



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 358 268**

51 Int. Cl.:
C07K 5/087 (2006.01)
C07K 5/08 (2006.01)
A61K 38/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05735686 .7**
96 Fecha de presentación : **14.04.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1745064**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **24.01.2007**

54 Título: **Compuestos para la inhibición enzimática de proteasoma.**

30 Prioridad: **15.04.2004 US 562340 P**
07.05.2004 US 569096 P
06.08.2004 US 599401 P
14.09.2004 US 610001 P
14.09.2004 US 610002 P
14.09.2004 US 610159 P
20.10.2004 US 620573 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
09.05.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
09.05.2011

73 Titular/es: **PROTEOLIX, Inc.**
230 East Grand Avenue, Suite A
South San Francisco, California 94080, US

72 Inventor/es: **Smyth, Mark S.;**
Laidig, Guy J.;
Borchardt, Ronald T.;
Bunin, Barry A.;
Crews, Craig M.;
Musser, John H. y
Chabala, John Clifford

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 358 268 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 para la inhibición enzimática de proteasoma.**Campo Técnico**

5 Esta invención se refiere a compuestos y procedimientos para la inhibición enzimática. En particular, la invención se refiere a procedimientos terapéuticos basados en la inhibición enzimática.

Antecedentes de la invención

10 En eucariotas, la degradación proteica está mediada de forma predominante a través de la ruta de la ubiquitina en la que las proteínas fijadas como diana para destrucción están ligadas a la ubiquitina polipeptídica de 76 aminoácidos. Una vez fijadas como diana, las proteínas ubiquitinadas sirven después como sustratos para el proteasoma 26S, una proteasa multicatalítica, que escinde proteínas en péptidos cortos a través de la acción de sus tres actividades proteolíticas principales. Aunque tiene una función general en el recambio proteico intracelular, la degradación mediada por proteasoma también desempeña una función principal en muchos procedimientos tales como la presentación del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase I, apoptosis, división celular y activación de NF- κ B.

15 El proteasoma 20S es un complejo de proteasa multicatalítico con forma cilíndrica de 700 kDa comprende 28 subunidades organizadas en cuatro anillos, que desempeña funciones importantes en la regulación del crecimiento celular, presentación del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I, apoptosis, procesamiento de antígenos, activación de NF- κ B, y transducción de señales pro-inflamatorias. En levadura y otras eucariotas, 7 subunidades α diferentes forman los anillos externos y 7 subunidades β diferentes comprenden los anillos internos. Las subunidades α sirven como sitios de unión para los complejos reguladores de 19S (PA700) y 11S (PA28), así como de barrera física para la cámara proteolítica interna formada por dos anillos de las subunidades β . De esta forma, *in vivo*, se piensa que el proteasoma existe en forma de una partícula de 26S ("el proteasoma 26S"). Experimentos *in vivo* han mostrado que la inhibición de la forma 20S del proteasoma se puede correlacionar fácilmente para la inhibición del proteasoma 26S. La escisión de prosequencias amino-terminales de subunidades β durante la formación de partículas expone residuos amino-terminales de treonina, que sirven como nucleófilos catalíticos. Las subunidades responsables de la actividad catalítica en proteasomas poseen de esta forma un residuo nucleófilo aminoterminal, y estas subunidades pertenecen a la familia de las hidrolasas nucleófilas N-terminales (Ntn) (en las que el residuo nucleófilo N-terminal es, por ejemplo, Cys, Ser, Thr, y otros restos nucleófilos). Esta familia incluye, por ejemplo, penicilina G acilasa (PGA), penicilina V acilasa (PVA), glutamina PRPP amidotransferasa (GAT), y glucosilasparaginasa bacteriana. Además de las subunidades β expresadas de forma ubiquitinada, los vertebrados superiores también poseen tres subunidades β inducibles por interferón γ (LMP7, LMP2 y MECL1), que reemplazan sus homólogos normales, X, Y y Z respectivamente, alterando de esta forma las actividades catalíticas del proteasoma. A través del uso de diferentes sustratos peptídicos, se han definido tres actividades proteolíticas principales para el proteasoma 20S eucariota: actividad tipo quimotripsina (CT-L), que escinde después de residuos hidrófobos grandes; actividad tipo tripsina (T-L), que escinde después de residuos básicos; y actividad hidrolítica de péptidos peptidilglutamil (PGPH), que escinde después de residuos ácidos. También se atribuyen a los proteasomas dos actividades adicionales menos caracterizadas: actividad BraAP, que escinde después de aminoácidos de cadena ramificada; y actividad SNAAP, que escinde después de aminoácidos neutros pequeños. Parece que diferentes sitios catalíticos contribuyen en las actividades proteolíticas principales del proteasoma, ya que los inhibidores, mutaciones puntuales en subunidades β y el intercambio en subunidades β con inducción por interferón γ alteran estas actividades en varios grados.

45 Existen varios ejemplos de moléculas pequeñas que se han usado para inhibir la actividad del proteasoma; sin embargo, estos compuestos generalmente carecen de la especificidad, estabilidad, o potencia necesarias para explorar y explotar las funciones del proteasoma a nivel celular y molecular. Por lo tanto, la síntesis de inhibidor(es) de moléculas pequeñas con especificidad de sitio aumentada, solubilidad y estabilidad mejoradas, y potencia aumentada es necesaria para permitir la exploración de las funciones del proteasoma a nivel celular y molecular.

50 Por ejemplo, se desvelan péptidos en forma de inhibidores de proteasoma en el documento WO 01/28579, en Myung J. y col.: "Lack of Proteasome Active Site Allostery as Revealed by Subunit-Specific Inhibitors", Molecular Cell, Febrero 2001, volumen 7, nº 2, Febrero 2001 (2001 - 02), páginas 411 - 420 y Kim, K.P. y col., "Proteasome Inhibition by the Natural Products Epoxomicin y Dihydroeponepomicin: Insights into Specificity and Potency", Bio. Org. Med. Chem. Let., volumen 9, 1999, páginas 3335 - 3340.

Sumario de la invención

La invención se refiere a análogos y profármacos de clases de moléculas conocidas como α',β' -epóxidos peptídicos. Se entiende que las moléculas parentales se unen de forma eficaz, irreversible y selectiva a hidrolasas

nucleófilas N–terminales (Ntn), y pueden inhibir de forma específica actividades particulares de enzimas que tienen actividad catalítica múltiple.

5 Una vez que se piensa solamente en disponer de proteínas desnaturalizadas y desplegadas, se reconoce ahora que el proteasoma constituye una maquinaria proteolítica que regula los niveles de diversas proteínas intracelulares a través de su degradación de una forma dependiente de señal. Por consiguiente, existe un gran interés en identificar reactivos que puedan perturbar de forma específica las actividades del proteasoma y otras hidrolasas Ntn y se puedan usar así en forma de sondas para estudiar la función de estas enzimas en procesos biológicos. Los análogos y profármacos para compuestos que fijan como diana las hidrolasas Ntn se desvelan, sintetizan e investigan en la presente memoria descriptiva. Los epóxidos peptídicos que pueden inhibir de forma potente, selectiva e irreversible actividades particulares del proteasoma se desvelan y se reivindican como se define por medio de la fórmula II a continuación.

15 A diferencia de varios otros inhibidores basados en péptidos, no se espera que los epóxidos peptídicos descritos en la presente memoria descriptiva inhiban de forma sustancial proteasas no proteasómicas tales como tripsina, quimotripsina, catepsina B, papaína, y calpaína en concentraciones de hasta 50 μM . En concentraciones más altas, se puede observar inhibición, pero se podría esperar que fuera competitiva y no irreversible, si el inhibidor solamente compete con el sustrato. También se espera que los epóxidos peptídicos nuevos inhiban la activación NF- κB y estabilicen los niveles p53 en el cultivo celular. Además, se podría esperar que estos compuestos tengan actividad anti-inflamatoria. De ese modo, estos compuestos pueden ser sondas moleculares únicas, que tienen la versatilidad para explorar la función enzimática de Ntn en procedimientos biológicos y patológicos normales.

20 En un aspecto, la invención proporciona análogos y profármacos de inhibidores que comprenden un anillo de tres elementos que contiene un heteroátomo como se define por la fórmula II a continuación. Estos inhibidores pueden inhibir la actividad catalítica de enzimas de hidrolasas nucleófilas N–terminales (por ejemplo, el proteasoma 20S, o el proteasoma 26S) cuando dicho inhibidor está presente en concentraciones por debajo de aproximadamente 50 μM . En lo que se refiere al proteasoma 20S, los inhibidores particulares de hidrolasa inhiben la actividad tipo quimotripsina del proteasoma 20S cuando el inhibidor está presente en concentraciones por debajo de aproximadamente 5 μM , y no inhibe la actividad tipo tripsina o actividad PGPH del proteasoma 20S cuando está presente en concentraciones por debajo de aproximadamente 5 μM . El inhibidor de hidrolasa es una cetona α,β -epoxi peptídica y el péptido puede ser un tetrapéptido. El tetrapéptido puede incluir cadenas laterales ramificadas o no ramificadas tales como hidrógeno, alquilo C_{1-6} , hidroxialquilo C_{1-6} , alcoxialquilo C_{1-6} , arilo, aralquilo C_{1-6} , alquilamida C_{1-6} , alquilamina C_{1-6} , ácido carboxílico C_{1-6} , éster carboxilo C_{1-6} , alquiltiol C_{1-6} , o alquiltioéter C_{1-6} , por ejemplo, isobutilo, 1-naftilo, fenilmetilo, y 2-feniletilo. El carbono α' de la α,β -epoxi cetona puede ser un átomo de carbono quiral, tal como un carbono configurado (R) o β , como se definen en la presente memoria descriptiva.

35 En otro aspecto, la invención proporciona composiciones farmacéuticas, que incluyen un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad farmacéuticamente eficaz del análogo o profármaco del inhibidor de hidrolasa, que mejora los efectos de la enfermedad neurodegenerativa (tal como enfermedad de Alzheimer), enfermedades de desgaste muscular, cáncer, enfermedades infecciosas crónicas, fiebre, inactivación muscular, denervación, lesión nerviosa, ayuno, y afecciones inmuno-relacionadas, entre otras.

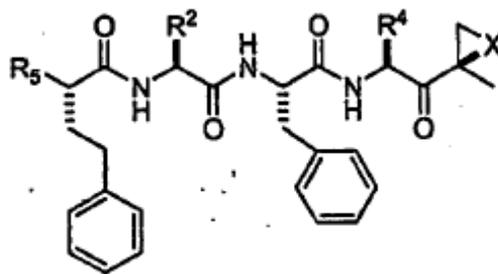
En otro aspecto, la invención proporciona composiciones anti-inflamatorias.

40 En otro aspecto, la invención proporciona compuestos para usar en lo siguiente: inhibir o reducir la infección por VIH en un sujeto; afectar el nivel de expresión génica viral en un sujeto; alterar la variedad de péptidos antigénicos producidos por el proteasoma en un organismo; determinar si un procedimiento o producción celular, de desarrollo o psicológico en un organismo está regulado por medio de la actividad proteolítica de una hidrolasa Ntn particular; tratar la enfermedad de Alzheimer en un sujeto; reducir la velocidad de la degradación de la proteína muscular en una célula; reducir la velocidad de la degradación de proteínas intracelulares en una célula; reducir la velocidad de la degradación de la proteína p53 en una célula; inhibir el crecimiento de cánceres relacionados con p53 en un sujeto; inhibir la presentación antigénica en una célula; suprimir el sistema inmune de un sujeto; inhibir la degradación de I κB - α en un organismo; reducir el contenido de NF- κB en una célula, músculo, órgano o sujeto; afectar los ciclos celulares eucarióticos dependientes de ciclina; tratar enfermedades proliferativas en un sujeto; afectar la regulación dependiente de proteasoma de oncoproteínas en una célula; tratar el crecimiento del cáncer en un sujeto; tratar la apoptosis relacionada con p53 en un sujeto; y seleccionar proteínas procesadas por medio de hidrolasas nucleófilas N–terminales en una célula. Cada uno de estos usos implica la administración o el contacto de una cantidad eficaz de una composición que comprende los inhibidores de hidrolasa descritos en la presente memoria descriptiva, a un sujeto, una célula, un tejido, un órgano, o un organismo.

55 Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada, y a partir de las reivindicaciones.

Descripción detallada de la invención

- 5** La invención implica compuestos útiles como inhibidores de enzimas. Estos compuestos son generalmente útiles para inhibir enzimas que tienen un grupo nucleófilo en el extremo N-terminal. Por ejemplo, las actividades de enzimas o subunidades de enzimas que tienen aminoácidos N-terminal con nucleófilos en sus cadenas laterales, tales como treonina, serina o cisteína se pueden inhibir de forma satisfactoria por medio de los inhibidores de enzimas descritos en la presente memoria descriptiva. Las actividades de enzimas o subunidades de enzimas que no tienen grupos nucleófilos aminoácidos en sus extremos N-terminales, tales como por ejemplo, grupos de protección o carbohidratos, también se pueden inhibir de forma satisfactoria por medio de los inhibidores de enzimas descritos en la presente memoria descriptiva.
- 10** Aunque no estén limitados por ninguna teoría de operación en particular, se piensa que dichos nucleófilos N-terminales de Ntn forman aductos covalentes con el grupo funcional epóxido de los inhibidores de enzimas descritos en la presente memoria descriptiva. Por ejemplo, en la subunidad $\beta 5$ /Pre2 del proteasoma 20S, se piensa que la treonina N-terminal forma irreversiblemente un aducto morfolino o piperazino tras la reacción con un epóxido peptídico tal como los descritos a continuación. Dicha formación de aductos implicaría la escisión de apertura de anillo del epóxido.
- 15** En realizaciones que incluyen tales grupos unidos a carbonos α' , la estereoquímica del carbono α' (formando dicho carbono una parte de anillo de epóxido) puede ser (R) o (S). En el contexto de la invención, la estereoquímica del carbono α' es (R), es decir, el átomo X es β , o sobre el plano de la molécula.
- 20** En lo que se refiere a la estereoquímica, se siguen las reglas de Cahn-Ingold-Prelog para determinar la estereoquímica absoluta. Estas reglas se desvelan, por ejemplo, en Organic Chemistry, Fox y Whitesell; Jones and Bartlett Publishers, Boston, MA (1994); Apartado 5 – 6, páginas 177 – 178. Los péptidos pueden tener una estructura principal de repetición con cadenas laterales que se extienden a partir de las unidades de la estructura principal. Por lo general, cada unidad de la estructura principal tiene una cadena lateral asociada a ésta, aunque en algunos casos, la cadena lateral es un átomo de hidrógeno.
- 25** Las cadenas laterales que se extienden a partir de las unidades de la estructura principal pueden incluir cadenas laterales de aminoácidos aromáticos o alifáticos naturales, tales como metilo (alanina), isopropilo (valina), sec-butilo (isoleucina), isobutilo (leucina), y fenilmetilo (fenilalanina). Las cadenas laterales también pueden ser otros grupos aromáticos o alifáticos ramificados o no ramificados tales como etilo, n-propilo, n-butilo, t-butilo, y derivados sustituidos de arilo tales como 1-feniletilo, 2-feniletilo, (1-naftil)metilo, (2-naftil)metilo, 1-(1-naftil)etilo, 1-(2-naftil)etilo, 2-(1-naftil)etilo, 2-(2-naftil)etilo, y compuestos similares.
- 30** En algunas realizaciones, los residuos polares o cargados se pueden introducir en los epóxidos peptídicos. Por ejemplo, los aminoácidos de origen natural tales como (Thr, Tyr, Ser) que contienen hidroxilo o (Met, Cys) que contienen azufre se pueden introducir, así como aminoácidos no esenciales, por ejemplo, taurina, carnitina, citrulina, cistina, ornitina, norleucina y otros. Los sustituyentes de cadenas laterales de origen no natural con restos cargados o polares también se pueden incluir, tales como, por ejemplo, cadenas alquilo C₁₋₆ o grupos arilo C₆₋₁₂ con uno o más grupos hidroxilo, cadena corta, alcoxi, sulfuro, tío, carboxilo, éster, amido o amino, o tales sustituyentes sustituidos con uno o más átomos de halógeno. En algunas realizaciones preferidas, existe al menos un grupo arilo presente en una cadena lateral del resto peptídico.
- 35** En algunas realizaciones, las unidades de la estructura principal son unidades amida $[-NH-CHR-C(=O)-]$, en la que R es la cadena lateral.
- 40** En otras realizaciones, las unidades de la estructura principal son unidades amida N-alquiladas (por ejemplo, N-metilo y similares). En otras realizaciones más, el carbono α de un aminoácido está modificado por medio de sustitución de un alquilo α , por ejemplo, ácido aminoisobutírico. En otras realizaciones más que emplean grupos aminoácido, se pueden usar ácidos D-amino.
- 45** De acuerdo con la invención, el inhibidor tiene una estructura de la fórmula II o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



(II)

en la que

L está ausente o se selecciona de C=O, C=S, y SO₂, preferiblemente L está ausente o C=O;

5 Q está ausente o se selecciona de O, NH, y N–alquilo C₁₋₆, preferiblemente Q está ausente, O, o NH, más preferiblemente Q está ausente o O;

X es O;

10 R² y R⁴ se seleccionan cada uno independientemente de alquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, alcoxialquilo C₁₋₆, arilo y aralquilo C₁₋₆, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes de amida, amina, ácido carboxílico (o una sal del mismo), éster (incluyendo éster de alquilo C₁₋₅ y éster de arilo), tiol, o tioéter;

R⁵ es N(R⁶)LQR⁷;

R⁶ se selecciona de hidrógeno, OH, y alquilo C₁₋₆, preferiblemente alquilo C₁₋₆;

R⁷ se selecciona de (R⁸O)(R⁹O)P(=O)O–alquilo C₁₋₈–, (R¹⁰)₂N–alquilo C₁₋₁₂–, (R¹⁰)₃N⁺–alquilo C₁₋₁₂–, heterociclilo–,

15 R⁸ and R⁹ se seleccionan independientemente de hidrógeno, catión de metal, alquilo C₁₋₆, alqueno C₁₋₆, alquino C₁₋₆, arilo, heteroarilo, aralquilo C₁₋₆, y heteroaralquilo C₁₋₆, preferiblemente de hidrógeno, catión de metal y alquilo C₁₋₆, o R⁸ y R⁹ juntos son alquilo C₁₋₆, formando de ese modo un anillo;

cada R¹⁰ se selecciona independientemente de hidrógeno y alquilo C₁₋₆, preferiblemente alquilo C₁₋₆;

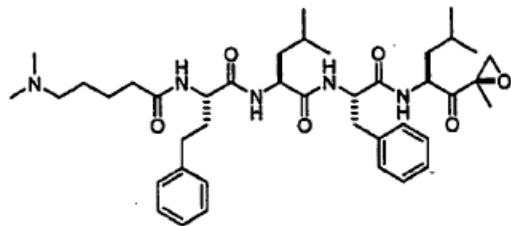
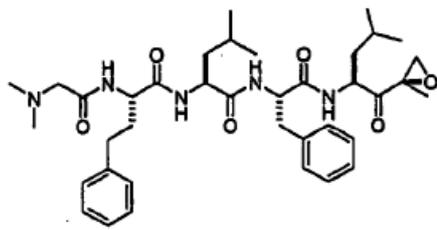
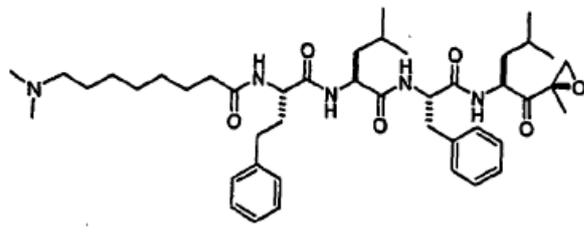
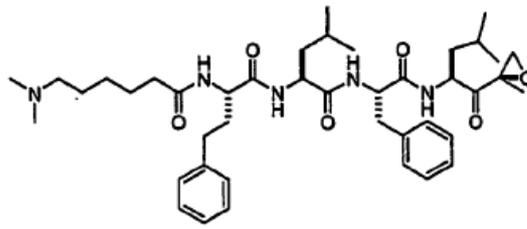
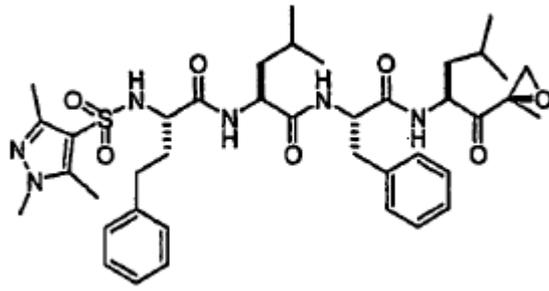
20 con la condición de que cuando R⁶ es H o CH₃ y Q está ausente, LR⁷ no es hidrógeno, alquilo C₁₋₆ C=O no sustituido, una cadena adicional de aminoácidos, t–butoxicarbonilo (Boc), benzoilo (Bz), fluoren–9–ilmetoxicarbonilo (Fmoc), trifenilmetil(tritilo), benziloxycarbonilo (Cbz), tricloroetoxicarbonilo (Troc); o arilo o heteroarilo sustituido o no sustituido.

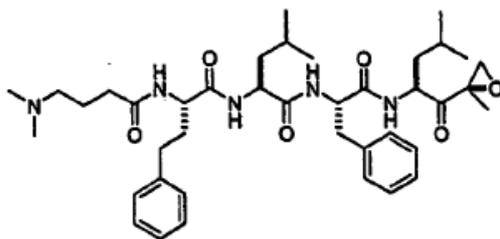
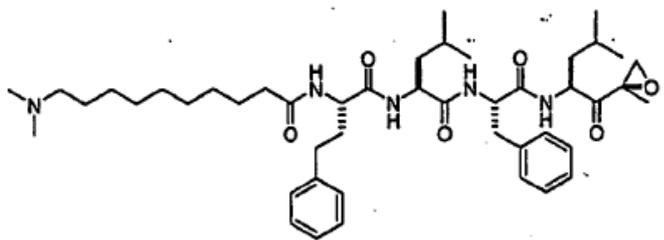
En ciertas realizaciones, L es C=O, Q está ausente, R⁶ es H, y R² y R⁴ se seleccionan de alquilo C₁₋₆ y aralquilo C₁₋₆.

25 En tales realizaciones preferidas, R² y R⁴ son alquilo C₁₋₆. En la realización más preferida como tal, R² y R⁴ son isobutilo.

En ciertas realizaciones, L es C=O, Q está ausente, R⁶ es H, y R² y R⁴ son isobutilo, y R⁷ es heterociclilo–, en la que el heterociclo es un heterociclo que contiene nitrógeno, tal como piperazino (incluyendo N–(alquilo inferior) piperazino), morfolino, y piperidino.

30 En ciertas realizaciones, un compuesto de la fórmula II se selecciona de:





En ciertas realizaciones, los compuestos específicamente excluidos se desvelan en el documento US 6.831.099.

5 Un aspecto de la invención se refiere a un dispositivo médico que incluye la composición descrita en la presente memoria descriptiva que incluye un inhibidor que tiene una estructura de la fórmula II. En una realización, la composición se incorpora dentro de un dispositivo médico. En ciertas realizaciones, el dispositivo médico es un gel que comprende una matriz polimérica o matriz cerámica y un inhibidor. Dicho polímero puede ser de origen natural o sintético. En otra realización, dicho gel sirve como un depósito del fármaco, un adhesivo, una sutura, una barrera o un obturador.

10 Otro aspecto de la invención se refiere a un dispositivo médico que comprende un sustrato que tiene una superficie sobre la que se dispone un inhibidor que tiene una estructura de la fórmula II. En una realización, el inhibidor se dispone directamente sobre un dispositivo médico. En otra realización, se dispone así un recubrimiento, comprendiendo el recubrimiento una matriz polimérica o matriz cerámica con un inhibidor que tiene una estructura de la fórmula II dispersado o disuelto en el mismo.

15 En una realización, el dispositivo médico es un dilatador coronario, vascular, periférico o biliar. Más particularmente, el dilatador de la presente invención es un dilatador expandible. Cuando se recubre con una matriz que contiene un inhibidor que tiene una estructura de la fórmula II, la matriz es flexible para alojar estados comprimidos y expandidos de un dilatador expandible como tal. En otra realización de esta invención, el dilatador tiene al menos una porción que se puede insertar o implantar en el cuerpo de un paciente, en el que la porción tiene una superficie que está adaptada para la exposición al tejido corporal y en el que al menos una parte de la superficie está recubierta con un inhibidor que tiene una estructura de la fórmula II, o un recubrimiento que comprende una matriz que tiene un inhibidor que tiene una estructura de la fórmula II está disperso o disuelto en éste. Un ejemplo de un dilatador adecuado se describe en la patente de Estados Unidos n°. 4.733.665, que se incorpora en la presente memoria descriptiva en su totalidad por referencia.

20 En otra realización, el dispositivo médico de la presente invención es un implemento quirúrgico tal como un implante vascular, un dispositivo intraluminal, obturador quirúrgico o soporte vascular. Más particularmente, el dispositivo médico de la presente invención es un catéter, un puerto de acceso vascular implantable, un catéter venoso central, un catéter arterial, un injerto vascular, una bomba intraaórtica del globo, una sutura, una bomba de asistencia ventricular, una barrera de elución del fármaco, un adhesivo, una envoltura vascular, un soporte extra/perivascular, un filtro sanguíneo, o un filtro adaptado para su despliegue en un vaso sanguíneo, recubierto con un inhibidor que tiene una estructura de la fórmula II, bien directamente o bien por medio de una matriz que contiene un inhibidor que tiene una estructura de la fórmula II.

25 En ciertas realizaciones, el dispositivo médico intraluminal está recubierto con un inhibidor que tiene una estructura de la fórmula II o un recubrimiento que comprende una matriz biológicamente tolerada y un inhibidor que tiene una estructura de la fórmula II dispersado en el polímero, teniendo dicho dispositivo una superficie interior y una superficie exterior, aplicándose el recubrimiento a al menos una parte de la superficie interior, la superficie exterior, o ambas.

30

35

5 En ciertas realizaciones, el dispositivo médico puede ser útil para prevenir restenosis después de angioplastia. El dispositivo médico también puede ser útil para el tratamiento de diversas enfermedades y afecciones proporcionando administración localizada de un inhibidor que tiene una estructura de la fórmula II. Tales enfermedades y afecciones incluyen restenosis, inflamación, artritis reumatoide, lesión del tejido debida a inflamación, enfermedades hiperproliferativas, psoriasis artrítica o grave, enfermedades por desgaste muscular, enfermedades infecciosas crónicas, respuesta inmune anormal, afecciones que implican placas vulnerables, lesiones relacionadas con afecciones isquémicas, e infecciones virales y proliferación. Ejemplos de enfermedades y afecciones que están sometidas a un tratamiento que incluyen los dispositivos médicos revestidos con fármacos de la presente invención incluyen aterosclerosis, síndrome coronario agudo, enfermedad de Alzheimer, cáncer, fiebre, inactividad muscular (atrofia), denervación, oclusiones vasculares, apoplejía, infección por VIH, lesión nerviosa, insuficiencia renal asociada a acidosis, e insuficiencia hepática. Véase por ejemplo, Goldberg, Patente de Estados Unidos Nº 5.340.736.

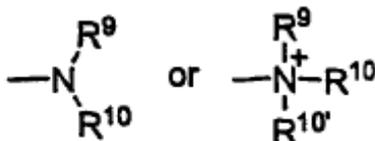
15 El término "alquilo C_{x-y}" se refiere a grupos hidrocarburo saturados, incluyendo grupos alquilo de cadena recta y alquilo de cadena ramificada que contienen de x a y carbonos en la cadena, incluyendo grupos haloalquilo tales como trifluorometilo y 2,2,2-trifluoroetilo, etc. Alquilo C₀ indica un hidrógeno en el que el grupo está en una posición terminal, un enlace si es interna. Los términos "alqueno C_{2-y}" y "alquino C_{2-y}" se refieren a grupos alifático insaturados análogos en longitud y sustitución posible a los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un doble o triple enlace respectivamente.

20 El término "alcoxi" se refiere a un grupo alquilo que tiene un oxígeno unido a éste. Los grupos alcoxi representativos incluyen metoxi, etoxi, propoxi, terc-butoxi y similares. Un "éter" es dos hidrocarburos unidos de forma covalente por medio de un oxígeno. Por consiguiente, el sustituyente de un alquilo que vuelve a dicho alquilo un éter es o parece un alcoxi.

El término "alcoxialquilo C₁₋₆" se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ sustituido con un grupo alcoxi, formando de ese modo un éter.

25 El término "aralquilo C₁₋₆", como se usa en la presente memoria descriptiva, se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ sustituido con un grupo arilo.

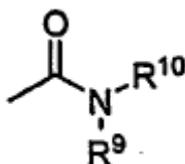
Los términos "amina" y "amino" se reconocen en la técnica y se refieren tanto a aminas sustituidas como no sustituidas y sales de las mismas, por ejemplo, un resto que se puede representar por medio de la fórmula general:



30 En la que R⁹, R¹⁰ y R^{10'} representan cada uno independientemente un hidrógeno, un alquilo, un alqueno, -(CH₂)_m-R⁸, o R⁹ y R¹⁰ tomados en conjunto con el átomo N al que están unidos completan un heterociclo que tiene de 4 a 8 átomos en la estructura del anillo; R⁸ representa un arilo, un cicloalquilo, un cicloalqueno, un heterociclo o un policiclo; y m es cero o un número entero de 1 a 8. En realizaciones preferidas, solamente uno de R⁹ o R¹⁰ puede ser un carbonilo, por ejemplo, R⁹, R¹⁰, y el nitrógeno en conjunto no forman una imida. En realizaciones incluso más preferidas, R⁹ y R¹⁰ (y opcionalmente R^{10'}) cada uno independientemente representan un hidrógeno, un alquilo, un alqueno, -(CH₂)_m-R⁸. En ciertas realizaciones, un grupo amino es básico, significando que tiene un pK_a ≥ 7,00. Las formas protonadas de estos grupos funcionales tienen un pK_a superior a 7,00.

35

Los términos "amida" y "amido" son reconocidos en la técnica por ser un carbonilo amino sustituido e incluye un resto que se puede representar por medio de la fórmula general:



40 En la que R⁹, R¹⁰ son como se define anteriormente. Las realizaciones preferidas de la amida no incluyen imidas que pueden ser inestables.

El término "arilo" como se usa en la presente memoria descriptiva incluye grupos aromáticos de un solo anillo de 5-

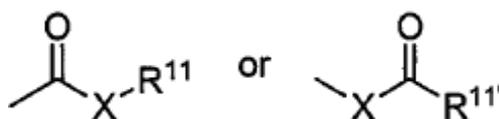
6-, y 7- elementos en los que cada átomo del anillo es carbono. El término "arilo" también incluye sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes en los que al menos uno de los anillos es aromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos, y/o heterociclicos. Los grupos arilo incluyen benceno, naftaleno, fenantreno y similares.

5

Los términos "carbociclo" y "carbociclilo", como se usa en la presente memoria descriptiva, se refieren a un anillo sustituido o no sustituido no aromático en el que cada átomo del anillo es carbono. Los términos "carbociclo" y "carbociclilo" también incluyen sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes en los que al menos uno de los anillos es carbocíclico, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos, y/o heterociclicos.

10

El término "carbonilo" se reconoce en la técnica e incluye los restos que se pueden representar por medio de la fórmula general:



15

En la que X es un enlace o representa un oxígeno o un azufre, y R¹¹ representa un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo, $-(CH_2)_m-R^8$ o una sal farmacéuticamente aceptable, R^{11'} representa un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo o $-(CH_2)_m-R^8$, en la que m y R⁸ son como se define anteriormente. Cuando X es un oxígeno y R¹¹ o R^{11'} no es hidrógeno, la fórmula representa un "éster". Cuando X es un oxígeno y R¹¹ es un hidrógeno, la fórmula representa un "ácido carboxílico".

20

Como se usa en la presente memoria descriptiva, "enzima" puede ser cualquier molécula parcialmente o totalmente proteínica que lleva a cabo una reacción química en una forma catalítica. Tales enzimas pueden ser enzimas nativas, enzimas de fusión, proenzimas, apoenzimas, enzimas desnaturalizadas, enzimas farnesiladas, enzimas ubiquitinadas, enzimas aciladas con ácidos grasos, enzimas gerangeraniladas, enzimas unidas a GPI, enzimas unidas a lípidos, enzimas preniladas, enzimas mutantes de origen natural o generadas artificialmente, enzimas con modificaciones en la estructura principal o en la cadena lateral, enzimas que tienen secuencias guía, y enzimas complejadas con material no proteínico, tales como proteoglicanos, proteoliposomas. Las enzimas se pueden realizar por cualquier medio, incluyendo la expresión natural, expresión promovida, clonación, varias síntesis de péptidos basadas en sólidos y basadas en soluciones, y procedimientos similares conocidos para los expertos en la técnica.

25

30

El término "heteroalquilo C₁₋₆", como se usa en la presente memoria descriptiva, se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ sustituido con un grupo heteroarilo.

El término "heteroarilo" incluye estructuras de anillos aromáticos sustituidos o no sustituidos de 5 a 7 elementos, más preferiblemente anillos de 5 a 6 elementos, cuyas estructuras de anillos incluyen de uno a cuatro heteroátomos. El término "heteroarilo" también incluye sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes en los que al menos uno de los anillos es heteroaromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos, y/o heterociclicos. Los grupos heteroarilo incluyen, por ejemplo, pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, triazol, pirazol, piridina, pirazina, piridazina y pirimidina, y similares.

35

40

El término "heteroátomo" como se usa en la presente memoria descriptiva se refiere a un átomo de cualquier elemento distinto a carbono o hidrógeno. Los heteroátomos preferidos son nitrógeno, oxígeno, fósforo, y azufre.

Los términos "heterociclilo" o "grupo heterocíclico" se refieren a estructuras de anillos no aromáticos sustituidos o no sustituidos de 3 a 10 elementos, más preferiblemente de 3 a 7 elementos, cuyas estructuras de anillos incluyen de uno a cuatro heteroátomos. Los términos "heterociclilo" o "grupo heterocíclico" también incluyen sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes en los que al menos uno de los anillos es heterocíclico, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos, y/o heterociclicos. Los grupos heterociclilo incluyen, por ejemplo, piperidina, piperazina, pirrolidina, morfolina, lactonas, lactamas, y similares.

45

El término "hidroxialquilo C₁₋₆" se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ sustituido con un grupo hidroxilo.

Como se usa en la presente memoria descriptiva, el término "inhibidor" pretende describir un compuesto que

- 5** bloquea o reduce una actividad de una enzima (por ejemplo, la inhibición de la escisión proteolítica de sustratos peptídicos fluorogénicos convencionales tales como suc-LLVY-AMC, Box-LLR-AMC y Z-LLE-AMC, inhibición de diversas actividades catalíticas del proteasoma 20S). Un inhibidor puede actuar con inhibición competitiva, incompetitiva, o no competitiva. Un inhibidor se puede unir de forma reversible o irreversible, y por lo tanto, el término incluye compuestos que son sustratos suicidas de una enzima. Un inhibidor puede modificar uno o más sitios en o cerca del sitio activo de la enzima, o puede causar un cambio conformacional en cualquier parte de la enzima.
- 10** Como se usa en la presente memoria descriptiva, el término "péptido" no sólo incluye enlaces de amidas convencionales con sustituyentes α convencionales, sino peptidomiméticos comúnmente utilizados, otros enlaces modificados, cadenas laterales de origen no natural, y modificaciones de cadenas laterales, como se detalla a continuación.
- 15** Los términos "policíclico" or "policíclico" se refieren a dos o más anillos (por ejemplo, cicloalquilos, cicloalquenos, cicloalquinos, arilos, heteroarilos, y/o heterocíclicos) en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes, por ejemplo, los anillos son "anillos condensados". Cada uno de los anillos del policiclo pueden ser sustituidos o no sustituidos.
- 20** El término "prevenir" está reconocido en la técnica, y cuando se usa en relación con una afección, tal como una recurrencia local (por ejemplo, dolor), una enfermedad tal como cáncer, un complejo de síndrome tal como fallo cardiaco o cualquier otra afección médica, se entiende bien en la técnica, e incluye la administración de una composición que reduce la frecuencia de, o retrasa el comienzo de, los síntomas de una afección médica en un sujeto en comparación con un sujeto que no recibe la composición. De ese modo, la prevención de cáncer incluye, por ejemplo, la reducción del número de crecimientos cancerosos detectables en una población de pacientes que reciben un tratamiento profiláctico en comparación con una población de control no tratada, y/o el retraso de la aparición de crecimientos cancerosos detectables en una población tratada frente a una población de control no tratada, por ejemplo, por medio de una cantidad estadísticamente y clínicamente significativa. La prevención de una infección incluye, por ejemplo, reducir el número de diagnósticos de la infección en una población tratada frente a una población de control no tratada, y/o retrasar el comienzo de los síntomas de la infección en una población tratada frente a una población de control no tratada. La prevención de dolor incluye, por ejemplo, reducir la magnitud de, o alternativamente retrasar, las sensaciones de dolor experimentadas por sujetos en una población tratada frente a una población de control no tratada.
- 25**
- 30** El término "profármaco" abarca compuestos que, en condiciones fisiológicas, se convierten en agentes terapéuticamente activos. Un procedimiento común para realizar un profármaco es incluir restos seleccionados que se hidrolizan en condiciones fisiológicas para revelar la molécula deseada. En otras realizaciones, el profármaco se convierte por medio de una actividad enzimática del animal hospedador.
- 35** El término tratamiento "profiláctico o terapéutico" está reconocido en la técnica e incluye la administración al hospedador de uno o más de las composiciones sujeto. Si se administra antes de la manifestación clínica de la afección no deseada (por ejemplo, enfermedad u otro estado no deseado del animal hospedador) entonces el tratamiento es profiláctico, (es decir, protege al huésped de desarrollar la afección no deseada), mientras que si se administra después de la manifestación de la afección no deseada el tratamiento es terapéutico, (es decir, está pensado para disminuir, mejorar o estabilizar la afección no deseada existente o efectos secundarios de la misma).
- 40** El término "proteasoma" como se usa en la presente memoria descriptiva pretende incluir proteasomas inmunes y constitutivos.
- 45** El término "sustituido" se refiere a restos que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno en uno o más carbonos de la estructura principal. Se entenderá que "sustitución" o "sustituido con" incluye la condición implícita de que dicha sustitución es de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente, y que la sustitución resulta en un compuesto estable, por ejemplo, que no experimenta una transformación de forma espontánea tal como por transposición, ciclización, eliminación, etc. Como se usa en la presente memoria descriptiva, el término "sustituido" contempla incluir todos los sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos. En un aspecto amplio, los sustituyentes permisibles incluyen sustituyentes acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos de compuestos orgánicos. Los sustituyentes permisibles pueden ser uno o más y los mismos o diferentes para compuestos orgánicos apropiados. A efectos de esta invención, los heteroátomos tales como nitrógeno pueden tener sustituyentes de hidrógeno y/o cualquier sustituyente permisible de compuestos orgánicos descritos en la presente memoria descriptiva que satisfaga las valencias de los heteroátomos. Los sustituyentes pueden incluir, por ejemplo, un halógeno, un hidroxilo, un carbonilo, (tal como un carboxilo, un alcóxicarbonilo, un formilo, o un acilo), un tiocarbonilo (tal como un tioéster, un tioacetato, o un tioformato), un alcóxido, un fosforilo, un fosfato, un fosfonato, a fosfinato, un amino, un amido, una amidina, una imina, un ciano, un nitro, un azido, un sulfhidrilo, un alquiltío, un sulfato, un sulfonato, un sulfamilo, un sulfonamido, un sulfonilo, un heterocíclico, un aralquilo, o un resto aromático or heteroaromático. Se entenderá por
- 50**
- 55**

parte de los expertos en la técnica que los restos sustituidos en la cadena de hidrocarburo se pueden sustituir ellos mismos, en caso apropiado.

5 Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto con respecto al procedimiento sujeto del tratamiento, se refiere a una cantidad del (los) compuesto (s) en una preparación que, cuando se administra como parte de una pauta de dosificación deseada (a un mamífero, preferiblemente un ser humano) alivia un síntoma, mejora una afección, o ralentiza el comienzo de estados de enfermedad de acuerdo con patrones clínicamente aceptables para el trastorno o afección que se va a tratar o el efecto cosmético, por ejemplo, en una relación riesgo/ beneficio razonable aplicable a cualquier tratamiento médico.

10 El término "tioéter" se refiere a un grupo alquilo, como se define anteriormente, que tiene un resto de azufre unido a éste. En realizaciones preferidas, el "tioéter" se representa por medio de $-S-$ alquilo. Los grupos tioéter representativos incluyen metiltío, etiltío, y similares.

Como se usa en la presente memoria descriptiva, el término "tratar" o "tratamiento" incluye invertir, reducir o detener los síntomas, señales clínicas, y patología subyacente de una afección de forma que mejore o estabilice la afección de un sujeto.

15 Selectividad para el proteasoma 20S

20 Los análogos y profármacos de inhibidores de enzimas descritos en la presente memoria descriptiva son útiles en parte porque inhiben la acción del proteasoma 20S. De forma adicional, a diferencia de otros inhibidores del proteasoma 20S, los compuestos descritos en la presente memoria descriptiva son muy selectivos hacia el proteasoma 20S, con respecto a otras enzimas de proteasas. Esto es, los presentes compuestos muestran selectividades para el proteasoma 20S sobre otras proteasas tales como catepsinas, calpains, papaina, quimotripsina, tripsina, tripeptidil pepsidasa II. Las selectividades de los inhibidores de enzimas para el proteasoma 20S son tales que en concentraciones por debajo de aproximadamente 50 μM , los inhibidores de enzimas muestran inhibición de la actividad catalítica del proteasoma 20S, aunque no muestran inhibición de la actividad catalítica de otras proteasas tales como catepsinas, calpains, papaina, quimotripsina, tripsina, tripeptidil pepsidasa II. En realizaciones preferidas, los inhibidores de enzimas muestran la inhibición de la actividad catalítica del proteasoma 20S en concentraciones por debajo de aproximadamente 10 μM , aunque no muestran inhibición de la actividad catalítica de otras proteasas en estas concentraciones. En realizaciones incluso más preferidas, los inhibidores de enzimas muestran inhibición de la actividad catalítica del proteasoma 20S en concentraciones por debajo de aproximadamente 1 μM , aunque no muestran inhibición de la actividad catalítica de otras proteasas en estas concentraciones. Los ensayos cinéticos de enzimas se desvelan en la solicitud de Estados Unidos con número de serie 09/569748, Ejemplo 2 y Stein y col., Biochem, (1996), 35, 3899 – 3908.

Selectividad para actividad tipo quimotripsina

35 Realizaciones particulares de compuestos de profármacos y análogos de inhibición enzimática descritos en la presente memoria descriptiva son adicionalmente útiles ya que pueden inhibir de forma eficaz y selectiva la actividad tipo quimotripsina del proteasoma 20S, en comparación con actividades tipo tripsina, y PGP. La actividad tipo quimotripsina del proteasoma 20S se caracteriza por la escisión de péptidos en las inmediaciones inmediatas de residuos hidrófobos grandes. En particular, la actividad tipo quimotripsina de hidrolasas Ntn se puede determinar por medio de la escisión de un sustrato convencional. Ejemplos de tales sustratos son conocidos en la técnica. Por ejemplo, se puede usar un derivado de leucilleucilvaliniltirosina. Los ensayos cinéticos de enzimas se desvelan en la solicitud de Estados Unidos con número de serie 09/569748, Ejemplo 2 y Stein y col., Biochem, (1996), 35, 3899 – 3908.

Usos de inhibidores de enzimas

45 Las consecuencias biológicas de la inhibición de proteasomas son numerosas. A nivel celular, la acumulación de proteínas poliubiquitinadas, los cambios morfológicos celulares, y apoptosis se han reseñado tras el tratamiento de células con diversos inhibidores de proteasomas. La inhibición de proteasomas también se ha sugerido como una posible estrategia terapéutica antitumoral. El hecho de que la epoxomicina se identificara inicialmente en una selección para compuestos antitumorales, valida el proteasoma como una diana quimoterapéutica antitumoral. Por consiguiente, estos compuestos son útiles para el tratamiento de cáncer. La inhibición de proteasomas también se ha relacionado con la inhibición de la activación de NF- κ B y estabilización de niveles p53. De ese modo, los compuestos de la invención también se pueden usar para inhibir la activación de NF- κ B, y estabilizar niveles p53 en cultivo celular. Como NF- κ B es un regulador clave de inflamación, es una diana atractiva para la intervención terapéutica anti-inflamatoria. De ese modo, los compuestos de la invención pueden ser útiles para el tratamiento de afecciones relacionadas con la inflamación crónica, incluyendo, pero sin limitarse a COPD, psoriasis, bronquitis, enfisema, y fibrosis quística.

50

Los compuestos descritos se pueden usar para tratar afecciones mediadas directamente por la función proteolítica del proteasoma tal como desgaste muscular, o mediadas de forma indirecta a través de proteínas que se procesan por medio del proteasoma tal como NF- κ B. El proteasoma participa en la eliminación rápida y procesamiento post-traduccional de proteínas (por ejemplo, enzimas) implicadas en la regulación celular (por ejemplo, ciclo celular, transcripción génica, y rutas metabólicas), comunicación intercelular, y la respuesta inmune (por ejemplo, presentación del antígeno). Los ejemplos específicos discutidos a continuación incluyen la proteína β -amiloide y proteínas reguladoras tales como ciclinas y factor de transcripción NF- κ B.

Otra realización de la invención se refiere a los compuestos descritos en la presente memoria descriptiva para usar en el tratamiento de enfermedades y afecciones neurodegenerativas, incluyendo, pero sin limitarse a, apoplejía, daño isquémico al sistema nervioso, trauma neural, (por ejemplo, daño cerebral percusivo, lesión de la médula espinal, y daño traumático al sistema nervioso), esclerosis múltiple y otras neuropatías inmunomediadas (por ejemplo, síndrome de Guillain-Barre y sus variantes, neuropatía axonal motora aguda, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, y Síndrome de Fisher), complejo de demencia del VIH/SIDA, axonomía, neuropatía diabética, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, meningitis bacteriana, parasitaria, fúngica, y viral, encefalitis, demencia vascular, demencia multi-infarto, demencia de cuerpos de Lewy, demencia del lóbulo frontal tal como enfermedad de Pick, demencias subcorticales (tales como Huntington o parálisis supranuclear progresiva), síndromes de atrofia cortical focal (tales como afasia primaria), demencias metabólicas-tóxicas (tales hipotiroidismo crónico o deficiencia de B12), y demencias causadas por infecciones (tales como sífilis o meningitis crónica).

La enfermedad de Alzheimer está caracterizada por depósitos extracelulares de la proteína β -amiloide (β -AP) en placas seniles y vasos cerebrales. β -AP es un fragmento de péptido de 39 a 42 aminoácidos derivados de un precursor de la proteína amiloide (APP). Al menos se conocen tres isoformas de APP (695, 751, y 770 aminoácidos). El ajuste alternativo de ARNm genera las isoformas; el procesamiento normal afecta a una porción de la secuencia de la β -AP, previniendo así la generación de β -AP. Se piensa que el procesamiento de la proteína anormal por medio del proteasoma, contribuye a la abundancia de β -AP en el cerebro con Alzheimer. La enzima de procesamiento de APP en ratas contiene aproximadamente diez subunidades diferentes (22 kDa – 32 kDa). La subunidad de 25 kDa tiene una secuencia N-terminal de X-Gln-Asn-Pro-Met-X-Thr-Gly-Thr-Ser, que es idéntica a la subunidad β del macropain humano (Kojima, S. y col., Fed. Eur. Biochem. Soc., (1992) 304: 57 – 60. La enzima de procesamiento APP escinde en el enlace Gln¹⁵ – Lys¹⁶; en presencia del ión de calcio, la enzima también escinde en el enlace Met-¹-Asp¹, y los enlaces Asp¹ – Ala² para liberar el dominio extracelular de β -AP.

Por lo tanto, una realización se refiere a compuestos para usar en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, incluyendo la administración a un sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto (por ejemplo, composición farmacéutica) descrito en la presente memoria descriptiva. Tal tratamiento incluye la reducción de la velocidad de procesamiento de β -AP, la reducción de la velocidad de la formación de placas de β -AP, la reducción de la velocidad de generación de β -AP, y la reducción de las señales clínicas de la enfermedad de Alzheimer.

Otras realizaciones de la invención se refieren a caquexia y enfermedades de desgaste muscular. El proteasoma degrada muchas proteínas en reticulocitos en maduración y fibroblastos en crecimiento. En células privadas de insulina o suero, la velocidad de proteólisis es casi del doble. La inhibición del proteasoma reduce la proteólisis, reduciendo así tanto la pérdida de proteínas musculares como la carga de nitrógeno en riñones o hígado. Los inhibidores de la invención son útiles para tratar afecciones tales como cáncer, enfermedades infecciosas crónicas, fiebre, inactividad muscular (atrofia), denervación, lesión nerviosa, insuficiencia renal asociada a acidosis, e insuficiencia hepática. Véase por ejemplo, Goldberg, Patente de Estados Unidos N° 5.340.736. Las realizaciones de la invención abarcan, por lo tanto, compuestos para usar en la reducción de la velocidad de la degradación de la proteína muscular en una célula; reducción de la velocidad de la degradación de proteínas intracelulares; reducción de la velocidad de degradación de la proteína p53 en una célula; e inhibición del crecimiento de cánceres relacionados con p53. Cada uno de estos usos incluye el contacto de una célula (*in vivo* o *in vitro*, por ejemplo, un músculo en un sujeto) con una cantidad eficaz de un compuesto (por ejemplo, composición farmacéutica) descrito en la presente memoria descriptiva.

Otra proteína procesada por el proteasoma es NF- κ B, un elemento de la familia de proteínas Rel. La familia Rel de proteínas activadoras transcripcionales se puede dividir en dos grupos. El primer grupo requiere procesamiento proteolítico, e incluye p50 (NF- κ B1, 105 kDa) y p52 (NF- κ 2, 100 kDa). El segundo grupo no requiere procesamiento proteolítico, e incluye p65 (RelA, Rel (c-Rel), y RelB). Ambos homo- y heterodímeros se pueden formar con elementos de la familia Rel; NF- κ B, por ejemplo, es un heterodímero p50 – p65. Después de la fosforilación y ubiquitinación de I κ B y p105, las dos proteínas se degradan y se procesan, respectivamente, para producir NF- κ B activo que se traslada desde el citoplasma hasta el núcleo. También se procesa p105 ubiquitinada por medio de proteasomas purificados (Palombella y col., Cell (1994) 78: 773 – 785). NF- κ B activo forma un complejo potenciador estereoespecífico con otros activadores transcripcionales, por ejemplo, HMG I(Y), induciendo la expresión selectiva de un gen particular.

- 5 NF- κ B regula los genes implicados en la respuesta inmune e inflamatoria, y episodios mitóticos. Por ejemplo, NF- κ B es necesario para la expresión del gen κ de la cadena ligera de la inmunoglobulina, el gen de la cadena α del receptor de IL-2, el gen del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I, y una serie de genes de citocina que codifican, por ejemplo, IL-2, IL-6, factor de estimulación de colonias de granulocitos, e IFN- β (Palombella y col., Cell (1994) 78:773 – 785). Algunas realizaciones de la invención incluyen compuestos para usar en afectar el nivel de expresión de IL-2, MHC-I, IL-6, TNF α , IFN- β o cualquiera de las otras proteínas anteriormente mencionadas, incluyendo cada compuesto la administración a un sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto descrito en la presente memoria descriptiva. Los complejos que incluyen p50 son mediadores rápidos de respuestas inmunes e inflamatorias agudas (Thanos, D. y Maniatis, T., Cell (1995) 80: 529 –532).
- 10 NF- κ B también participa en la expresión de los genes de adhesión a células que codifican E-selectina, P-selectina, ICAM, y VCAM-1 (Collins, T., Lab. Invest. (1993) 68: 499 – 508). Una realización de la invención es un procedimiento para inhibir la adhesión celular (por ejemplo, adhesión celular mediada por E-selectina, P-selectina, ICAM, o VCAM-1), incluyendo poner en contacto una célula con (o administrar a un sujeto) una cantidad eficaz de un compuesto (o una composición farmacéutica) descrito en la presente memoria descriptiva.
- 15 NF- κ B también se une de forma específica a el promotor / potenciador de VIH. Cuando se compara con el Nef de mac239, la proteína reguladora de VIH Nef de pbj 14 difiere en dos aminoácidos en la región que controla la unión de la proteína quinasa. Se piensa que la proteína quinasa señala la fosforilación de I κ B, induciendo la degradación de I κ B a través de la ruta de ubiquitina-proteasoma. Después de la degradación, NF- κ B se libera en el núcleo, potenciando así la transcripción de VIH. (Cohen, J., Science, (1995) 267:960). Dos realizaciones de la invención se refieren a compuestos para usar en la inhibición o reducción de la infección por VIH en un sujeto, y un procedimiento para disminuir el nivel de la expresión génica viral, incluyendo cada procedimiento la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto descrito en la presente memoria descriptiva.
- 20 La sobreproducción de citocinas inducidas por lipopolisacáridos (LPS) tales como TNF α se considera que es central a los procedimientos relacionados con el choque séptico. Además, se acepta por lo general que la primera etapa en la activación de células por medio de LPS es la unión de LPS a receptores específicos de la membrana. Las subunidades α y β del complejo del proteasoma 20S se han identificado como proteínas de unión a LPS, sugiriendo que la transducción de la señal inducida por LPS puede ser una importante diana terapéutica en el tratamiento o prevención de sepsis (Qureshi, N. y col., J. Immun. (2003) 171: 1515 – 1525). Por lo tanto, en ciertas realizaciones, los compuestos de la invención se pueden usar para la inhibición de TNF α para prevenir y/o tratar el choque séptico.
- 25 La proteólisis intracelular genera pequeños péptidos para la presentación a linfocitos T para inducir respuestas inmunes mediadas por el MHC de clase I. El sistema inmune busca células autólogas que estén infectadas por el virus o hayan experimentado una transformación oncogénica. Una realización se refiere a compuestos para usar en la inhibición de la presentación de antígenos en una célula, incluyendo la exposición de la célula a un compuesto descrito en la presente memoria descriptiva. Un compuesto de la invención se puede usar para tratar afecciones inmunorrelacionadas tales como alergia, asma, rechazo de órganos / tejidos (enfermedad injerto contra huésped), y enfermedades autoinmunes, incluyendo, pero sin limitarse a, lupus, artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple, y enfermedades inflamatorias del intestino (tales como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn). De ese modo, una realización adicional es un compuesto para usar en la supresión del sistema inmune de un sujeto (por ejemplo, inhibir el rechazo de trasplantes, alergias y asma), incluyendo la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto descrito en la presente memoria descriptiva.
- 30 Otra realización adicional es un compuesto para usar en la alteración del repertorio de péptidos antigénicos producidos por el proteasoma u otro Ntn con actividad multicatalítica. Por ejemplo, si la actividad de PGPH del proteasoma 20S se inhibe de forma selectiva, se producirá un conjunto diferente de péptidos antigénicos por medio del proteasoma y se presentará en moléculas MHC sobre la superficie de células que se producirían y se presentarían sin actividad enzimática o sin, por ejemplo, inhibición selectiva de la actividad tipo quimotripsina del proteasoma.
- 35 Ciertos inhibidores del proteasoma bloquean tanto la degradación como el procesamiento de NF- κ B ubiquitinado in vitro e in vivo. Los inhibidores del proteasoma también bloquean la degradación de I κ B- α y la activación de NF- κ B (Palombella, y col. Cell (1994) 78:773 – 785 ; y Traenckner, y col., EMBO J. (1994) 13:5433 – 5441). Una realización de la invención es el uso de un compuesto para inhibir la degradación de I κ B- α , incluyendo poner en contacto la célula con un compuesto descrito en la presente memoria descriptiva. Una realización adicional es el uso de un compuesto para reducir el contenido celular de NF- κ B en una célula, músculo, órgano o sujeto, incluyendo poner en contacto la célula, músculo, órgano o sujeto con un compuesto descrito en la presente memoria descriptiva.
- 40 Otra realización adicional es un compuesto para usar en la alteración del repertorio de péptidos antigénicos producidos por el proteasoma u otro Ntn con actividad multicatalítica. Por ejemplo, si la actividad de PGPH del proteasoma 20S se inhibe de forma selectiva, se producirá un conjunto diferente de péptidos antigénicos por medio del proteasoma y se presentará en moléculas MHC sobre la superficie de células que se producirían y se presentarían sin actividad enzimática o sin, por ejemplo, inhibición selectiva de la actividad tipo quimotripsina del proteasoma.
- 45 Ciertos inhibidores del proteasoma bloquean tanto la degradación como el procesamiento de NF- κ B ubiquitinado in vitro e in vivo. Los inhibidores del proteasoma también bloquean la degradación de I κ B- α y la activación de NF- κ B (Palombella, y col. Cell (1994) 78:773 – 785 ; y Traenckner, y col., EMBO J. (1994) 13:5433 – 5441). Una realización de la invención es el uso de un compuesto para inhibir la degradación de I κ B- α , incluyendo poner en contacto la célula con un compuesto descrito en la presente memoria descriptiva. Una realización adicional es el uso de un compuesto para reducir el contenido celular de NF- κ B en una célula, músculo, órgano o sujeto, incluyendo poner en contacto la célula, músculo, órgano o sujeto con un compuesto descrito en la presente memoria descriptiva.
- 50 Otros factores de la transcripción eucariótica que requieren el procesamiento proteolítico incluyen el factor de transcripción general TFIIA, la proteína accesoria VP16 del virus del herpes simple (factor de célula hospedadora),
- 55

la proteína del factor 2 regulador de IFN inducible por virus y la proteína 1 de unión al elemento regulador de esterol unido a la membrana.

- 5** Otras realizaciones de la invención son el uso de los compuestos para afectar a los ciclos de células eucarióticas dependientes de ciclina, incluyendo la exposición de una célula (in vitro e in vivo) a un compuesto de la fórmula descrita en la presente memoria descriptiva. Las ciclinas son proteínas implicadas en el control del ciclo celular. El proteasoma participa en la degradación de ciclinas. Los ejemplos de ciclinas incluyen ciclinas mitóticas, ciclinas G1 y ciclina B. La degradación de ciclinas permite a una célula salir de una fase del ciclo celular (por ejemplo, mitosis) y entrar en otra (por ejemplo, división). Se cree que todas las ciclinas están asociadas con la proteína quinasa p34.^{sup}.cdc2 o con quinasas relacionadas. La señal de fijación como diana de la proteólisis se localiza en los aminoácidos 42–RAALGNISEN–50 (caja de destrucción). Hay pruebas de que la ciclina se convierte en una forma vulnerable a una ubiquitina ligasa o de que una ligasa con especificidad de ciclina se activa durante la mitosis. (Ciechanover, A., Cell, (1994) 79:13 – 21. La inhibición del proteasoma inhibe la degradación de ciclina y, por lo tanto, inhibe la proliferación celular, por ejemplo, en cánceres relacionados con ciclina (Kumatori y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990) 87: 7071 – 7075. Una realización de la invención es el uso de un compuesto para tratar una enfermedad proliferativa en un sujeto (por ejemplo, cáncer, psoriasis o reestenosis), incluyendo la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto descrito en la presente memoria descriptiva. La invención también abarca el uso de un compuesto para tratar la inflamación relacionada con ciclina en un sujeto, incluyendo la administración a un sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en la presente memoria descriptiva.
- 10**
- 15**
- 20** Realizaciones adicionales son compuestos para usar en afectar la regulación dependiente de proteasoma de oncoproteínas y procedimientos para tratar o inhibir el crecimiento de cánceres, incluyendo cada uso la exposición de una célula (in vivo, por ejemplo, en un sujeto o in vitro) a un compuesto descrito en la presente memoria descriptiva. Las proteínas E6 derivadas de HPV–16 y HPV–18 estimulan la conjugación y degradación de p53 dependiente de ATP y ubiquitina en lisados de reticulocitos en bruto. Se ha demostrado que el oncogén recesivo p53 se acumula a la temperatura no permisiva en una línea celular con una E1 termolábil mutada. Los niveles elevados de p53 pueden conducir a apoptosis. Los ejemplos de proto–oncoproteínas degradadas por el sistema de ubiquitina incluyen c–Mos, c–Fos y c–Jun. Una realización es un compuesto para usar en el tratamiento de la apoptosis relacionada con p53, incluyendo la administración a un sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto descrito en la presente memoria descriptiva.
- 25**
- 30** En otra realización, los compuestos descritos son útiles para el tratamiento de una infección parasitaria, tales como las infecciones causadas por parásitos protozoos. Se considera que el proteasoma de estos parásitos está implicado principalmente en actividades de replicación y diferenciación celular (Paugam y col., Trends Parasitol. 2003, 19(2): 55 – 59). Además las especies entamoeba han demostrado perder la capacidad de enquistación cuando se expone a inhibidores de proteasoma (Gonzales, y col., Arch. Med. Res. 1997, 28, Spec No: 139 – 140).
- 35** En ciertas realizaciones como tales, los compuestos descritos son útiles para el tratamiento de infecciones parasitarias en humanos causadas por un parásito protozoo seleccionado de las especies de Plasmodium (incluyendo, P. falciparum, P. vivax, P. malariae, y P. ovale, que produce malaria), especies de Tripanosoma (incluyendo T. cruzi, que produce la enfermedad de Chagas, y T. brucei que produce la enfermedad del sueño africana), especies de Leishmania (incluyendo L. amazonensis, L. donovani, L. infantum, L. mexicana, etc.), Pneumocistis carinii (un protozoo conocido por producir neumonía en pacientes con SIDA y otros inmunosuprimidos), Toxoplasma gondii, Entamoeba histolytica, Entamoeba invadens, y Giardia lamblia. En ciertas realizaciones, los compuestos descritos son útiles para el tratamiento de infecciones parasitarias en animales y ganado producidas por un parásito protozoo seleccionado de Plasmodium hermani, especies de Cryptosporidium, Echinococcus granulosus, Eimeria tenella, Sarcocystis neurona, y Neurospora crassa. Otros compuestos útiles como inhibidores de proteasomas en el tratamiento de enfermedades parasitarias se desvelan en el documento WO 98/10779, que se incorpora en su totalidad en la presente memoria descriptiva.
- 40**
- 45**
- 50** En ciertas realizaciones, los compuestos descritos inhiben la actividad del proteasoma de forma irreversible en un parásito. Dicha inhibición irreversible ha demostrado inducir la detención de la actividad enzimática sin recuperación en glóbulos rojos y glóbulos blancos. En ciertas realizaciones como tales, las células sanguíneas con una vida media larga pueden proporcionar protección prolongada en lo que se refiere a terapia contra exposiciones recurrentes a parásitos. En ciertas realizaciones, la vida media larga de células sanguíneas puede proporcionar protección prolongada en lo que se refiere a quimiopprofilaxis contra futuras infecciones.
- 55** También se ha demostrado que los inhibidores que se unen al proteasoma 20S estimulan la formación de huesos en cultivos de órganos óseos. Además, cuando tales inhibidores se han administrado de forma sistemática a ratones, ciertos inhibidores de proteasomas aumentaron el volumen óseo y la velocidad de formación de huesos sobre el 70% (Garrett, I. R. y col., J. Clin. Invest. (2003) 111: 1771 – 1782), sugiriendo por lo tanto que la maquinaria ubiquitina – proteasoma regula la diferenciación del osteoblasto y la formación de huesos. Por lo tanto, los compuestos descritos pueden ser útiles en el tratamiento y/o prevención de enfermedades relacionadas con la

pérdida ósea, tales como osteoporosis.

5 El tejido óseo es una fuente excelente para los factores que tienen la capacidad de estimular las células óseas. De ese modo, los extractos de tejido óseo bovino contienen no sólo proteínas estructurales que son responsables del mantenimiento de la integridad estructural del hueso, sino también factores del crecimiento biológicamente activos que pueden estimular las células óseas a proliferar. Entre estos últimos factores están una familia de proteínas recientemente descrita denominada proteínas morfogenéticas óseas (abreviadamente en inglés, BMP). Todos estos factores del crecimiento tienen efectos sobre otros tipos de células, así como en células óseas, incluyendo Hardy, M. H., y col., *Trans Genet* (1992) 8:55 – 61, que describe la prueba de que las proteínas morfogenéticas óseas (BMP), se expresan de forma diferente en folículos capilares durante el desarrollo. Harris, S. E., y col., *J Bone Miner Res* (1994) 9:855 – 863 describe los efectos de TGF β en la expresión de BMP-2 y otras sustancias en células óseas. La expresión de BMP-2 en folículos maduros también tiene lugar durante la maduración y después del periodo de proliferación celular (Hardy, y col. (1992, supra). De ese modo, los compuestos de la invención también pueden ser útiles para la estimulación del crecimiento de folículos capilares.

10

15 Finalmente, los compuestos descritos también son útiles como agentes de diagnóstico (por ejemplo, en kits de diagnóstico o para usar en laboratorios clínicos) para la selección de proteínas (por ejemplo, enzimas, factores de transcripción) procesadas por medio de hidrolasas Ntn, incluyendo el proteasoma. Los compuestos descritos también son útiles como reactivos de investigación para unirse de forma específica a la subunidad X/MB1 o a la cadena α e inhibir las actividades proteolíticas asociadas a ésta. Por ejemplo, se puede determinar la actividad de (e inhibidores específicos de) otras subunidades del proteasoma.

20 La mayoría de las proteínas celulares se someten a un procesamiento proteolítico durante la maduración o activación. Los inhibidores de enzimas se pueden usar para determinar si un proceso o producto celular, del desarrollo o fisiológico está regulado por la actividad proteolítica de una hidrolasa NTn particular. Uno de estos procedimientos incluye la obtención de un organismo, una preparación celular intacta o un extracto celular; la exposición del organismo, preparación celular o extracto celular a un compuesto descrito en la presente memoria descriptiva; la exposición del organismo expuesto en el compuesto, preparación celular o extracto celular a una señal, y el control del proceso o producto. La alta selectividad de los compuestos descritos en la presente memoria descriptiva permite una eliminación rápida y precisa o implicación de la Ntn (por ejemplo, el proteasoma 20S) en un proceso celular, del desarrollo o fisiológico dado.

Administración

30 Los compuestos preparados como se describe en la presente memoria descriptiva se pueden administrar de diversas formas, dependiendo del trastorno que se va a tratar, y la edad, estado y peso corporal del paciente, como es bien conocido en la técnica. Por ejemplo, cuando los compuestos se tienen que administrar por vía oral, se pueden formular en forma de comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos o siropes; o para administración parenteral, se pueden formular en forma de inyecciones (intravenosa, intramuscular, o subcutánea), preparaciones de infusión en gotas, o supositorios. Para aplicación por vía de la membrana mucosa oftálmica, se pueden formular en forma de gotas para los ojos o pomadas para ojos. Estas formulaciones se pueden preparar a través de medios convencionales, y si se desea, el ingrediente activo se puede mezclar con cualquier aditivo o excipiente convencional, tal como un aglutinante, un agente disgregante, un lubricante, un correctivo, un agente solubilizante, un adyuvante de suspensión, un agente emulgente, un agente de recubrimiento, una ciclodextrina, y/o un tampón. A pesar de que la dosificación variará dependiendo de los síntomas, edad y peso corporal del paciente, la naturaleza y gravedad del trastorno que se va a tratar o prevenir, la vía de administración y la forma del fármaco, en general, se recomienda una dosificación diaria de 0,01 a 2000 mg del compuesto para un paciente humano adulto, y éste se puede administrar en una sola dosis o en dosis divididas. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con un material vehículo para producir una sola forma farmacéutica será por lo general esa cantidad del compuesto que produce un efecto terapéutico.

35

40 El tiempo preciso de administración y/o cantidad de la composición que proporcionará los resultados más eficaces en lo que se refiere a la eficacia del tratamiento en un paciente dado depende de la actividad, farmacocinéticas, y biodisponibilidad de un compuesto particular, afección fisiológica del paciente (incluyendo edad, sexo, tipo y etapa de la enfermedad, estado físico general, respuesta a una dosificación dada, y tipo de medicación), vía de administración, etc. Sin embargo, las directrices anteriores se pueden usar como base para afinar el tratamiento, por ejemplo, determinando el tipo y/o cantidad óptimos de administración, que no requerirá más que la experimentación rutinaria que está constituida por el control del sujeto y ajuste de la dosificación y/o temporización.

45

50 La frase “farmacéuticamente aceptable” se emplea en la presente memoria descriptiva para referirse a aquellos ligandos, materiales, composiciones, y/o formas farmacéuticas que son, dentro del alcance del criterio médico sensato, adecuados para usar en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable.

55

La frase "vehículo farmacéuticamente aceptable" como se usa en la presente memoria descriptiva se refiere a un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como una carga líquida o sólida, diluyente, excipiente, disolvente o material de encapsulación. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa, y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz, almidón de patata, y β -ciclodextrina substituida o no sustituida; (3) celulosa, y sus derivados, tales como carboximetil celulosa de sodio, etil celulosa, y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales manteca de cacao y ceras para supositorio; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz, y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol, y polietilenglicol; (12) ésteres tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar-agar; (14) agentes tamponadores tales como hidróxido de magnesio e hidróxido aluminico; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones tamponadas con fosfato; y (21) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas. En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención son no pirogénicas, es decir, no inducen elevaciones de temperatura significativas cuando se administran a un paciente.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales de adición de ácidos orgánicos e inorgánicos, relativamente no tóxicas, del inhibidor(es). Estas sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento final y purificación del inhibidor(es), o haciendo reaccionar separadamente un inhibidor purificado en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado, y aislando la sal así formada. Las sales representativas incluyen las sales de hidrobromuro, hidrocloreuro, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, gucloheptonato, lactobionato, laurilsulfonato y sales de aminoácidos, y similares. (Véase, por ejemplo, Berge y col. (1977), "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., 66, 1 – 19).

En otros casos, los inhibidores útiles en los procedimientos de la presente invención pueden contener uno o más grupos funcionales ácidos y, de ese modo, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con bases farmacéuticamente aceptables. El término "sales farmacéuticamente aceptables" en estos ejemplos se refiere a las sales adición de bases orgánicas e inorgánicas, relativamente no tóxicas, de un inhibidor(es). Estas sales se pueden preparar de la misma forma *in situ* durante el aislamiento final y purificación del inhibidor(es), o haciendo reaccionar separadamente el inhibidor purificado en su forma ácida libre con una base adecuada, tales como las sales de hidróxido, carbonato, o bicarbonato de un catión de metal farmacéuticamente aceptable, con amoniaco, o con una amina primaria, secundaria, terciaria orgánica farmacéuticamente aceptable. Las sales alcalinas o alcalinotérricas representativas incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio, y aluminio, y similares. Las aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de bases incluyen etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, y similares (véase, por ejemplo, Berge y col., arriba).

Los agentes humectantes, emulgentes, y lubricantes, tales como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, endulzantes, saborizantes, y agentes perfumantes, conservantes y antioxidantes también pueden estar presentes en las composiciones.

Ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) antioxidantes solubles en agua; tales como ácido ascórbico, hidrocloreuro de cisteína, bisulfato sódico, metabisulfito sódico, sulfito sódico y similares; (2) antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisola butilada (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol, y similares; y (3) agentes quelatantes de metal, tales como ácido cítrico, ácido etilenediamina tetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares.

Las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden estar en forma de cápsulas, obleas, píldoras, comprimidos, pastillas (usando una base saborizada, normalmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto), polvos, gránulos, o en forma de una solución o una suspensión un líquido acuoso o no acuoso, o en forma de una emulsión líquida de aceite en agua o agua en aceite, o en forma de un elixir o sirope, o en forma de pastillas (usando una matriz inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga) y/o en forma de enjuagues bucales y similares, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada de un inhibidor en forma de un ingrediente activo. Una composición también se puede administrar en forma de bolo, electuario, o pasta.

En formas farmacéuticas sólidas para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos, y similares), el ingrediente activo se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicalcio, y/o cualquiera de los siguientes: (1) cargas o extendedores, tales como almidones, ciclodextrinas, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa, y/o goma arábiga; (3)

- humectantes tales como glicerol; (4) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o de tapioca, ácido alginico, ciertos silicatos, y carbonato de sodio; (5) agentes retardantes de la solución tales como parafina; (6) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol acetílico y monoestearato de glicerol; (8) absorbentes tales como caolín y arcilla bentonítica; (9) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio, y mezclas de los mismos; y (10) agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes tamponadores. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear en forma de cargas en cápsulas de gelatina con relleno blando y duro usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche así como polietilenglicoles de peso molecular alto, y similares.
- Se puede realizar un comprimido por medio de compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos por compresión se pueden preparar usando un aglutinante, (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetil celulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, glicolato de almidón sódico o carboximetilcelulosa sódica reticulada), agentes tensioactivos o dispersantes. Los comprimidos moldeados se pueden realizar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del inhibidor en polvo humedecida con un diluyente líquido inerte.
- Los comprimidos y otras formas sólidas de dosificación, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, se pueden opcionalmente preparar o conseguir con revestimientos y recubrimientos, tales como revestimientos entéricos y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. También pueden formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada del ingrediente activo del mismo usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para dar el perfil de liberación deseado, otras matrices de polímeros, liposomas y/o microesferas. Pueden esterilizarse mediante, por ejemplo, filtración a través de un filtro que retenga las bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que puedan disolverse inmediatamente antes de su uso en agua estéril o algún otro medio estéril inyectable. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes de opacidad y pueden ser de una composición tal que sólo liberen el o los ingredientes activos, o preferencialmente, en una cierta porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente de manera retardada. Ejemplos de composiciones para embeber que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. Si es apropiado, el ingrediente activo también puede estar en forma microencapsulada con uno o más de los excipientes anteriormente descritos.
- Las formas de dosificación líquidas para la administración oral incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, siropes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del ingrediente activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes comúnmente usados en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y agentes emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semillas de algodón, de nuez, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofúrico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos.
- Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes de suspensión, endulzantes, saborizantes, colorantes, perfumantes y agentes conservantes.
- Las suspensiones, además de los inhibidores activos, pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes de isoestearilo etoxilados, ésteres de sorbitol y de sorbitán polioxietilenados, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.
- Las formulaciones para la administración rectal o vaginal pueden presentarse en forma de un supositorio, el cual puede prepararse mezclando uno o más inhibidores con uno o más excipientes o vehículos adecuados no irritantes que comprenden, por ejemplo, mantequilla de cacao, polietilenglicol, una cera para supositorios o un salicilato, que sea sólido a temperatura ambiente, pero líquido a la temperatura del cuerpo y, por lo tanto, funda en el recto o en la cavidad vaginal y libere el agente activo.
- Las formulaciones que son adecuadas para la administración vaginal también incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización que contienen vehículos tales que en la técnica se sabe son apropiados.
- Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un inhibidor incluyen polvos, pulverizaciones, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, disoluciones, parches e inhaladores. El componente activo puede mezclarse en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y con cualquier conservante, tampón o propelente que pueda requerirse.

Las pomadas, pastas, cremas y geles pueden contener, además del inhibidor, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de cinc, o mezclas de los mismos.

5 Los polvos y pulverizaciones pueden contener, además del inhibidor, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamidas, o mezclas de estas sustancias. Las pulverizaciones pueden contener adicionalmente propelentes habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

10 El inhibidor se puede administrar alternativamente por medio de aerosoles. Esto se lleva a cabo preparando un aerosol acuoso, preparación liposomal, o partículas sólidas que contienen la composición. Se podría usar una suspensión no acuosa (por ejemplo, propelente de fluorocarburo). Se prefieren los nebulizadores sónicos porque minimizan la exposición del agente al corte, que puede resultar en la degradación del compuesto.

15 De forma ordinaria, un aerosol acuoso se realiza formulando una solución o suspensión acuosa del agente junto con vehículos y estabilizantes farmacéuticamente aceptables convencionales. Los vehículos y estabilizantes varían con los requerimientos de la composición particular, pero típicamente incluyen tensioactivos no iónicos (Tweens, Pluronic, ésteres de sorbitan, lecitina, Cremophors), co-disolventes farmacéuticamente aceptables tales como polietilenglicol, proteínas inocuas como albúmina de suero, ácido oleico, aminoácidos tales como glicina, tampones, sales, azúcares, o alcoholes de azúcares. Por lo general, los aerosoles se preparan a partir de soluciones isotónicas.

20 Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de dar al cuerpo un suministro controlado de un inhibidor. Tales formas de dosificación pueden realizarse disolviendo o dispersando el agente en el medio apropiado. También pueden usarse potenciadores de absorción para aumentar el flujo del inhibidor a través de la piel. El caudal de tal flujo puede regularse proporcionando una membrana que regule el caudal o dispersando el inhibidor en una matriz o en un gel de un polímero.

25 Las composiciones farmacéuticas de esta invención adecuadas para la administración parenteral comprenden uno o más inhibidores en combinación con una o más soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones estériles acuosas o no acuosas farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que puedan reconstituirse en soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostatos, solutos que vuelven la formulación isotónica con la sangre del receptor pretendido, o agentes de suspensión o espesantes.

30 Ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de materiales de revestimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y mediante el uso de tensioactivos.

35 Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de microorganismos puede asegurarse mediante la inclusión de varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabén, clorobutanol, ácido fenolsórbico, y similares. También puede ser deseable incluir en las composiciones agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio y similares. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede hacerse realidad mediante la inclusión de agentes que retrasen la absorción tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

40 En algunos casos, con el fin de prolongar el efecto de un fármaco, es deseable ralentizar la absorción del fármaco a partir de inyección subcutánea o intramuscular. Por ejemplo, la absorción retardada de un fármaco administrado parenteralmente se logra disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo tipo aceite.

45 Se pueden realizar formas depósito inyectables conformando matrices microencapsuladas de los inhibidores en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la relación de fármaco a polímero y de la naturaleza del polímero particular empleado, puede regularse la velocidad de liberación del fármaco. Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones depósito inyectables también se preparan atrapando el fármaco en liposomas o en microemulsiones que sean compatibles con el tejido corporal.

50 Las preparaciones de agentes también se pueden dar oralmente, parenteralmente, tópicamente o rectalmente. Desde luego, se dan mediante formas adecuadas para cada vía de administración. Por ejemplo, se administran en forma de comprimidos o de cápsulas, por inyección, inhalación, loción ocular, pomada, supositorio, infusión; por vía

tópica mediante loción o pomada; y por vía rectal mediante supositorios. Se prefiere la administración oral.

5 Las frases “administración parenteral” y “parenteralmente administrado” que se usan en la presente memoria descriptiva se refieren a modos de administración diferentes de la administración entérica y tópica, usualmente por inyección e incluyen, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intra-articular, subcapsular, subaracnoide, intraespinal e intraesternal.

10 Las frases “administración sistémica”, “sistémicamente administrado”, “administración periférica” y periféricamente administrado” que se usan en la presente memoria descriptiva se refieren a la administración de un ligando, fármaco u otro material por un medio diferente a la administración directa en el sistema nervioso central, de tal forma que entra en el sistema del paciente y, así, se somete a metabolismo y otros procedimientos similares, por ejemplo, administración subcutánea.

Estos inhibidores se pueden administrar a seres humanos y a otros animales para terapia por cualquier vía de administración adecuada, incluyendo oral, nasal, como por ejemplo por pulverización, por vía rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal y tópica, como mediante polvos, pomadas o gotas, incluyendo por vía bucal o sublingual.

15 Independientemente de la vía de administración seleccionada, los inhibidores, que se pueden usar en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables por medio de procedimientos convencionales conocidos por los expertos en la técnica.

20 Los niveles reales de dosificación de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden variar para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para conseguir la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración particulares, sin que sean tóxicos para el paciente.

25 La concentración de un compuesto descrito en una mezcla farmacéuticamente aceptable variará dependiendo de diversos factores, incluyendo la dosificación del compuesto que se va a administrar, las características farmacocinéticas de los compuestos empleados, y la vía de administración. En general, las composiciones de esta invención se pueden proporcionar en una solución acuosa que contiene aproximadamente del 0,1% al 10% p/v de un compuesto descrito en la presente memoria descriptiva, entre otras sustancias, para administración por vía parenteral. Los intervalos de dosis típicas son desde aproximadamente 0,01 hasta aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal por día, proporcionadas en 1 – 4 dosis divididas. Cada dosis dividida puede contener el mismo o diferentes compuestos de la invención. La dosificación será una cantidad eficaz dependiendo de varios factores incluyendo la altura total de un paciente, y la formulación y la vía de administración del compuesto seleccionado.

30 Otro aspecto de la invención proporciona compuestos de la invención para usar en una terapia conjunta en la que uno o más agentes terapéuticos se administran con el inhibidor de proteasa. Dicho tratamiento conjunto se puede conseguir por medio de la dosificación simultánea, secuencial, o separada de los componentes individuales del tratamiento.

35 En estas realizaciones, un compuesto de la invención se administra de forma conjunta con un agente quimioterapéutico. Los agentes quimioterapéuticos adecuados pueden incluir productos naturales tales como alcaloides de la vinca, (es decir, vinblastina, vincristina, y vinorelbina), paclitaxel, epididodofilotoxinas (es decir, etopósido, tenipósido), antibióticos (dactinomicina (actinomicina D), daunorrubicina, doxorubicina e idarrubicina), antraciclina, mitoxantrona, bleomicinas, plicamicina (mitramicina) y mitomicina, enzimas (L-asparaginasa que metaboliza sistémicamente la L-asparagina y elimina células que no tienen la capacidad de sintetizar su propia asparagina); agentes antiplaquetarios, agentes alquilantes antiproliferativos / antimitóticos tales como mostazas de nitrógeno (mecloretamina, ciclofosfamida y análogos, melfalán, clorambucil), etileniminas y metilmelaminas (hexametilamina y tiotepa), alquilsulfonatos: (busulfano) nirtosoureas (carmustina (BCNU) y análogos, estreptozocina), tracenos: dacarbacinina (DTIC); antimetabolitos antiproliferativos / antimitóticos tales como análogos de ácido fólico (metotrexato), análogos de pirimidina (fluorouracil, floxuridina y citarabina), análogos de purina e inhibidores relacionados (mercaptapurina, tioguanina, pentostatina y 2-clordesoxiadenosina; inhibidores de aromataza (anastrozol, exemestano, y letrozol); y complejos de coordinación de platino (cisplatino, carboplatino), procarbazona, hidroxiurea, mitotano, aminoglutetimida; hormonas (es decir, estrógenos) y agonistas de hormonas tales como los agonistas de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH) (goserelina, leuprolida y triptorelina). Otros agentes quimioterapéuticos pueden incluir mecloretamina, camptotecina, ifosfamida, tamoxifen, raloxifeno, gemcitabina, navelbina, o cualquier análogo o variante derivada de los anteriores.

50 Un compuesto de la invención se administra de forma conjunta con un esteroide. Los esteroides adecuados pueden incluir, pero sin limitarse a, 21-acetoxipregnenolona, alclometasona, algestona, amcinonida, beclometasona, betametasona, budesonida, cloroprednisona, clobetasol, clobetasona, clocortolona, cloprednol, corticosterona,

55

5

cortisona, cotivazol, deflazacort, desonida, desoximetasona, dexametasona, diflorasona, diflucortolona, difluprednato, enoxolona, fluazacort, flucoronida, flumetasona, flunisolida, fluocinolona acetónida, fluocinonida, fluocortina butilo, fluocortolona, fluorometolona, acetato de fluperolona, acetato de fluprednido, fluprednisolona, flurandrenolida, propionato de fluticasona, formocortal, halcinonida, propionato de halobetasol, halometasona, acetato de halopredona, hidrocortamato, hidrocortisona, etabonato de loteprednol, mazipredona, medrisona, meprednisona, metilprednisolona, furoato de mometasona, parametasona, prednicarbo, prednisolona, 25-dietilamino-acetato de prednisolona, prednisolona fosfato de sodio, prednisona, prednival, prednilideno, rimexolona, tixocortol, triamcinolona, triamcinolona acetónida, triamcinolona benetonida y triamcinolona hexacetónida y sales y/o derivados de los mismos.

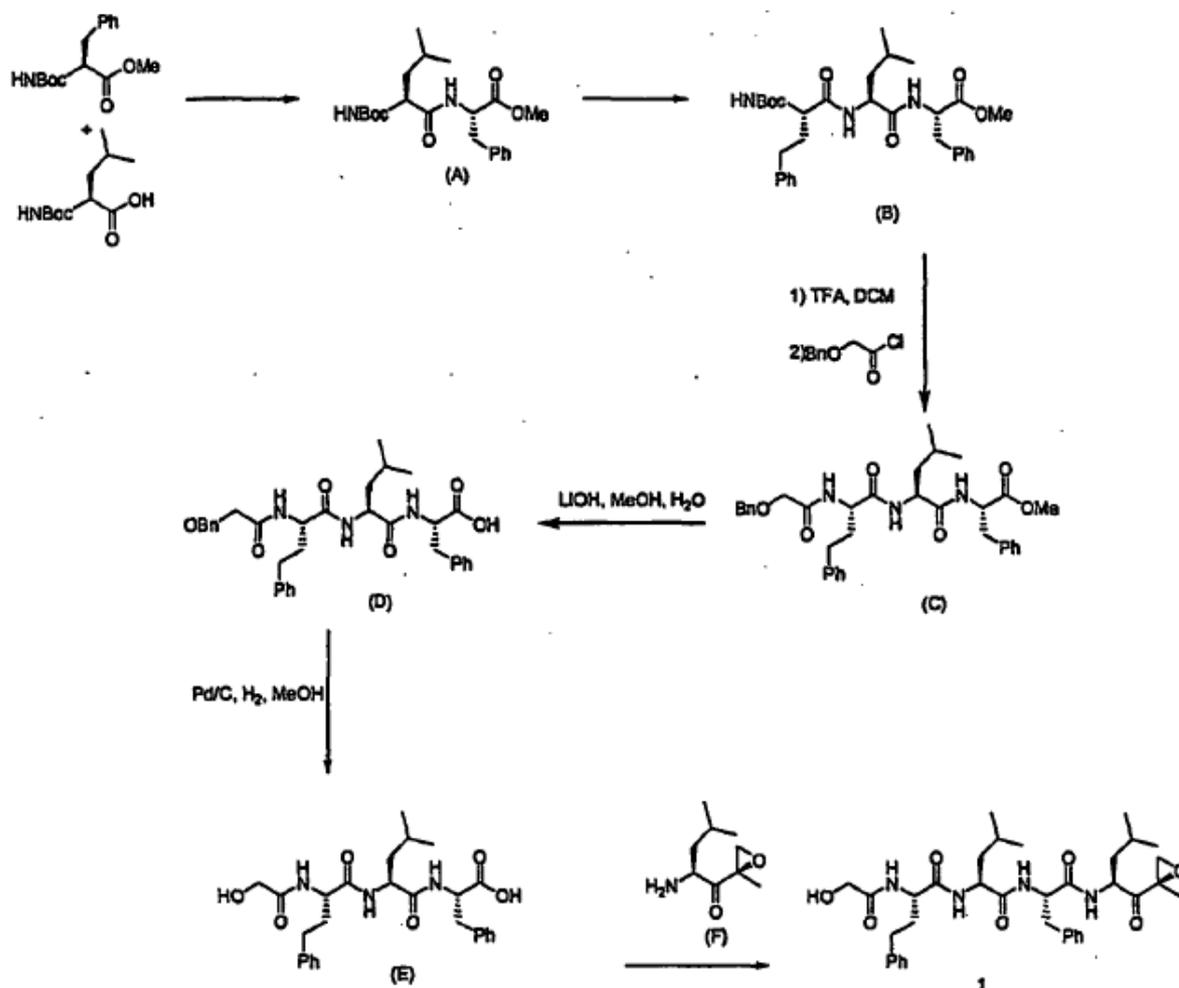
10

Un compuesto de la invención se administra de forma conjunta con un agente inmunoterapéutico. Los agente inmunoterapéuticos adecuados pueden incluir, pero sin limitarse a, ciclosporina, talidomida, y anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos monoclonales pueden ser desnudos o conjugados tales como rituximab, tositumomab, alemtuzumab, epratuzumab, ibritumomab tiuxetan, gemtuzumab ozogamicin, bevacizumab, cetuximab, erlotinib y trastuzumab.

15

Ejemplificación

Esquema 1: Síntesis de Ejemplo 1 (Referencia)



Síntesis de (B)

20

A una solución de leucina NBoc (50,0 mmol, 11,56 g) y fenilalanina metil éster (50,0 mmol, 10,78 g) en 500 ml de DMF se añadió HOBT (10,81 g, 80,0 mmol) y DIEA (200,0 mmol, 25,85 g, 35 ml). La mezcla se enfrió a 0°C en baño de agua helada y se añadió BOP (80,0 mmol, 35,38 g) en varias porciones durante cinco minutos. La reacción se colocó bajo una atmósfera de argón y se agitó durante toda la noche. La reacción se diluyó con salmuera (1000 ml) y se extrajo con EtOAc (5x200 ml). Las fases orgánicas se combinaron y se lavaron con agua (10x100 ml) y salmuera (2x150 ml) y se secaron sobre MgSO₄. Se eliminó el MgSO₄ por filtración y se eliminaron los compuestos

5 volátiles a presión reducida para dar (A) (18,17 g). A una solución de 50 ml enfriada a 0°C de TFA/DCM al 80% se añadió BocNHLeuPheOMe (45,86 mmol, 18,0 g). La solución se agitó y se dejó calentar a temperatura ambiente durante 2 horas. Los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida para dar un aceite. A este aceite se añadió BocNHhPhe (45,86 mmol, 12,81 g), DMF (500 ml), HOBT (73,37 mmol, 9,91 g) y DIEA (183,44 mmol, 23,70 g, 32,0 ml). La mezcla se enfrió a 0°C en baño de agua helada y se añadió BOP (73,37 mmol, 32,45 g) en varias porciones durante cinco minutos. La reacción se colocó bajo argón y se dejó calentar a temperatura ambiente durante toda la noche. La reacción se diluyó con H₂O (1500 ml) y se extrajo con DCM (5×300 ml). Las fases orgánicas se combinaron y se lavaron con H₂O (6×300 ml) y salmuera (1×300 ml) y se secó sobre MgSO₄. El MgSO₄ se eliminó por filtración y se eliminaron los compuestos volátiles a presión reducida para proporcionar un sólido amarillo. Al sólido se añadió 200 ml de EtOH al 95% y la mezcla se calentó a 65°C para disolver todos los sólidos. Después la solución se añadió a 1000 ml H₂O enfriado y el precipitado resultante se recogió para dar (B) (21,59 g).

Síntesis de (C)

15 El compuesto (B) (1,47 mmol, 0,81 g) se mezcló con TFA/DCM (80%) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, en cuyo momento la mezcla se concentró y se colocó en vacío elevado durante 2 horas, proporcionando la sal de TFA de la amina tri-peptídica (Q). A una solución a 0°C de la sal de TFA (1,47 mmol) en DMF (10 ml) se añadió DIEA (4,4 mmol, 0,77 ml) seguido de cloruro de benciloxiacetilo (2,21 mmol, 0,343 ml). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente mientras se agitaba durante dos horas bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se diluyó con salmuera (15 ml) y se extrajo con EtOAc (3×15 ml). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con H₂O (2×15 ml), salmuera (1×15 ml) y se secaron sobre Na₂SO₄. El Na₂SO₄ se eliminó por filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida. El material bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida para dar (C) (0,83 g).

Síntesis de (D)

25 A una suspensión de (C) (1,38 mmol, 0,830 g) en 28 ml de 3:1 MeOH/H₂O enfriada a 0°C se añadió LiOH (13,8 mmol, 0,331 g). Después de 18 horas a 5°C, la reacción se inactivó con 20 ml de NH₄Cl saturado y se diluyó adicionalmente con 150 ml de H₂O. El pH de la mezcla de la reacción se ajustó a 2 con 1N HCl y los sólidos se recogieron por filtración para proporcionar (D) (0,900 g).

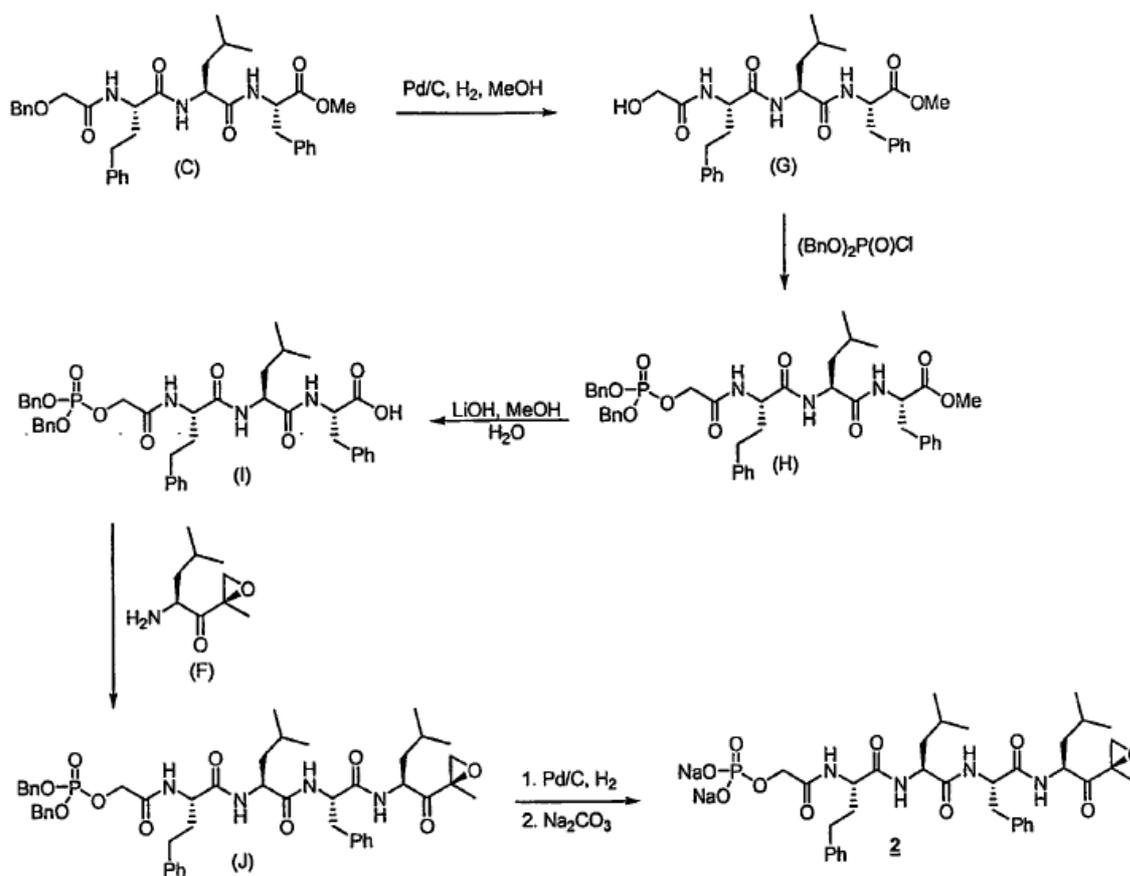
Síntesis de (E)

30 El compuesto (D) (0,17 mmol, 0,10 g) se disolvió en MeOH (10 ml) y se añadió Pd—C (5%, 0,08 g), y la mezcla de la reacción se agitó bajo 1 atmósfera de H₂ a temperatura ambiente durante 2 horas. Después la mezcla se purgó con argón, se filtró a través de Celita, y se concentró para proporcionar (E).

Síntesis del Compuesto 1

35 A una solución agitada de (F) [véase: Bioorg. Med. Chem. Letter 1999, 9, 2283 – 88] (0,164 mmol) en DMF (2 ml) se añadió (E) (0,17 mmol), DIEA (0,652 mmol, 0,114 ml), y HOBT (0,266 mmol, 0,036 g). La mezcla se enfrió a 0°C en un baño helado y se añadió BOP (0,262 mmol, 0,116 g) en varias porciones. La mezcla se agitó a 5°C bajo una atmósfera de argón durante toda la noche. La reacción se diluyó con salmuera (15 ml) y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua, NaHCO₃ saturado, y salmuera y se secó sobre MgSO₄ anhidro. El MgSO₄ se eliminó por filtración y los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El material bruto se purificó por HPLC preparativa para proporcionar el compuesto 1 (CI₅₀ 20S CT–L <50 nM, CI₅₀ CT–L <100 nM basado en células)

40

Esquema 2: Síntesis del Ejemplo 2**Síntesis de (G)****5**

El compuesto (C) (1,0 mmol, 0,601 g) se disolvió en MeOH (25 ml), se añadió Pd—C (10%, 600 mg) y la mezcla de la reacción se agitó bajo 1 atmósfera de H₂ a temperatura ambiente durante 48 horas. La mezcla se purgó después con argón, se filtró a través de Celita, y se concentró para proporcionar (G) (600 mg).

Síntesis de (H)**10**

A una solución de 0°C (G) (1,0 mmol, 0,511 g) en DCM (40 ml) se añadió DIEA (2,0 mmol, 0,348 ml) y cloruro de dibencilfosforilo (2,0 mmol, 0,593 g) y la mezcla se dejó agitar durante toda la noche a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. La reacción se concentró después bajo vacío y el material bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida para proporcionar (H) (0,181 g).

Síntesis de (I)**15**

A una suspensión de (H) (0,11 mmol, 0,090 g) en 4 ml de 3:1 MeOH/H₂O enfriada a 0°C se añadió LiOH (1,6 mmol, 0,4 ml, 4 M ac.). Después de 45 minutos a 5°C, la reacción se inactivó con 10 ml de NH₄Cl saturado. El pH de la mezcla de la reacción se ajustó a 2 con 1 N HCl y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera y se secó sobre MgSO₄ anhidro. El MgSO₄ se eliminó por filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida para dar (I).

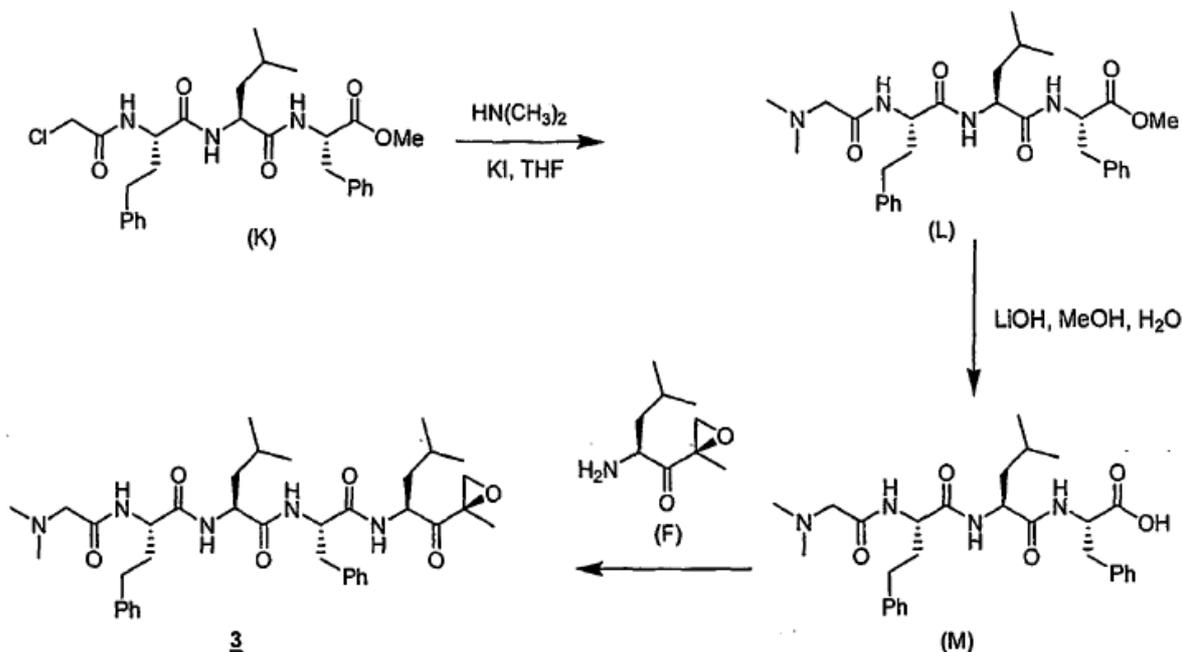
Síntesis de (J)**20**

A una solución agitada de (F) [véase: Bioorg. Med. Chem. Letter 1999, 9, 2283 – 88] (0,082 mmol) en DMF (2 ml) se añadió (I) (0,082 mmol, 0,062 g), DIEA (0,328 mmol, 0,057 ml) y HOBT (0,133 mmol, 0,018 g). La mezcla se enfrió a 0°C en un baño de agua helada y se añadió BOP (0,131 mmol, 0,058 g) en varias porciones. Después la mezcla se agitó a 5°C bajo una atmósfera de argón durante toda la noche. La reacción se diluyó con H₂O (15 ml) y (J) se recogió por filtración (0,081 g).

Síntesis del compuesto 2

A una solución de (J) (0,005 mmol, 0,005 g) en THF (1 ml) se añadió 4 gotas de H₂O y Pd/C al 10% (5 mg). La mezcla se agitó bajo H₂ a temperatura ambiente durante 1 hora, se filtró a través de Celita, y el filtrado se trató con Na₂CO₃ (0,263 g en 3 ml de H₂O). Se recogieron los sólidos por filtración y se colocaron bajo vacío elevado para dar el compuesto 2 (0,004 g).

5 Esquema 3: Síntesis del Ejemplo 3



Síntesis de (L)

10 A una solución de (K) (0,19 mmol, 0,10 g) en THF (20 ml) se añadió KI (0,038 mmol, 0,0063 g), dimetilamina (0,456 mmol, 0,228 ml, 2M en THF) y la mezcla se agitó durante toda la noche bajo una atmósfera de nitrógeno. Los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el material bruto se suspendió en EtOAc (15 ml), se lavó con H₂O (2×10 ml) y salmuera (2×10 ml), y se secó sobre MgSO₄. El MgSO₄ se eliminó por filtración y los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida para dar (L) (0,100 g).

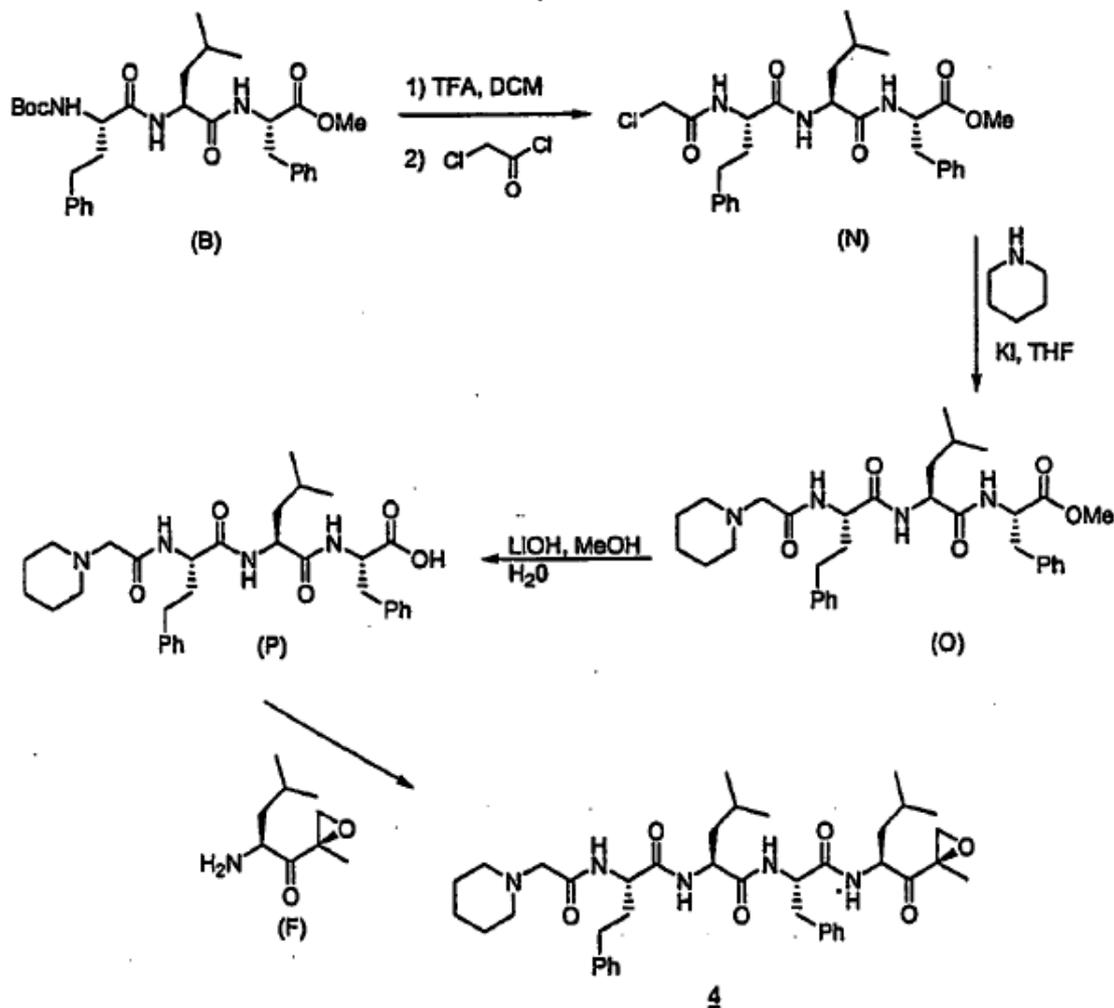
Síntesis de (M)

15 A una suspensión de (L) (0,186 mmol, 0,100 g) en 4 ml de 3:1 MeOH/H₂O enfriada a 0°C se añadió LiOH (1,86 mmol, 0,045 g). Después de 12 horas a 5°C, la reacción se inactivó con 20 ml NH₄Cl saturado y se diluyó adicionalmente con 10 ml de H₂O. El pH de la reacción se ajustó a 3 con 1 N HCl, se extrajo con CHCl₃ (3×15 ml), y se secó sobre MgSO₄. El MgSO₄ se eliminó por filtración y los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida para dar (M).

20 Síntesis del compuesto 3

A una solución agitada de (F) [véase: Bioorg. Med. Chem. Letter 1999, 9, 2283 – 88] (0,082 mmol) en DMF (1 ml) se añadió (M) (0,021 mmol), DIEA (0,28 mmol, 0,05 ml) y HOBT (0,133 mmol, 0,018 g). La mezcla se enfrió a 0°C en un baño de agua helada y se añadió BOP (0,131 mmol, 0,058 g) en varias porciones. La mezcla se agitó a 5°C bajo una atmósfera de argón durante toda la noche. Después la reacción se diluyó con salmuera (15 ml) y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua, NaHCO₃ saturado y salmuera y se secó sobre MgSO₄ anhidro. El MgSO₄ se eliminó por filtración y los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida para proporcionar el compuesto 3 (Cl₅₀ 20S CT-L<100 nM; CT-L<100 nM basado en células).

30

Esquema 4: Síntesis del Ejemplo 4 (Referencia)**5** Síntesis de (N)

El compuesto (B) (1,80 mmol, 1,0 g) se mezcló con TFA/DCM (80%) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, en cuyo momento la mezcla se concentró y se colocó bajo vacío elevado durante 2 horas proporcionando la sal de TFA de la amina tri-peptídica. A una solución a 0°C de la sal de TFA (1,80 mmol) en DMF (10 ml) se añadió DIEA (3,6 mmol, 0,7 ml) seguido de cloruro de cloroacetilo (2,7 mmol, 0,215 ml). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante toda la noche bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se diluyó después con salmuera (15 ml) y se extrajo con EtOAc (3x15 ml). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con H₂O (2x15 ml) y salmuera (2x15 ml) y se secaron sobre Na₂SO₄. El Na₂SO₄ se eliminó por filtración y los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida. El material bruto se suspendió en EtOAc y se filtró para dar (N) (0,640 g).

10

Síntesis de (O)

A una solución de (N) (0,094 mmol, 0,050 g) en THF (10 ml) se añadió KI (0,019 mmol, 0,0032 g) y piperidina (0,113 mmol, 0,0096 g) y la mezcla se agitó durante toda la noche bajo una atmósfera de nitrógeno. Los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el material bruto se suspendió en EtOAc (15 ml), se lavó con H₂O (2x10 ml) y salmuera (2x10 ml) y se secó sobre MgSO₄. El MgSO₄ se eliminó por filtración y los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida para dar (O).

20

Síntesis de (P)

5

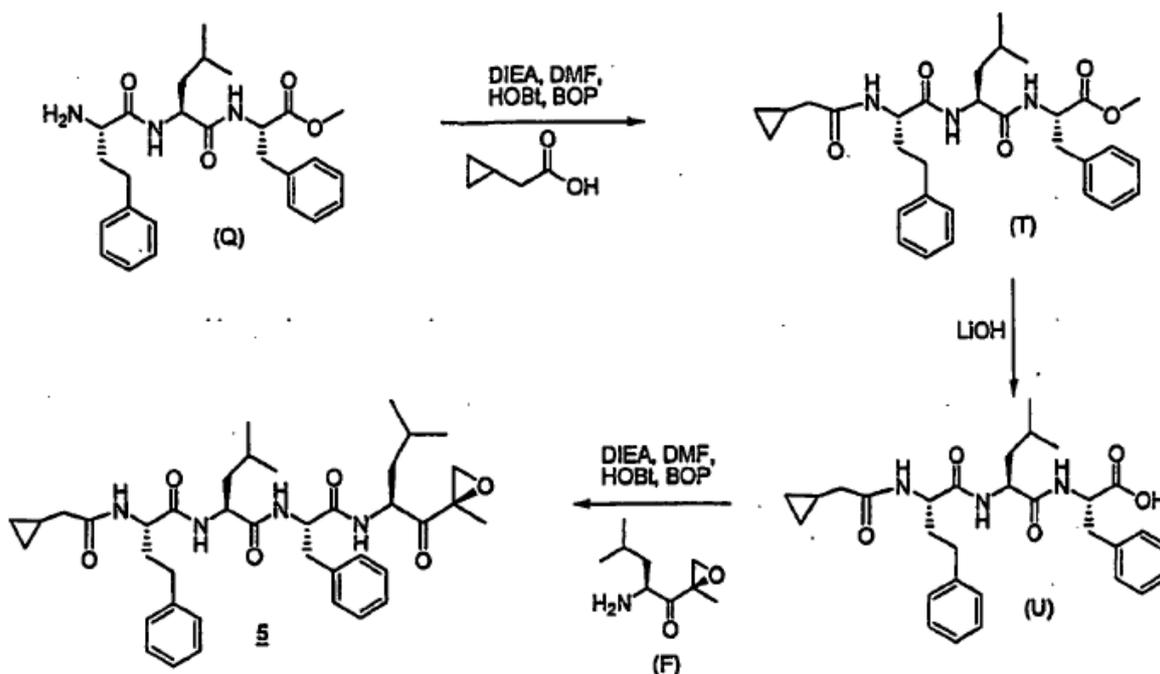
A una suspensión de (O) (0,094 mmol) en 4 ml de 3:1 MeOH / H₂O enfriada a 0°C se añadió LiOH (0,94 mmol, 0,023 g). Después de 12 horas a 5°C la reacción se inactivó con 20 ml de NH₄Cl saturado y se diluyó adicionalmente con 10 ml de H₂O. El pH de la mezcla de la reacción se ajustó a 3 con 1 N HCl, se extrajo con DCM (3x15 ml), y se secó sobre MgSO₄. El MgSO₄ se eliminó por filtración y los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida para dar (P).

Síntesis del compuesto 4

10

A una solución agitada de (F) [véase: Bioorg. Med. Chem. Letter 1999, 9, 2283 – 88] (0,082 mmol) en DMF (2 ml) se añadió (P) (0,082 mmol, 0,046 g), DIEA (0,328 mmol, 0,057 ml) y HOBT (0,133 mmol, 0,018 g). La mezcla se enfrió a 0°C en un baño helado y se añadió BOP (0,131 mmol, 0,058 g) en varias porciones. La mezcla se agitó a 5°C bajo una atmósfera de argón durante toda la noche. Después la reacción se diluyó con H₂O (15 ml) y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua, NaHCO₃ saturado y salmuera y se secó sobre MgSO₄ anhidro. El MgSO₄ se eliminó por filtración y los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida para dar el compuesto 4 (0,034 g) (Cl₅₀ 20S CT-L<100 nM; Cl₅₀ CT-L<100 nM basado en células).

Esquema 5: Síntesis del Ejemplo 5 (Referencia)



15

Síntesis de (T)

El compuesto (T) se obtiene esencialmente siguiendo el procedimiento de la conversión de (E) a 1 pero sustituyendo (F) por (Q) y (E) por ácido ciclopropilacético.

Síntesis de (U)

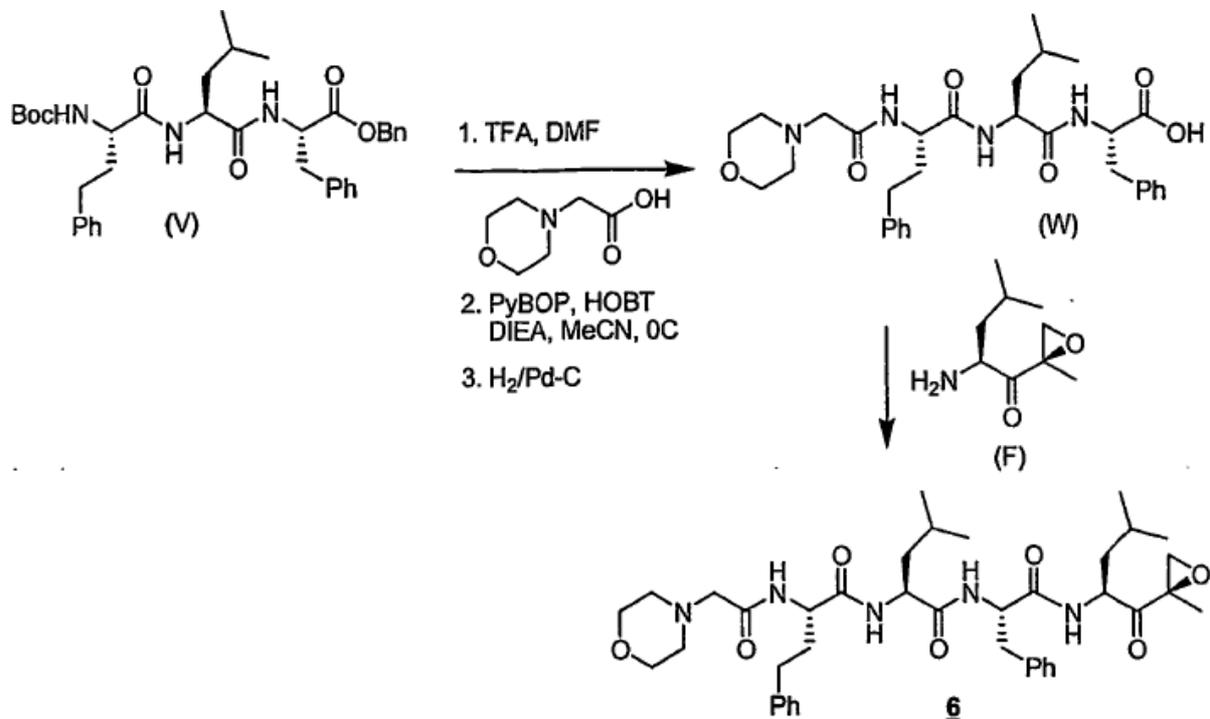
20

El compuesto (U) se obtiene esencialmente siguiendo el procedimiento de la conversión de (C) a (D) pero sustituyendo (C) for (T).

Síntesis del compuesto 5

El compuesto 5 se obtiene esencialmente siguiendo el procedimiento de la conversión de (E) a 1 pero sustituyendo (E) for (U).

25

Esquema 6: Síntesis del Ejemplo 6**Síntesis de (W)**

5 El compuesto (V) (0,25 g, 0,39 mmol) se mezcló con 12 ml de TFA/DCM (80%) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, en cuyo momento la mezcla se concentró y se colocó bajo vacío elevado durante 2 horas proporcionando la sal de TFA de la amina tri-peptídica. La sal de amina en bruto se disolvió en 6 ml de DMF y se añadió ácido acético 2-morfolino (0,074 g, 0,507 mmol) seguido por DIEA (0,504 g, 0,68 ml, 3,90 mmol). La mezcla se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se añadió PyBOP (0,32 g, 0,62 mmol) y se agitó bajo una atmósfera de argón mientras se calentaba a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla se diluyó con salmuera (50 ml) y se extrajo con EtOAc (5x20 ml). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con NaHCO₃ saturado (5x15 ml) y salmuera (1x25 ml) y se secó sobre MgSO₄. El MgSO₄ se eliminó por filtración y los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida para proporcionar el éster intermedio (0,195 g). A (0,150 g, 0,23 mmol) del éster intermedio se añadió Pd/C al 10% (0,05 g) seguido de 5 ml de 1:1 mezcla de MeOH y EtOAc y la mezcla se colocó bajo una atmósfera de hidrógeno. Después de 2 horas los contenidos se filtraron a través de un lecho de Celita y se concentraron bajo vacío para dar (W) (0,12 g).

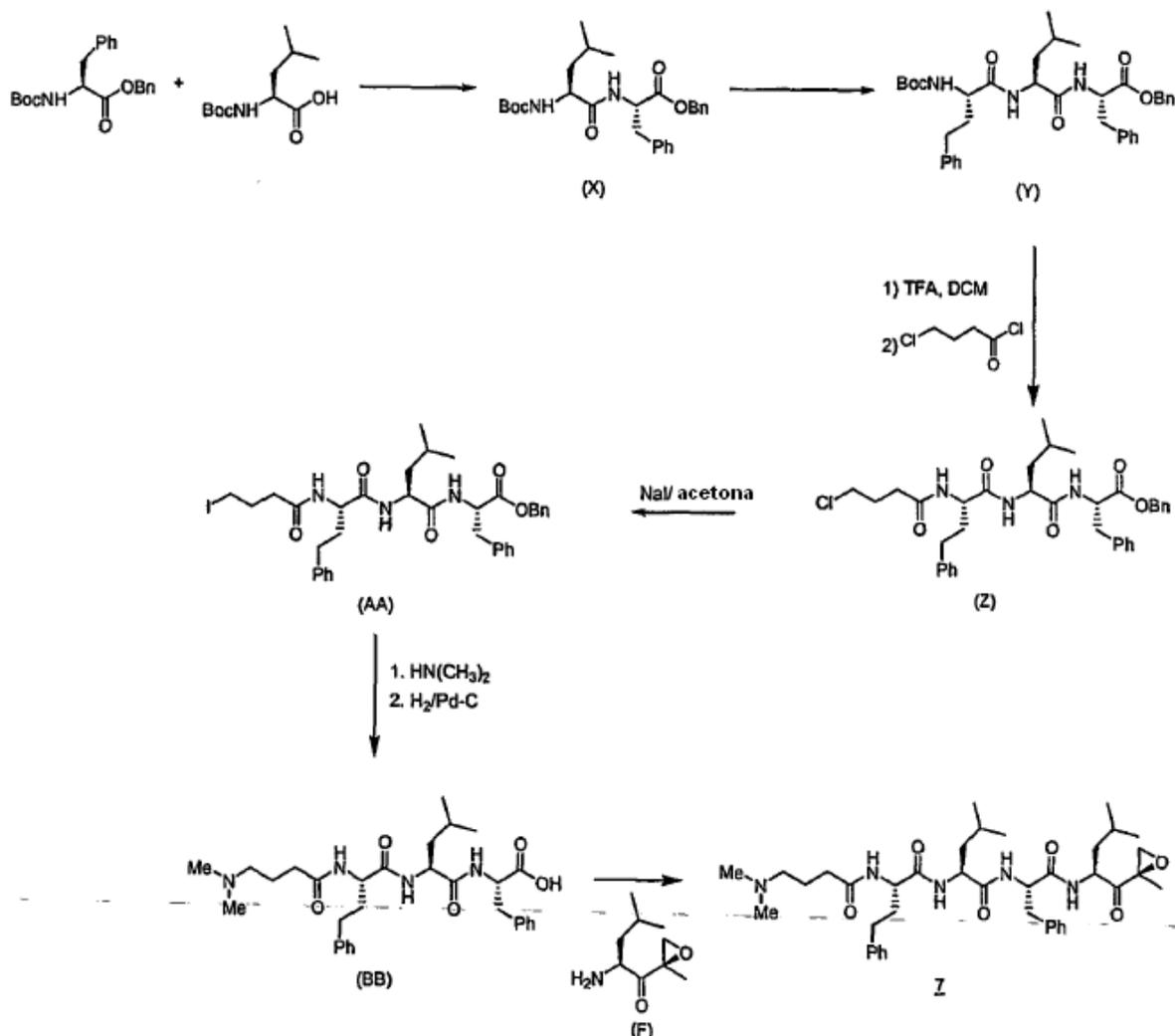
10

15

Síntesis del Compuesto 6

20 A una solución agitada de (F) [véase: Bioorg. Med. Chem. Letter 1999, 9, 2283 – 88] (1,3 eq., 0,27 mmol, 0,083 mg) en MeCN (5 ml) se añadió (W) (1 eq., 0,17 mmol, 0,10 g), DIEA (10 eq., 1,73 mmol, 0,30 ml) y HOBT (1,6 eq., 0,27 mmol, 0,037 mg). La mezcla se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se añadió PyBOP (1,6 eq., 0,27 mmol, 0,14 g) en varias porciones. La mezcla se agitó a 5°C bajo una atmósfera de argón durante toda la noche, después de la cual la reacción se diluyó con NaCl saturado y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera y se secó sobre MgSO₄ anhidro y se concentró hasta obtener una pasta. El material bruto se disolvió en una cantidad mínima de MeOH y se añadió lentamente a agua enfriada a 0°C, agitada rápidamente (100 ml). Después el compuesto 6 se aisló por filtración. (0,080 g).

25

Esquema 7: Síntesis del Ejemplo 7

Síntesis de (X)

5 A una solución de NBoc leucina (19,81 g, 85,67 mmol, 1,0 eq) y éster bencílico de la fenilalanina (25,0 g, 85,67 mmol, 1,0 eq.) en 900 ml de MeCN se añadió DIEA (44,29 g, 60 ml, 342,68 mmol, 4,0 eq.) y la mezcla se enfrió a 0°C en un baño de hielo. A esta mezcla se añadió HOBT (18,52 g, 137,08 mmol, 1,6 eq) seguido de PyBOP (71,33 g, 137,08 mmol, 1,6 eq) que se añadió en varias porciones durante cinco minutos. La reacción se colocó bajo una atmósfera de argón y se agitó durante toda la noche. Los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el material restante se suspendió en 500 ml de EtOAc y se lavó con NaHCO_3 saturado, H_2O , y salmuera y se secó sobre MgSO_4 . El MgSO_4 se eliminó por filtración y los compuestos volátiles se eliminaron bajo presión reducida para dar (X).

10

Síntesis de (Y)

15 A una solución enfriada a 0°C de TFA/DCM al 70% (150 ml) se añadió (X) (25,0 g, 53,35 mmol, 1,0 eq.). La solución se agitó y se dejó calentar a temperatura ambiente durante 2 horas en cuyo momento la mezcla se concentró y se colocó bajo vacío elevado durante 2 horas dando la sal de TFA de la amina di-peptídica. Al aceite resultante se añadió BocNHhPhe (14,68 g, 53,35 mmol, 1,0 eq.), 550 ml de MeCN, y DIEA (27,58 g, 37,2 ml, 213,4 mmol, 4,0 eq.) y la mezcla se enfrió a 0°C en un baño de hielo. A la mezcla enfriada se añadió HOBT (11,53 g, 85,36 mmol, 1,6 eq.) seguido de PyBOP (44,42 g, 85,36 mmol, 1,6 eq.) que se añadió en varias porciones durante cinco minutos. La reacción se colocó bajo argón y se dejó calentar a temperatura ambiente durante toda la noche en cuyo momento se formó un precipitado blanco. La mezcla de la reacción se enfrió y los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron después con MeCN frío para proporcionar (Y) (24,86 g).

20

Síntesis de (Z)

5

El compuesto (Y) (0,023 mol, 14,5 g) se mezcló con TFA/DCM (80%) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora en cuyo momento la mezcla se concentró y se colocó bajo vacío elevado durante dos horas, dando la sal de TFA de la amina tri-peptídica. A una solución de sal de TFA (0,023 mol, 1 eq.) en MeCN (120 ml) se añadió cloruro de 4-clorobutirilo (1,2 eq., 0,028 mol, 0,32 ml) y DIEA (4 eq., 0,092 mol, 16 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante dos horas y después se concentró y se purificó por cromatografía ultrarrápida para proporcionar (Z) (8 g).

Síntesis de (AA)

10

A una solución de (Z) (1 eq., 0,095 mmol, 60 mg) en acetona seca (8 ml) se añadió NaI (5 eq., 0,47 mmol, 70,5 mg). La mezcla se agitó a reflujo bajo una atmósfera de nitrógeno durante toda la noche. La mezcla de la reacción se concentró después hasta la sequedad y el residuo se suspendió en DCM. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO_4 anhidro, y se concentró para dar (AA) en forma de un sólido amarillo (50 mg).

Síntesis de (BB)

15

A una solución de (AA) (30 mg, 0,041 mmol) en THF (2 ml) se añadió dimetilamina (1,2 eq., 0,05 mmol, 2M en THF, 25 μl) y DIEA (1 eq., 0,041 mmol, 7,2 μl). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche y se concentró hasta la sequedad. El residuo se suspendió en acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO_4 anhidro, y se concentró para dar un producto oleoso. El éster bruto se disolvió en MeOH/EtOAc (1:1, 10 ml) y se añadió Pd-C (5%, 20 mg) y la mezcla de la reacción se agitó bajo una atmósfera de H_2 a temperatura ambiente durante 2 horas. Después la mezcla se purgó con argón, se filtró a través de Celita, y se concentró para proporcionar (BB) (21 mg).

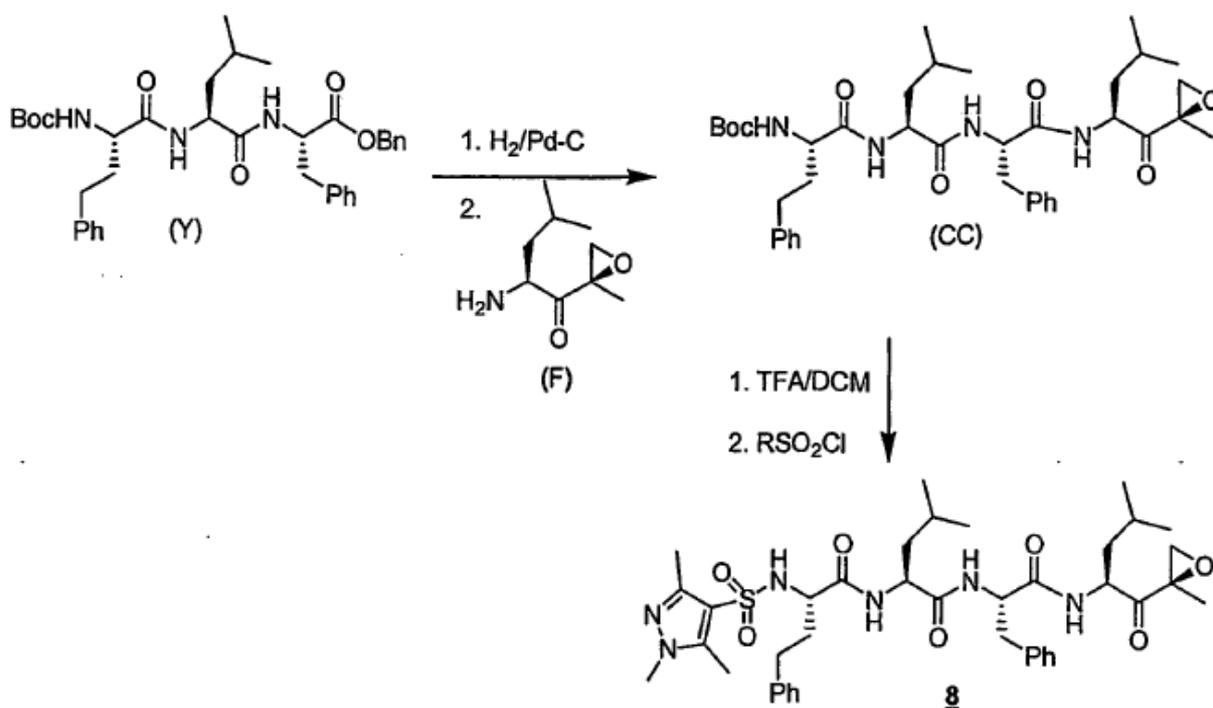
20

Síntesis del compuesto 7

25

A una solución agitada de (F) [véase: Bioorg. Med. Chem. Letter 1999, 9, 2283 – 88] (1,2 eq., 0,054 mmol) en DMF (3 ml) se añadió (BB) (1 eq., 0,045 mmol, 21 mg), DIEA (4 eq., 0,18 mmol, 31 μl), y HOBt (1,6 eq., 0,072 mmol, 10 mg). La mezcla se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se añadió PyBOP (1,6 eq., 0,072 mmol, 37 mg) en varias porciones. Después la mezcla se agitó a 5°C bajo una atmósfera de nitrógeno durante toda una noche. La reacción se diluyó después con NaCl saturado y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera y se secó sobre MgSO_4 anhidro, y se concentró hasta proporcionar un aceite que se purificó por cromatografía ultrarrápida para proporcionar el compuesto 7 (16,7 mg) (Cl_{50} 20S CT-L <50 nM, CT-L <150 nM basado en células).

Esquema 8: Síntesis del Ejemplo 8



30

Síntesis de (CC)

5 El compuesto (Y) (1,55 g, 0,0023 mol) se disolvió en MeOH/EtOAc (1:1, 40 ml) y se añadió Pd—C (5%, 500 mg). La mezcla se agitó a temperatura ambiente bajo hidrógeno durante 2 horas, y después se filtró a través de Celita y se concentró hasta conseguir el intermedio de ácido carboxílico. A una solución agitada de (F) [véase: Bioorg. Med. Chem. Letter 1999, 9, 2283 – 88] (1,2 eq., 2,55 mmol, 436 mg) en DMF (50 ml) se añadió el intermedio de ácido carboxílico (1 eq., 2,12 mmol, 1,24 g), DIEA (4 eq., 8,48 mmol, 1,5 ml) y HOBt (1,6 eq., 3,39 mmol, 458 mg). La mezcla se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se añadió PyBOP (1,6 eq., 3,39 mmol, 1,76 g) en varias porciones. La mezcla se agitó a 5°C bajo una atmósfera de nitrógeno durante toda la noche. La reacción se diluyó con NaCl saturado y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera y se secó sobre MgSO₄ anhidro y se concentró hasta proporcionar un aceite que se purificó por cromatografía ultrarrápida para proporcionar (CC) (356 mg).

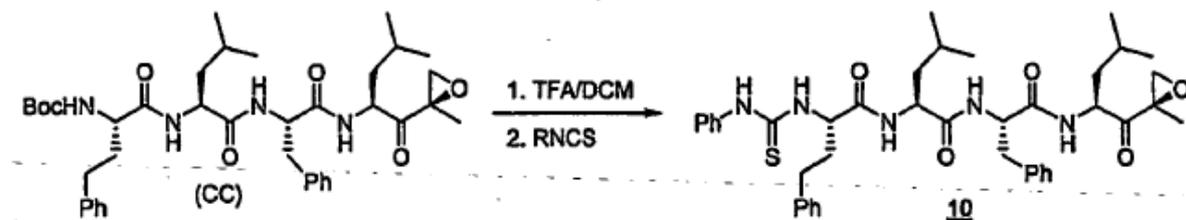
Síntesis del compuesto 8

15 El compuesto (CC) (23,6 mg, 0,034 mmol) se mezcló con TFA/DCM (80%) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora en cuyo momento la mezcla se concentró y se colocó bajo vacío elevado durante 2 horas proporcionando la sal de TFA de la amina tetra-peptídica. A una solución en DCM de la sal de TFA se añadió cloruro de 1,3,5-trimetil-1-H-pirazol-4-sulfonilo (1,2 eq., 0,041 mmol, 8,5 mg) y TEA (4 eq., 0,136 mmol, 26 µl) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla bruta se concentró hasta la sequedad y el residuo se suspendió en EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO₄ anhidro y se concentró hasta proporcionar un aceite que se purificó por cromatografía ultrarrápida para proporcionar el compuesto 8 (2 mg) (Cl₅₀20S CT-L <100 nM, CT-L <100 nM basado en células).

Esquema 9: Síntesis del Ejemplo 9 (Referencia)

Síntesis del compuesto 9

25 El compuesto (CC) (63,7 mg, 0,092 mmol) se mezcló con TFA/DCM (80%) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora en cuyo momento la mezcla se concentró y se colocó bajo vacío elevado durante dos horas dando la sal de TFA de la amina tetra-peptídica. A una solución en DCM de la sal de TFA se añadió isocianato de fenilo (1,5 eq., 0,14 mmol, 15 µl) y DIEA (3 eq., 0,276 mmol, 50 µl) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla bruta se concentró hasta la sequedad y el residuo se suspendió en EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO₄ anhidro, y se concentró hasta proporcionar un aceite que se purificó por cromatografía ultrarrápida para proporcionar el compuesto 9 (2,8 mg).

Esquema 10: Síntesis del Ejemplo 10 (Referencia)

35 Síntesis del compuesto 10

El compuesto (CC) (48,5 mg, 0,07 mmol) se mezcló con TFA/DCM (80%) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora en cuyo momento la mezcla se concentró y se colocó bajo vacío elevado durante dos horas dando la sal de TFA de la amina tetra-peptídica. A una solución en DCM de la sal de TFA se añadió isocianato de fenilo (1,5 eq.,

0,105 mmol, 20 μ l) y DIEA (3 eq., 0,21 mmol, 40 μ l) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla bruta se concentró hasta la sequedad y el residuo se suspendió en EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre $MgSO_4$ anhidro, y se concentró hasta proporcionar un aceite que se purificó por cromatografía ultrarrápida para proporcionar el compuesto 10 (1 mg).

5

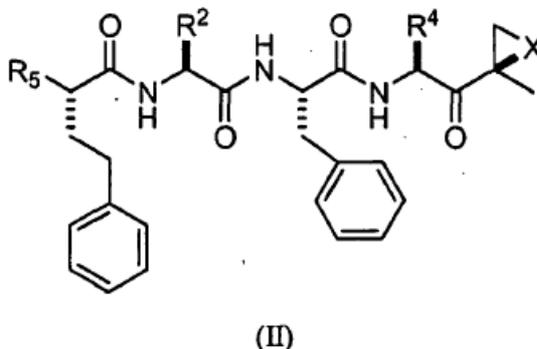
Equivalentes

Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de determinar usando simplemente la experimentación rutinaria, numerosos equivalentes a los compuestos y procedimientos de uso de los mismos descritos en la presente memoria descriptiva. Tales equivalentes se consideran dentro del alcance de la presente invención en cuanto que estén cubiertos por las siguientes reivindicaciones.

10

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene una estructura de la fórmula II o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,



en la que

- 5** L está ausente o se selecciona de C=O, C=S, y SO₂,
 Q está ausente o se selecciona de O, NH, y N–alquilo C₁₋₆,
 X es O;
- 10** R² y R⁴ se seleccionan cada uno independientemente de alquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, alcoxialquilo C₁₋₆, arilo y aralquilo C₁₋₆, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes de amida, amina, ácido carboxílico (o una sal del mismo), éster, tiol, o tioéter;
- R⁵ es N(R⁶)LQR⁷;
- R⁶ se selecciona de hidrógeno, OH, y alquilo C₁₋₆,
- R⁷ se selecciona de (R⁸O)(R⁹O)P(=O)O–alquilo C₁₋₈–, (R¹⁰)₂N–alquilo C₁₋₁₂–, (R¹⁰)₃N⁺–alquilo C₁₋₁₂–, heterocíclico–,
- 15** R⁸ and R⁹ se seleccionan independientemente de hidrógeno, catión de metal, alquilo C₁₋₆, alqueno C₁₋₆, alquino C₁₋₆, arilo, heteroarilo, aralquilo C₁₋₆, y heteroalquilo C₁₋₆, preferiblemente de hidrógeno, catión de metal y alquilo C₁₋₆, o R⁸ y R⁹ juntos son alquilo C₁₋₆, formando de ese modo un anillo; y
 cada R¹⁰ se selecciona independientemente de hidrógeno y alquilo C₁₋₆, preferiblemente alquilo C₁₋₆;
- 20** en la que el término “alquilo C_{x-y}” se refiere a grupos hidrocarburo saturados, incluyendo grupos alquilo de cadena recta y alquilo de cadena ramificada que contienen de x a y carbonos en la cadena, incluyendo grupos haloalquilo, los términos “alqueno C_{2-y}” y “alquino C_{2-y}” se refieren a grupos alifático insaturados que contienen de 2 a y carbonos en la cadena, incluyendo grupos halogenados y que contienen al menos un doble o triple enlace respectivamente, el término “aralquilo C₁₋₆” se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ sustituido con un grupo arilo, y el término “arilo” incluye sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes en los que al menos uno de los anillos es aromático;
- 25** con la condición de que cuando R⁶ es H o CH₃ y Q está ausente, LR⁷ no es hidrógeno, alquilo C₁₋₆ C=O no sustituido, una cadena adicional de aminoácidos, t–butoxicarbonilo (Boc), benzoilo (Bz), fluoren–9–ilmetoxicarbonilo (Fmoc), trifenilmetil(tritilo), benziloxicarbonilo (Cbz), tricloroetoxicarbonilo (Troc); o arilo o heteroarilo sustituido o no sustituido.
- 30** 2. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
3. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en la inhibición de hidrolasa nucleófila N–terminal.
4. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de inflamación.
5. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en la inhibición o reducción de infección por VIH.

35

6. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.
7. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de enfermedades de desgaste muscular.
8. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de cáncer.
- 5** 9. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de enfermedades infecciosas crónicas.
10. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de fiebre.
11. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de afecciones inmunorrelacionadas.
12. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de desnervación o lesión nerviosa.
- 10** 13. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en la modificación del nivel de expresión génica viral en un sujeto.
14. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en la alteración de la variedad de péptidos antigénicos producidos por el proteasoma en un organismo.