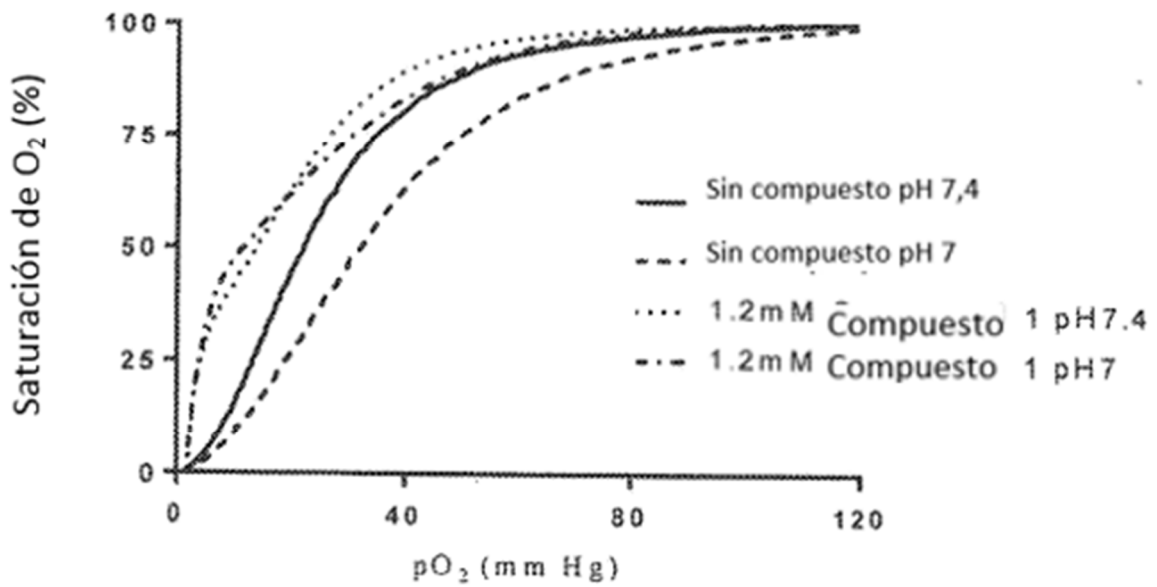
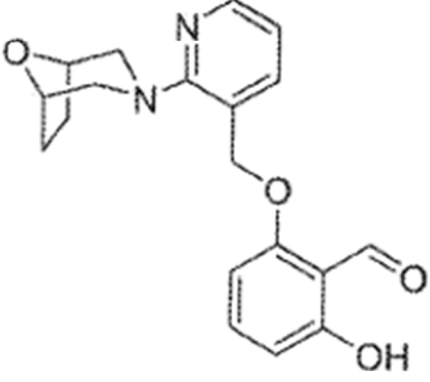


FIG. 1C

Tabla 2: Hemoximetría de Compuesto 2

Estructura	Hemox (sangre entera)	
 <p data-bbox="292 1373 730 1417">MW= 340.4 cLogP 2.5</p>	Hct= 20% ([Hb]=1mM)	
	%Δp50 (1mM)= 69%	N=1
	Hct= 40% ([Hb]=2mM)	
	%Δp50 (2mM)= 80%	N=3
	%Δp50 (1.2mM)= 42%	N=3
	%Δp50 (0.6mM)= 14%	N=3

$$\% \Delta p50 = 100 * \left(\frac{(p50_{control} - p50_{muestra})}{p50_{control}} \right)$$

FIG. 1D

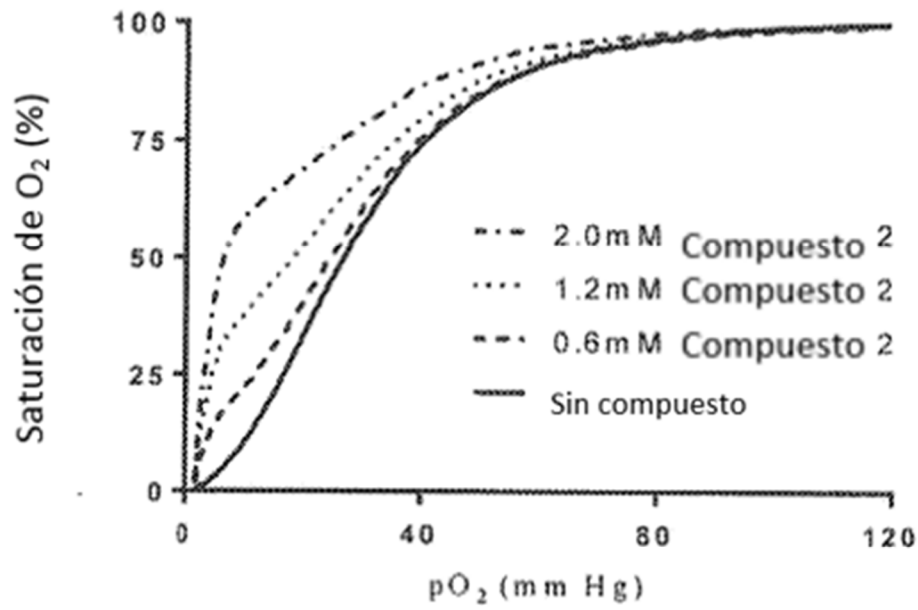


FIG. 1E

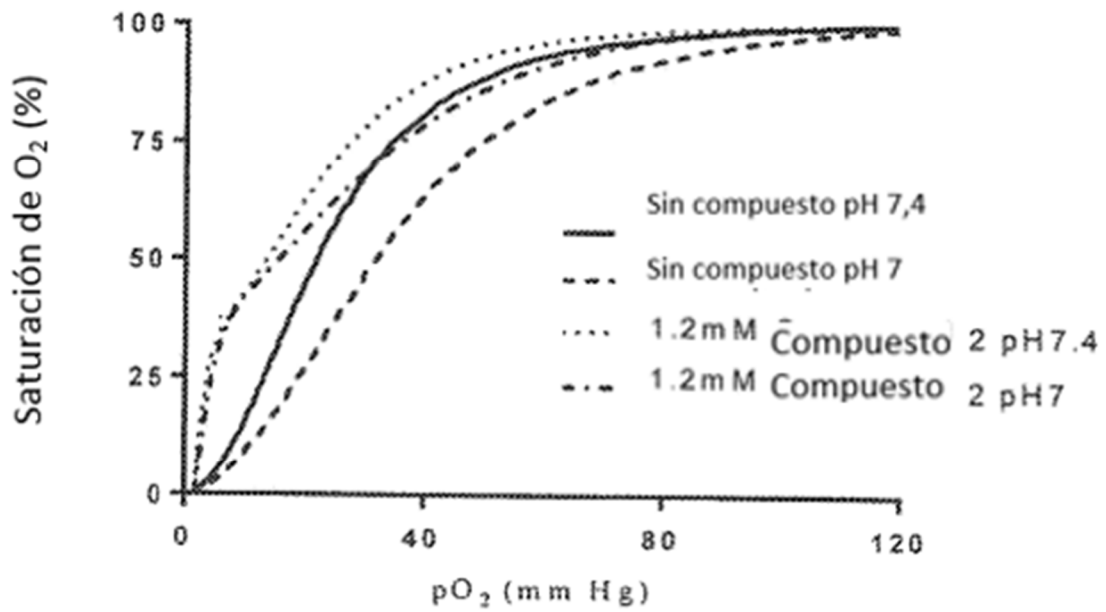
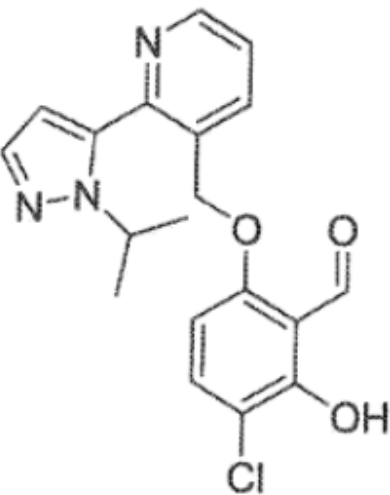


FIG. 1F

Tabla 3: Hemoximetría de Compuesto 3

Estructura	Hemox (sangre entera)	
 <p data-bbox="335 1355 758 1400">MW= 371.8 cLogP 3.7</p>	Hct= 20% ([Hb]=1mM)	
	%Δp50 (1mM)= 69%	N=1
	Hct= 40% ([Hb]=2mM)	
	%Δp50 (2mM)= 73%	N=3
	%Δp50 (1.2mM)= 49%	N=3
	%Δp50 (0.6mM)= 16%	N=3

$$\% \Delta p50 = 100 * \left(\frac{(p50_{control} - p50_{muestra})}{p50_{control}} \right)$$

FIG. 1G

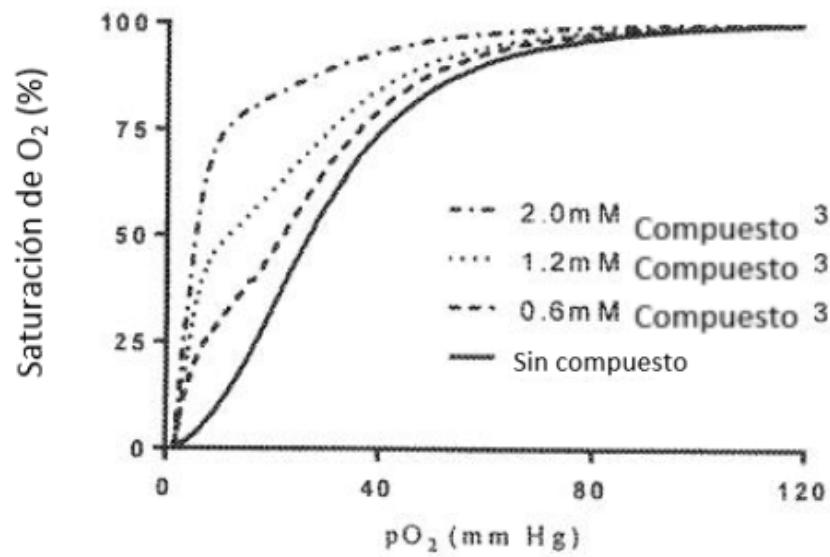


FIG. 1H

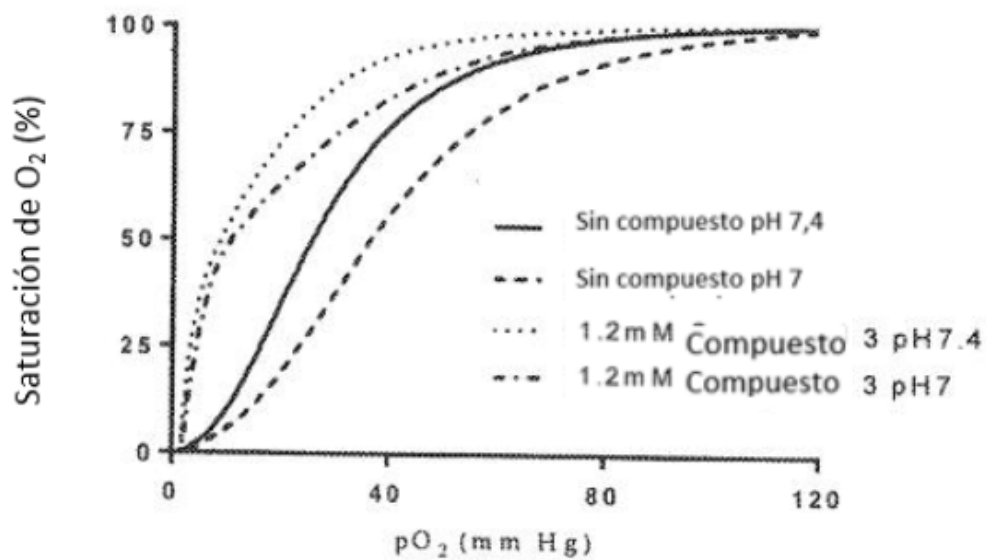
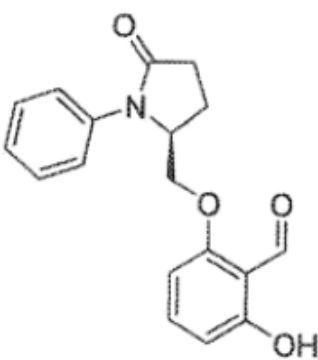


FIG. 1I

Tabla 4: Hemoximetría de Compuesto 4

Estructura	Hemox (sangre entera)	
	Hct= 20% ([Hb]=1mM)	
	%Δp50 (1mM)= 77%	N=1
	Hct= 40% ([Hb]=2mM)	
	%Δp50 (2mM)= 77%	N=3
	%Δp50 (1.2mM)= 62%	N=3
	%Δp50 (0.6mM)= 35%	N=3
MW= 311.3 cLogP 2.3		

$$\% \Delta p50 = 100 * \left(\frac{p50_{control} - p50_{muestra}}{p50_{control}} \right)$$

FIG. 1J

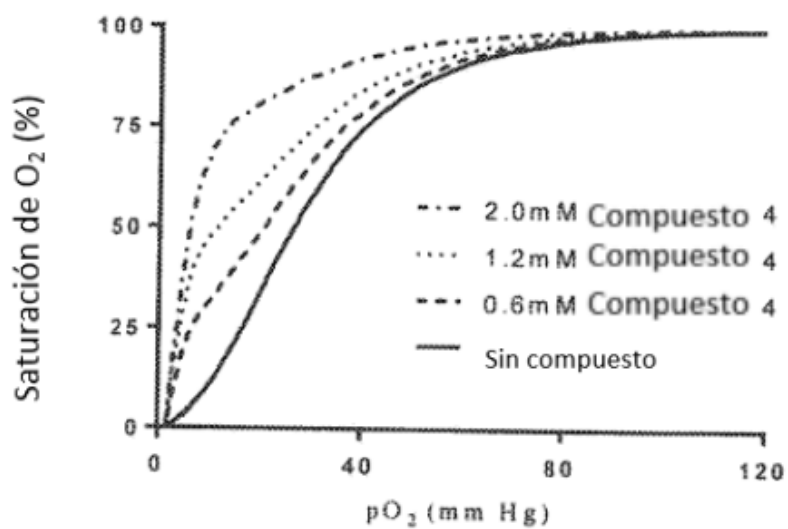


FIG. 1K

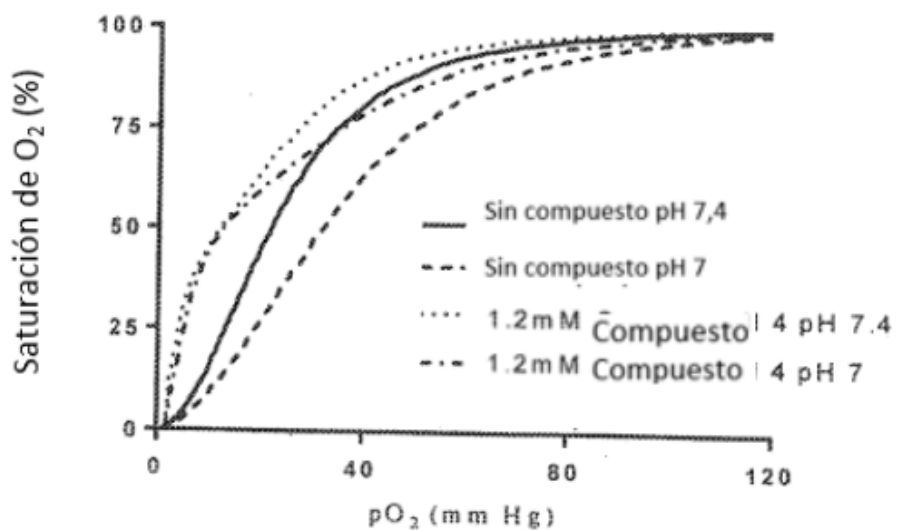
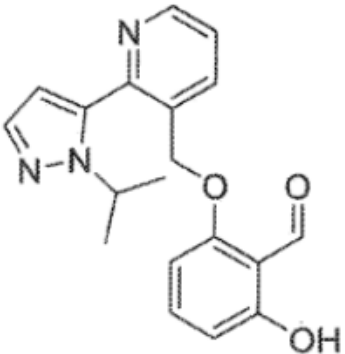


FIG. 1L

Tabla 5: Hemoximetría de Compuesto 5

Estructura	Hemox (sangre entera)	
 MW= 337.4 cLogP 3.2	Hct= 20% ([Hb]=1mM)	
	%Δp50 (1mM)= 80%	N=9
	Hct= 40% ([Hb]=2mM)	
	%Δp50 (2mM)= 83%	N=3
	%Δp50 (1.2mM)= 64%	N=3
	%Δp50 (0.6mM)= 30%	N=3

$$\% \Delta p50 = 100 * \left(\frac{(p50_{control} - p50_{muestra})}{p50_{control}} \right)$$

FIG. 1M

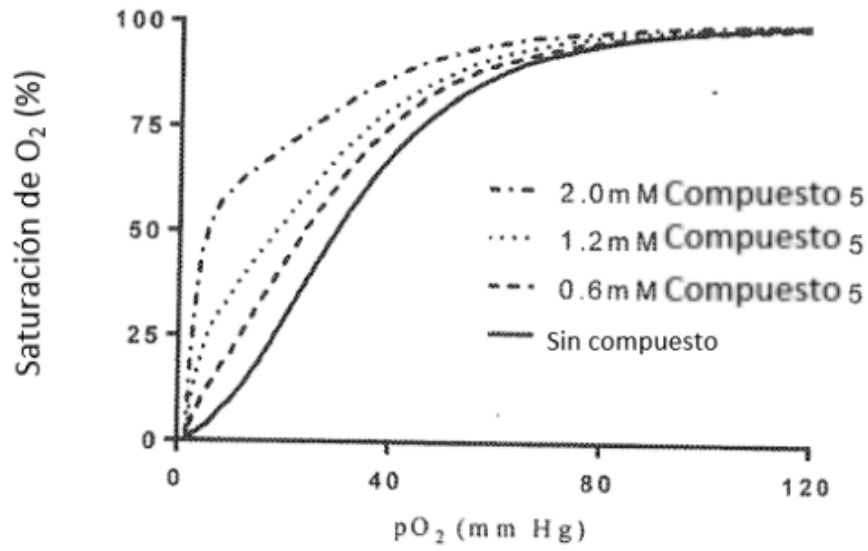


FIG. 1N

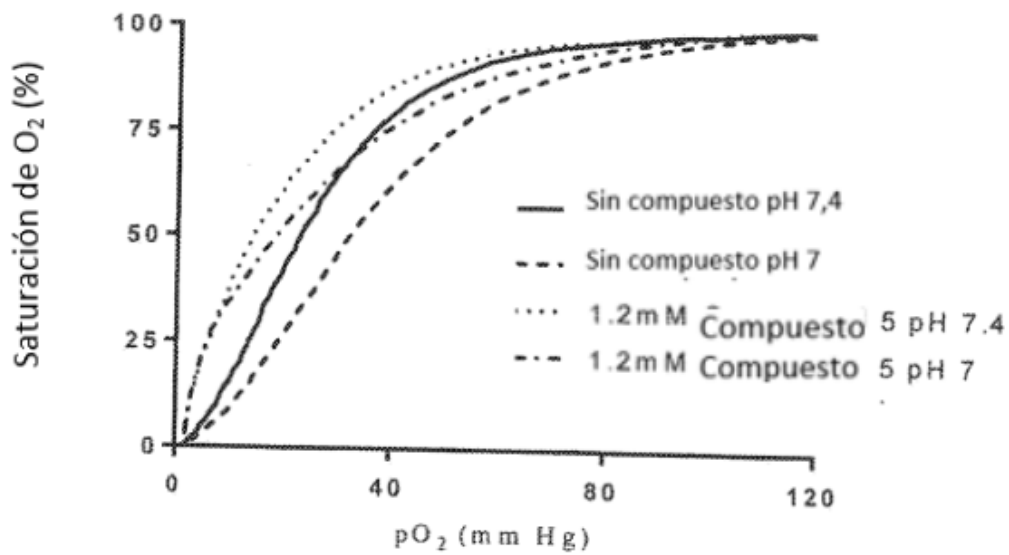
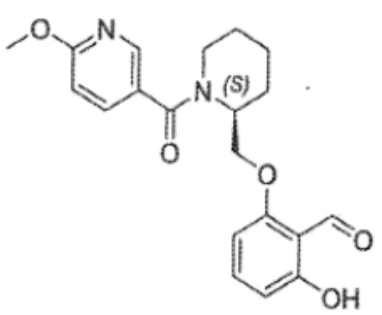


FIG. 1O

Tabla 6: Hemoximetría de Compuesto 6

Estructura	Hemox (sangre entera)	
	Hct= 40% ([Hb]=2mM)	
	%Δp50 (2mM)= 61%	N=3
	%Δp50 (1.2mM)= 39%	N=3
	5Δp50 (0.6mM)= 18%	N=3
MW= 370.4 cLogP		

$$\% \Delta p50 = 100 * \left(\frac{(p50_{control} - p50_{muestra})}{p50_{control}} \right)$$

FIG. 1P

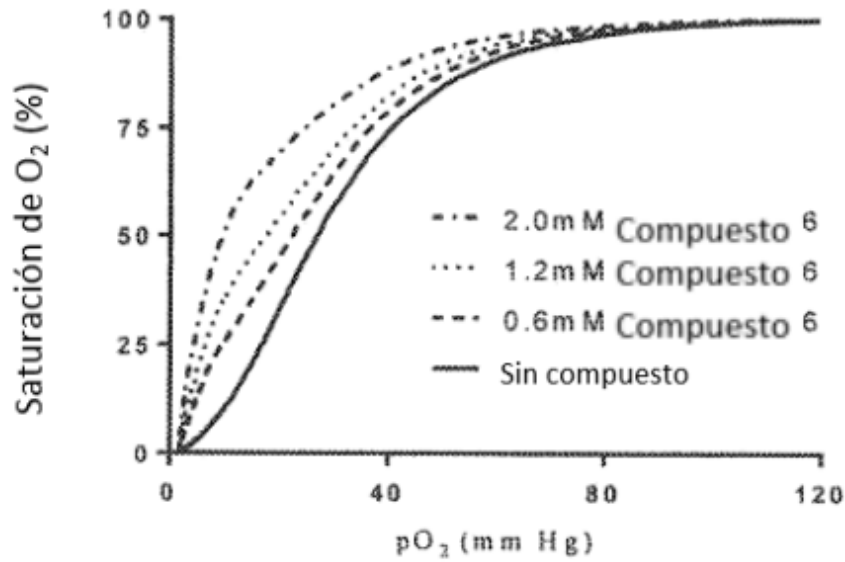


FIG. 1Q

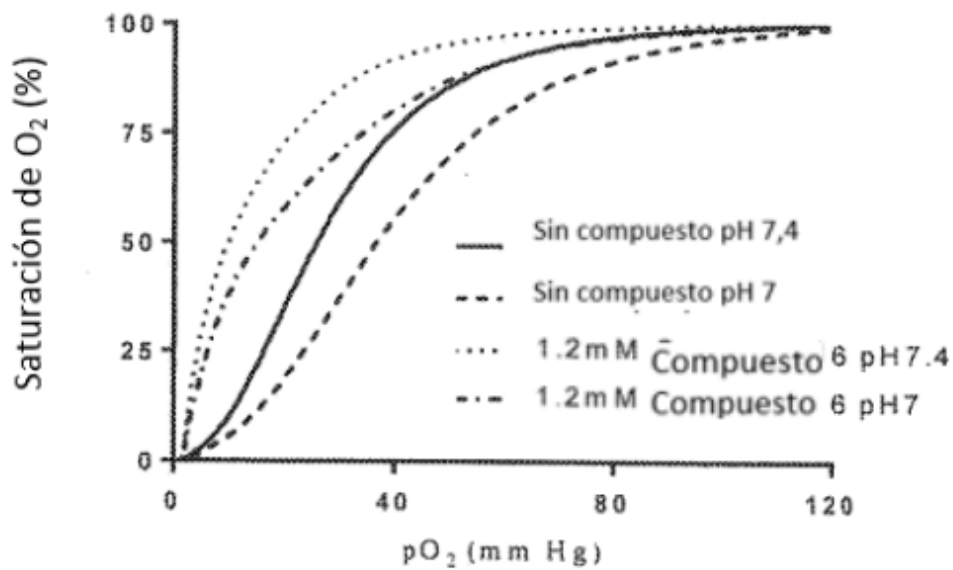
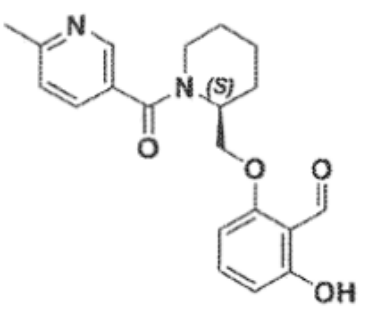


FIG. 1R

Tabla 7: Hemoximetría de Compuesto 7

Estructura	Hemox (sangre entera)	
	Hct= 40% ([Hb]=2mM)	
	%Δp50 (2mM)= 69%	N=3
	%Δp50 (1.2mM)= 50%	N=3
	%Δp50 (0.6mM)= 26%	N=3
MW= 354.4 cLogP		

$$\% \Delta p50 = 100 * \left(\frac{(p50_{control} - p50_{muestra})}{p50_{control}} \right)$$

FIG. 1S

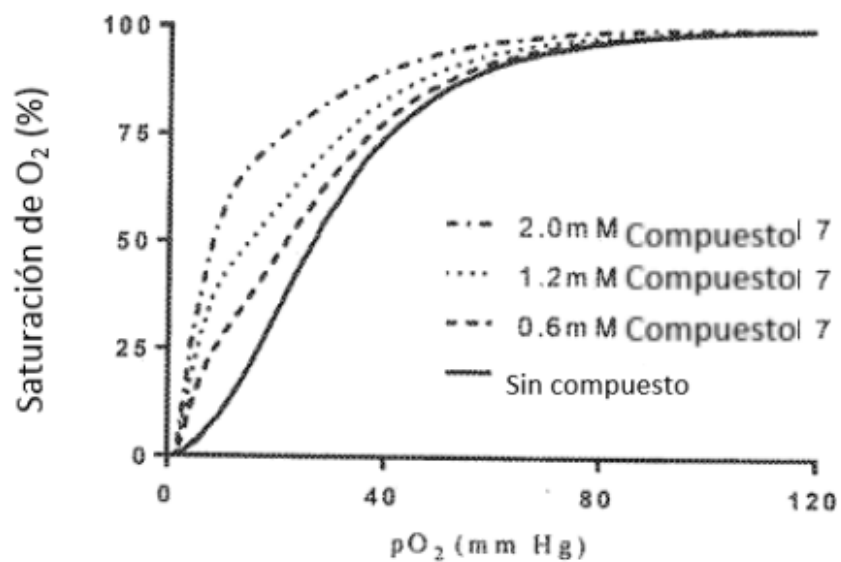


FIG. 1T

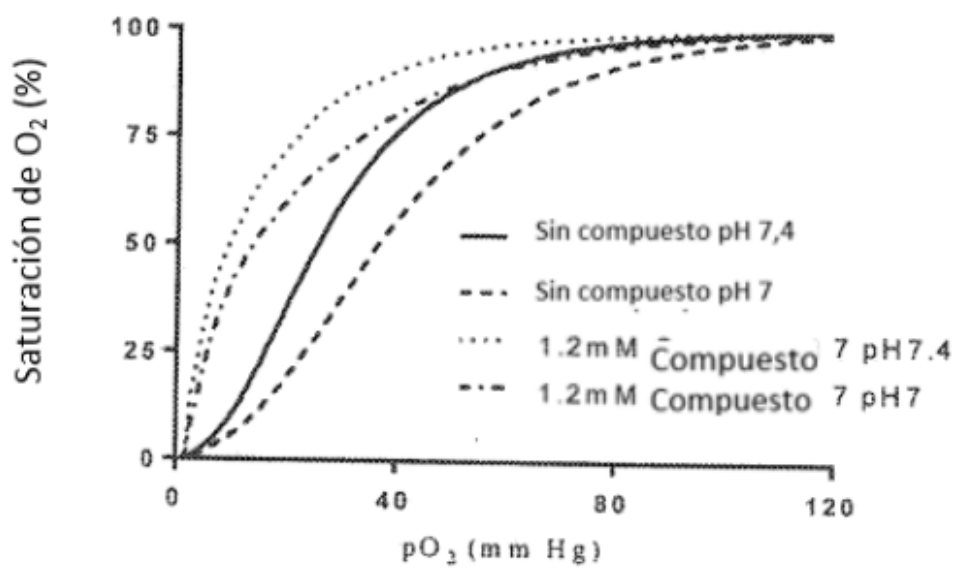
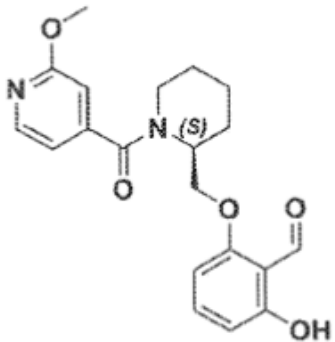


FIG. 1U

Tabla 8: Hemoximetría de Compuesto 8

Estructura	Hemox (sangre entera)	
 MW= 370.4 cLogP	Hct= 40% ([Hb]=2mM)	
	%Δp50 (2mM)= 70%	N=3
	%Δp50 (1.2mM)= 48%	N=3
	%Δp50 (0.6mM)= 21%	N=3

$$\% \Delta p50 = 100 * \left(\frac{p50_{control} - p50_{muestra}}{p50_{control}} \right)$$

FIG. 1V

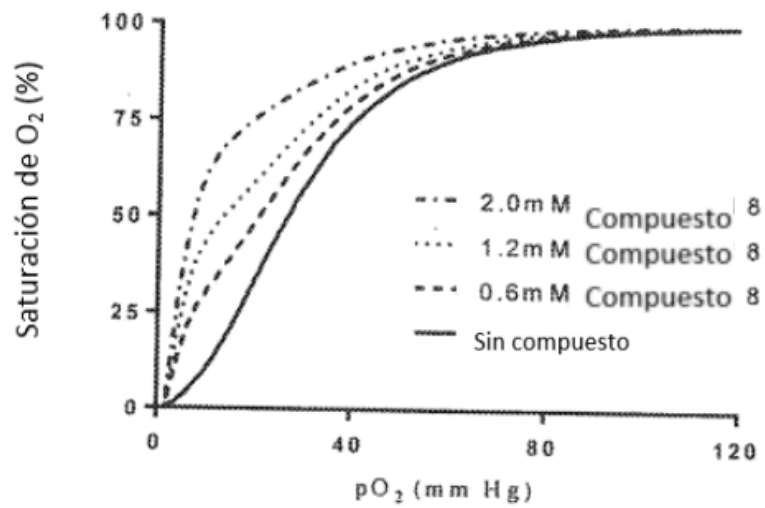


FIG. 1W

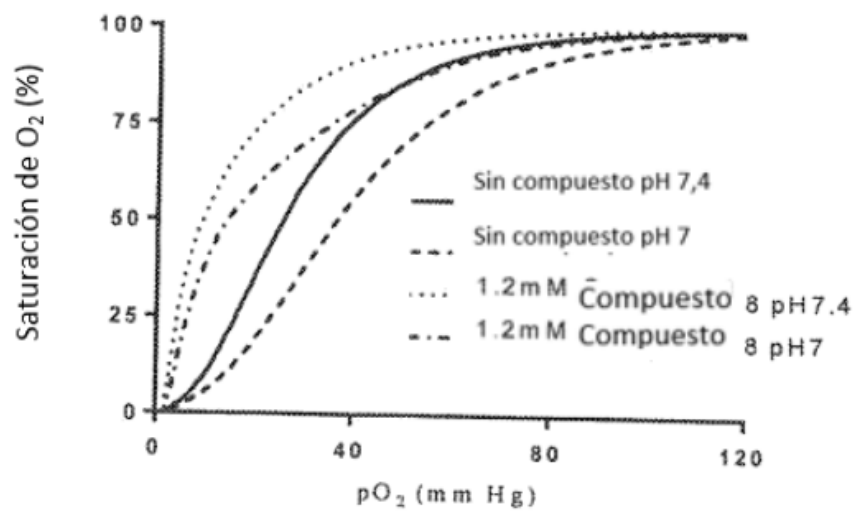
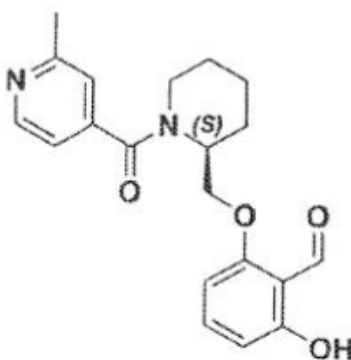


FIG. 1X

Tabla 9: Hemoximetría de Compuesto 9

Estructura	Hemox (sangre entera)	
	Hct= 40% ([Hb]=2mM)	
	%Δp50 (2mM)= 72%	N=3
	%Δp50 (1.2mM)= 46%	N=3
	%Δp50 (0.6mM)=26%	N=3
MW= 354.4 cLogP		

$$\% \Delta p50 = 100 * \left(\frac{(p50_{control} - p50_{muestra})}{p50_{control}} \right)$$

FIG. 1Y

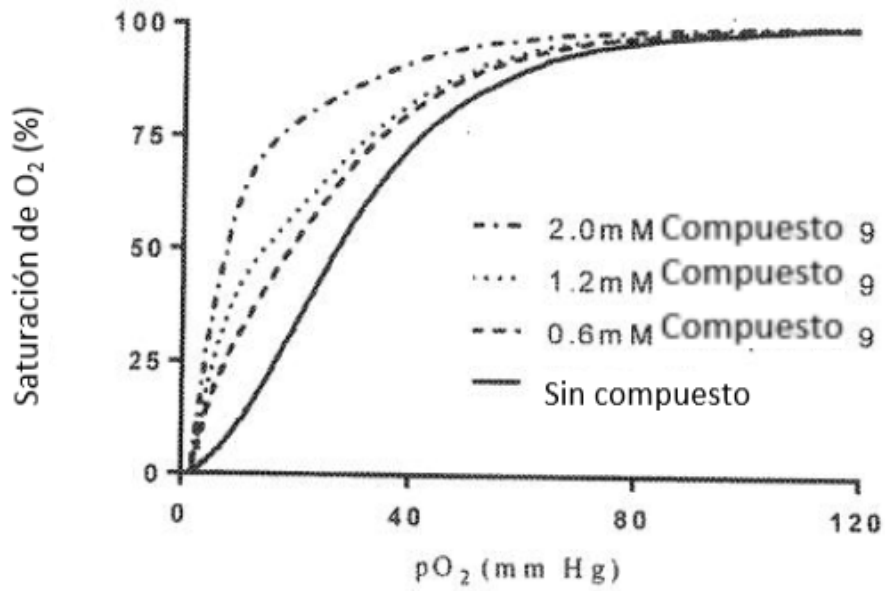


FIG. 1Z

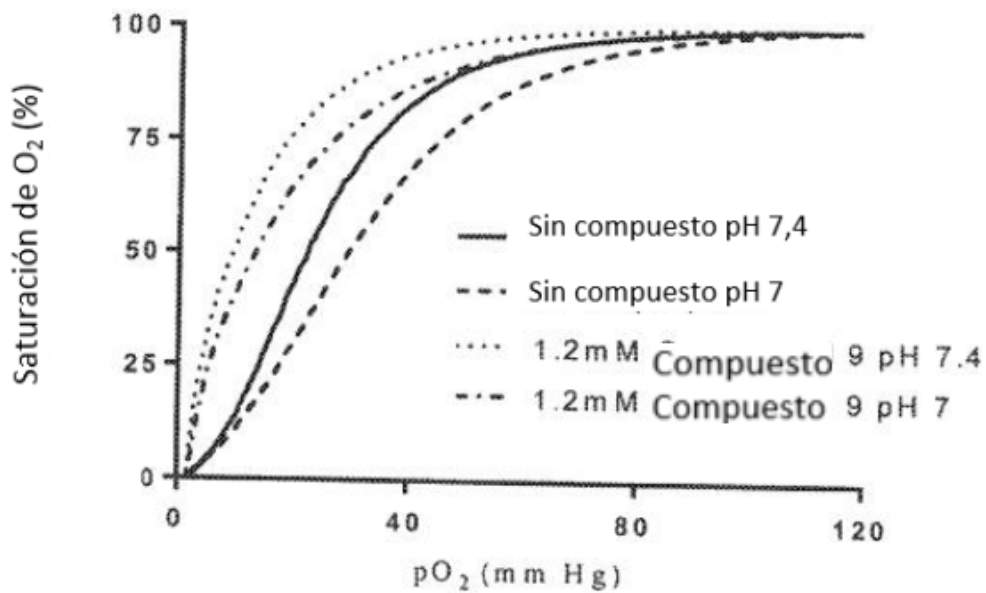
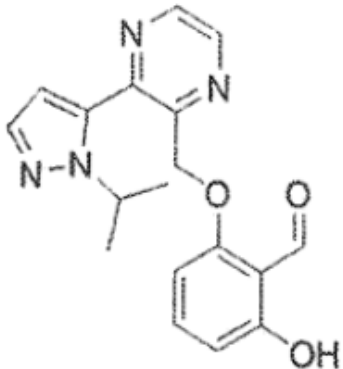


FIG. 1AA

Tabla 10: Hemoximetría de Compuesto 10

Estructura	Hemox (sangre entera)	
 MW= 338.4 cLogP 2.3	Hct= 20% ([Hb]=1mM)	
	$\Delta p50\%$ (1mM)= 75%	N=1

$$\% \Delta p50 = 100 * \left(\frac{(p50_{control} - p50_{muestra})}{p50_{control}} \right)$$

FIG. 1AB

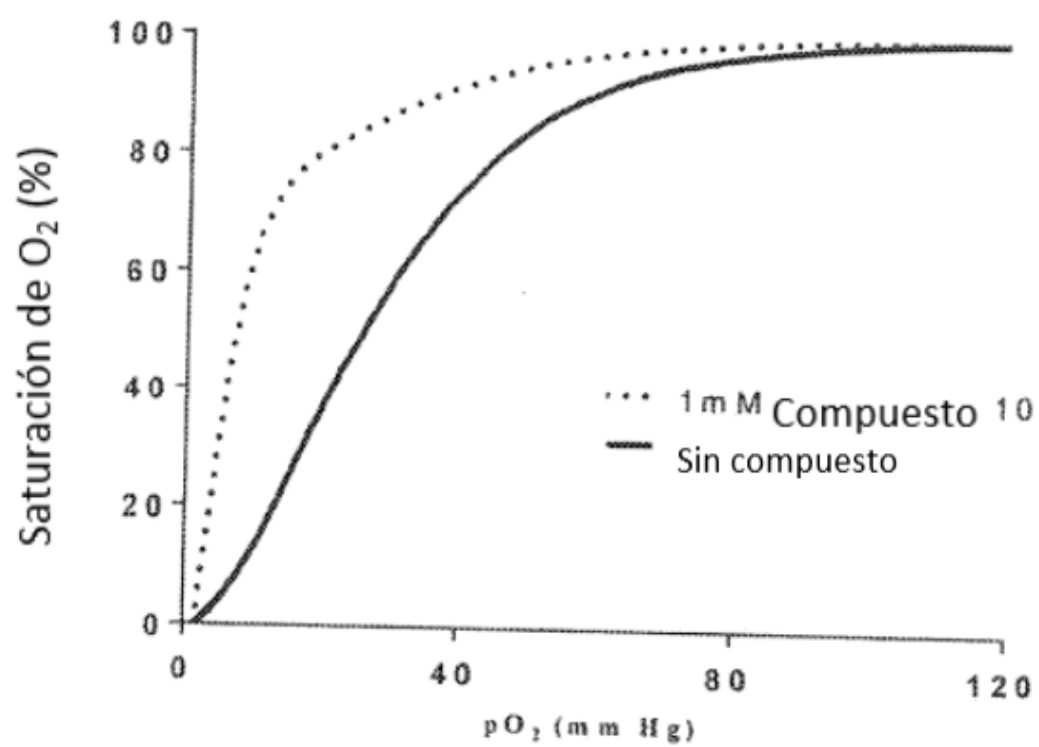
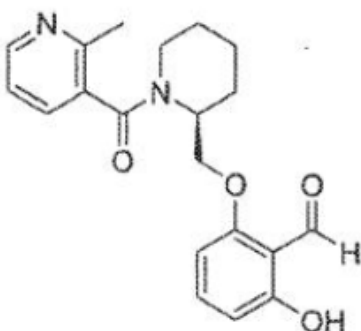


FIG. 1AC

Tabla 11: Hemoximetría de Compuesto 11

Estructura	Hemox (sangre entera))	
	Hct= 40% ([Hb]=2mM)	
	%Δp50 (2mM)= 81%	N=3
	%Δp50 (1.2mM)= 63%	N=3
	%Δp50 (0.6mM)= 19%	N=3
MW= 354.4 cLogP		

$$\% \Delta p50 = 100 * \left(\frac{(p50_{control} - p50_{muestra})}{p50_{control}} \right)$$

FIG. 1AD

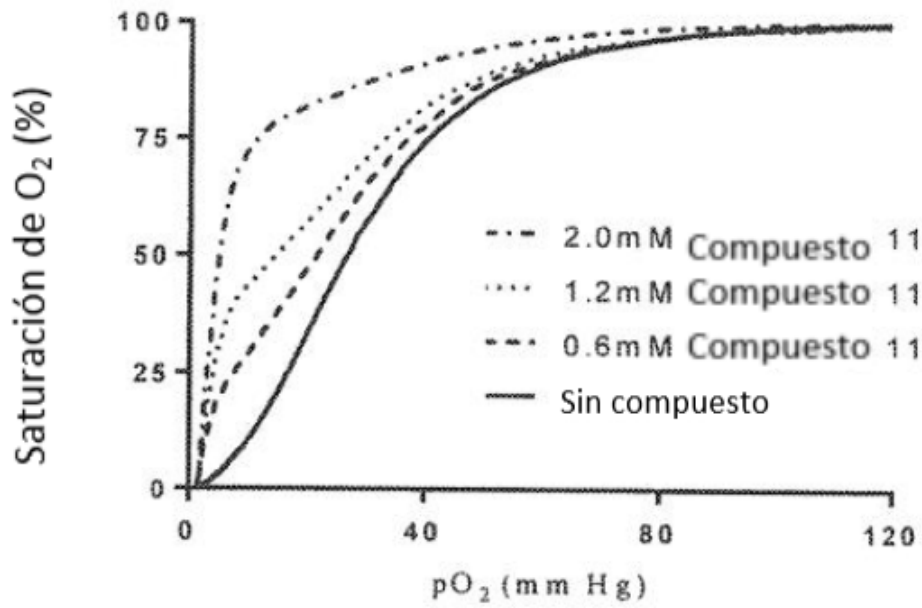


FIG. 1AE

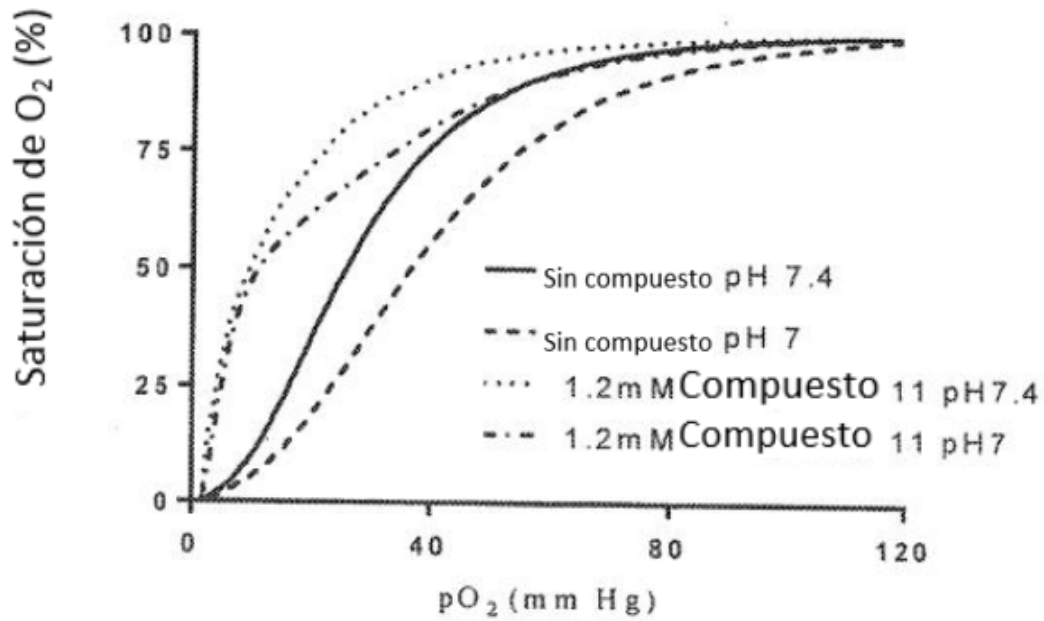
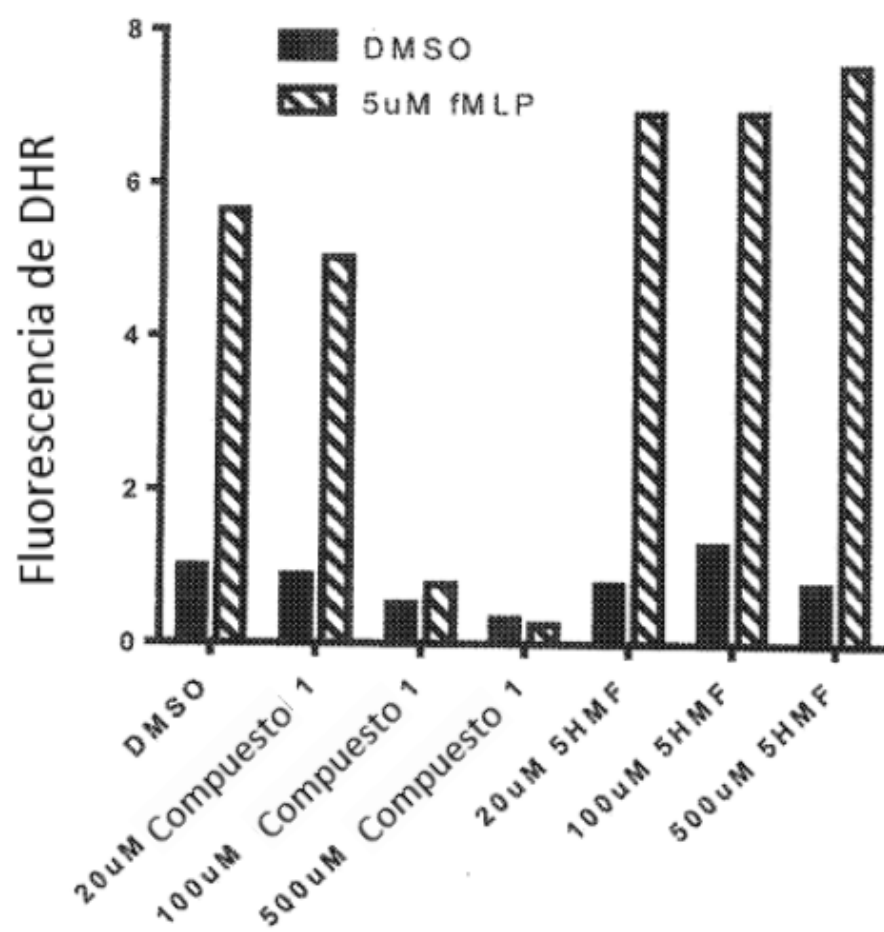
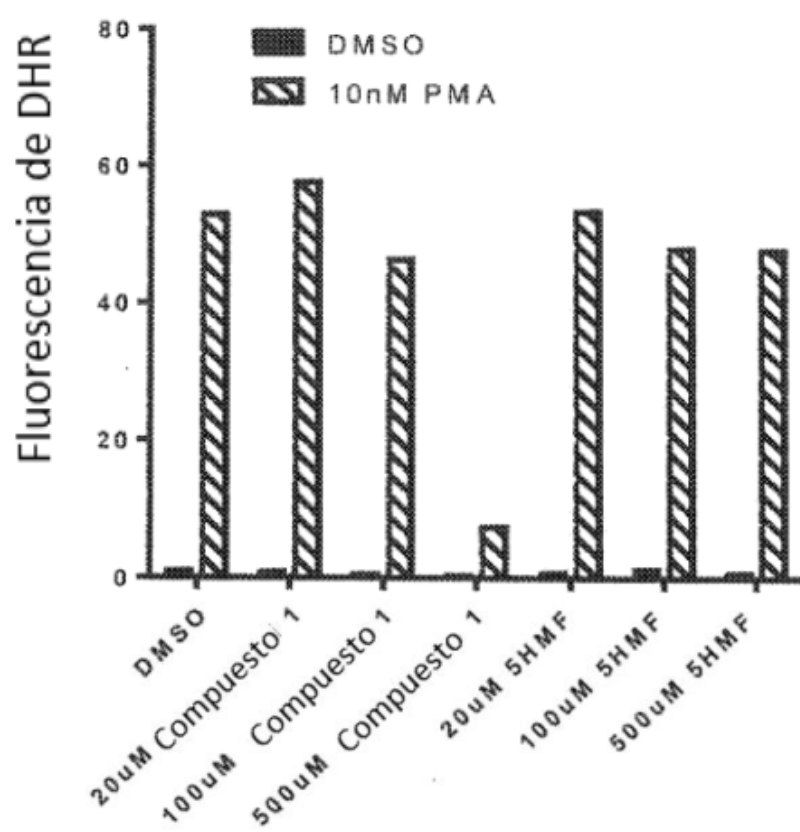
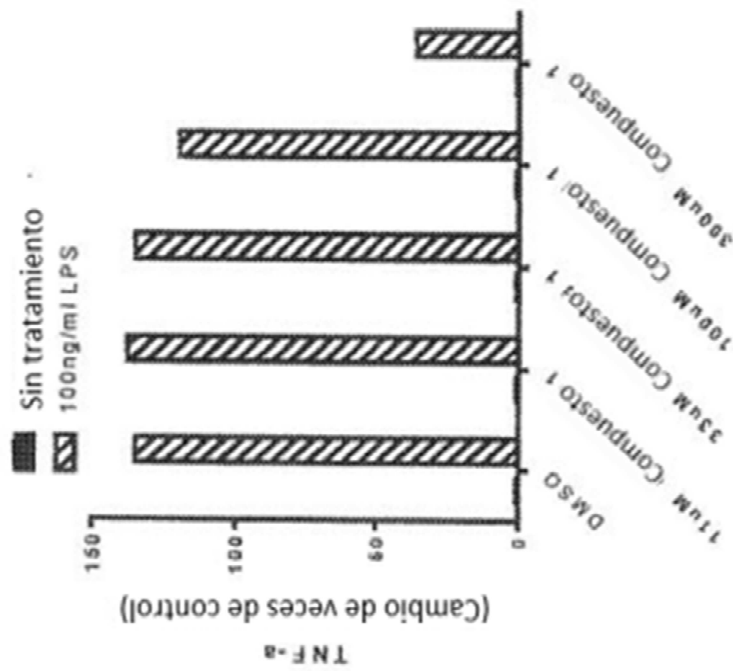
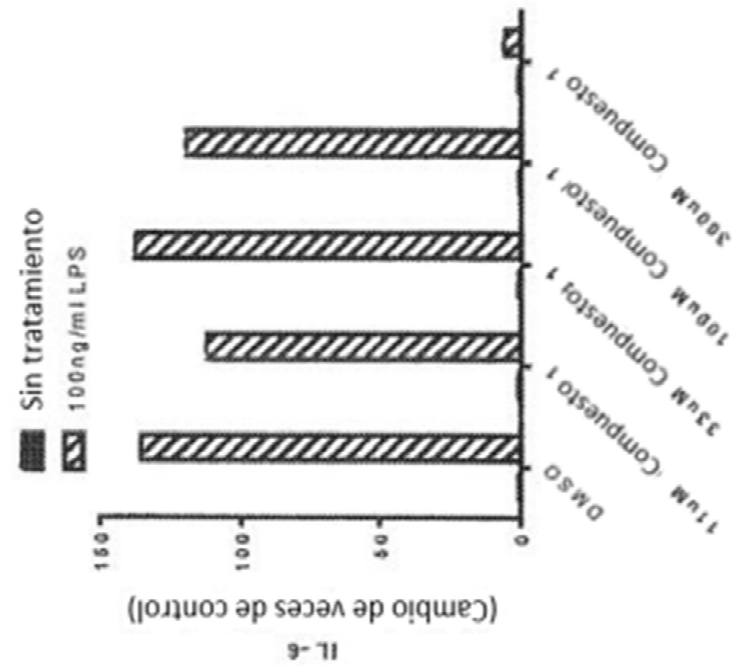


FIG. 1AF

*FIG. 1AG*

*FIG. 1AH*



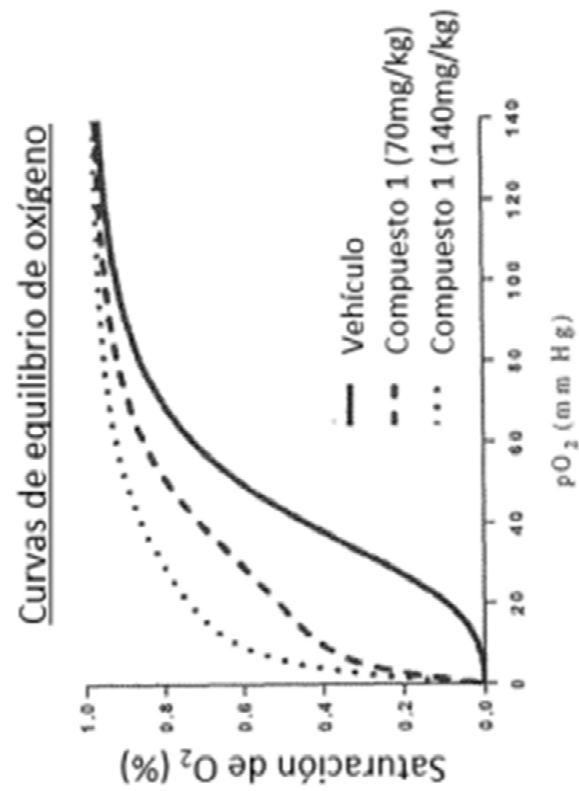


FIG. 2A

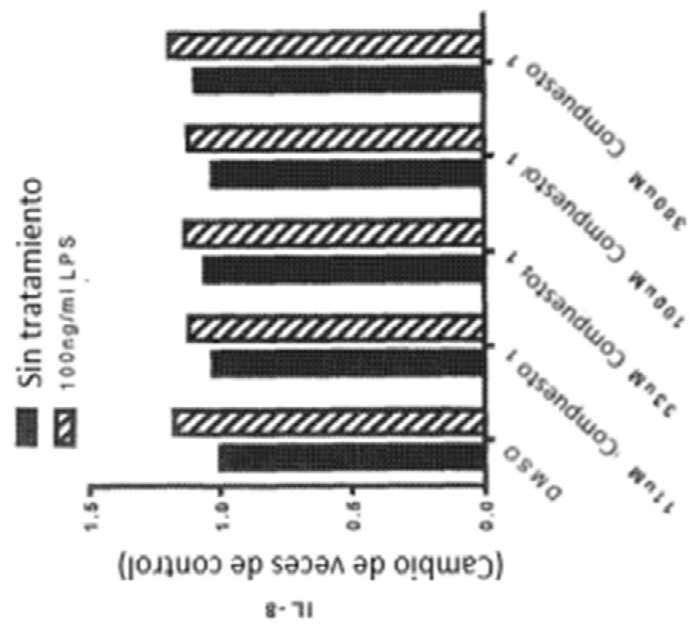
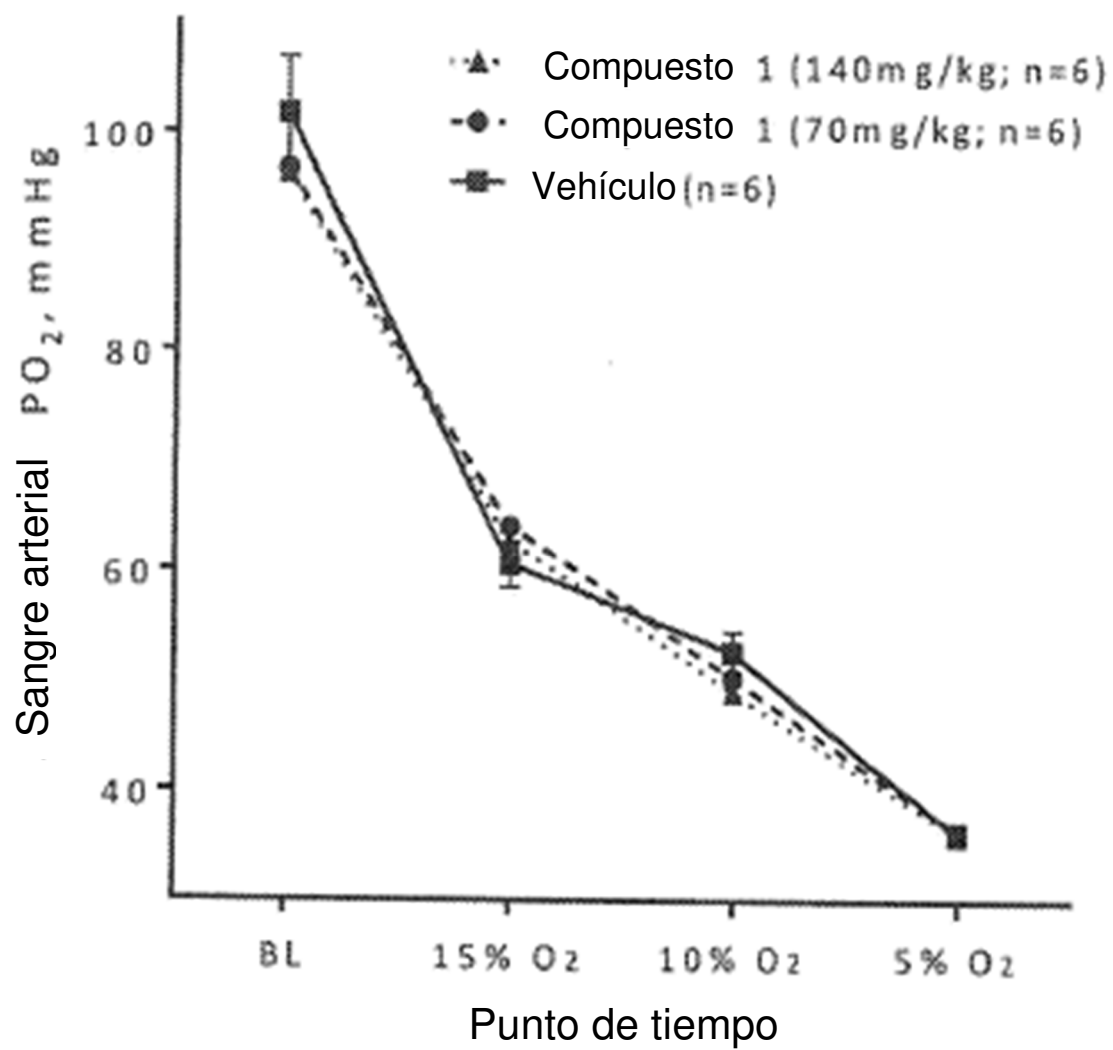
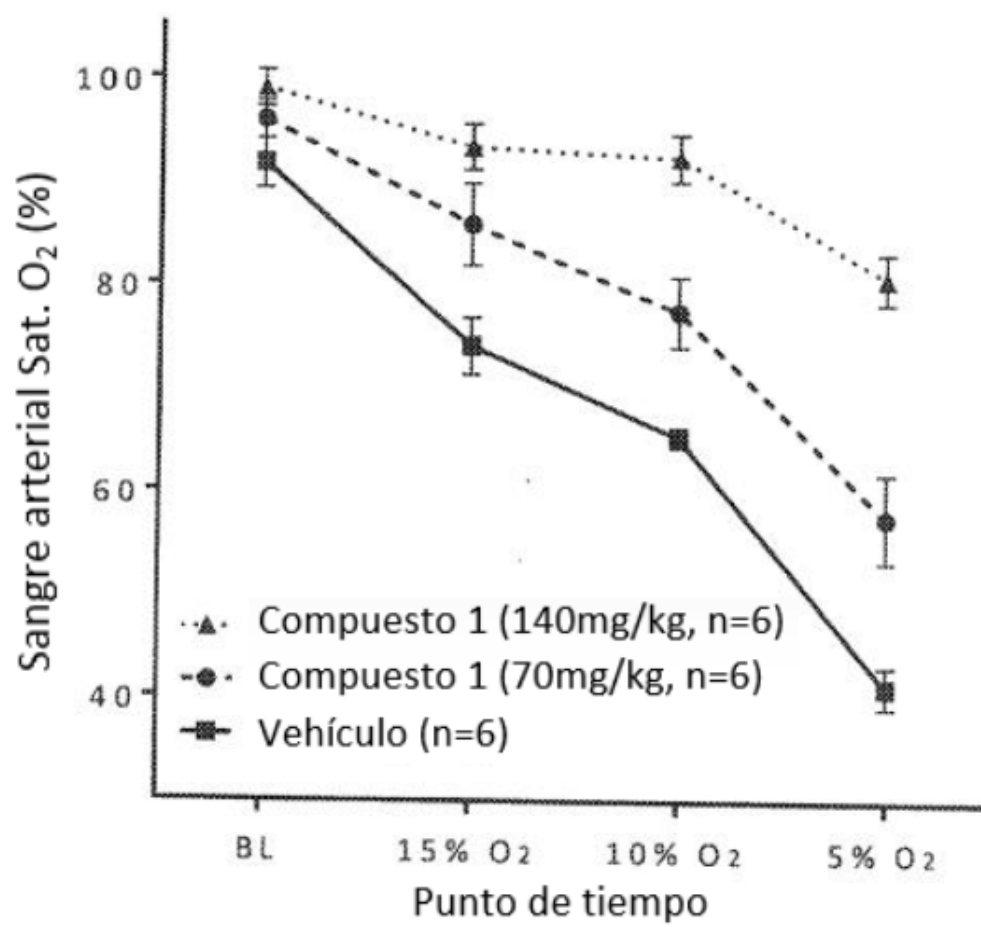
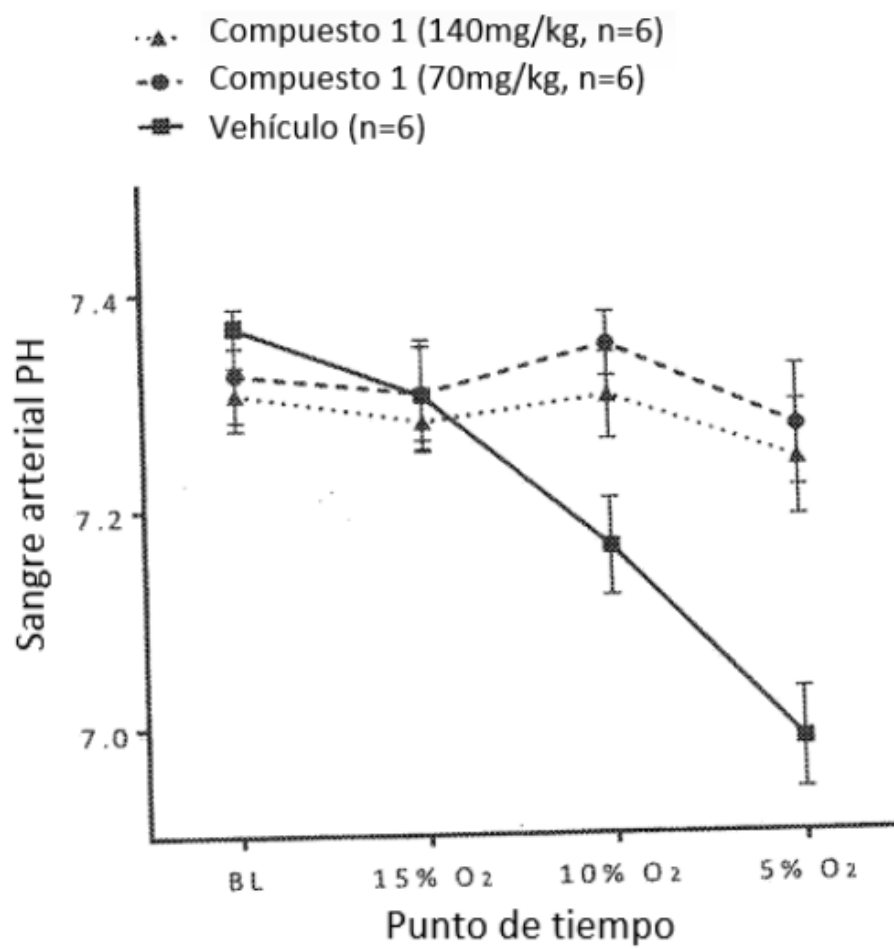
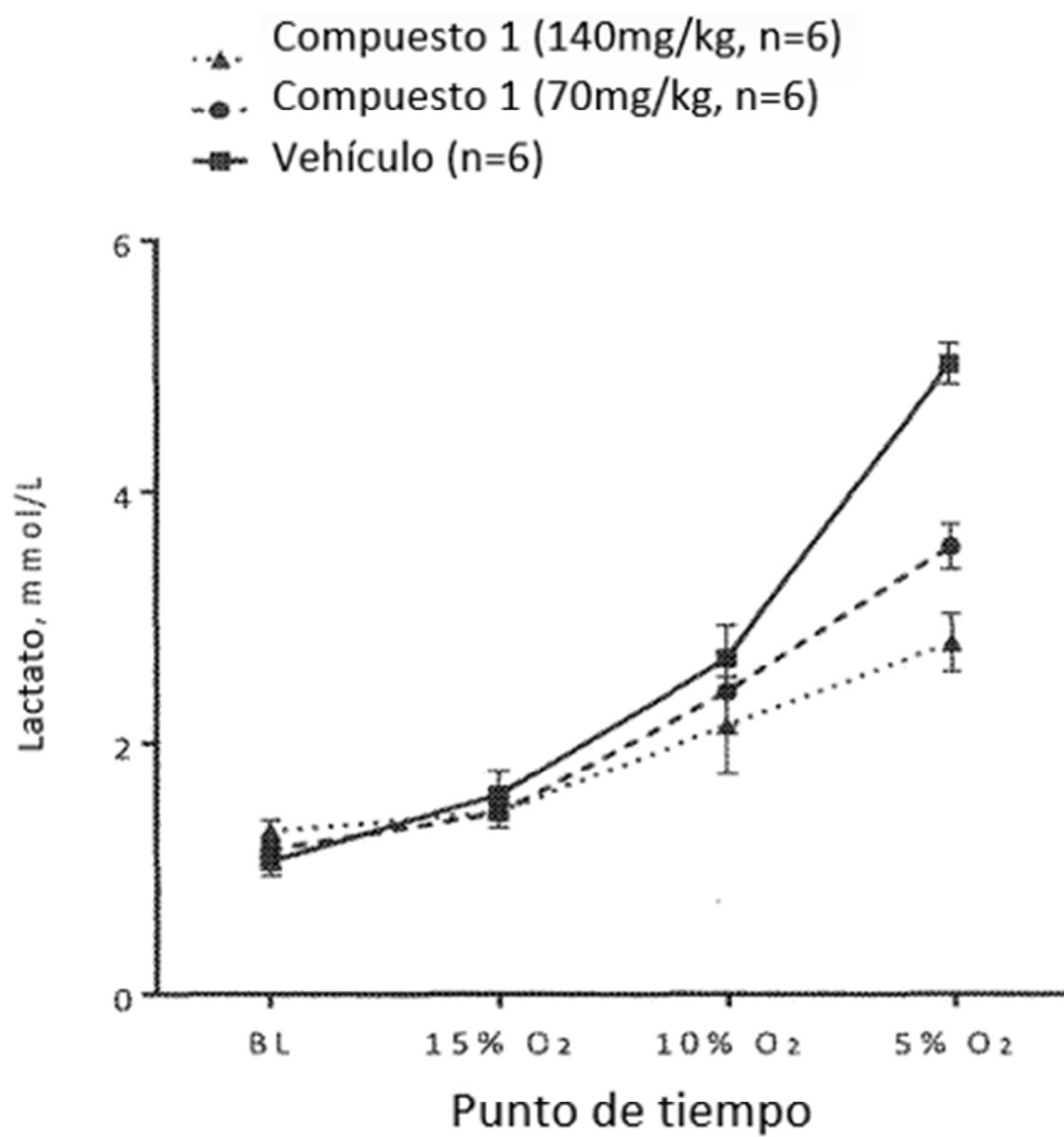


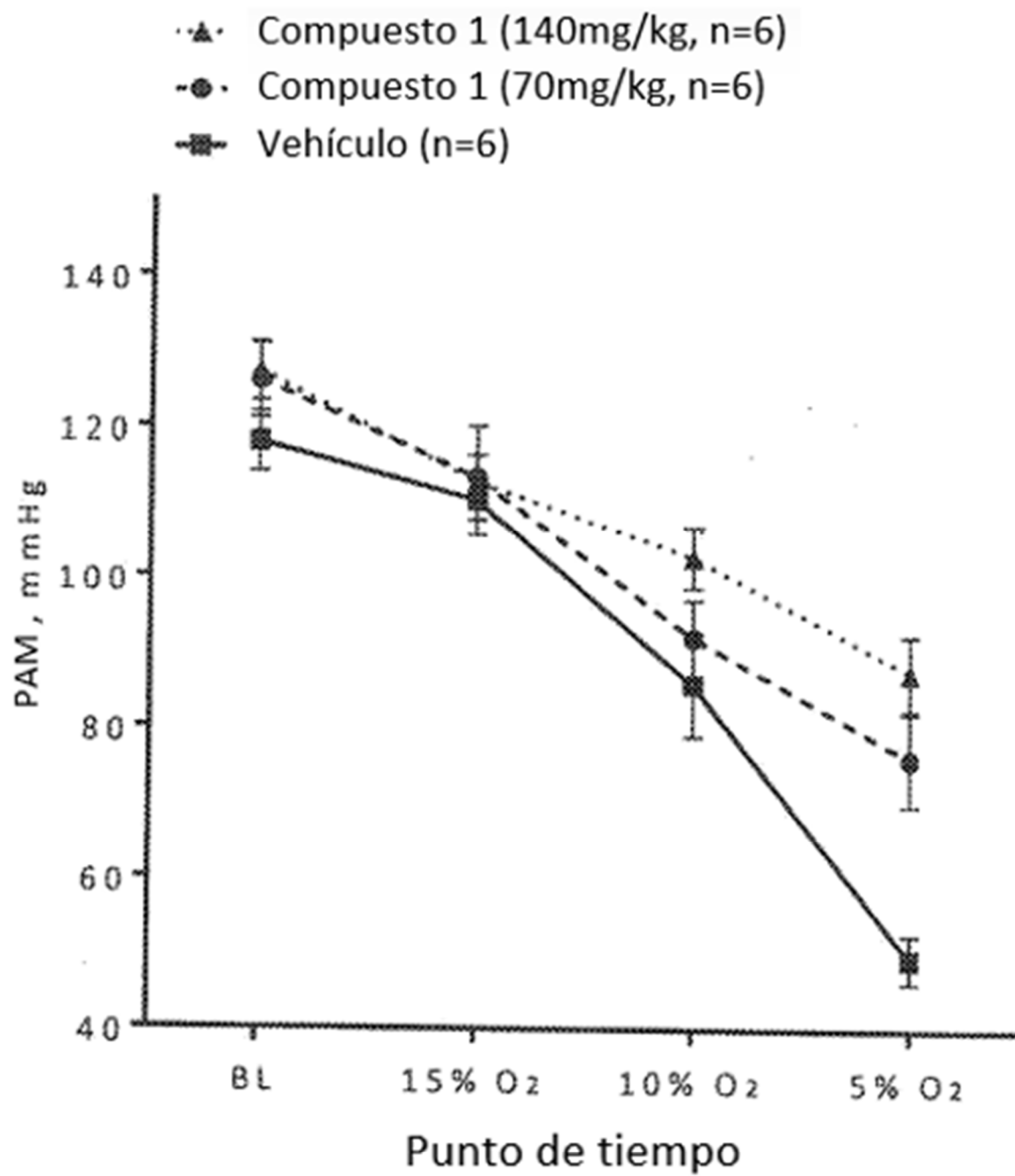
FIG. 1AK

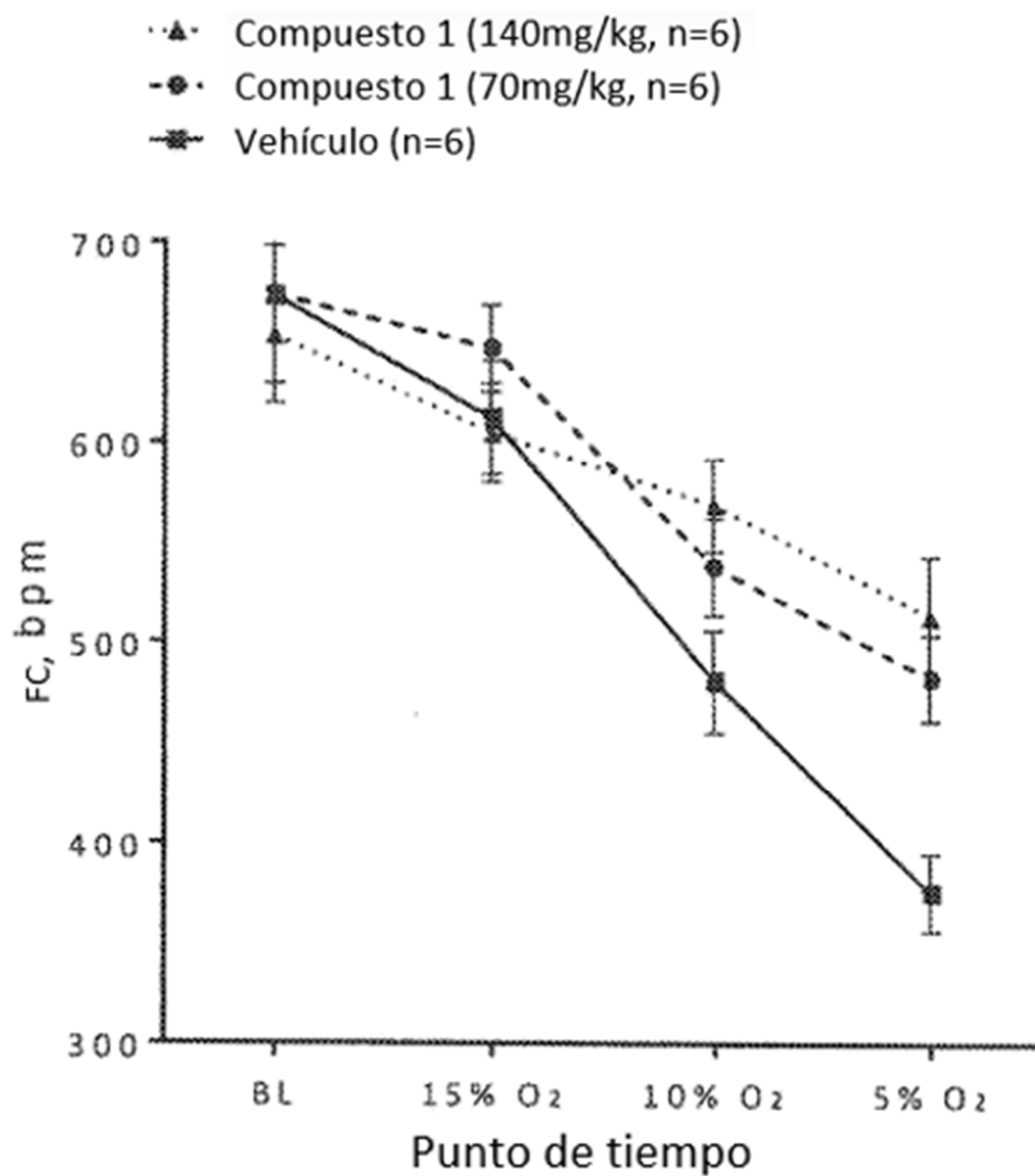
*FIG. 2B*

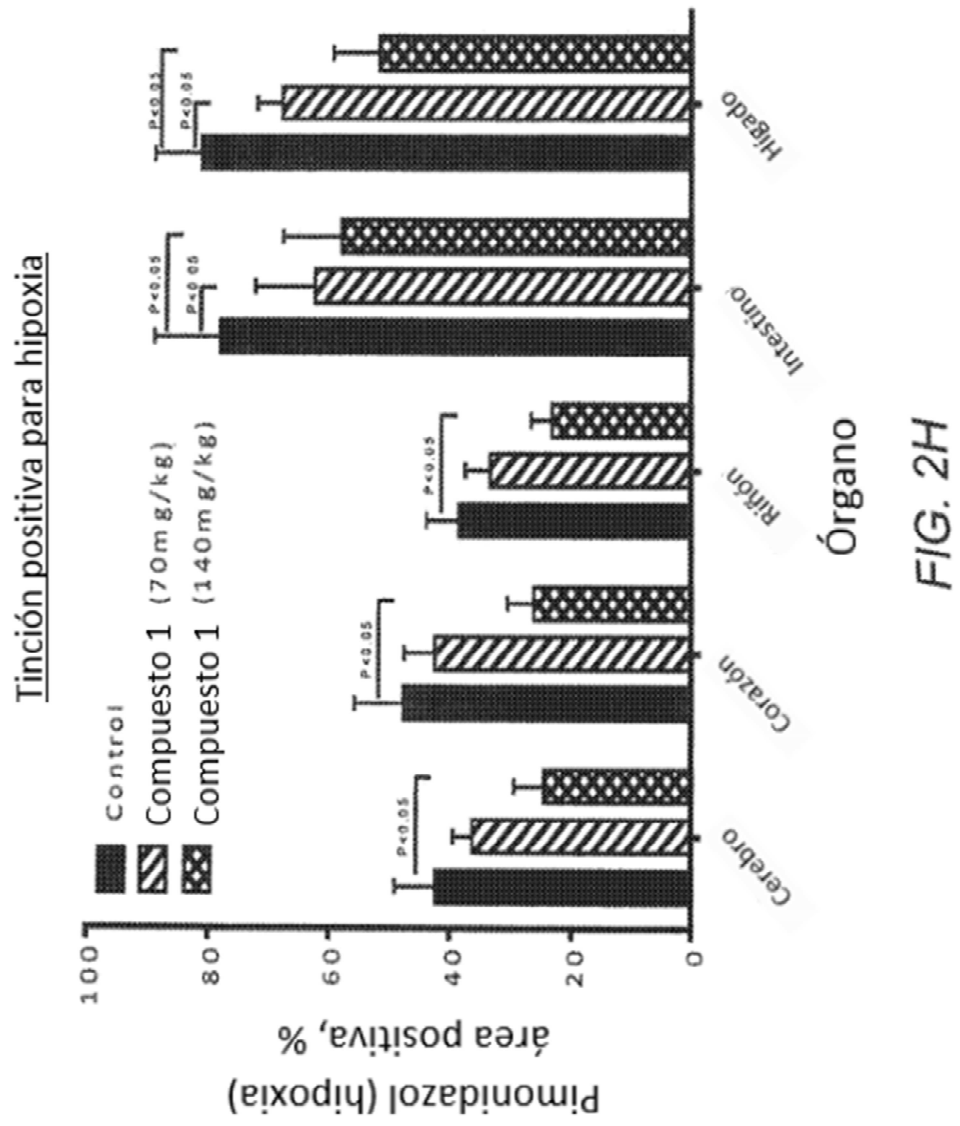
*FIG. 2C*

*FIG. 2D*

*FIG. 2E*

*FIG. 2F*

*FIG. 2G*



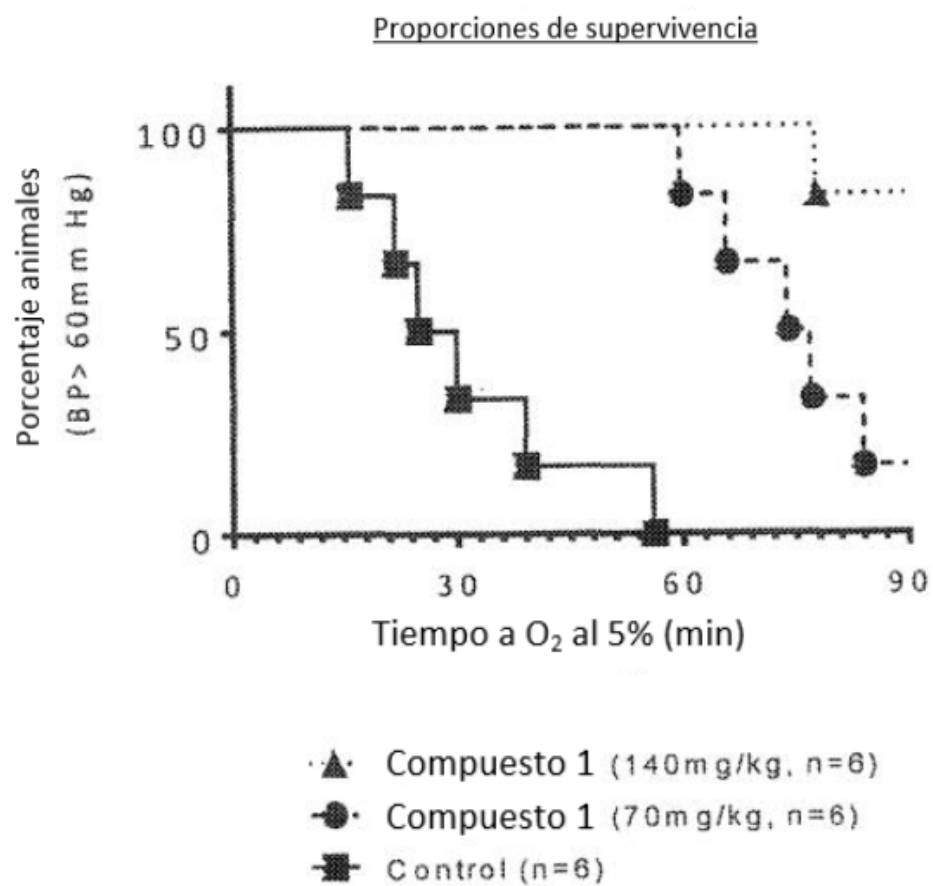


FIG. 21

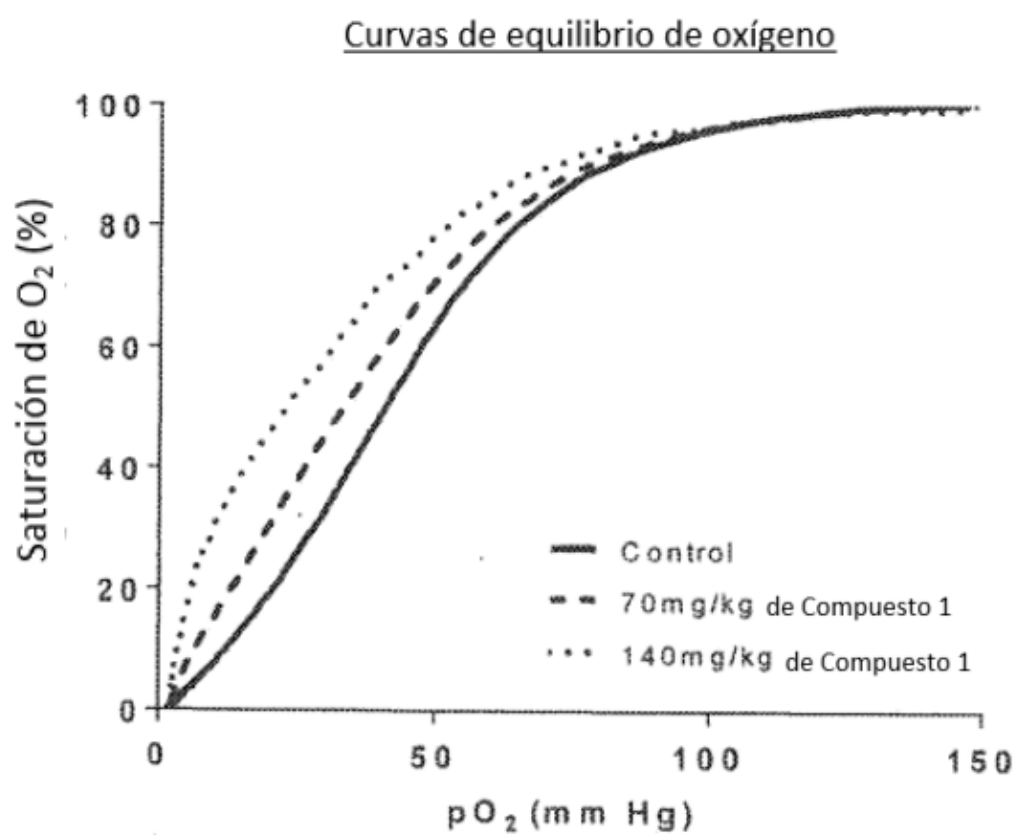


FIG. 3A

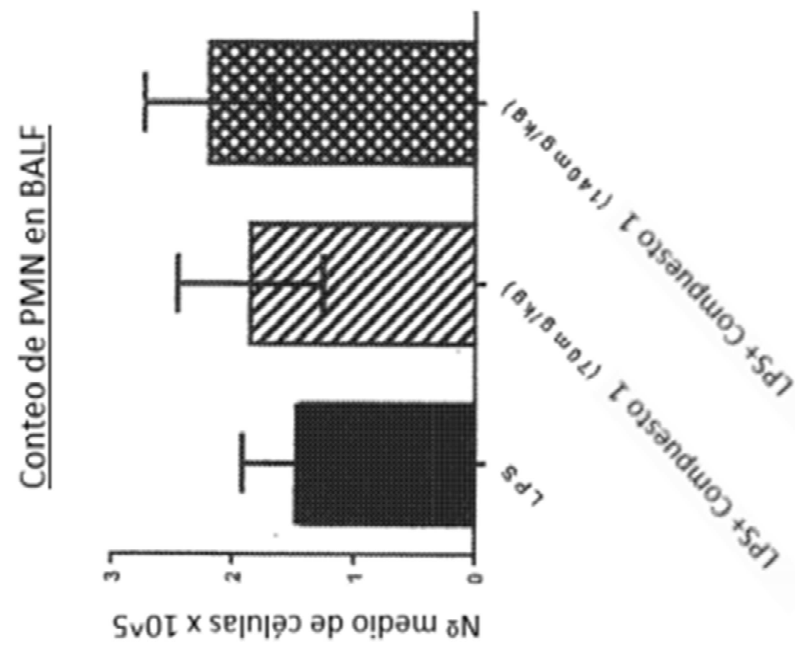


FIG. 3C

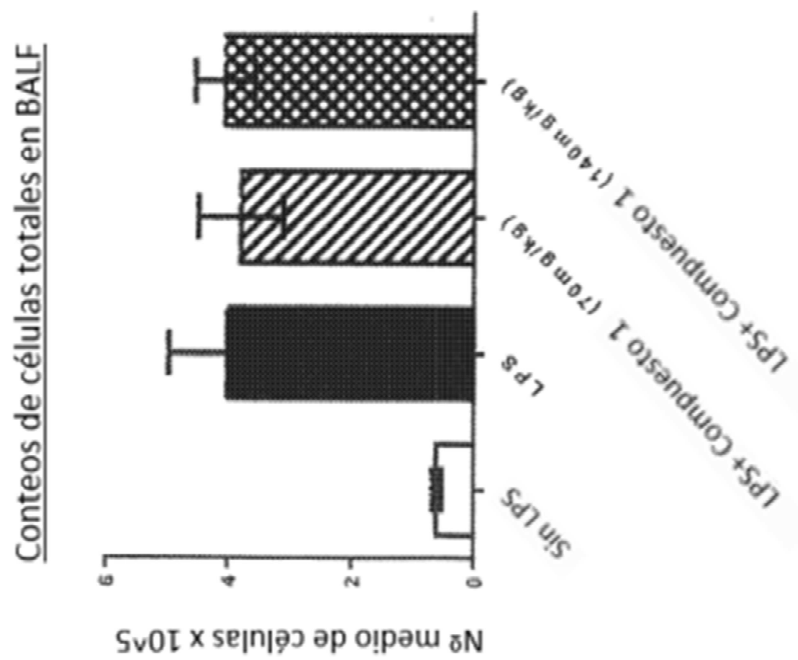
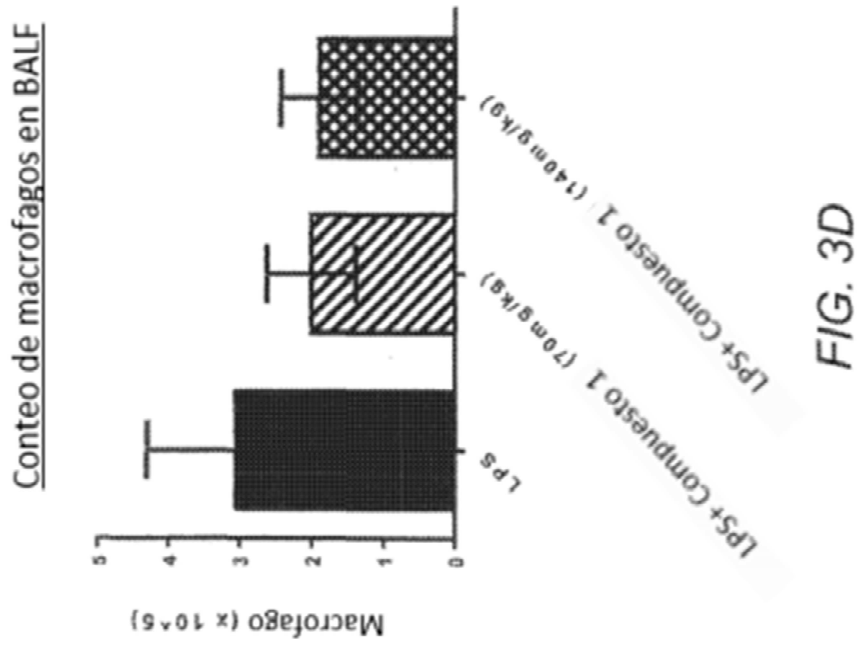
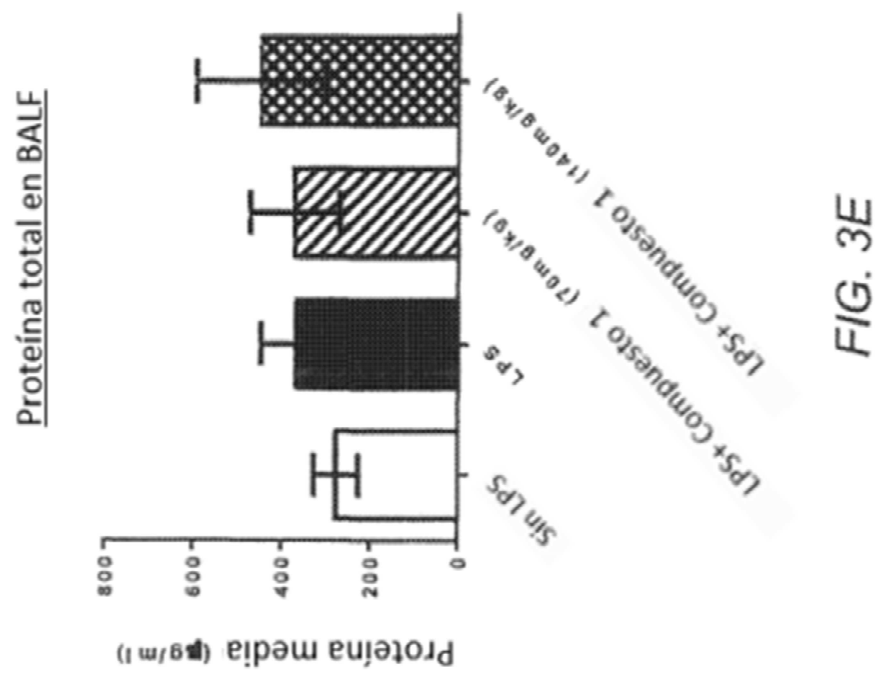


FIG. 3B



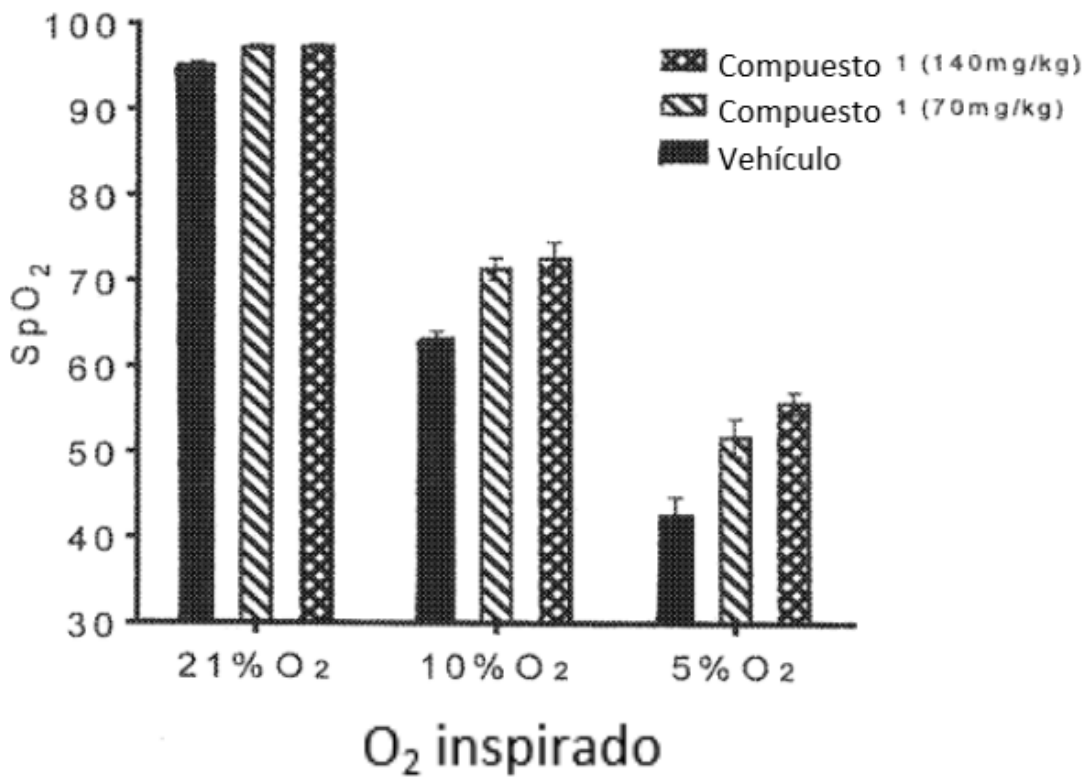
Cambio en saturación de O₂ arterial periférica

FIG. 3F

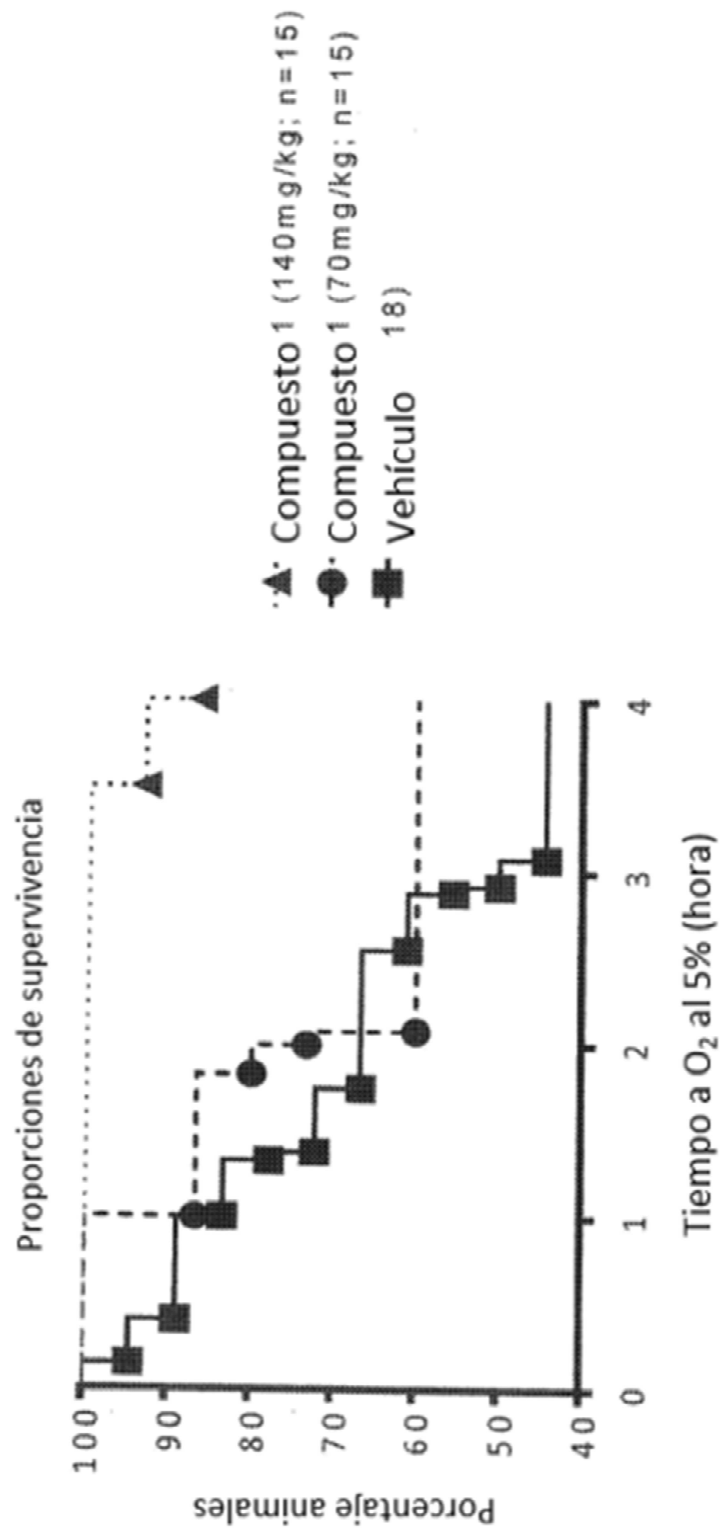


FIG. 3G

Tabla 12: PK de Compuesto 1

Día 15 sangre terminal (N=12)	Sangre entera Comp- uesto 1 (μM)	Plasma Compuesto 1 (μM)	Relación Sangre/Plasma	Ocupación de Hb calculada (%)
Dosis baja: Día8: 50mg/kg; Día9-15: 40mg/kg	195.5	8.4	23.2	18.0
Dosis alta: Día8: 150mg/kg; Día9-15: 85mg/kg	400.2	18.9	21.2	36.7

FIG. 4A

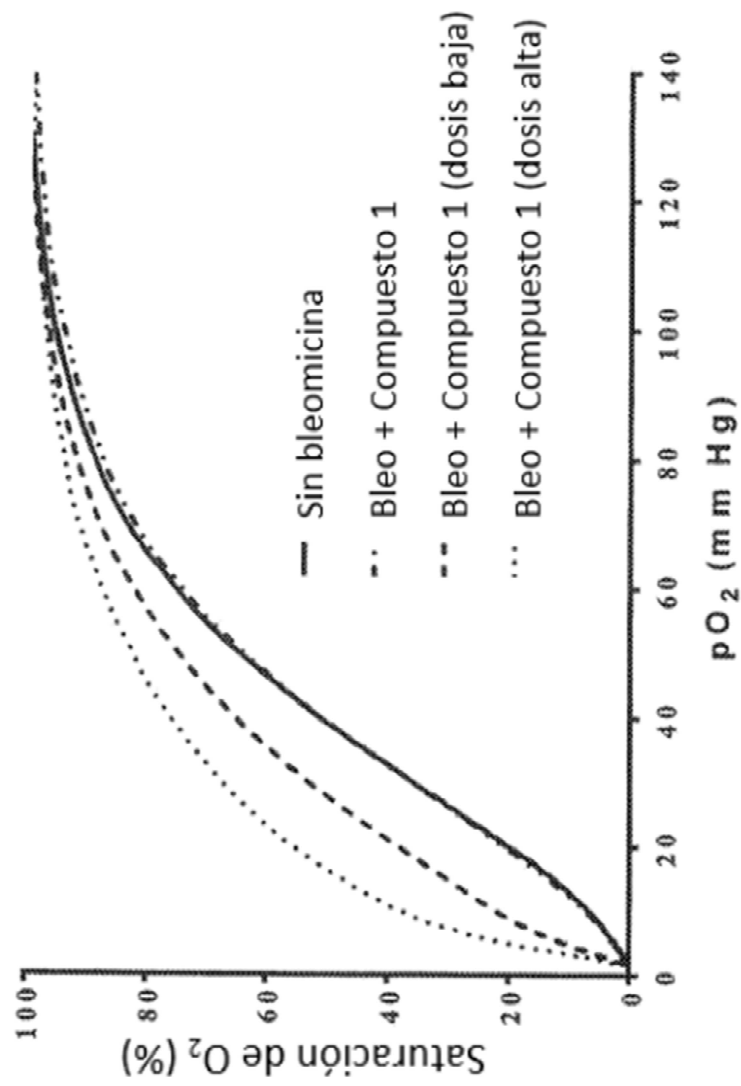


FIG. 4B

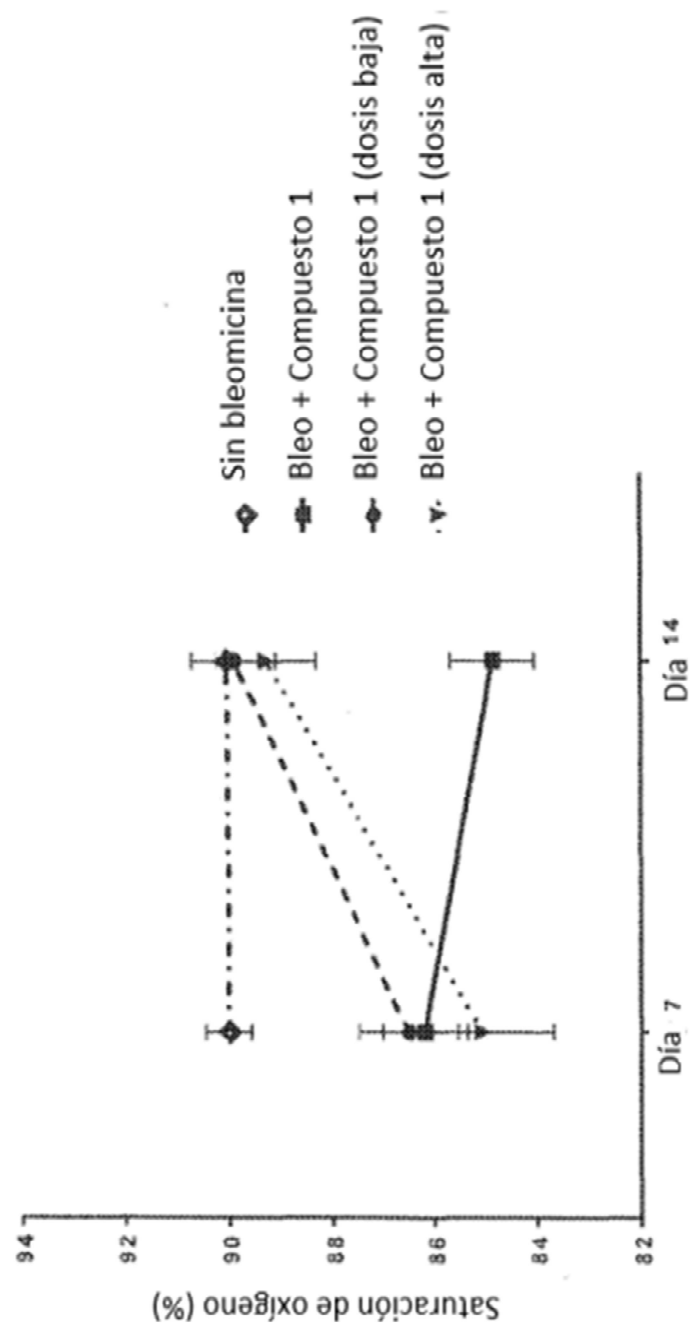


FIG. 4C

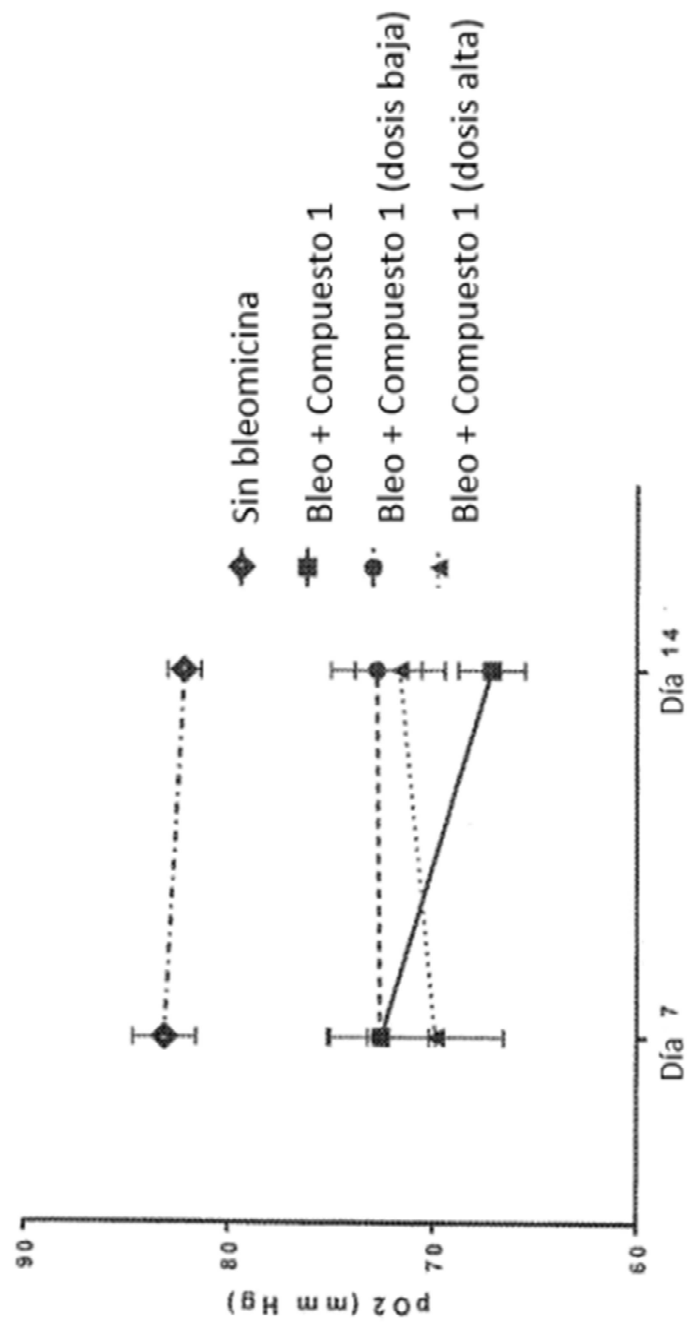
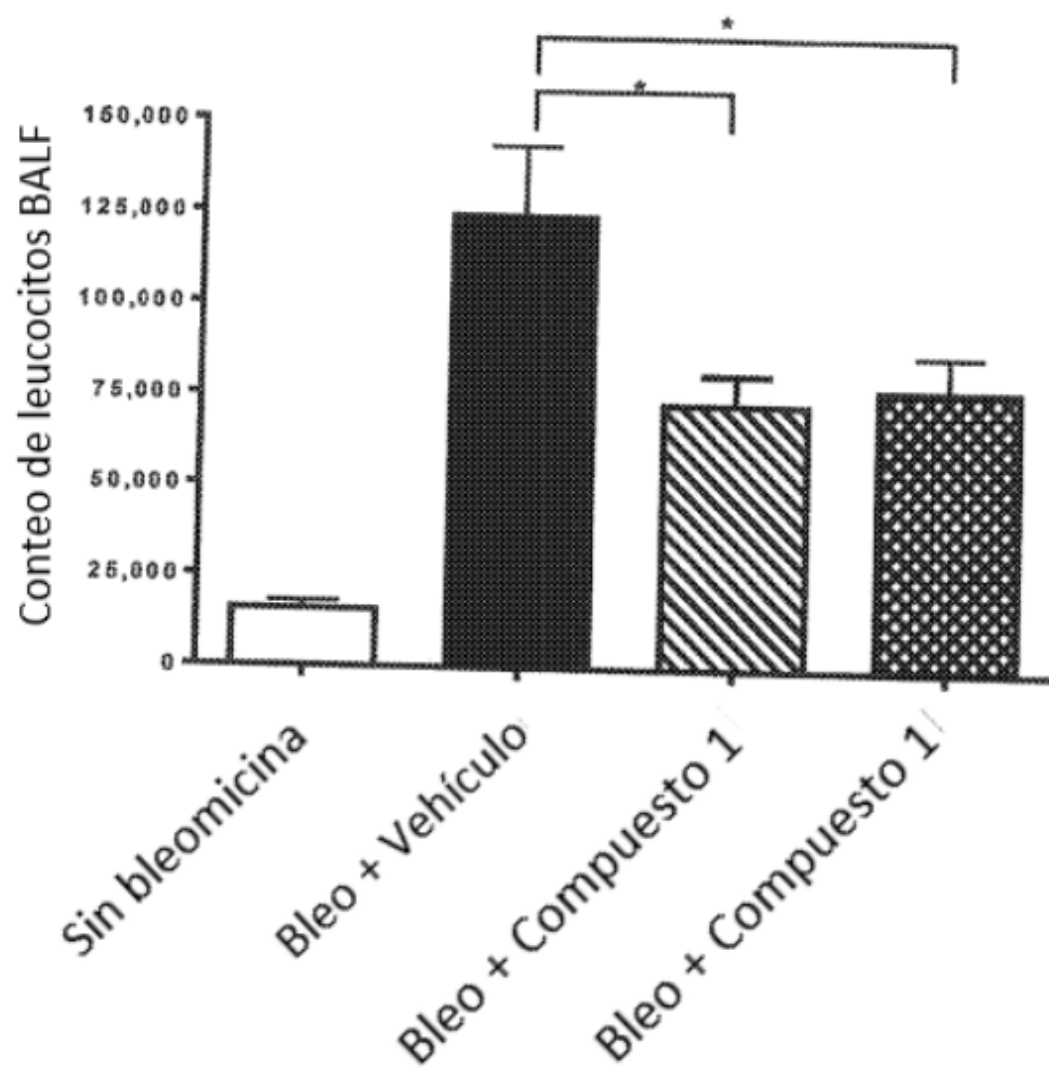


FIG. 4D

*FIG. 4E*

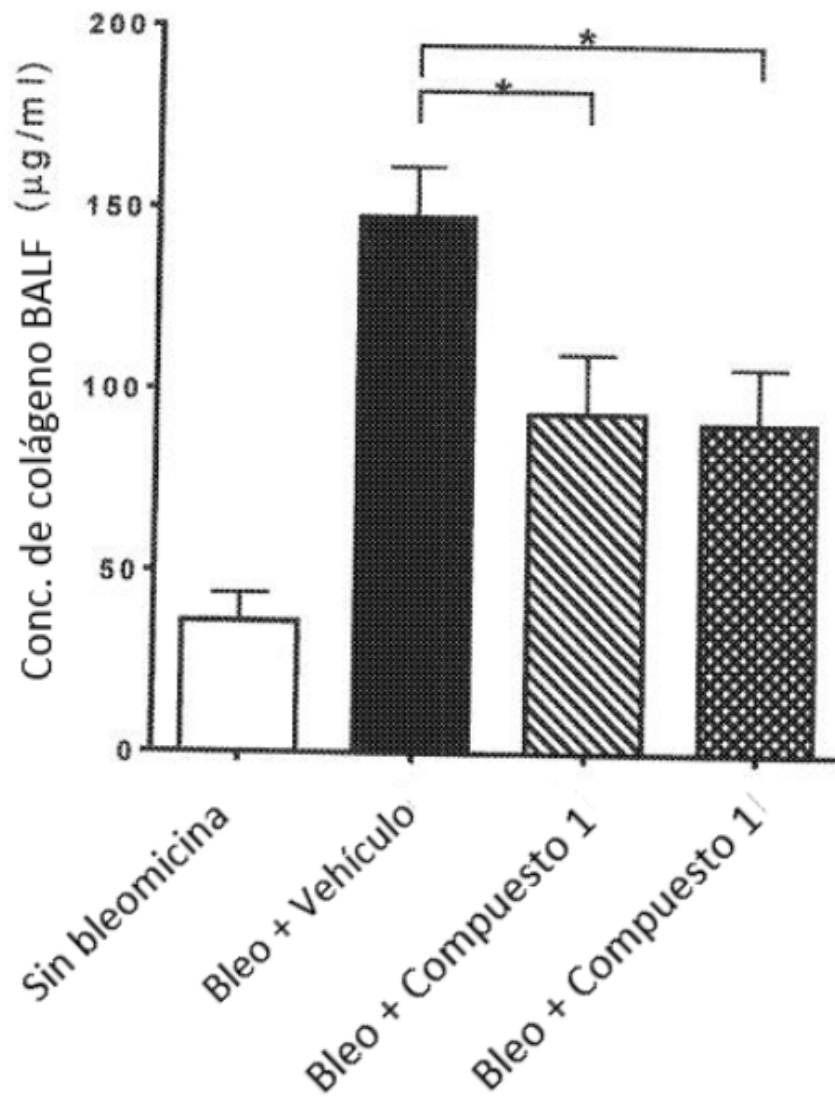


FIG. 4F

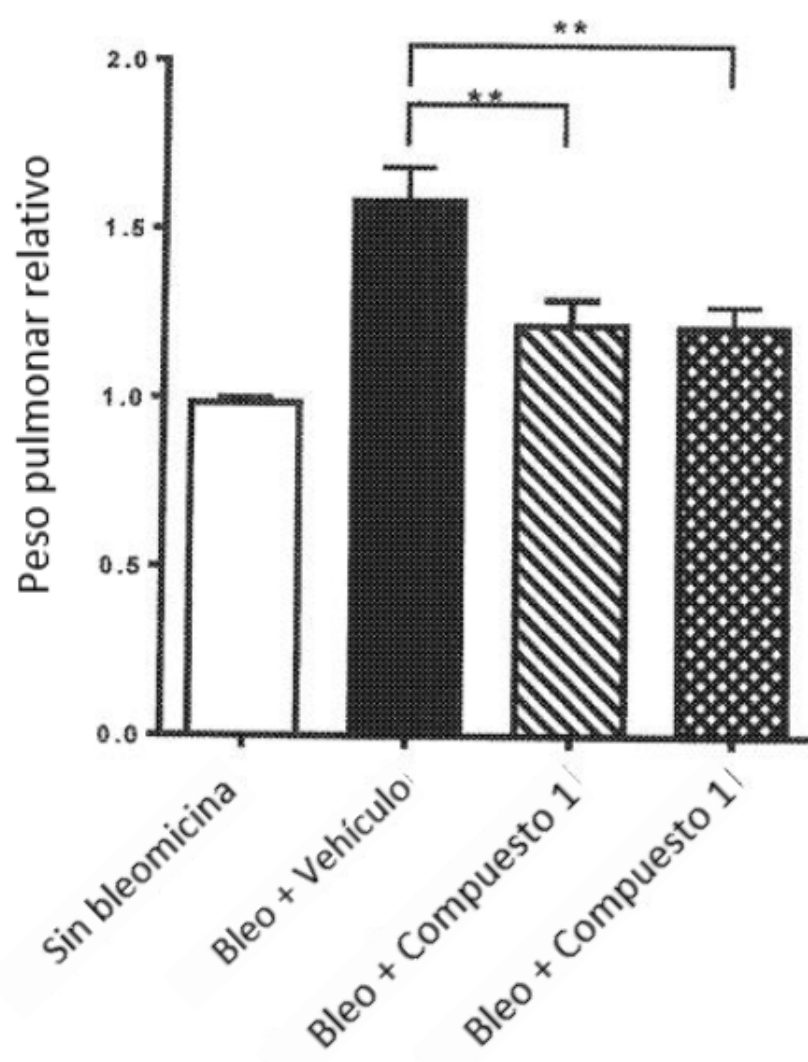
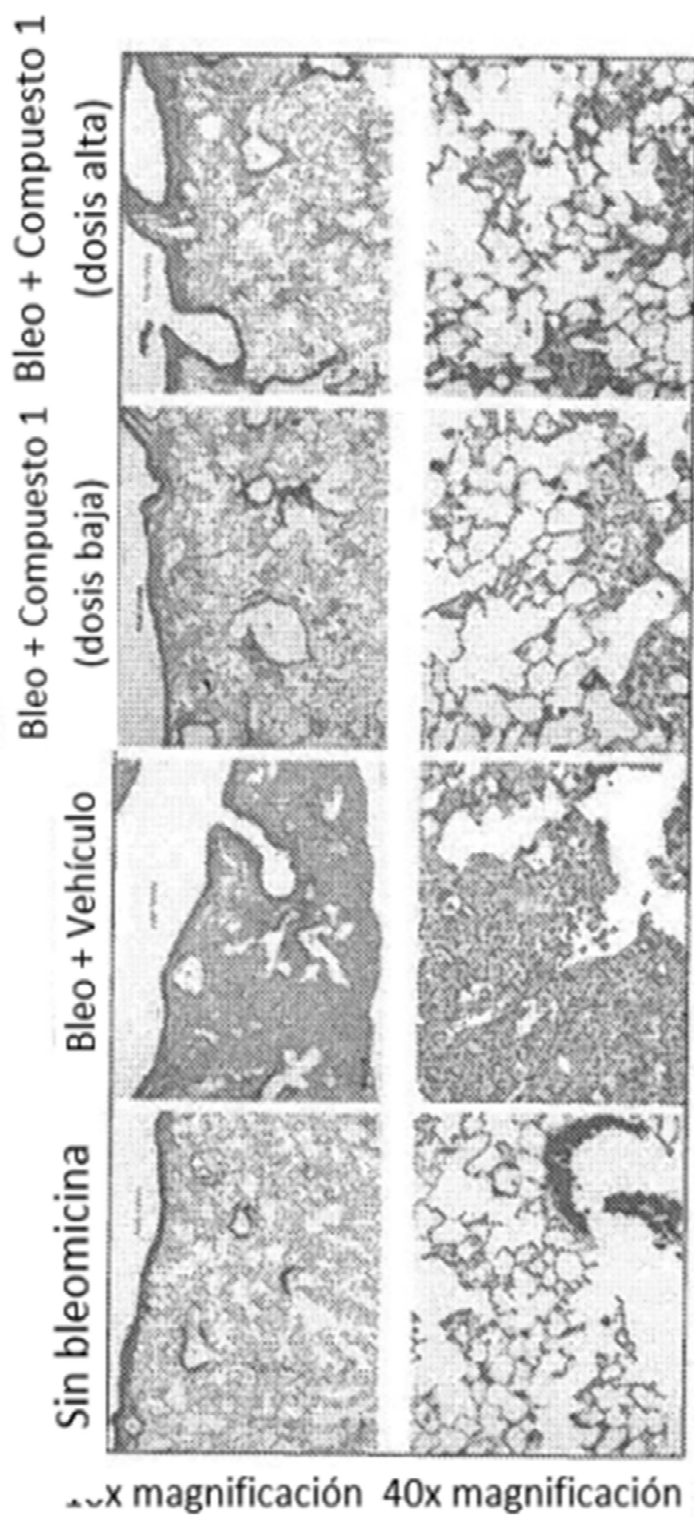


FIG. 4G



Día 15

FIG. 4H

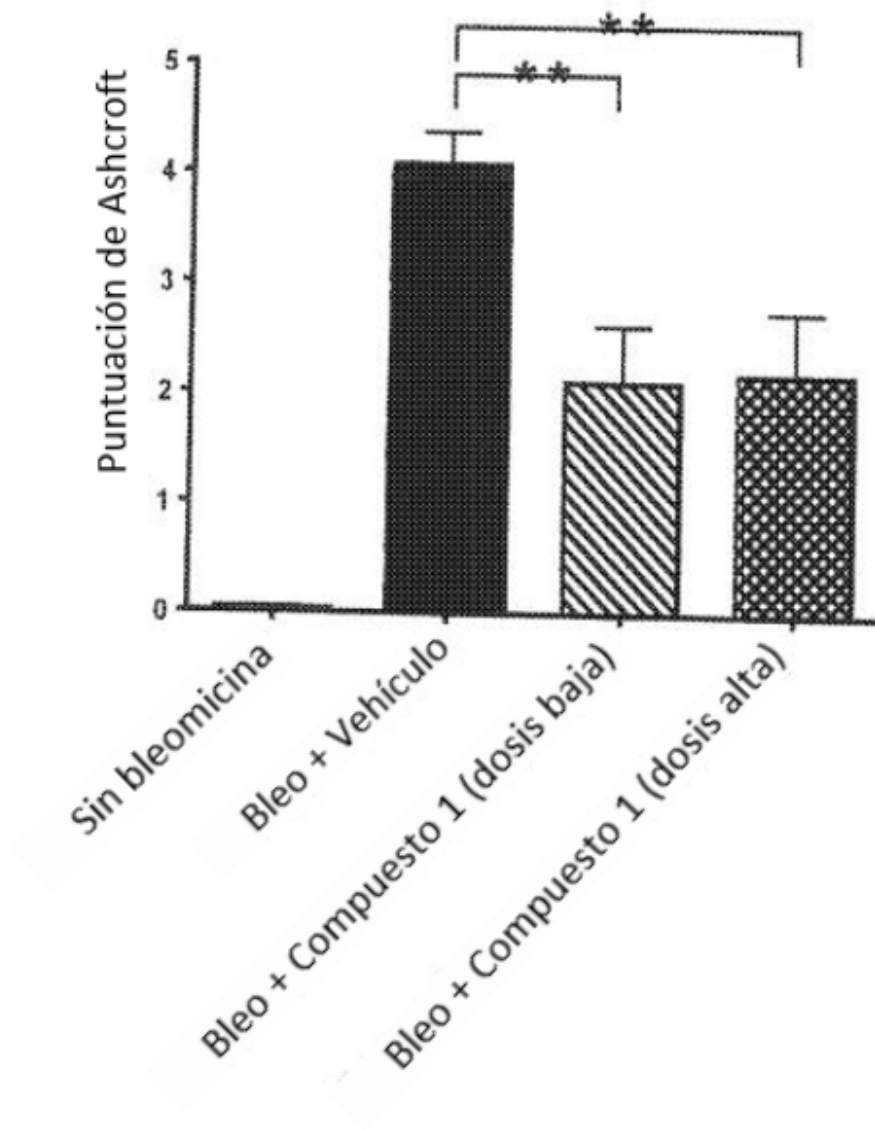
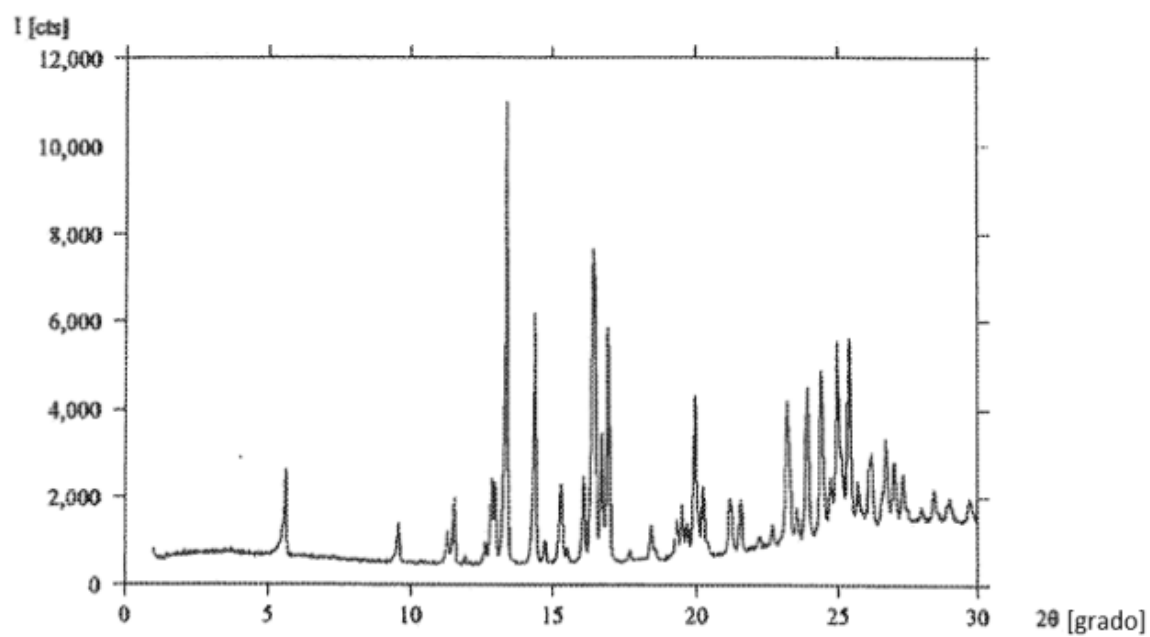


FIG. 4I



Tipo de Bravais	Triclínico
a [Å]	7.876
b [Å]	14.555
c [Å]	16.281
α [grado]	104.23
β [grado]	92.96
γ [grado]	101.38
Volumen [Å ³ /célula]	1,763.8
¿Contenidos quirales?	No especificado
Símbolo de extinción	P -
Grupo(s) de espacio	P1 (1), P $\bar{1}$ (2)

Fuente

Algoritmo de triadas

FIG. 5