

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 376 396**

51 Int. Cl.:
A61K 31/497 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07796488 .0**
96 Fecha de presentación: **26.06.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2037928**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.03.2009**

54 Título: **MÉTODO PARA TRATAR ATEROSCLEROSIS.**

30 Prioridad:
26.06.2006 US 816415 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
13.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
13.03.2012

73 Titular/es:
**AMGEN INC.
ONE AMGEN CENTER DRIVE
THOUSAND OAKS, CA 91320-1799, US**

72 Inventor/es:
**KAYSER, Frank;
LABELLE, Marc;
SHAN, Bei;
ZHANG, Jian y
ZHOU, Mingyue**

74 Agente/Representante:
Miltenyi, Peter

ES 2 376 396 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

Método para tratar aterosclerosis.

Esta invención se refiere en general al campo de la medicina y, más específicamente, a composiciones y compuestos para su uso en el tratamiento de aterosclerosis.

5 Más de 50 millones de americanos tienen problemas cardiovasculares, y muchos otros países se enfrentan a tasas elevadas y crecientes de enfermedad cardiovascular. Es la causa número uno de muerte e incapacidad en los Estados Unidos y la mayoría de países europeos. En el momento en que se detectan los problemas cardiacos, la causa subyacente, aterosclerosis, está normalmente bastante avanzada, habiendo evolucionado durante décadas.

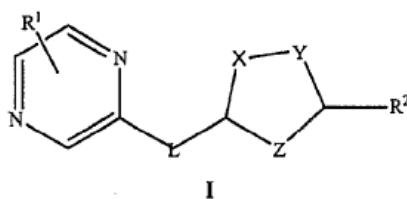
10 La aterosclerosis es una compleja enfermedad poligénica de los mamíferos caracterizada por los depósitos o placas de lípidos y otros derivados sanguíneos en las paredes arteriales (aorta, arterias coronarias, carótida). Estas placas pueden calcificarse en mayor o menor grado según la evolución del proceso. También se asocian con la acumulación de depósitos grasos que consisten principalmente en ésteres de colesterol en las arterias. El colesterol se acumula en las células espumosas de la pared arterial, estrechando de ese modo la luz y disminuyendo el flujo de sangre. Esto está acompañado por un engrosamiento de la pared arterial, con hipertrofia del músculo liso, la
15 aparición de células espumosas y la acumulación del tejido fibroso. Por tanto, la hipercolesterolemia puede dar como resultado patologías cardiovasculares muy graves tales como infarto, enfermedad vascular periférica, ictus, muerte súbita, descompensación cardíaca, accidentes cerebrovasculares y similares.

El colesterol lo transportan en la sangre diversas lipoproteínas incluyendo las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y las lipoproteínas de alta densidad (HDL). Las LDL se sintetizan en el hígado y hacen posible suministrar a los tejidos
20 periféricos colesterol. En cambio, las HDL capturan moléculas de colesterol de los tejidos periféricos y las transporta al hígado en el que se convierten en ácido biliar y se excretan. El desarrollo de aterosclerosis y el riesgo de enfermedad cardíaca coronaria (CHD) se correlacionan de manera inversa con los niveles de HDL en el suero. Gordon *et al.* (1989) N. Engl. J. Med. 321: 1311; Goldbourt *et al.* (1997) Thromb Vasc. Biol. 17: 107. A menudo se producen bajos niveles de HDL-colesterol en el contexto de la obesidad central, diabetes y otras características del síndrome metabólico. Goldbourt *et al.*, citado anteriormente. Se ha sugerido que los bajos niveles de HDL-colesterol se asocian con un aumento del riesgo de CHD, mientras que las altas concentraciones de HDL tienen un efecto protector frente al desarrollo de aterosclerosis prematura. Gordon *et al.* (1986) Circulation 74: 1217. Estudios demuestran que el riesgo de desarrollar aterosclerosis clínica en los hombres disminuye el 3% con un aumento del 1% en la concentración de HDL en plasma. Gordon *et al.* (1989) N. Engl. J. Med. 321 : 1311. Se ha establecido que
30 las concentraciones de LDL-colesterol pueden reducirse mediante tratamiento con estatinas, inhibidores de la enzima de la biosíntesis de colesterol 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A reductasa y de ese modo se ha usado este tratamiento como enfoque exitoso para reducir el riesgo de aterosclerosis en el que la indicación principal es un alto nivel de LDL. Sin embargo, no queda claro si las estatinas son beneficiosas para pacientes cuya anomalía lipídica principal es un bajo nivel de HDL-colesterol.

35 La lecitina-colesterol aciltransferasa (LCAT) es una enzima que cataliza la esterificación de colesterol libre mediante la transferencia de un grupo acilo de la fosfatidilcolina al grupo 3-hidroxi del colesterol, formando éster de colesterilo y lisofosfatidilcolina. McLean *et al.* (1986) Proc. Natl. Acad. Sci. 83: 2335 y McLean *et al.* (1986) Nucleic Acids Res. 14(23): 9397. LCAT se sintetiza en el hígado y se libera en el plasma, donde se combina con HDL, denominadas lipoproteínas antiaterogénicas. Estas partículas de HDL tienen la capacidad para aceptar el colesterol en exceso, que se esterifica entonces por LCAT. Las moléculas de éster de colesterilo en las partículas de HDL o bien se transportan hasta el hígado a través del receptor SR-BI, o bien se transfieren a lipoproteínas que contienen apoB, incluyendo lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y LDL, mediado por CETP, y luego se transportan hasta el hígado a través de la ruta de receptores de LDL. Este mecanismo, denominado transporte inverso de
40 colesterol (Glomset (1968) J. Lipid Res. 9:155), permite la eliminación del colesterol en exceso del organismo, y por tanto está implicado en la prevención de aterogénesis. LCAT desempeña un papel importante en este proceso mediante la creación de un gradiente de colesterol libre entre las membranas plasmáticas y las lipoproteínas en circulación.

Esta invención proporciona composiciones que comprenden compuestos para su uso en el tratamiento y la prevención de aterosclerosis.

50 La presente invención proporciona compuestos para su uso en el tratamiento de aterosclerosis en un sujeto que lo necesita que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I



5 en la que todos los sustituyentes son tal como se indican en la descripción detallada a continuación, o a sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. En un aspecto, la invención proporciona compuestos para su uso en el tratamiento de aterosclerosis en un sujeto en los que X e Y son cada uno -N=. En otro aspecto, Z puede ser -S-. En un aspecto adicional, L puede ser -S-. En un aspecto, R¹ puede ser CN. En otro aspecto, R² puede ser SR³. En un aspecto, R³ puede ser alquilo C₁-C₄, por ejemplo, metilo.

10 En un aspecto, la invención proporciona compuestos para su uso en el tratamiento de aterosclerosis en un sujeto que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en 3-(5-(metiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo, 3-(5-(etiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo, 3-(5-(aliltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo, 3-(5-(propiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo, 3-(5-(butiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo, 3-(5-(isobutiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo, 3-(5-(pentiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo, 3-(5-(dodeciltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo, 3-(5-(benciltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo, 3-(5-mercapto-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo, 3-(5-(isopropiltio)-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-iltio)pirazin-2-carbonitrilo, 3-(5-(metiltio)-1,2,4-tiadiazol-3-iltio)pirazin-2-carbonitrilo, 3-(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo, 3-(5-butil-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo, 3-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-iltio)pirazin-2-carbonitrilo, 3-(1-metil-1H-imidazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo, y 2-cloro-3-(5-(metiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto, el sujeto puede ser mamífero. En otro aspecto, el sujeto puede ser humano.

20 La figura 1 representa esquemáticamente secuencias de polipéptido LCAT humano (A, SEQ ID NO:1), de ratón (B, SEQ ID NO:2), rata (C, SEQ ID NO:3) y consenso (D, SEQ ID NO:4).

La figura 2(A) demuestra la actividad y especificidad de los compuestos de la invención sobre la enzima LCAT.

La figura 2(B) ilustra el mecanismo de acción de compuestos de la invención sobre la enzima LCAT.

25 La figura 3 resume datos que muestran que compuestos de la invención aumentan la actividad de la enzima LCAT de manera dependiente de la dosis en ratones BALB/c.

La figura 4 demuestra que el tratamiento con los compuestos de la invención aumenta los niveles de HDL-colesterol en ratones CD1.

La figura 5 ilustra el transcurso temporal de la activación de LCAT y los niveles de HDL en ratones tras una dosis única de los compuestos de la invención.

30 La figura 6 demuestra que el tratamiento con los compuestos de la invención aumenta los niveles de HDL y disminuye la lipoproteína que contiene apoB *in vivo*.

La figura 7 proporciona perfiles de elución que indican que el tratamiento con los compuestos de la invención aumenta los niveles de HDL-col, aumenta el tamaño de partícula de HDL y disminuye los niveles de TG en la fracción de VLDL *in vivo*.

35 I. Definiciones

La expresión "farmacológicamente activo" significa que se determina que una sustancia así descrita tiene actividad que afecta a un parámetro médico o estado patológico.

40 "Sustancialmente homogénea" tal como se usa en el presente documento con referencia a una preparación de LCAT significa que la preparación incluye una única especie de un compuesto de LCAT terapéutico detectable en la preparación de moléculas terapéuticas totales en la preparación, a menos que se establezca de otro modo en un porcentaje específico de moléculas terapéuticas totales. En general, una preparación sustancialmente homogénea es lo suficientemente homogénea como para presentar las ventajas de una preparación homogénea, por ejemplo, facilidad en aplicación clínica en la capacidad de predicción de la farmacocinética lote a lote.

45 "Bioeficacia" se refiere a la capacidad para producir un efecto biológico deseado. La bioeficacia de diferentes compuestos, o diferentes dosificaciones del mismo compuesto, o diferentes administraciones del mismo compuesto generalmente se normalizan con respecto a la cantidad de compuesto(s) para permitir una comparación apropiada.

- 5 El término "LCAT" o "lecitina-colesterol aciltransferasa", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una enzima de glicoproteína que cataliza la síntesis de ésteres de colesterol y lisolecitina a partir de fosfatidilcolina y colesterol no esterificado presente en lipoproteínas. Esta enzima la produce principalmente el hígado y circula en la sangre unida de forma reversible a lipoproteínas. La LCAT humana tiene una masa de polipéptido de 49 kDa, o de aproximadamente 67 kDa con masa de hidrato de carbono añadida.
- 10 "Aterosclerosis" se refiere a un estado caracterizado por el endurecimiento y/o el estrechamiento de las arterias producidos por la acumulación de placas ateromatosas en el interior de las paredes arteriales. La placa ateromatosa se divide en tres componentes, (1) el ateroma, una acumulación nodular de un material escamoso blando en el centro de grandes placas, compuestas por macrófagos más cerca de la luz de la arteria; (2) zonas subyacentes de cristales de colesterol; (3) calcificación en la base externa de lesiones más avanzadas. Los indicadores de aterosclerosis incluyen, por ejemplo, el desarrollo de placas en las arterias, su calcificación, el grado de la misma que puede determinarse mediante tinción con Sudán IV, o el desarrollo de células espumosas en arterias. El estrechamiento de las arterias puede determinarse mediante angioplastia coronaria, TC ultrarrápida o ecografía.
- 15 "Inflamación" o "trastorno inflamatorio" se refiere a una respuesta protectora localizada provocada por lesión o destrucción de tejidos, que sirve para destruir, diluir o separar con una pared (secuestrar) tanto el agente lesivo como el tejido lesionado. La expresión "enfermedad inflamatoria" o "estado inflamatorio" tal como se usa en el presente documento, significa cualquier enfermedad en la que una respuesta inflamatoria excesiva o no regulada conduce a síntomas inflamatorios excesivos, daño tisular del huésped o pérdida de función tisular. Adicionalmente, la expresión "enfermedad autoinmunitaria", tal como se usa en el presente documento, significa cualquier grupo de trastornos en el que está asociada lesión tisular con respuestas humorales o mediadas por células a constituyentes del propio cuerpo. La expresión "enfermedad alérgica", tal como se usa en el presente documento, significa cualquier síntoma, daño tisular o pérdida de función tisular que resulta de alergia. La expresión "enfermedad artrítica", tal como se usa en el presente documento, significa cualquiera de una gran familia de enfermedades que se caracterizan por lesiones inflamatorias de las articulaciones atribuibles a una variedad de etiologías. El término "dermatitis", tal como se usa en el presente documento, significa cualquiera de una gran familia de enfermedades de la piel que se caracterizan por inflamación de la piel atribuible a una variedad de etiologías. La expresión "rechazo de trasplante", tal como se usa en el presente documento, significa cualquier reacción inmunitaria dirigida contra tejido injertado (incluyendo órgano y célula (por ejemplo, médula ósea)), caracterizada por una pérdida de función de los tejidos injertados y circundantes, dolor, hinchamiento, leucocitosis y trombocitopenia.
- 20
- 25
- 30 "Trombosis" y "trastorno relacionado con la trombosis" se refieren a la formación anómala de trombos que provocan la obstrucción de vasos sanguíneos y estados asociados con tal obstrucción. Los vasos sanguíneos trabajan con tensiones de cizallamiento significativas que son una función de la velocidad de cizallamiento del flujo sanguíneo. Con frecuencia, existe un daño de pequeños vasos sanguíneos y capilares. Cuando se dañan estos vasos, se desencadena la hemostasia para detener la hemorragia. En circunstancias típicas, se trata una lesión de este tipo a través de una secuencia de acontecimientos denominados comúnmente como la "formación de trombos". La formación de trombos depende de la adhesión, activación y agregación de las plaquetas y la cascada de coagulación que culmina en la conversión de fibrinógeno soluble en coágulo de fibrina insoluble. La formación de trombos en el sitio de la herida impide la extravasación de componentes sanguíneos. Posteriormente, se produce la cicatrización de la herida y la disolución del coágulo y se restauran la integridad del vaso sanguíneo y el flujo.
- 35
- 40 El término "HDL" se refiere a las lipoproteínas de alta densidad.
- El término "LDL", tal como se usa en el presente documento, significa las lipoproteínas de baja densidad.
- El término "VLDL" se refiere a las lipoproteínas de muy baja densidad.
- 45 El término "tratamiento" o "tratar" incluye la administración, a un sujeto que lo necesita, de una cantidad de un compuesto de la invención que inhibirá, disminuirá o revertirá el desarrollo de aterosclerosis. En otro aspecto, tratamiento tal como se usa en el presente documento significa la administración, a un sujeto que lo necesita, de una cantidad de un compuesto de la invención, que aumentará los niveles de HDL-colesterol. "Inhibir", en relación con inhibir la aterosclerosis, se pretende que signifique prevenir, retardar, estabilizar o revertir la formación o el crecimiento de placas ateromatosas. Tratamiento también engloba la administración del compuesto o la composición farmacéutica a sujetos a los que no se les ha diagnosticado que tengan necesidad de la misma, es decir, la administración profiláctica al sujeto, tal como la prevención de acumulación de colesterol. Generalmente, un médico colegiado y/o profesional sanitario autorizado diagnostica inicialmente al sujeto, y sugiere, recomienda o prescribe un régimen para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico mediante la administración del/de los compuesto(s) o composiciones de la invención.
- 50
- 55 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" es la cantidad del compuesto de la invención que logrará el objetivo de mejora de la gravedad del trastorno y la frecuencia de incidencia. La mejora en la gravedad del trastorno incluye, por ejemplo, prevención de la acumulación de colesterol en las paredes de los vasos aumentando los niveles en sangre de HDL-colesterol, la reversión de la aterosclerosis, así como la ralentización de la evolución de la aterosclerosis.

Tal como se usa en el presente documento, el término “sujeto” se pretende que signifique un ser humano u otro mamífero, que presenta, o corre el riesgo de desarrollar aterosclerosis. Un individuo de este tipo puede tener, o correr el riesgo de desarrollar, por ejemplo, aterosclerosis asociada con estados tales como trombosis, enfermedad cardiaca coronaria, alta tensión arterial, síndrome de deficiencia de LCAT, enfermedad de Alzheimer, opacidad corneal, síndrome metabólico, dislipidemia, infarto de miocardio, ictus, isquemia crítica de las extremidades, angina y similares. Se conocen indicaciones clínicas y de pronóstico de estos estados en la técnica.

II. Compuestos de LCAT

La invención proporciona composiciones farmacéuticas y compuestos para su uso en el tratamiento de aterosclerosis y para la disminución o la prevención de acumulación de colesterol en un sujeto mediante la modificación del polipéptido LCAT. En un aspecto, el LCAT modificado puede obtenerse mediante activación usando compuestos de molécula pequeña de la invención.

Se conocen en la técnica ensayos para determinar la actividad de LCAT, estabilidad en plasma (semivida de la enzima en el plasma) o los niveles de proteína LCAT en el plasma. Pueden determinarse la actividad de LCAT absoluta en el suero y la tasa de esterificación de colesterol endógeno tal como se describe, por ejemplo, en Albers J. *et al.* (1986) *Methods in Enzymol.* 129: 763-783; Dobiasova M. *et al.* (1983) *Adv. Lipid Res.* 20: 107-194. En un aspecto, puede determinarse la actividad de LCAT midiendo la conversión de colesterol radiomarcado en éster de colesterol después de la incubación de LCAT y sustratos de LCAT radiomarcados que contienen Apo A-I. Puede medirse la tasa de esterificación de colesterol (nmol de EC /ml por hora) determinando la tasa de conversión de colesterol marcado en éster de colesterol después de la incubación de plasma que se somete a radiomarcado con una cantidad traza de colesterol radiactivo mediante equilibración con una mezcla de [¹⁴C]-colesterol-albúmina a 4°C. La tasa de esterificación de colesterol endógeno (tal como se determina con el ensayo de la actividad de LCAT en plasma) se refleja no sólo en la masa de LCAT sino también en la naturaleza y la cantidad de cofactor y sustrato de LCAT presente en el suero, y por tanto proporciona una mejor medida de la actividad de LCAT terapéutica.

También se conocen en la técnica ensayos para medir la estabilidad de LCAT (semivida) en la sangre y la concentración de proteína LCAT en el plasma. Después de la administración, pueden determinarse los niveles de proteína LCAT recombinante en el plasma usando ELISA descrito por JR Crowther (ELISA theory and practice, methods in molecular Biology Volumen 42). Los reactivos para medir la estabilidad de LCAT y la concentración de la proteína incluyen anticuerpos anti-LCAT, que están disponibles comercialmente de varios proveedores. Se facilitan a continuación ejemplos de uso de este ensayo para determinar la actividad y/o la estabilidad de LCAT modificado

Compuestos de la invención

Generalmente, la referencia a un determinado elemento tal como hidrógeno o H pretende que incluya todos los isótopos de ese elemento. Por ejemplo, si se define que un grupo R incluye hidrógeno o H, también incluye deuterio y tritio. Los compuestos que comprenden radioisótopos tales como tritio, ¹⁴C, ³²P y ³⁵S están por tanto dentro del alcance de la invención. Los procedimientos para insertar marcadores de este tipo en los compuestos de la invención resultarán inmediatamente evidentes a los expertos en la técnica basándose en la descripción en el presente documento.

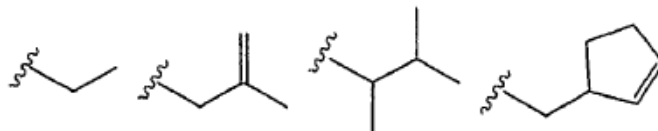
En general, “sustituido” tal como se usa en el presente documento se refiere a un grupo, tal como los definidos a continuación, en los que se sustituyen uno o más enlaces a un átomo de hidrógeno contenido en el mismo por un enlace a átomos distintos de hidrógeno o distintos de carbono tales como, pero sin limitarse a, un átomo de halógeno tal como F, Cl, Br y I; un átomo de oxígeno en grupos tales como grupos hidroxilo, un átomo de nitrógeno en grupos tales como aminas, amidas, alquilaminas, dialquilaminas, arilaminas, alquilarilaminas, diarilaminas, N-óxidos.

Los sustituyentes, incluyendo grupos alquilo y de anillo, pueden ser o bien monovalentes o polivalentes dependiendo del contexto de su utilización. Por ejemplo, si la descripción contenía el grupo R¹-R²-R³ y R² se definió como alquilo C₁₋₆, entonces el alquilo R² se consideraría polivalente porque debe estar unido a al menos R¹ y R³. Alternativamente, si R¹ se definió como alquilo C₁₋₆, entonces el alquilo R¹ se consideraría monovalente (a excepción de cualquier lenguaje de sustitución adicional).

En general, “no sustituido” tal como se usa en el presente documento con referencia a un grupo, significa que el grupo no tiene uno o más enlaces a un átomo de hidrógeno o carbono contenido en el mismo sustituido por un enlace a un átomo distinto de hidrógeno o distinto de carbono, tal como se describió anteriormente.

En general, “alquilo” tal como se usa en el presente documento o bien solo o bien dentro de otros términos tales como “haloalquilo”, “alquilamino” y “cicloalquilo”, se refiere a radicales lineales, ramificados o cíclicos que tienen de uno a aproximadamente doce átomos de carbono. “Cicloalquilo” también se usa de manera exclusiva en el presente documento para hacer referencia específicamente a radicales alquilo cíclicos total o parcialmente saturados. Los ejemplos de radicales “alquilo” incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, isoamilo, hexilo, ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo y similares.

En general, "alquilo C_{a-b}" tal como se usa en el presente documento se refiere a un grupo alquilo que comprende desde a hasta b átomos de carbono en una relación ramificada, cíclica o lineal o cualquier combinación de las tres. Los grupos alquilo descritos en esta sección también contienen dobles y triples enlaces. Los ejemplos de alquilo C₁₋₈ incluyen los siguientes:



5

En general, "halógeno" y "halo" tal como se usan en el presente documento, se refieren a átomos de halógeno seleccionados de F, Cl, Br y I.

En general, "haloalquilo", tal como se usa en el presente documento se refiere a radicales en los que uno cualquiera o más de los átomos de carbono de alquilo está sustituido con halo tal como se definió anteriormente. Están abarcados específicamente los radicales monohaloalquilo, dihaloalquilo y polihaloalquilo incluyendo perhaloalquilo. Un radical monohaloalquilo, por ejemplo, puede tener o bien un átomo de yodo, bromo, cloro o flúor dentro del radical. Los radicales dihalo y polihaloalquilo pueden tener dos o más de los mismo átomos de halógeno o una combinación de diferentes radicales halo. Los ejemplos de radicales haloalquilo incluyen fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, clorometilo, diclorometilo, triclorometilo, pentafluoroetilo, heptafluoropropilo, difluoroclorometilo, diclorofluorometilo, difluoroetilo, difluoropropilo, dicloroetilo y dicloropropilo.

15

En general, "haloalquilo C_{a-b}" tal como se usa en el presente documento se refiere a un grupo alquilo, tal como se describió anteriormente, en el que cualquier número, pero al menos uno de los átomos de hidrógeno unidos a la cadena de alquilo se sustituye por F, Cl, Br o I. Los ejemplos de haloalquilo incluyen, sin limitación, trifluorometilo, pentafluoroetilo y similares.

20

En general, "heteroalquilo" tal como se usa en el presente documento se refiere a un alquilo que tiene uno o más de los átomos de carbono sustituidos por un heteroátomo, seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre. Por ejemplo, un heteroalquilo incluiría una cadena de tioéter o éter, o un resto alcóxido, en el que el heteroátomo está en la región lineal del resto. La expresión también incluye restos en los que el heteroátomo está en una región ramificada. Por ejemplo, la expresión incluye 2-amino-n-hexano o 5-hidroxi-pentano.

25

En general, "hidroxialquilo" tal como se usa en el presente documento se refiere a radicales alquilo lineales o ramificados que tienen de uno a aproximadamente diez átomos de carbono, pudiendo estar uno cualquiera sustituido con uno o más radicales hidroxilo. Los ejemplos de tales radicales incluyen hidroximetilo, hidroxietilo, hidroxipropilo, hidroxibutilo e hidroxihexilo.

30

En general, "alcoxilo" tal como se usa en el presente documento se refiere a radicales que contienen oxi lineales o ramificados que tienen cada uno partes de alquilo de uno a aproximadamente diez átomos de carbono. Los ejemplos de tales radicales incluyen metoxilo, etoxilo, propoxilo, butoxilo y terc-butoxilo. Los radicales alcoxilo pueden estar sustituidos adicionalmente con uno o más átomos de halógeno, tales como flúor, cloro o bromo, para proporcionar radicales "haloalcoxilo". Los ejemplos de radicales haloalcoxilo inferiores que tienen de uno a tres átomos de carbono incluyen fluorometoxilo, clorometoxilo, trifluorometoxilo, trifluoroetoxilo, fluoroetoxilo y fluoropropoxilo.

35

En general, "sulfonilo", tal como se usa en el presente documento ya sea solo o unido a otros términos tales como alquilsulfonilo, se refiere a radicales divalentes -SO₂-.

40

En general, "arilo", tal como se usa en el presente documento solo o en combinación, se refiere a un sistema aromático carbocíclico que contiene uno, dos o tres anillos en los que tales anillos pueden unirse entre sí de manera condensada. El término "arilo" incluye radicales aromáticos tales como fenilo, naftilo, indenilo, tetrahidronaftilo e indanilo. El grupo "arilo" puede tener de 1 a 3 sustituyentes tales como alquilo, hidroxilo, halo, haloalquilo, nitro, ciano, alcoxilo y alquilamino. "Arilo" también incluye el resto en el que el carbociclo aromático se condensa con un puente cicloalquilo C₃₋₆, en el que el puente incluye opcionalmente 1, 2 ó 3 heteroátomos seleccionados de N, O y S. Por ejemplo, fenilo sustituido con -O-CH₂-O- forma el sustituyente de arilo benzodioxolilo.

45

"Saturado o insaturado" significa un sustituyente que está completamente saturado, completamente insaturado, o tiene cualquier grado de insaturación entremedias. Los ejemplos de carbociclo de anillo de 6 miembros saturado o insaturado incluirían fenilo, ciclohexilo, ciclohexenilo y ciclohexadienilo.

50

En general, "sal" se refiere a una forma de sal de un compuesto de base libre de la presente invención, tal como apreciarán los expertos habituales en la técnica. Las sales pueden prepararse mediante medios convencionales, conocidos por los expertos en la técnica. En general, "farmacéuticamente aceptable", cuando se usa en referencia a una sal, se refiere a formas de sal de un compuesto dado, que se encuentran dentro de las directrices de seguridad normativas gubernamentales para la ingestión y/o la administración a un sujeto. La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" abarca las sales usadas comúnmente para formar sales de metales alcalinos y para

formar sales de adición de ácidos libres o bases libres. La naturaleza de la sal no es crítica, siempre que sea farmacéuticamente aceptable. Algunos ejemplos específicos son acetato; trifluoroacetato; hidroháluros, tales como clorhidrato y bromhidrato; sulfato; citrato; tartrato; glicolato; y oxalato.

5 Las sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I pueden prepararse a partir de un ácido inorgánico o a partir de un ácido orgánico. Los ejemplos de tales ácidos inorgánicos son ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, carbónico, sulfúrico y fosfórico. Los ácidos orgánicos apropiados pueden seleccionarse de las clases alifática, cicloalifática, aromática, arilalifática, heterocíclica, carboxílica y sulfónica de los ácidos orgánicos, ejemplos de los cuales son ácido fórmico, acético, adípico, butírico, propiónico, succínico, glicólico, glucónico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, glucurónico, maleico, fumárico, pirúvico, aspártico, glutámico, benzoico, antranílico, mesílico, 4-hidroxibenzoico, fenilacético, mandélico, embónico (pamoico), metanosulfónico, etanosulfónico, etanodisulfónico, bencenosulfónico, pantoténico, 2-hidroxietanosulfónico, toluenosulfónico, sulfanílico, ciclohexilaminosulfónico, canfórico, canforsulfónico, diglucónico, ciclopentanopropiónico, dodecilsulfónico, glucoheptanoico, glicerofosfónico, heptanoico, hexanoico, 2-hidroxi-etanosulfónico, nicotínico, 2-naftalenesulfónico, oxálico, palmoico, pectínico, persulfúrico, 2-fenilpropiónico, pícrico, piválico, propiónico, succínico, tartárico, tiocianico, mesílico, undecanoico, esteárico, algénico, β -hidroxibutírico, salicílico, galactárico y galacturónico.

10 Las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I incluyen sales metálicas, tales como sales preparadas a partir de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc, o sales preparadas a partir de bases orgánicas incluyendo aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas incluyendo aminas cíclicas, tales como cafeína, arginina, dietilamina, N-etilpiperidina, aistidina, glucamina, isopropilamina, lisina, morfina, N-etilmorfina, piperazina, piperidina, trietilamina, trimetilamina.

15 Pueden encontrarse ejemplos adicionales de sales de adición de ácidos y bases de este tipo en Berge *et al.*, J. Pharm. Sci., 66, 1 (1977). Todas estas sales pueden prepararse mediante medios convencionales a partir del compuesto de la invención correspondiente haciendo reaccionar, por ejemplo, el ácido o la base apropiados con el compuesto de fórmula I.

25 También, los grupos que contienen nitrógeno básicos de los compuestos de fórmula I pueden cuaternizarse con agentes tales como haluros de alquilo inferior incluyendo, cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo; sulfatos de dialquilo incluyendo los sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo y diamilo, haluros de cadena larga tales como cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo, haluros de aralquilo como los bromuros de bencilo y fenetilo, y otros. Pueden obtenerse productos dispersables o solubles en agua o aceite mediante la cuaternización de tales grupos de nitrógeno básicos en los compuestos de fórmula I.

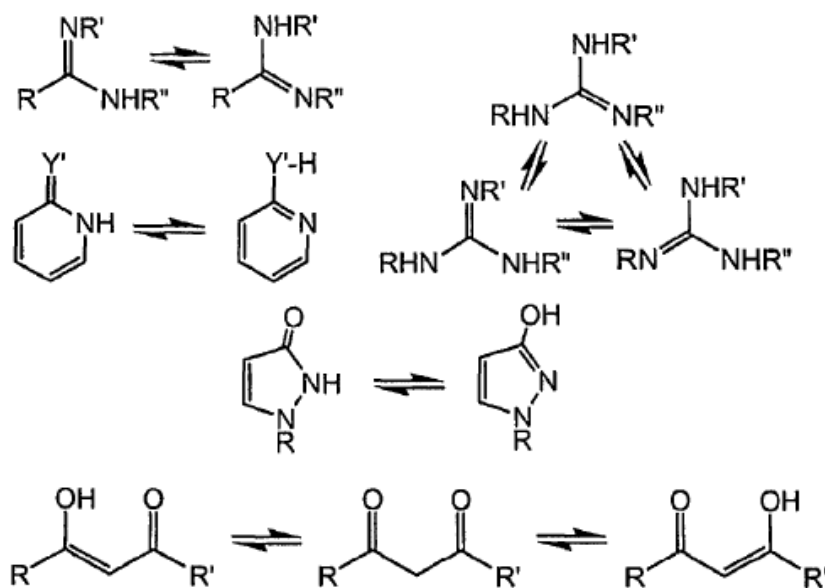
30 En general, "grupo saliente" tal como se usa en el presente documento, se refiere a grupos fácilmente desplazables por un nucleófilo, tal como un nucleófilo de amina, un tiol o un alcohol. Tales grupos salientes se conocen bien en la técnica. Los ejemplos de tales grupos salientes incluyen N-hidroxisuccinimida, N-hidroxibenzotriazol, haluros, triflatos, tosilatos y similares. Se indican grupos salientes a modo de ejemplo en el presente documento cuando resulta apropiado.

35 En general, "grupo protector" tal como se usa en el presente documento, se refiere a grupos bien conocidos en la técnica que se usan para impedir que grupos reactivos seleccionados, tales como carboxilo, amino, hidroxilo, mercapto y similares, experimenten reacciones no deseadas, tales como nucleófilas, electrófilas, de oxidación, de reducción y similares. Se indican grupos protectores a modo de ejemplo en el presente documento cuando resulta apropiado. Los ejemplos de grupos protectores de amino incluyen aralquilo, aralquilo sustituido, cicloalquenilalquilo y cicloalquenilalquilo sustituido, alilo, alilo sustituido, acilo, alcoxicarbonilo, aralcoxicarbonilo, sililo y similares. Los ejemplos de aralquilo incluyen bencilo, orto-metilbencilo, tritilo y benzhidrilo, que pueden estar opcionalmente sustituidos con halógeno, alquilo, alcoxilo, hidroxilo, nitro, acilamino, acilo y similares, y sales, tales como sales de fosfonio y amonio. Los ejemplos de arilo grupos incluyen fenilo, naftilo, indanilo, antracenoilo, 9-(9-fenilfluorenilo), fenantrenilo, durenilo y similares. Los ejemplos de radicales cicloalquenilalquilo o cicloalquilenilalquilo sustituido, por ejemplo los que tienen 6-10 átomos de carbono, incluyen, pero no se limitan a, ciclohexenilmetilo y similares. Los grupos acilo, alcoxicarbonilo y aralcoxicarbonilo adecuados incluyen benciloxicarbonilo, t-butoxicarbonilo, isobutoxicarbonilo, benzoílo, benzoílo sustituido, butirilo, acetilo, tri-fluoroacetilo, tri-cloroacetilo, ftaloílo y similares. Puede usarse una mezcla de grupos protectores para proteger el mismo grupo amino, tal como un grupo amino primario puede protegerse mediante tanto un grupo aralquilo como un grupo aralcoxicarbonilo. Los grupos protectores de amino también pueden formar un anillo heterocíclico con el nitrógeno al que están unidos, por ejemplo, 1,2-bis(metilen)benzeno, ftalimidilo, succinimidilo, maleimidilo y similares y en los que estos grupos heterocíclicos pueden incluir además anillos de arilo y cicloalquilo vecinos. Además, los grupos heterocíclicos pueden ser mono-, di- o tri-sustituidos, tales como nitroftalimidilo. Los grupos amino también pueden protegerse frente a reacciones no deseadas, tales como oxidación, a través de la formación de una sal de adición, tal como clorhidrato, ácido toluenosulfónico, ácido trifluoroacético y similares. Muchos de los grupos protectores de amino, que incluyen grupos aralquilo por ejemplo, son también adecuados para proteger grupos carboxilo, hidroxilo y mercapto. Los grupos alquilo son también grupos adecuados para proteger grupos hidroxilo y mercapto, tales como terc-butilo.

Los grupos protectores de sililo son grupos que contienen átomos de silicio que están opcionalmente sustituidos con uno o más grupos alquilo, arilo y aralquilo. Los grupos protectores de sililo adecuados incluyen trimetilsililo, trietilsililo, tri-isopropilsililo, terc-butildimetilsililo, dimetilfenilsililo, 1,2-bis(dimetilsilil)benceno, 1,2-bis(dimetilsilil)etano y difenilmetsililo. La sililación de un grupo amino proporciona grupos mono- o di-sililamino. La sililación de compuestos de aminoalcohol puede conducir a un derivado de N,N,O-tri-sililo. La eliminación de la función sililo de una función silil éter se logra fácilmente mediante tratamiento con, por ejemplo, un reactivo de fluoruro de amonio o hidróxido de metal, o bien como una etapa de reacción diferenciada o bien *in situ* durante una reacción con el grupo alcohol. Son agentes de sililación adecuados, por ejemplo, cloruro de trimetilsililo, cloruro de terc-butil-dimetilsililo, cloruro de fenildimetilsililo, cloruro de difenilmetsililo o sus productos de combinación con imidazol o DMF. Los expertos en la técnica conocen bien métodos para la sililación de aminas y la eliminación de grupos protectores de sililo. Los expertos en la técnica de la química orgánica también conocen bien métodos de preparación de estos derivados de amina a partir de los correspondientes aminoácidos, amidas de aminoácido o ésteres de aminoácido incluyendo la química de aminoalcoholes o ésteres de aminoácido/aminoácido.

Los grupos protectores se eliminan en condiciones que no afectará a la parte restante de la molécula. Estos métodos se conocen bien en la técnica e incluyen hidrólisis ácida, hidrogenólisis y similares. Un método implica la eliminación de un grupo protector, tal como la eliminación de un grupo benciloxycarbonilo mediante hidrogenólisis utilizando paladio sobre carbono en un sistema de disolventes adecuado tal como un alcohol, ácido acético, y similares o mezclas de los mismos. Puede eliminarse un grupo protector de t-butoxicarbonilo utilizando un ácido inorgánico u orgánico, tal como HCl o ácido trifluoroacético, en un sistema de disolventes adecuado, tal como dioxano o cloruro de metileno. La aminosal resultante puede neutralizarse fácilmente para producir la amina libre. Puede eliminarse un grupo protector de carboxilo, tal como metilo, etilo, bencilo, terc-butilo, 4-metoxifenilmetilo y similares, con condiciones de hidrólisis e hidrogenólisis bien conocidas por los expertos en la técnica.

Debe observarse que los compuestos de la invención pueden contener grupos que pueden existir en formas tautoméricas, tales como grupos amidina y guanidina cíclicos y acíclicos, grupos heteroarilo sustituidos con heteroátomos ($Y' = O, S, NR$), y similares, que se ilustran en los siguientes ejemplos:



y aunque se nombra, describe, presenta y/o reivindica una forma en el presente documento, se pretende que todas las formas tautoméricas estén incluidas de forma inherente en tal nombre, descripción, presentación y/o reivindicación.

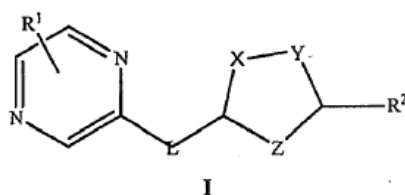
30 A. Derivados

En general, "estereoisómero" tal como se usa en el presente documento se refiere a un compuesto que tiene uno o más centros asimétricos. Los centros quirales en un compuesto hacen generalmente que un compuesto exista en muchas conformaciones o estereoisómeros diferentes. El término "estereoisómeros" incluye enantiómeros, diastereómeros, atropisómeros e isómeros geométricos. Los estereoisómeros generalmente tienen diferentes propiedades químicas y/o actividad biológica, tal como apreciarán los expertos en la técnica. Por ejemplo, un estereoisómero puede ser más activo y/o puede presentar efectos beneficiosos en comparación con otro(s) estereoisómero(s) o cuando está separado del/de los otro(s) estereoisómero(s). Sin embargo, está bastante dentro de los conocimientos del experto habitual separar, y/o preparar selectivamente dichos estereoisómeros. Por consiguiente, los "estereoisómeros" de la presente invención incluyen necesariamente mezclas de estereoisómeros,


incluyendo mezclas racémicas, estereoisómeros individuales y formas ópticamente activas.

En general, "solvato" cuando se usa con referencia a un compuesto se refiere a un compuesto, que está asociado con una o más moléculas de un disolvente, tal como un disolvente orgánico, disolvente inorgánico, disolvente acuoso o mezclas de los mismos. Los compuestos de fórmula I también pueden solvatar, especialmente hidratarse. La hidratación puede producirse durante la fabricación de los compuestos o las composiciones que comprenden los compuestos, o la hidratación puede producirse con el tiempo debido a la naturaleza higroscópica de los compuestos. Los compuestos de la invención pueden existir también como solvatos orgánicos, incluyendo solvatos de DMF, éter y alcohol entre otros. La identificación y la preparación de cualquier solvato particular está dentro de los conocimientos del experto habitual de la química orgánica de síntesis o química médica.

10 Compuestos para su uso en la presente invención son los compuestos de fórmula I



o un estereómero, un tautómero, un solvato, una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en los que X, Y y

Z se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -N=, -S-, -CH= y , siempre que al menos dos de X, Y y Z no sean -S-, y siempre que no más de uno de X, Y y Z sea -CH=; L es -S-, -S(O)-, o -S(O)₂-;

15 R¹ se selecciona del grupo que consiste en CN, COOR⁵, SO₂R⁶ y halógeno;

R² se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₁₂ opcionalmente sustituido, alqueno C₁-C₁₂ opcionalmente sustituido, alquino C₁-C₈ opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido y heteroarilo opcionalmente sustituido, y SR³, en los que los sustituyentes se seleccionan del grupo que consiste en alquilo C₁-C₄, NH₂, halo y CN; y en los que R³ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₁₂ opcionalmente sustituido, alqueno C₁-C₈ opcionalmente sustituido, alquino C₁-C₈ opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido y heteroarilo opcionalmente sustituido, en los que los sustituyentes se seleccionan del grupo que consiste en NH₂, halo y CN;

R⁴ es H o alquilo C₁-C₈;

R⁵ y R⁶ son cada uno independientemente alquilo C₁-C₄.

25 En un aspecto, X e Y son cada uno -N=.

En otro aspecto, Z es -S-.

En un aspecto adicional, L es -S-.

En un aspecto, R¹ es CN.

En otro aspecto, R² es SR³. R³ puede ser alquilo C₁-C₄, por ejemplo, metilo.

30 En un aspecto, la invención contempla el uso de los siguientes compuestos:

3-(5-(Metiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo;

3-(5-(Etiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo;

3-(5-(Aliltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo;

3-(5-(Propiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo;

35 3-(5-(Butiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo;

3-(5-(Isobutiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo;

3-(5-(Pentiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo;

3-(5-(Dodeciltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo;

- 3-(5-(Benciltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo;
 3-(5-Mercapto-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo;
 3-(5-(Isopropiltio)-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-iltio)pirazin-2-carbonitrilo;
 3-(5-(Metiltio)-1,2,4-tiadiazol-3-iltio)pirazin-2-carbonitrilo;
 5 3-(5-Metil-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo;
 3-(5-Butil-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo;
 3-(4-Metil-4H-1,2,4-triazol-3-iltio)pirazin-2-carbonitrilo;
 3-(1-Metil-1H-imidazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo;
 2-Cloro-3-(5-(metiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazina

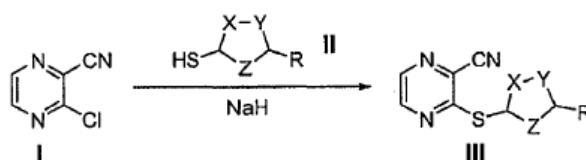
10 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Preparación de los compuestos

15 Los compuestos de la presente invención pueden prepararse usando métodos sintéticos convencionales. A modo de ejemplo, el esquema 1 ilustra métodos para la preparación de compuestos de fórmula estructural (III). Un experto en la técnica entenderá que pueden usarse métodos similares para la síntesis de compuestos en las otras clases estructurales.

20 Tal como se muestra en el esquema 1, los compuestos de la presente invención pueden prepararse partiendo del 2-cloropirazincarbonitrilo (I) disponibles comercialmente. El tratamiento de I con un tiol, tal como II en presencia de base tal como NaH, K₂CO₃ o CsCO₃ en un disolvente adecuado tal como THF, DMF o DMSO proporciona el aducto (III). La oxidación del grupo tio en III con, por ejemplo, H₂O₂, Oxone o MnO₂ proporcionará el derivado de sulfona o sulfóxido. Alternativamente, pueden emplearse otros agentes oxidantes tal como se describe en March, J; Advanced Organic Chemistry, 5ª ed., John Wiley & Sons, Nueva York, págs. 1541 (2001).

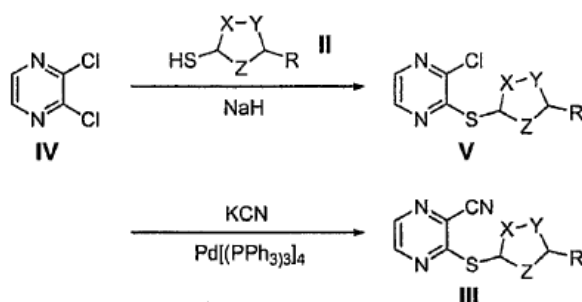
Esquema 1



25 Otros compuestos de la presente invención pueden prepararse partiendo de la 2,3-dicloropirazina IV tal como se muestra en el esquema 2. El tratamiento de IV con un tiol, tal como II en presencia de base tal como NaH, K₂CO₃ o CsCO₃ en un disolvente adecuado tal como THF, DMF o DMSO proporciona el aducto V. El compuesto V también puede convertirse en compuestos de fórmula III mediante tratamiento con, por ejemplo, cianuro de potasio o cianuro de zinc en presencia de un catalizador de paladio en un disolvente adecuado tal como THF o DMF (véase por ejemplo Y. Akita *et al*, Synthesis, 974, (1981)).

30

Esquema 2



La preparación de los compuestos de la invención se describe en más detalle en los ejemplos a continuación.

III. Composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de la invención y usos médicos

Aunque puede ser posible administrar los compuestos de la invención solos, en los usos médicos descritos, el compuesto administrado está presente generalmente como principio activo en una formulación de dosificación unitaria deseada, tal como una composición farmacéuticamente aceptable que contiene portadores farmacéuticamente aceptables convencionales. Por tanto, en otro aspecto de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de esta invención en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable. Los portadores farmacéuticamente aceptables generalmente incluyen diluyentes, excipientes, adyuvantes y similares tal como se describen en el presente documento.

Una composición farmacéutica de la invención puede comprender una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una cantidad de dosificación eficaz de un compuesto de la invención. Una cantidad de dosificación eficaz de un compuesto de la invención incluye una cantidad menor que, igual a o mayor que una cantidad eficaz del compuesto. Por ejemplo, una composición farmacéutica en la que se requieren dos o más dosificaciones unitarias, tales como en comprimidos, cápsulas y similares, para administrar una cantidad eficaz del compuesto, o alternativamente, una composición farmacéutica de dosis múltiples, tal como polvos, líquidos y similares, en la que puede administrarse una cantidad eficaz del compuesto mediante la administración de una parte de la composición. "Dosificación unitaria" se define como una cantidad diferenciada de una composición terapéutica dispersa en un portador adecuado. Los expertos habituales en la técnica optimizarán fácilmente las dosificaciones eficaces y los regímenes de administración adecuados tal como se determina mediante una buena práctica médica y el estado clínico del paciente individual.

Las composiciones farmacéuticas generalmente pueden prepararse mediante mezclado de uno o más compuestos de fórmula I incluyendo estereoisómeros o tautómeros, solvatos, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, con portadores, excipientes, aglutinantes, adyuvantes, diluyentes farmacéuticamente aceptables y similares, para formar una formulación administrable deseada para tratar o mejorar aterosclerosis.

Las composiciones farmacéuticas generalmente pueden prepararse mediante el mezclado de uno o más compuestos de LCAT con uno o más portadores, excipientes, aglutinantes, adyuvantes, diluyentes, conservantes, solubilizadores, emulsionantes farmacéuticamente aceptables, y similares, para formar una formulación administrable deseada para tratar o mejorar una variedad de enfermedades. Las composiciones de este tipo incluyen diluyentes de diverso contenido de tampón (por ejemplo, Tris-HCl, acetato, fosfato), pH y fuerza iónica; aditivos tales como detergentes y agentes de solubilización (por ejemplo, Tween 80, polisorbato 80), antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico, metabisulfito de sodio), conservantes (por ejemplo, Thimersol, alcohol bencílico) y sustancias de carga (por ejemplo, lactosa, manitol); incorporación del material en preparaciones particuladas de compuestos poliméricos tales como poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), etc. o en liposomas. También puede usarse ácido hialurónico, y esto puede tener el efecto de promover la duración sostenida en la circulación. Las composiciones de este tipo pueden influir en el estado físico, la estabilidad, tasa de liberación *in vivo* y la tasa de aclaramiento *in vivo* de las proteínas y derivados presentes. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Ed. (1990, Mack Publishing Co., Easton, PA 18042) páginas 1435-1712. Las composiciones pueden prepararse en forma líquida, o pueden ser en polvo seco, tal como en forma liofilizada. También se contemplan formulaciones de liberación sostenida implantables, como son las formulaciones transdérmicas.

Las composiciones farmacéuticas pueden someterse a operaciones farmacéuticas convencionales tales como esterilización y/o pueden contener adyuvantes convencionales, tales como conservantes, estabilizadores, agentes humectantes, emulsionantes, tampones, etc. Los compuestos farmacéuticamente activos de esta invención pueden procesarse según métodos convencionales de la farmacia para producir agentes farmacéuticos para la administración a los pacientes, incluyendo seres humanos y otros mamíferos.

Las composiciones farmacéuticas pueden fabricarse mediante métodos bien conocidos en la técnica tales como procesos convencionales de granulación, mezclado, disolución, encapsulación, liofilización, emulsionamiento o levigación, entre otros. Las composiciones pueden estar en forma de, por ejemplo, gránulos, polvos, comprimidos, cápsulas, jarabe, supositorios, inyecciones, emulsiones, elixires, suspensiones o disoluciones. Las presentes composiciones pueden formularse para diversas vías de administración, por ejemplo, mediante administración oral, mediante administración transmucosa (incluyendo administración pulmonar y nasal), administración parenteral (incluyendo administración subcutánea), administración transdérmica (tópica) o mediante administración rectal, así como inyección intratecal, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intranasal, intraocular o intraventricular. El compuesto o compuestos de la presente invención también puede(n) administrarse de un modo local más que sistémico, tal como inyección como formulación de liberación sostenida.

Además de las formas de dosificación representativas descritas en el presente documento, generalmente son conocidos excipientes y portadores farmacéuticamente aceptables por los expertos en la técnica y por tanto están incluidos en la presente invención. Se describen tales excipientes y portadores de este tipo, por ejemplo, en "Remingtons Pharmaceutical Sciences" Mack Pub. Co., Nueva Jersey (2000); y "Pharmaceutics The Science of Dosage Form Design, 2ª Ed. (Aulton, ed.) Churchill Livingstone (2002).

A. Administración oral

5 Para la administración oral, bucal y sublingual, los polvos, las suspensiones, los gránulos, los comprimidos, las píldoras, las cápsulas, las cápsulas de gel, los trociscos o las pastillas para chupar, los sellos, los microgránulos y los comprimidos oblongos son aceptables como formas de dosificación sólidas (y de dosificación unitaria) y se describen generalmente en el Capítulo 89 de Remington's Pharmaceutical Sciences (1990), 18ª Ed., Mack Publishing Co. Easton PA 18042. Las formas de dosificación sólidas también incluyen encapsulación liposomal o proteinoide (por ejemplo, las microesferas proteínoides notificadas en la patente estadounidense n.º 4.925.673).
 10 Puede usarse la encapsulación liposomal y los liposomas pueden derivatizarse con diversos polímeros (por ejemplo, la patente estadounidense n.º 5.013.556). Se facilita una descripción de posibles formas de dosificación sólidas para los agentes terapéuticos en el Capítulo 10 de Marshall, K., Modern Pharmaceutics (1979), editado por G. S. Banker y C. T. Rhodes. En general, la formulación incluye el compuesto de LCAT, y componentes inertes que permiten la protección frente al entorno del estómago y la liberación del material biológicamente activo en el intestino.

15 Para las formas de dosificación de administración oral, también es posible usar una sal de un aminoácido alifático modificado, tal como N-(8-[2-hidroxibenzoil]amino)caprilato de sodio (SNAC), como portador para potenciar la absorción de los compuestos terapéuticos de esta invención. Se ha demostrado la eficacia clínica de una formulación de heparina usando SNAC en un ensayo de fase II llevado a cabo por Emisphere Technologies. Véase la patente estadounidense n.º 5.792.451, "Oral drug delivery composition and methods".

20 Los compuestos de esta invención pueden incluirse en la formulación como materiales multiparticulados finos en forma de gránulos o microgránulos de un tamaño de partícula de aproximadamente 1 mm. La formulación del material para la administración en cápsulas también podría ser como un polvo, tapones ligeramente comprimidos o incluso como comprimidos. El agente terapéutico podría prepararse mediante compresión.

25 Las composiciones farmacéuticas orales contempladas pueden prepararse, por ejemplo, mezclando uno o más compuestos de la presente invención, o estereoisómeros, solvatos, profármacos, sales farmacéuticamente aceptables o tautómeros de los mismos, con al menos un aditivo o excipiente tal como un almidón u otro aditivo y prepararse como comprimidos, encapsularse o prepararse en otras formas deseables para la administración convencional. Aditivos o excipientes adecuados son sacarosa, lactosa, azúcar de celulosa, manitol, maltitol, dextrano, sorbitol, almidón, agar, alginatos, quitinas, quitosanos, pectinas, goma tragacanto, goma arábiga, gelatinas, colágenos, caseína, albúmina, glicéridos o polímeros sintéticos o semisintéticos, metilcelulosa, hidroxipropilmetil-celulosa y/o polivinilpirrolidona. Opcionalmente, las formas de dosificación oral pueden contener otros componentes para ayudar a la administración, tal como un diluyente inactivo, o lubricantes tales como estearato de magnesio, o conservantes tales como parabeno o ácido sórbico, o antioxidantes tales como ácido ascórbico, tocoferol o cisteína, un agente disgregante, aglutinantes, espesantes, tampones, edulcorantes, agentes aromatizantes o agentes perfumantes. Adicionalmente, pueden añadirse materias colorantes o pigmentos para la identificación. Los comprimidos y las píldoras pueden tratarse adicionalmente con materiales de recubrimiento adecuados conocidos en la técnica.

35 Las formas de dosificación líquidas para la administración oral pueden estar en forma de emulsiones, jarabes, elixires, suspensiones, suspensiones espesas y disoluciones farmacéuticamente aceptables, que pueden contener un diluyente inactivo, tal como agua. Las formulaciones farmacéuticas pueden prepararse como suspensiones o disoluciones líquidas usando un líquido estéril, tal como, pero sin limitarse a, un aceite, agua, un alcohol y combinaciones de los mismos. Pueden añadirse tensioactivos, agentes de suspensión, agentes emulsionantes farmacéuticamente adecuados y similares para la administración oral o parenteral. Más específicamente, diversos aspectos de las composiciones farmacéuticas orales incluyen uno o más de los siguientes aditivos.

40 Los agentes colorantes y aromatizantes pueden estar todos incluidos. Por ejemplo, la proteína (o derivado) puede formularse (tal como mediante encapsulación en liposomas o microesferas) y luego estar contenido además dentro de un producto comestible, tal como una bebida refrigerada que contiene agentes colorantes y aromatizantes.

45 Puede diluirse o aumentarse el volumen del compuesto de la invención con un material inerte. Estos diluyentes podrían incluir hidratos de carbono, especialmente manitol, □-lactosa, lactosa anhidra, celulosa, sacarosa, dextranos modificados y almidón. También pueden usarse determinadas sales inorgánicas como cargas incluyendo trifosfato de calcio, carbonato de mangnesio y cloruro de sodio. Algunos diluyentes disponibles comercialmente son Fast-Flo, Emdex, STA-Rx 1500, Emcompress y Avicell.

50 Pueden incluirse disgregantes en la formulación del agente terapéutico en una forma de dosificación sólida. Los materiales usados como disgregantes incluyen un almidón incluyendo el disgregante comercial basado en almidón, Explotab. También pueden usarse todos de glicolato sódico de almidón, Amberlite, carboximetilcelulosa sódica, ultraamilopectina, alginato de sodio, gelatina, cáscara de naranja, carboximetilcelulosa ácida, esponja natural y bentonita. Otra forma de los disgregantes son las resinas de intercambio catiónico insolubles. Pueden usarse gomas en polvo como disgregantes y como aglutinantes y éstas pueden incluir gomas en polvo tales como agar, goma karaya o goma tragacanto. El ácido algínico y su sal de sodio también son útiles como disgregantes.

55 Pueden usarse aglutinantes para mantener junto el agente terapéutico para formar un comprimido duro e incluyen materiales procedentes de productos naturales tales como goma arábiga, goma tragacanto, almidón y gelatina. Otros incluyen metilcelulosa (MC), etilcelulosa (EC) y carboximetilcelulosa (CMC). También podrían usarse tanto

polivinilpirrolidona (PVP) como hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) en disoluciones alcohólicas para granular el agente terapéutico.

5 Puede incluirse un agente antifricción en la formulación del agente terapéutico para impedir la adhesión durante el proceso de formulación. Pueden usarse lubricantes como una capa entre el agente terapéutico y la pared del troquel, y éstos pueden incluir ácido esteárico incluyendo sus sales de magnesio y calcio, politetrafluoroetileno (PTFE), parafina líquida, ceras y aceites vegetales. También pueden usarse lubricantes solubles tales como laurilsulfato de sodio, laurilsulfato de magnesio, polietilenglicol de diversos pesos moleculares, Carbowax 4000 y 6000.

10 Podrían añadirse deslizantes que podrían mejorar las propiedades de flujo del fármaco durante la formulación y ayudar a la redistribución durante la compresión. Los deslizantes pueden incluir almidón, talco, sílice pirogénica y silicoaluminato hidratado.

15 Para ayudar a la disolución del compuesto de esta invención en el entorno acuoso, podría añadirse un tensioactivo como agente humectante. Los tensioactivos pueden incluir detergentes aniónicos tales como laurilsulfato de sodio, dioctilsulfosuccinato de sodio y dioctilsulfonato de sodio. Podrían usarse detergentes catiónicos y podrían incluir cloruro de benzalconio o cloruro de bencetonio. La lista de posibles detergentes no iónicos que podrían incluirse en la formulación como tensioactivos son lauronomacrogol 400, estearato de polioxilo 40, aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno 10, 50 y 60, monoestearato de glicerol, polisorbato 40, 60, 65 y 80, éster de sacarosa de ácidos grasos, metilcelulosa y carboximetilcelulosa. Estos tensioactivos podrían estar presentes en la formulación de la proteína o derivado o bien solos o bien como una mezcla en diferentes razones.

20 También pueden incluirse aditivos en la formulación para potenciar la captación del compuesto. Aditivos que tienen posiblemente esta propiedad son, por ejemplo, los ácidos grasos ácido oleico, ácido linoleico y ácido linoléico.

25 Puede ser deseable una formulación de liberación controlada. El compuesto de esta invención podría incorporarse en una matriz inerte que permita la liberación mediante mecanismos o bien de difusión o bien de lixiviación por ejemplo, gomas. También pueden incorporarse matrices de degeneración lenta en la formulación, por ejemplo, alginatos, polisacáridos. Otra forma de una liberación controlada de los compuestos de esta invención es mediante un método basado en el sistema terapéutico Oros (Alza Corp.), es decir, el fármaco se encierra en una membrana semipermeable que permite que entre agua y haga salir el fármaco a través de una única abertura pequeña debido a efectos osmóticos. Algunos recubrimientos entéricos también tienen un efecto de liberación retardada.

30 Pueden usarse otros recubrimientos para la formulación. Éstos incluyen una variedad de azúcares que podrían aplicarse en una paila de recubrimiento. El agente terapéutico también podría administrarse en un comprimido recubierto con película y los materiales usados en este caso se dividen en 2 grupos. El primero son los materiales no entéricos e incluyen metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, metilhidroxi-etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropil-metilcelulosa, carboxi-metilcelulosa sódica, povidona y los polietilenglicoles. El segundo grupo consiste en los materiales entéricos que son comúnmente ésteres del ácido ftálico.

35 Podría usarse una mezcla de materiales para proporcionar el recubrimiento con película óptimo. Puede llevarse a cabo el recubrimiento con película en una recubridora de paila o en un lecho fluidizado o mediante recubrimiento por compresión.

B. Formas de administración pulmonar

40 También se contempla en el presente documento la administración pulmonar del presente compuesto para su uso. El compuesto para su uso se suministra a los pulmones de un mamífero mientras se inhala y atraviesa el revestimiento epitelial del pulmón hasta el torrente sanguíneo. (Otros informes de esto incluyen Adjei *et al.*, *Pharma. Res.* (1990) 7: 565-9; Adjei *et al.* (1990), *Internatl. J. Pharmaceutics* 63: 135-44 (acetato de leuprolide); Braquet *et al.* (1989), *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 13 (suppl.5); s.143-146 (endotelina-1); Hubbard *et al.* (1989), *Annals Int. Med.* 3: 206-12 (α 1-antitripsina); Smith *et al.* (1989), *J. Clin. Invest.* 84: 1145-6 (α 1-proteinasa); Oswein *et al.* (marzo de 1990), "Aerosolization of Proteins", *Proc. Symp. Resp. Drug Delivery II*, Keystone, Colorado (hormona de crecimiento humana recombinante); Debs *et al.* (1988), *J. Immunol.* 140: 3482-8 (interferón- γ y factor de necrosis tumoral α) y Platz *et al.*, patente estadounidense n.º 5.284.656 (factor estimulante de colonias de granulocitos).

50 Está contemplada para su uso en la práctica de esta invención una amplia gama de dispositivos mecánicos diseñados para la administración pulmonar de productos terapéuticos, incluyendo pero sin limitarse a nebulizadores, inhaladores de dosis medida e inhaladores de polvo, estando familiarizados los expertos en la técnica con todos ellos. Algunos ejemplos específicos de dispositivos disponibles comercialmente adecuados para la práctica de esta invención son el nebulizador Ultravent, fabricado por Mallinckrodt, Inc., St. Louis, Missouri; el nebulizador Acorn II, fabricado por Marquest Medical Products, Englewood, Colorado; el inhalador de dosis medida Ventolin, fabricado por Glaxo Inc., Research Triangle Park, North Carolina; y el inhalador de polvo Spinhaler, fabricado por Fisons Corp., Bedford, Massachusetts.

55 Todos los dispositivos de este tipo requieren el uso de formulaciones adecuadas para la dispensación del

compuesto de la invención. Normalmente, cada formulación es específica para el tipo de dispositivo empleado y puede implicar el uso de un material propelente apropiado, además de diluyentes, adyuvantes y/o portadores útiles en terapia.

5 El compuesto de la invención debe prepararse de la manera más ventajosa en forma particulada con un tamaño de partícula promedio inferior a 10 μm (o micras), lo más preferiblemente de 0,5 a 5 μm , para la administración más eficaz a la parte distal del pulmón.

10 Los portadores farmacéuticamente aceptables para la administración pulmonar incluyen hidratos de carbono tales como trehalosa, manitol, xilitol, sacarosa, lactosa y sorbitol. Otros componentes para su uso en las formulaciones pueden incluir DPPC, DOPE, DSPC y DOPC. Pueden usarse tensioactivos naturales o sintéticos. Puede usarse PEG (incluso aparte de su uso en la derivatización de la proteína o análogo). Pueden usarse dextranos, tales como ciclodextrano. Pueden usarse sales biliares y otros potenciadores relacionados. Pueden usarse celulosa y derivados de celulosa. Pueden usarse aminoácidos, tales como su uso en una formulación de tampón.

También se contempla el uso de liposomas, microcápsulas o microesferas, complejos de inclusión u otros tipos de portadores.

15 Las formulaciones adecuadas para su uso con un nebulizador, o bien de chorro o bien ultrasónico, comprenderán normalmente el compuesto de la invención disuelto en agua a una concentración de aproximadamente 0,1 a 25 mg de proteína biológicamente activa por ml de disolución. La formulación también puede incluir un tampón y un azúcar simple (por ejemplo, para la estabilización y la regulación de la presión osmótica). La formulación para nebulizador también puede contener un tensioactivo, para reducir o prevenir la agregación inducida por la superficie de la proteína producida por la atomización de la disolución en la formación del aerosol.

20 Las formulaciones para su uso con un dispositivo de inhalador de dosis medida comprenderán generalmente un polvo finamente dividido que contiene el compuesto inventivo suspendido en un propelente con la ayuda de un tensioactivo. El propelente puede ser cualquier material convencional empleado para este fin, tal como un clorofluorocarbono, un hidroc fluorocarbono, un hidrofluorocarbono o un hidrocarburo, incluyendo triclorofluorometano, diclorodifluorometano, diclorotetrafluoroetano y 1,1,1,2-tetrafluoroetano, o combinaciones de los mismos. Los tensioactivos adecuados incluyen trioleato de sorbitano y lecitina de soja. El ácido oleico también puede ser útil como tensioactivo.

25 Las formulaciones para la dispensación desde un dispositivo de inhalador de polvo comprenderán un polvo seco finamente dividido que contiene el compuesto inventivo y también pueden incluir un agente de carga, tal como lactosa, sorbitol, sacarosa, manitol, trehalosa o xilitol en cantidades que facilitan la dispersión del polvo desde el dispositivo, por ejemplo, del 50 al 90% en peso de la formulación.

C. Administración nasal

30 También se contempla la administración nasal del compuesto inventivo. La administración nasal permite el paso de la proteína al torrente sanguíneo directamente después de la administración del producto terapéutico a la nariz, sin la necesidad de deposición del producto en el pulmón.

Las formulaciones para la administración nasal incluyen aquéllas con dextrano o ciclodextrano. También se contempla la administración mediante el transporte a través de otras membranas mucosas.

40 Para la administración nasal, las formulaciones farmacéuticas pueden ser una pulverización o aerosol que contiene un disolvente apropiado y opcionalmente otros compuestos tales como, pero sin limitarse a, estabilizadores, agentes antimicrobianos, antioxidantes, modificadores del pH, tensioactivos, modificadores de la biodisponibilidad y combinaciones de los mismos. Un propelente para una formulación en aerosol puede incluir aire comprimido, nitrógeno, dióxido de carbono, o un disolvente de bajo punto de ebullición basado en hidrocarburo. El compuesto o compuestos de la presente invención se suministran de forma conveniente en forma de una presentación para pulverización en aerosol desde un nebulizador o similar.

45 D. Administración parenteral

50 Las formas de dosificación inyectables para la administración parenteral generalmente incluyen suspensiones acuosas o suspensiones en aceite, que pueden prepararse usando un dispersante o agente humectante adecuado y un agente de suspensión. Las formas inyectables pueden estar en fase de disolución o ser un polvo adecuado para su reconstitución como una disolución. Ambos se preparan con un disolvente o diluyente. Los disolventes o vehículos aceptables incluyen agua esterilizada, disolución de Ringer, o una solución salina acuosa isotónica. Alternativamente, pueden emplearse aceites estériles como disolventes o agentes de suspensión. Normalmente, el aceite o ácido graso no es volátil, incluyendo aceites naturales o sintéticos, ácidos grasos, mono-, di- o tri-glicéridos. Para inyección, las formulaciones pueden contener opcionalmente estabilizadores, modificadores del pH, tensioactivos, modificadores de la biodisponibilidad y combinaciones de los mismos. Los compuestos pueden formularse para la administración parenteral mediante inyección tal como mediante inyección en bolo o infusión

continua. Una forma de dosificación unitaria para inyección puede ser en ampollas o en recipientes de múltiples dosis.

E. Administración rectal

5 Para la administración rectal, las formulaciones farmacéuticas pueden estar en forma de un supositorio, una pomada, un enema, un comprimido o una crema para la liberación del compuesto en el intestino, ángulo sigmoide y/o recto. Los supositorios rectales se preparan mediante el mezclado de uno o más compuestos de la presente invención, o sales farmacéuticamente aceptables o tautómeros del compuesto, con vehículos aceptables, por ejemplo, manteca de coco o polietilenglicol, que está en fase sólida a temperatura ambiente pero que está en fase líquida a las temperaturas adecuadas para la liberación un fármaco en el interior del cuerpo, tal como en el recto. Pueden usarse otros diversos agentes y aditivos en la preparación de los supositorios tal como se conoce bien por los expertos en la técnica.

F. Formas

15 Las formulaciones de la invención pueden diseñarse para que sean de acción rápida, de liberación rápida, de acción prolongada y de liberación sostenida tal como se describe a continuación. Por tanto, las formulaciones farmacéuticas también pueden formularse para la liberación controlada o para la liberación lenta. Las presentes composiciones también pueden comprender, por ejemplo, micelas o liposomas, o alguna otra forma encapsulada, o pueden administrarse en una forma de liberación prolongada para proporcionar un efecto de almacenamiento y/o de administración prolongado. Por tanto, las formulaciones farmacéuticas pueden someterse a compresión para dar microgránulos o cilindros e implantarse por vía intramuscular o por subcutánea como inyecciones de depósito o como implantes tales como endoprótesis. Los implantes de este tipo pueden emplear materiales inertes conocidos tales como siliconas y polímeros biodegradables.

G. Dosificaciones

25 Pueden ajustarse dosificaciones específicas dependiendo de los estados patológicos, la edad, el peso corporal, los estados de salud general, el sexo y la dieta del sujeto, los intervalos de dosis, las vías de administración, la tasa de excreción y las combinaciones de fármacos. Cualquiera de las formas de dosificación anteriores que contienen cantidades eficaces están dentro de los límites de la experimentación de rutina y por tanto, dentro del alcance de la presente invención.

30 Una dosis terapéuticamente eficaz puede variar dependiendo de la vía de administración y la forma de dosificación. Normalmente, el compuesto o compuestos de la presente invención se seleccionan para proporcionar una formulación que presenta un alto índice terapéutico. El índice terapéutico es la razón de dosis entre los efectos tóxicos y los terapéuticos que puede expresarse como la razón entre la DL_{50} y la DE_{50} . La DL_{50} es la dosis letal para el 50% de la población y la DE_{50} es la dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población. La DL_{50} y la DE_{50} se determinan mediante procedimientos farmacéuticos habituales en cultivos de células animales o animales de experimentación.

35 El régimen de dosificación para tratar enfermedades mediadas por LCAT con los compuestos de esta invención y/o las composiciones de esta invención se basa en una variedad de factores, incluyendo el tipo de enfermedad, la edad, el peso, el sexo, el estado médico del paciente, la gravedad del estado, la vía de administración, y el compuesto particular empleado. Por tanto, el régimen de dosificación puede variar ampliamente, pero puede determinarse de manera rutinaria usando métodos habituales. Los niveles de dosificación del orden de aproximadamente 0,01 mg a 30 mg por kilogramo de peso corporal al día, por ejemplo de desde aproximadamente 0,1 mg hasta 10 mg/kg, o de desde aproximadamente 0,25 mg hasta 1 mg/kg son útiles para todos los métodos de uso dados a conocer en el presente documento. Generalmente, el régimen diario debe estar en el intervalo de 0,1-1000 microgramos del compuesto por kilogramo de peso corporal, preferiblemente de 0,1-150 microgramos por kilogramo.

40 Para la administración oral, la composición farmacéutica puede estar en forma de, por ejemplo, una cápsula, un comprimido, una suspensión o un líquido. La composición farmacéutica puede prepararse en forma de una unidad de dosificación que contiene una cantidad dada del principio activo. Por ejemplo, éstas pueden contener una cantidad de principio activo de desde aproximadamente 1 hasta 2000 mg, por ejemplo de desde aproximadamente 1 hasta 500 mg, o de desde aproximadamente 5 hasta 150 mg, o de desde 10 hasta 100 mg. Una dosis diaria adecuada para un ser humano u otro mamífero puede variar ampliamente dependiendo del estado del paciente y de otros factores, pero, una vez más, puede determinarse usando métodos de rutina.

55 El principio activo también puede administrarse mediante una inyección como una composición con portadores adecuados incluyendo solución salina, dextrosa o agua. El régimen de dosificación parenteral diaria será de desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal total, tal como de desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 10 mg/kg, o de desde aproximadamente 0,25 mg hasta 1 mg/kg.

Las formulaciones adecuadas para la administración tópica incluyen preparaciones líquidas o semilíquidas

adecuadas para la penetración a través de la piel (por ejemplo, linimentos, lociones, pomadas, cremas o pastas) y gotas adecuadas para la administración al ojo, el oído o la nariz.

5 Una dosis tópica adecuada de principio activo de un compuesto de la invención es de 0,1 mg a 150 mg administrada de una a cuatro, por ejemplo una o dos veces al día. Para la administración tópica, el principio activo puede comprender desde el 0,001% hasta el 10% p/p, por ejemplo, desde el 1% hasta el 2% en peso de la formulación, aunque puede comprender hasta el 10% p/p, pero normalmente no más del 5% p/p. En un aspecto, la concentración es de desde el 0,1% hasta el 1% de la formulación.

H. Regímenes de administración

10 La administración de las composiciones puede ser sistémica o local, y puede comprender una inyección en un único sitio de una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de la invención. Se contempla cualquier vía conocida por los expertos en la técnica para la administración de una composición terapéutica de la invención incluyendo, por ejemplo, intravenosa, intramuscular, subcutánea o un catéter para la administración a largo plazo. Alternativamente, se contempla que la composición terapéutica puede administrarse al paciente en múltiples sitios. Las administraciones múltiples pueden realizarse simultáneamente o pueden administrarse a lo largo de un periodo de varias horas. En determinados casos, puede ser beneficioso para proporcionar un flujo continuo de la composición terapéutica. Puede administrarse una terapia adicional de forma periódica, por ejemplo, diaria, semanal o mensualmente. En determinadas realizaciones, el compuesto de la invención se proporciona de forma local en el sitio de reperusión.

IV. Usos médicos

20 A. Aterosclerosis

25 En un aspecto, el compuesto para su uso en el tratamiento de la invención es terapéutico, y se administran los compuestos y las composiciones de la invención a un sujeto que ya padece aterosclerosis. En otro aspecto, los compuestos para su uso en el tratamiento son profilácticos y se administran los compuestos y las composiciones a aquellos sujetos que corren el riesgo de desarrollar aterosclerosis. Para determinar si un sujeto corre el riesgo de, por ejemplo padecer aterosclerosis, puede evaluarse un perfil de lipoproteínas aterogénicas. Por ejemplo, una razón de colesterol en suero con respecto a las HDL de 5:1 o superior indica un riesgo mayor del promedio de desarrollar aterosclerosis. Otros factores incluyen un nivel de colesterol en suero de 240 mg/dl o superior, un nivel de HDL de 35 mg/dl o inferior, o un nivel de LDL de 190 mg/dl o superior, un nivel de proteína LCAT en plasma inferior al normal (<5 ug/ml), y una disminución de la tasa de esterificación de colesterol en plasma (<60 nmol/ml/h).

30 La cantidad del compuesto de la invención eficaz para disminuir la acumulación de colesterol depende de varios factores, incluyendo la especie, el modo de administración, la salud general del sujeto, el resultado deseado (por ejemplo, profilaxis o tratamiento terapéutico) y el criterio del médico encargado. Por ejemplo, el profesional puede decidir qué niveles de riesgo para la enfermedad cardiaca indican el tratamiento profiláctico, y qué nivel objetivo del compuesto de la invención está indicado para el tratamiento de una persona que ya padece aterosclerosis.

35 En seres humanos, la tasa de esterificación de colesterol normal oscila entre aproximadamente 60 nmol/ml/h y aproximadamente 130 nmol/ml por hora. El tratamiento eficaz de la aterosclerosis en seres humanos puede implicar la administración de las composiciones de la invención para lograr una tasa de esterificación de colesterol de aproximadamente 200 nmol/ml/h.

40 La invención proporciona compuestos para su uso para el tratamiento, la prevención o el manejo de la aterosclerosis.

V. Terapia de combinación

45 La invención proporciona además una terapia de combinación, en la que los compuestos y/o las composiciones de la invención se administran con uno o más agente(s) adicional(es). En general, los usos terapéuticos, las composiciones y los compuestos también pueden emplearse en combinación con otros agentes terapéuticos en el tratamiento de diversos estados patológicos, administrándose los agentes adicionales de manera concurrente o de manera secuencial con una composición de la invención.

A. Citocinas

50 Las citocinas o los factores hematopoyéticos a modo de ejemplo para tal administración conjunta incluyen IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-11, factor estimulante de colonias-1 (CSF-1), M-CSF, SCF, GM-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), EPO, interferón-alfa (IFN-alfa), interferón consenso, IFN-beta, IFN-gamma, IFN-omega, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-31, IL-32 alfa, IL-33, trombopoyetina (TPO), angiopoyetinas, por ejemplo Ang-1, Ang-2, Ang-4, Ang-Y, los polipéptidos similares a angiopoyetina humanos ANGPTL1 a 7, vitronectina, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), angiogenina, activina A, activina B, activina C, proteína morfogenética ósea-1, proteína morfogenética ósea-2, proteína morfogenética ósea-3, proteína morfogenética ósea-4, proteína morfogenética ósea-

5, proteína morfogenética ósea-6, proteína morfogenética ósea-7, proteína morfogenética ósea-8, proteína morfogenética ósea-9, proteína morfogenética ósea-10, proteína morfogenética ósea-11, proteína morfogenética ósea-12, proteína morfogenética ósea-13, proteína morfogenética ósea-14, proteína morfogenética ósea-15, receptor de la proteína morfogenética ósea IA, receptor de la proteína morfogenética ósea IB, receptor de la proteína morfogenética ósea II, factor neurotrófico derivado del cerebro, cardiotrofina-1, factor neurotrófico ciliar, receptor del factor neurotrófico ciliar, cripto, críptico, factor quimiotáctico de neutrófilos inducido por citocinas 1, factor quimiotáctico de neutrófilos inducido por citocinas 2 α , factor quimiotáctico de neutrófilos inducido por citocinas 2 β , factor de crecimiento de células endoteliales β , endotelina 1, factor de crecimiento epidérmico, Epigen, epiregulina, atrayente de neutrófilos derivado de células epiteliales, factor de crecimiento de fibroblastos 4, factor de crecimiento de fibroblastos 5, factor de crecimiento de fibroblastos 6, factor de crecimiento de fibroblastos 7, factor de crecimiento de fibroblastos 8, factor de crecimiento de fibroblastos 8b, factor de crecimiento de fibroblastos 8c, factor de crecimiento de fibroblastos 9, factor de crecimiento de fibroblastos 10, factor de crecimiento de fibroblastos 11, factor de crecimiento de fibroblastos 12, factor de crecimiento de fibroblastos 13, factor de crecimiento de fibroblastos 16, factor de crecimiento de fibroblastos 17, factor de crecimiento de fibroblastos 19, factor de crecimiento de fibroblastos 20, factor de crecimiento de fibroblastos 21, factor de crecimiento de fibroblastos ácido, factor de crecimiento de fibroblastos básico, receptor del factor neurotrófico derivado de la línea celular glial α 1, receptor del factor neurotrófico derivado de la línea celular glial α 2, proteína relacionada con el crecimiento, proteína relacionada con el crecimiento α , proteína relacionada con el crecimiento β , proteína relacionada con el crecimiento γ , factor de crecimiento epidérmico de unión a heparina, factor de crecimiento de hepatocitos, receptor del factor de crecimiento de hepatocitos, factor de crecimiento derivado de hepatoma, factor de crecimiento similar a la insulina I, receptor del factor de crecimiento similar a la insulina, factor de crecimiento similar a la insulina II, proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina, factor de crecimiento de queratinocitos, factor inhibidor de la leucemia, receptor del factor inhibidor de la leucemia α , factor de crecimiento nervioso, receptor del factor de crecimiento nervioso, neuropoyetina, neurotrofina-3, neurotrofina-4, oncostatina M (OSM), factor de crecimiento placentario, factor de crecimiento placentario 2, factor de crecimiento de células endoteliales derivado de plaquetas, factor de crecimiento derivado de plaquetas, cadena A del factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento derivado de plaquetas AA, factor de crecimiento derivado de plaquetas AB, cadena B del factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento derivado de plaquetas BB, receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas α , receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas β , factor estimulante del crecimiento de células pre-B, factor de células madre (SCF), receptor del factor de células madre, TNF, incluyendo TNF0, TNF1, TNF2, factor de crecimiento transformante α , factor de crecimiento transformante β , factor de crecimiento transformante β 1, factor de crecimiento transformante β 1.2, factor de crecimiento transformante β 2, factor de crecimiento transformante β 3, factor de crecimiento transformante β 5, factor de crecimiento transformante latente β 1, proteína I de unión al factor de crecimiento transformante β , proteína II de unión al factor de crecimiento transformante β , proteína III de unión al factor de crecimiento transformante β , linfopoyetina estromal tímica (TSLP), receptor de tipo I del factor de necrosis tumoral, receptor de tipo II del factor de necrosis tumoral, receptor del activador del plasminógeno de tipo urocinasa, factor de crecimiento endotelial vascular, y proteínas quiméricas y fragmentos biológica o inmunológicamente activos de las mismas.

B. Fármacos para la aterosclerosis

40 Agentes activos adicionales pueden actuar de maneras complementarias o sinérgicas con el compuesto de la invención cuando se usa para tratar y prevenir la aterosclerosis.

En un aspecto, pueden usarse los compuestos de la invención con estatinas. Las estatinas son fármacos que inhiben de manera competitiva la 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A reductasa "HMG-CoA reductasa", que es la enzima que cataliza una etapa temprana, limitante de la velocidad en la biosíntesis de colesterol. Hebert *et al.*, JAMA 1997, 278: 313-21. Esta combinación, además de elevar los niveles de HDL y disminuir los niveles de LDL también puede disminuir los niveles de triglicéridos y reducir la inflamación. Se cree que la combinación puede tener efectos terapéuticos adicionales, por ejemplo, la combinación puede disminuir la tensión arterial; proteger frente a la enfermedad cardíaca, por ejemplo, mediante la reducción de la proliferación de músculo liso, reducir los ataques al corazón, reducir la agregación de las plaquetas, y reducir los ictus así como la enfermedad arterial periférica (obstrucción de las arterias que van hasta las piernas).

Los ejemplos de estatinas de la invención incluyen mevastatina, pitavastatina, rosuvastatina, pentostatina (Nipent®), nistatina, lovastatina (Mevacor®), simvastatina (Zocor®), pravastatina (Pravachol®), fluvastatina (Lescol®), atorvastatina (Lipitor®), cerivastatina (Baycol®) o combinaciones de las mismas. También se dan a conocer estatinas adecuadas para su uso en las composiciones y usos médicos de la invención en las patentes estadounidenses n.^{os} 4.681.893; 5.273.995; 5.356.896; 5.354.772; 5.686.104; 5.969.156; y 6.126.971. Como algunas estatinas pueden existir en una forma inactiva, tal como una lactona (por ejemplo, simvastatina), la invención engloba el uso de la forma activa (por ejemplo, forma de b-hidroxiácido) de las mismas. Véase Physicians Desk Reference, 54^a Ed. (2000) págs. 1917-1920.

60 Los fibratos o los derivados del ácido fibrico se consideran agentes de modulación de lípidos de amplio espectro porque aunque su acción principal es para disminuir los niveles de triglicéridos en suero, también tienden a reducir el

nivel de LDL-colesterol y elevar el nivel de HDL-colesterol. Se cree que el uso combinado de los compuestos de la invención y un fibrato puede reducir el riesgo de acontecimientos de enfermedad cardíaca coronaria en aquellas personas con bajo nivel de HDL-colesterol o con niveles elevados de triglicéridos al acelerar la degradación química (es decir, el catabolismo) de las lipoproteínas ricas en triglicéridos que circulan en el organismo.

- 5 Los fibratos incluyen bezafibrato, ciprofibrato, fenofibrato, gemfibrozilo, clofibrato o combinaciones de los mismos. Se dan a conocer fibratos adecuados para su inclusión en las composiciones o la administración en los usos médicos de la invención en las patentes estadounidenses n.ºs 4.895.762; 6.074.670 y 6.277.405.

- 10 Las biguanidas para su uso en las composiciones y usos médicos de la invención incluyen metformina, fenformina, buformina o combinaciones de las mismas. También se dan a conocer biguanidas adecuadas para su uso en las composiciones o los usos de la invención en la patente estadounidense n.º 6.303.146. El uso combinado de los compuestos de la invención y una biguanida puede mejorar el control glucémico al potenciar la sensibilidad a la insulina en el hígado y en el músculo. La combinación puede reducir o evitar los factores de riesgo cardiovascular tales como dislipidemia, niveles elevados del inhibidor del activador del plasminógeno 1, otras anomalías fibrinolíticas, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina, y es un agente terapéutico eficaz y seguro para el tratamiento de la diabetes tipo 2.

- 15 En otro aspecto, los compuestos de la invención pueden usarse en combinación con glitazonas, que pueden aumentar la captación de glucosa en el músculo y una producción reducida de glucosa endógena. Las glitazonas incluyen 5-((4-(2-(metil-2-piridinilamino)etoxi)-fenil)metil)-2,4-tiazolidinadiona, troglitazona, pioglitazona, ciglitazona, WAY-120,744, englitazona, AD 5075, darglitazona, rosiglitazona, combinaciones de los mismos, o un solvato, clatrato, polimorfo, profármaco o sal farmacéuticamente aceptable, o metabolito farmacológicamente activo de los mismos. Se dan a conocer glitazonas adecuadas para su uso en las composiciones o los usos de la invención en las patentes estadounidenses n.ºs 4.687.777; 5.002.953; 5.741.803; 5.965.584; 6.150.383; 6.150.384; 6.166.042; 6.166.043; 6.172.090; 6.211.205; 6.271.243; 6.288.095; 6.303.640 y 6.329.404.

- 20 Las composiciones que comprenden compuestos de la invención y una sulfonilurea o un derivado de la misma pueden aumentar la liberación de insulina desde el páncreas y pueden además los niveles de insulina mediante la reducción del aclaramiento hepático de la hormona. Los fármacos basados en sulfonilurea para su uso en las composiciones y los usos médicos de la invención incluyen glisoxepida, gliburida, acetohexamida, clorpropamida, glibomurida, tolbutamida, tolazamida, glipizida, gliclazida, gliquidona, glihexamida, fenbutamida, tolclidamida, combinaciones de las mismas o un solvato, clatrato o sal farmacéuticamente aceptable.

- 25 Las composiciones de combinación también pueden incluir agentes que inhiben CETP. Son agentes de este tipo, por ejemplo, Torcetrapib y 2-metilpropanoato de S-2([1-(2-etilbutil)ciclohexil]carbonil)amino]fenilo).

- 30 Los agentes activos adicionales también incluyen fármacos cardiovasculares. Los fármacos cardiovasculares para su uso en combinación con los compuestos de la invención para prevenir o tratar enfermedades cardiovasculares incluyen fármacos antiadrenérgicos periféricos, fármacos antihipertensivos de acción central (por ejemplo, metildopa, metildopa HCl), vasodilatadores antihipertensivos directos (por ejemplo, diazóxido, hidralazina HCl), fármacos que afectan al sistema renina-angiotensina, vasodilatadores periféricos, fentolamina, fármacos antianginosos, glucósidos cardíacos, inodilatadores (por ejemplo, amrinona, milrinona, enoximona, fenoximona, imazodan, sulmazol), fármacos antiarrítmicos, bloqueadores de la entrada de calcio, ranitina, bosentano y Rezulin.

- 35 Dependiendo del trastorno para el que se busca el tratamiento, los compuestos y las composiciones de la invención se usan en la terapia de combinación con otros agentes terapéuticos que logran un efecto biológico específico.

1. Fármacos para disminuir el colesterol

- 45 Diversas medicaciones pueden disminuir los niveles de colesterol en sangre. Pueden prescribirse de manera individual o en combinación con otros fármacos. Algunos de los tipos comunes de fármacos que disminuyen el colesterol incluyen estatinas, resinas y ácido nicotínico (niacina), gemfibrozilo y clofibrato. Por tanto, se contempla la terapia de combinación utilizando, por ejemplo, clofibrato (Atromid-S, que eleva los niveles de HDL-colesterol y disminuye los niveles de triglicéridos), gemfibrozilo (Lopid, que eleva los niveles de HDL-colesterol), ácido nicotínico (que actúa en el hígado afectando a la producción de grasas en sangre y se usa para disminuir los niveles de triglicéridos y LDL-colesterol, y elevan el HDL colesterol ("bueno")), resinas (que también se denominan fármacos de unión a ácidos biliares y actúan en el intestino mediante el fomento del aumento del desecho del colesterol), incluyendo colestiramina (Questran, Prevalite, Lo-Cholest), colestipol (Colestid) y colessevelam (WelChol), y estatinas incluyendo atorvastatina (Lipitor), fluvastatina (Lescol), lovastatina (Mevacor), pravastatina (Pravachol), rosuvastatina cálcica (Crestor) y simvastatina (Zocor).

- 50 Los fármacos de primera elección para los niveles elevados de LDL-colesterol son los inhibidores de la HMG CoA reductasa, por ejemplo, atorvastatina, fluvastatina, lovastatina, pravastatina, rosuvastatina y simvastatina. Los fármacos de estatina son eficaces para disminuir los niveles de LDL-colesterol, tienen poco efectos secundarios a corto plazo inmediatos, son fáciles de administrar, tiene una alta aceptación por parte del paciente y tienen pocas interacciones entre fármacos.

Otra clase de fármacos para disminuir el nivel de LDL son los secuestrantes de ácidos biliares, colessevelam, colestiramina y colestipol, y el ácido nicotínico (niacina), que han mostrado que reducen el riesgo de enfermedad cardiaca coronaria en ensayos clínicos controlados. Ambas clases de fármacos parecen estar libres de efectos secundarios graves. Pero ambas pueden tener efectos secundarios problemáticos y requieren una considerable formación de los pacientes para lograr su cumplimiento. Se prefiere el ácido nicotínico en pacientes con niveles de triglicéridos que superan los 250 mg/dl porque los secuestrantes de ácidos biliares tienden a elevar los niveles de triglicéridos.

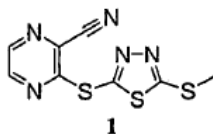
2. Inhibidores de la ACE

La angiotensina II hace que los vasos sanguíneos se contraigan y de ese modo estrecha los vasos sanguíneos. El estrechamiento de los vasos aumenta la presión dentro de los vasos y puede provocar una alta tensión arterial (hipertensión). La angiotensina II se forma a partir de la angiotensina I en la sangre por la enzima, enzima convertidora de angiotensina (ACE). Los inhibidores de la ACE disminuyen la producción de angiotensina II. Como resultado, los vasos sanguíneos se ensanchan o se dilatan, y se reduce la tensión arterial. Los inhibidores de la ACE que están disponibles en los Estados Unidos incluyen captopril (Capoten), benazepril (Lotensin), enalapril (Vasotec), lisinopril (Prinivil, Zestril) fosinopril (Monopril), ramipril (Altace), perindopril (Aceon), quinapril (Accupril), moexipril (Univasc) y trandolapril (Mavik).

Se entiende que la aplicación de las enseñanzas de la presente invención a un problema o una situación específicos se encontrará dentro de las capacidades de un experto habitual en la técnica a la luz de las enseñanzas contenidas en el presente documento. A continuación aparecen ejemplos de los productos de la presente invención y procedimientos representativos para su aislamiento, uso y fabricación.

Ejemplo 1

Síntesis de 3-(5-(metiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo

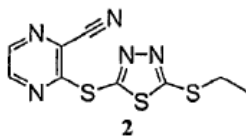


A una disolución de 5-(metiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-tiol (821 mg, 5,0 mmol) en DMF y benceno (10 ml, 1/1) se le añadió NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 220 mg, 5,5 mmol) lentamente a 0°C bajo una atmósfera de nitrógeno. Se agitó la suspensión resultante a 0°C durante 15 minutos y luego se le añadió a la mezcla 3-cloropirazin-2-carbonitrilo (698 mg, 5,0 mmol). Se agitó la reacción a 80°C durante 4 h. Luego se enfrió la reacción hasta temperatura ambiente y se extinguió con disolución saturada de NH₄Cl y se extrajo con EtOAc. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con agua, salmuera y se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentró el filtrado. Se purificó el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice proporcionando el compuesto del título como un sólido blanco.

¹H-RMN (CDCl₃) δ 2,83 (s, 3H), 8,54 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 8,58 (d, J = 1,8 Hz, 1H). Espectro de masas (ESI) m/e = 268 (M⁺+1).

Ejemplo 2

Síntesis de 3-(5-(etiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo

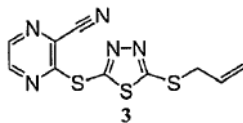


Se preparó el compuesto del título según el procedimiento descrito en el ejemplo 1 usando 5-(etiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-tiol (592 mg, 3,33 mmol), NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 146 mg, 3,66 mmol) y 3-cloropirazin-2-carbonitrilo (422 mg, 3,02 mmol) en DMF y benceno (8 ml, 1/1) mediante agitación a 90°C bajo una atmósfera de nitrógeno durante la noche.

¹H-RMN (CDCl₃) δ 1,56 (t, J = 5,6 Hz, 3H), 3,41 (q, J = 5,6 Hz, 2H), 8,47 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 8,52 (d, J = 1,8 Hz, 1H). Espectro de masas (ESI) m/e = (ESI) m/e = 282 (M⁺+1).

Ejemplo 3

Síntesis de 3-(5-(aliltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo

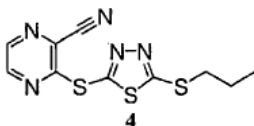


5 Se preparó el compuesto del título según el procedimiento descrito en el ejemplo 1 usando 5-(aliltio)-1,3,4-tiadiazol-2-tiol (460 mg, 2,42 mmol), NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 107 mg, 2,66 mmol) y 3-cloropirazin-2-carbonitrilo (338 mg, 2,42 mmol) en DMF y benceno (8 ml, 1/1) mediante agitación a 85°C bajo una atmósfera de nitrógeno durante la noche.

¹H-RMN (CDCl₃) δ 4,02 (d, J = 10,4 Hz, 2H), 5,25 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 5,39 (d, J = 15,6 Hz, 1H), 5,95-6,05 (m, 1H), 8,55 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 8,59 (d, J = 1,8 Hz, 1H). Espectro de masas (ESI) m/e = (ESI) m/e = 294 (M⁺+1).

Ejemplo 4

Síntesis de 3-(5-(propiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo

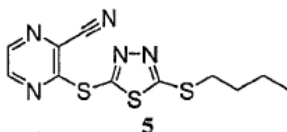


10 A una disolución de 1,3,4-tiadiazol-2,5-ditio (601 mg, 4,00 mmol) en DMF y benceno (6 ml, 1/1) se le añadió NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 176 mg, 4,40 mmol) lentamente a 0°C bajo una atmósfera de nitrógeno. Se agitó la suspensión resultante a 0°C durante 15 minutos y luego se le añadió a la mezcla bromopropano (492 mg, 2,00 mmol). Se agitó la reacción a T.A. durante 1 h. Se le añadió a la reacción NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 176 mg, 4,40 mmol) lentamente a 0°C y se agitó durante 15 minutos después de la adición. Luego, se le añadió a la mezcla 3-cloropirazin-2-carbonitrilo (557 mg, 4,00 mmol) y se agitó la reacción a 50°C bajo N₂ durante la noche. Luego se enfrió la reacción hasta temperatura ambiente y se extinguió con disolución saturada de NH₄Cl y se extrajo con EtOAc. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con agua, salmuera y se secaron sobre MgSO₄. La eliminación del disolvente proporcionó el producto en bruto que se purificó mediante cromatografía proporcionando el compuesto del título como un sólido de color blanquecino.

15 ¹H-RMN (CDCl₃) δ 1,08 (t, J = 5,5 Hz, 3H), 1,8-1,9 (m, 2H), 3,37 (q, J = 5,5 Hz, 2H), 8,52 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 8,58 (d, J = 1,8 Hz, 1H). Espectro de masas (ESI) m/e = 296 (M⁺+1).

Ejemplo 5

Síntesis de 3-(5-(butiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo

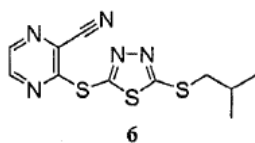


25 Se preparó el compuesto del título según el procedimiento descrito en el ejemplo 4 usando 1,3,4-tiadiazol-2,5-ditio (300 mg, 2,00 mmol), NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 88 mg, 2,20 mmol), 1-yodobutano (0,263 ml, 2,30 mmol), NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 88 mg, 2,20 mmol) y 3-cloropirazin-2-carbonitrilo (280 mg, 2,00 mmol) en DMF y benceno (8 ml, 1/1) mediante agitación a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno durante la noche.

30 ¹H-RMN (CDCl₃) δ 0,98 (t, J = 7,6 Hz, 3H), 1,44-1,58 (m, 2H), 1,78-1,85 (m, 2H), 3,41 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 8,53 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 8,57 (d, J = 2,4 Hz, 1H). Espectro de masas (ESI) m/e = 310 (M⁺+1).

Ejemplo 6

Síntesis de 3-(5-(isobutiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo

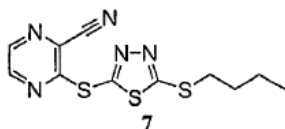


5 Se preparó el compuesto del título según el procedimiento descrito en el ejemplo 4 usando 1,3,4-tiadiazol-2,5-ditio (300 mg, 2,00 mmol), NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 88 mg, 2,20 mmol), 1-bromo-2-metilpropano (0,25 ml, 2,30 mmol), NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 88 mg, 2,20 mmol) y 3-cloropirazin-2-carbonitrilo (280 mg, 2,00 mmol) en DMF y benceno (8 ml, 1/1) mediante agitación a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno durante la noche.

¹H-RMN (CDCl₃) δ 1,08 (dd, J = 1,2, 6,8 Hz, 6H), 2,05-2,15 (m, 1H), 3,30 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 8,53 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 8,57 (d, J = 2,4 Hz, 1H). Espectro de masas (ESI) m/e = 310 (M⁺+1).

Ejemplo 7

10 **Síntesis de 3-(5-(pentiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo**

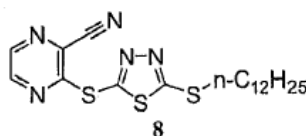


15 Se preparó el compuesto del título según el ejemplo 4 usando 1,3,4-tiadiazol-2,5-ditio (300 mg, 2,00 mmol), NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 88 mg, 2,20 mmol), 1-yodopentano (0,30 ml, 2,30 mmol), NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 88 mg, 2,20 mmol) y 3-cloropirazin-2-carbonitrilo (280 mg, 2,00 mmol) en DMF y benceno (8 ml, 1/1) mediante agitación a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno durante la noche.

¹H-RMN (CDCl₃) δ 0,92 (t, J = 7,6 Hz, 3H), 1,21-1,31 (m, 2H), 1,32-1,49 (m, 4H), 1,81-1,89 (m, 2H), 3,38 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 8,53 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 8,58 (d, J = 2,4 Hz, 1H). Espectro de masas (ESI) m/e = 324 (M⁺+1).

Ejemplo 8

Síntesis de 3-(5-(dodeciltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo

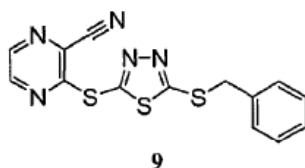


20 Se preparó el compuesto del título según el ejemplo 1 usando 5-(dodeciltio)-1,3,4-tiadiazol-2-tio (319 mg, 1,00 mmol), NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 44 mg, 1,10 mmol) y 3-cloropirazin-2-carbonitrilo (140 mg, 1,00 mmol) en DMF y benceno (6 ml, 1/1) mediante agitación a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno durante la noche.

25 ¹H-RMN (CDCl₃) δ 0,89 (t, J = 5,4, 3H), 1,2-1,4 (m, 18H), 1,4-1,5 (m, 2H), 1,8-1,9 (m, 2H), 3,39 (t, J = 5,4, 2H), 8,54 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 8,58 (d, J = 1,8 Hz, 1H). Espectro de masas (ESI) m/e = 422(M⁺+ 1).

Ejemplo 9

Síntesis de 3-(5-(benciltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo



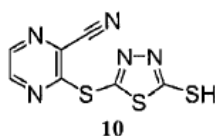
30 A una disolución de 5-(benciltio)-1,3,4-tiadiazol-2-tio (240 mg, 1,00 mmol) en DMF y benceno (4 ml, 1/1) se le añadió NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 44 mg, 1,10 mmol) lentamente a 0°C bajo una atmósfera de nitrógeno. Se agitó la suspensión resultante a 0°C durante 15 minutos y luego se le añadió a la mezcla 3-

5 cloropirazin-2-carbonitrilo (140 mg, 1,00 mmol). Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 2 h. Se extinguió la reacción con disolución saturada de NH_4Cl y se extrajo con EtOAc. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con agua, salmuera y se secaron sobre MgSO_4 . La eliminación del disolvente proporcionó el producto en bruto que se purificó mediante cromatografía proporcionando el compuesto del título como un sólido de color blanquecino.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ 4,63 (s, 2H), 7,20-7,43 (m, 5H), 8,54 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 8,56 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H). Espectro de masas (ESI) $m/e = 344$ ($\text{M}^+ + 1$).

Ejemplo 10

Síntesis de 3-(5-mercapto-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo

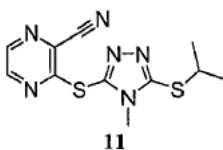


10 Se preparó el compuesto del título según el procedimiento descrito en el ejemplo 1 usando 1,3,4-tiadiazol-2,5-ditiol (945 mg, 6,05 mmol), NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 264 mg, 6,60 mmol) y 3-cloropirazin-2-carbonitrilo (840 mg, 6,00 mmol) en DMF y benceno (10 ml, 1/1) mediante agitación a 50°C bajo una atmósfera de nitrógeno durante 4 h.

15 $^1\text{H-RMN}$ (DMSO) δ 8,77 (s, 1H), 8,88 (s, 1H). Espectro de masas (ESI) $m/e = 254$ ($\text{M}^- + 1$).

Ejemplo 11

Síntesis de 3-(5-(isopropiltio)-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-iltio)pirazin-2-carbonitrilo

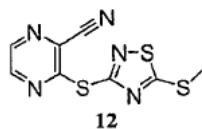


20 Se preparó el compuesto del título según el ejemplo 1 usando 5-(isopropiltio)-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-tiol (379 mg, 2,00 mmol), NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 88 mg, 2,20 mmol) y 3-cloropirazin-2-carbonitrilo (280 mg, 2,00 mmol) en DMF y benceno (6 ml, 1/1) mediante agitación a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno durante 2 h.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ 1,49 (d, $J = 5,4$ Hz, 6H), 3,57 (s, 3H), 4,01 (m, 1H), 8,43 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 8,48 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H). Espectro de masas (ESI) $m/e = 293$ ($\text{M}^+ + 1$).

25 **Ejemplo 12**

Síntesis de 3-(5-(metiltio)-1,2,4-tiadiazol-3-iltio)pirazin-2-carbonitrilo

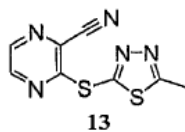


30 Se preparó el compuesto del título según el ejemplo 1 usando 5-(metiltio)-1,2,4-tiadiazol-3-tiol (328 mg, 2,00 mmol), NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 88 mg, 2,20 mmol) y 3-cloropirazin-2-carbonitrilo (280 mg, 2,00 mmol) en DMF y benceno (6 ml, 1/1) mediante agitación a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno durante 2 h.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ 2,72 (s, 3H), 8,66 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 8,82 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H). Espectro de masas (ESI) $m/e = 268$ ($\text{M}^+ + 1$).

Ejemplo 13

Síntesis de 3-(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo

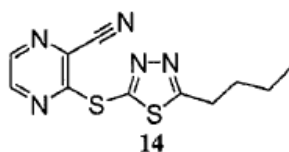


Se preparó el compuesto del título según el ejemplo 1 usando 5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-tiol (264 mg, 2,00 mmol), NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 88 mg, 2,20 mmol) y 3-cloropirazin-2-carbonitrilo (280 mg, 2,00 mmol) en DMF y benceno (6 ml, 1/1) mediante agitación a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno durante 6 h.

- 5 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ 2,86 (s, 3H), 8,52 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 8,55 (d, J = 1,8 Hz, 1H). Espectro de masas (ESI) m/e = 236 (M^++1).

Ejemplo 14

Síntesis de 3-(5-butil-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo



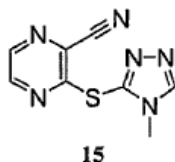
- 10 Se preparó el compuesto del título según el ejemplo 1 usando 5-butil-1,3,4-tiadiazol-2-tiol (260 mg, 1,49 mmol), NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 66 mg, 1,65 mmol) y 3-cloropirazin-2-carbonitrilo (210 mg, 1,50 mmol) en DMF y benceno (4 ml, 1/1) mediante agitación a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno durante 3 h.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ 1,01 (t, J = 7,6 Hz, 3H), 1,42-1,49 (m, 2H), 1,81-1,91 (m, 2H), 3,19 (t, J = 8,0 Hz, 2H), 8,53 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 8,57 (d, J = 1,8 Hz, 1H). Espectro de masas (ESI) m/e = 278 (M^++1).

15

Ejemplo 15

Síntesis de 3-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-iltio)pirazin-2-carbonitrilo

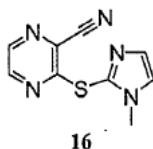


- 20 Se preparó el compuesto del título según el ejemplo 1 usando 4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-tiol (230,5 mg, 2,00 mmol), NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 88 mg, 2,20 mmol) y 3-cloropirazin-2-carbonitrilo (280 mg, 2,00 mmol) en DMF y benceno (6 ml, 1/1) mediante agitación a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno durante 4 h.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ 3,75 (s, 3H), 8,43 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 8,48 (d, J = 1,8 Hz, 1H). Espectro de masas (ESI) m/e = 219 (M^++1).

Ejemplo 16

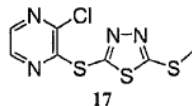
Síntesis de 3-(1-metil-1H-imidazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo



25

Se preparó el compuesto del título según el ejemplo 1 usando 1-metil-1H-imidazol-2-tiol (228 mg, 2,00 mmol), NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 88 mg, 2,20 mmol) y 3-cloropirazin-2-carbonitrilo (280 mg, 2,00 mmol) en DMF y benceno (6 ml, 1/1) mediante agitación a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno durante 4 h.

- 30 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ 3,74 (s, 3H), 7,22 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 7,28 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 8,40 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 8,44 (d, J = 1,8 Hz, 1H). Espectro de masas (ESI) m/e = 218 (M^++1).

Ejemplo 17**Síntesis de 2-cloro-3-(5-(metiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazina**

5 Se preparó el compuesto del título según el procedimiento descrito en el ejemplo 1 usando 5-(metiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-tiol (1,64 g, 10,00 mmol), NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 445 mg, 11,00 mmol) y 2,3-dicloropirazina (1,04 ml, 10,00 mmol) en DMF y benceno (12 ml, 1/1) mediante agitación a 50°C durante 20 h y luego a 110°C durante 4 h bajo una atmósfera de nitrógeno.

¹H-RMN (CDCl₃) δ 2,85 (s, 3H), 8,22 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 8,35 (d, J = 1,8 Hz, 1H). Espectro de masas (ESI) m/e = 277 (M⁺ + 1).

10

Ejemplo 18**Aislamiento de LCAT**

15 Se aisló LCAT de medios de cultivo de células CHO que se transfectaron de manera estable con ADNc de LCAT humana. Se marcó la secuencia codificante de LCAT con colas FLAG e HIS en el extremo C-terminal. Se realizó la purificación de proteína LCAT humana recombinante marcada según el protocolo convencional usando perlas de Ni-NTA agarosa. En resumen, se incubaron medios de cultivo de CHO con una columna de Ni-NTA a pH 8,0. Se lavaron las proteínas no unidas del complejo de resina con imidazol 20 mM. Se eluyó la proteína marcada con His con imidazol 250 mM y se dializó frente a 1x PBS que contenía EDTA 50 μM.

15

Ejemplo 19**Ensayos de actividad de LCAT**

20 Se determinaron las actividades de los compuestos de la invención midiendo el cambio de la tasa de conversión de colesterol marcado con ³H en éster de colesterilo (EC). En el ensayo de la actividad de LCAT en plasma, se equilibraron muestras de plasma humano con una cantidad traza de colesterol radiomarcado a 4°C y se midió la tasa de esterificación de colesterol mediante análisis de CCF después de la incubación a 37°C (Dobiasova, citado anteriormente). La CE₅₀ representa la concentración de un compuesto que logra el 50% de activación máxima de la esterificación de colesterol mediada por LCAT.

25

30 Para medir la actividad del compuesto usando el formato de ensayo de liposomas de apoAI, se aisló ADNc de LCAT humana de longitud completa a partir de una biblioteca de ADNc de hígado humano normal (BioChain, Hayward, CA) con el protocolo convencional y se clonó en un vector pCMV-Flag (véase el ejemplo 18). Se expresó la LCAT recombinante en células CHO y se recogió la enzima secretada a partir de células transfectadas de manera estable en medio de cultivo libre de suero. Se confirmó la identidad de la LCAT recombinante con anticuerpos anti-LCAT humana y anti-Flag. Se determinó la actividad de la enzima LCAT recombinante usando sustratos de liposomas de apoAI preparados mediante el procedimiento de diálisis de colato convencional (Chen *et al.* (1982) J. Lipid Res. 23: 680-691. La mezcla inicial contenía PC de huevo/³H-colesterol no esterificado/apoAI humana (razón molar de 250:12,5:0,8). Después de la diálisis, se incorporaron los proteoliposomas con proteína LCAT recombinante. Se determinó la actividad de LCAT midiendo la conversión de colesterol radiomarcado en éster de colesterilo y se expresó en nmol de EC/ml por hora.

30

35

Ejemplo 20**Mediciones de estabilidad de LCAT**

40 Se midió la estabilidad de la enzima LCAT usando el protocolo de ELISA convencional. En resumen, se capturaron moléculas de proteína LCAT de las muestras de plasma sobre la placa de ELISA con un anticuerpo anti-LCAT que se recubrió previamente en la placa. Después de un lavado cuidadoso para eliminar las moléculas no unidas, se detectó la proteína LCAT usando un segundo anticuerpo anti-LCAT. Se detectaron los inmunocomplejos de anticuerpo-LCAT y se cuantificaron usando el sistema de detección de HRP. Se usó como patrón la proteína LCAT recombinante purificada y se midió en las mismas condiciones experimentales (Kobori *et al.* (2002) J Lipid Res 43: 325-334).

45

Ejemplo 21**Evaluación de los efectos *in vivo* de los compuestos de la invención**

Los roedores usados para evaluar los efectos *in vivo* de los compuestos de la invención incluyen ratones BALB/c,

ratones CD1 y hámsteres sirios de tipo natural alimentados con alimento normal. Estos animales se trataron o bien con vehículo o bien con compuesto A (3-(5-etiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo) mediante inyección i.p. En los puntos de tiempo (véanse las figuras) después de la administración del compuesto, se extrajeron muestras de sangre, se separó inmediatamente el plasma y se determinaron los niveles en plasma de lípidos, lipoproteína y la actividad de LCAT.

Los resultados presentados en la figura 2(A) confirman la actividad y la especificidad de los compuestos de la invención sobre la enzima LCAT. Este experimento estudió el efecto del compuesto A en muestras de plasma deficientes en LCAT obtenidas a partir de ratones mutantes *lcat*. Ng *et al.* (1997) J. Biol. Chem. 272:1 5777-81. No se detectó actividad de LCAT en las muestras de plasma deficientes en LCAT (*lcat* -/-) en presencia o ausencia del compuesto A, lo que indica que la interacción observada del compuesto A con LCAT es sumamente específica.

Los resultados resumidos en la figura 2(B) ilustran el mecanismo de acción de los compuestos de la invención sobre la enzima LCAT. Se generaron dos mutantes de LCAT con pérdida de función, H377A y S181A, en los que la tríada catalítica crítica de la enzima se destruyó tal como se describe en Francone *et al.* (1991) Biochemistry 30: 10074-77; Peelman *et al.* (1998) Protein Sci. 7: 587-599; y Peelman *et al.* (2000) Curr. Opin. Lipidol. 11: 155-160. No se observó actividad en ninguna enzima no funcional con o sin el compuesto A (figura 2B). Para someter a prueba una hipótesis de si el mecanismo de activación de LCAT implicaría la reacción de la molécula con un grupo tiol libre en la enzima, se realizaron otras dos mutaciones en el polipéptido LCAT seleccionando como diana los residuos de cisteína C31 y C184. Ninguna de estas dos mutaciones alteró significativamente la actividad basal de LCAT de las proteínas recombinantes. Sin embargo, presentaron distintas respuestas al compuesto A. Mientras que el mutante C184A pudo responder al tratamiento de manera dependiente de la dosis comparable a la de la enzima de tipo natural, el mutante C31A no pudo activarse por el compuesto A. Esta observación concuerda con la hipótesis de que los compuestos de la invención se unen de manera irreversible a LCAT en el residuo de aminoácido 31 tal como se midió en los ensayos bioquímicos.

La figura 3 resume datos que muestran que los compuestos de la invención aumentan la actividad de la enzima LCAT de manera dependiente de la dosis en ratones BALB/c. En resumen, se trataron ratones BALB/c (machos, 7 semanas de edad) o bien con vehículo o bien con el compuesto A por vía intraperitoneal (i.p.) en las dosis indicadas. Se alimentaron los animales con dieta de alimento normal. Se solubilizaron los compuestos en vehículo DEPG (que contiene el 20% de dimetilacetamida, el 10% de etanol, el 50% de polilenglicol) y se administraron a los animales. En los puntos de tiempo indicados, se extrajeron muestras de sangre de los animales y se separó el plasma inmediatamente. Se marcó una alícuota de muestra de plasma con ³H-colesterol para el ensayo de la actividad de LCAT. Cada punto de datos representa la media de las muestras para dos animales individuales. Se usaron las muestras restantes para los análisis de lípidos y lipoproteína.

Los resultados presentados en la figura 4 demuestran que el tratamiento con los compuestos de la invención aumenta los niveles de HDL-colesterol en ratones CD1. Se trataron ratones CD1 macho de tres meses de edad o bien con vehículo (control) o bien con el compuesto A mediante inyección i.p. (20 mg/kg, una dosis al día, 4 días, n=8). Se extrajeron muestras de plasma y se determinaron las concentraciones de HDL-colesterol, reactivos y protocolo de ensayo convencionales usando un analizador clínico (Infinity).

La figura 5 ilustra el transcurso temporal de la activación de LCAT y los niveles de HDL en ratones tras una dosis única del compuesto A. se administró a ratones CD1 macho de tres meses de edad el compuesto A (20 mg/kg) mediante una inyección i.p.. En cada punto de tiempo indicado, se sacrificó un grupo de animales (n=4), se extrajeron muestras de sangre y se separó el plasma para la medición de la actividad de LCAT (rombos) y HDL (círculos). Cada punto de datos representa la media de medición de cuatro animales individuales por grupo de tratamiento.

Los resultados presentados en la figura 6 demuestran que el tratamiento con el compuesto de la invención aumenta los niveles de HDL y disminuye la lipoproteína que contiene apoB *in vivo*. Se trataron hámsteres (sirios, macho, de 12 semanas de edad, n=6 por grupo) o bien con vehículo (control) o bien con el compuesto A mediante administración i.p. (20 mg/kg, una dosis al día, 4 días). Se recogieron muestras de plasma y se midieron las concentraciones de colesterol total (CT), panel B, y HDL-colesterol (panel A). Se obtuvieron los contenidos de LpB-colesterol mediante la resta de HDL del CT (panel C).

La figura 7 proporciona perfiles de elución que indican que el tratamiento con los compuestos de la invención aumenta los niveles de HDL-col, aumenta el tamaño de partícula de HDL, y disminuye los niveles de TG en la fracción de VLDL *in vivo*. Se trataron hámsteres (n=6) o bien con vehículo (control), o bien con el compuesto A mediante administración i.p. (20 mg/kg/día, 4 días). Se reunieron las muestras de plasma dentro de cada grupo de tratamiento, y se separaron mediante FPLC usando dos columnas de Superose 6 (Pharmacia Biotech Inc.) conectadas en serie. Se determinaron los niveles de colesterol (panel A) y triglicéridos (panel B) en fracciones de 0,5 ml.

Tabla 1
Perfiles de tamaño de partícula de HDL

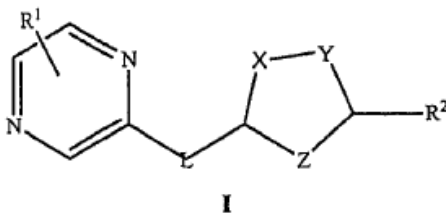
Subclase de HDL	Control	T865
2a	12	39
2b	58	56
3a	28	3
3b	1	1
3c	1	1

5 La tabla 1 resume los perfiles de tamaño de partícula de HDL determinados mediante la electroforesis en gel con gradiente (GGE) que indica un aumento del tamaño de partícula de HDL *in vivo* después de tratarse con los compuestos de la invención. Se trataron hámsteres o bien con vehículo o bien con el compuesto A tal como se describió anteriormente (20 mg/kg/día, 4 días, n=6). Se extrajeron muestras de plasma y se reunieron para cada grupo. Se analizó una alícuota de plasma reunido usando GGE tal como se describe en Blanche *et al.* (1981) BBA 665: 408-419.

10

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula I



5 en la que X, Y y Z se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -N=, -S-, -CH= y ---N--- ^{R⁴}, siempre que al menos dos de X, Y y Z no sean -S-, y siempre que no más de uno de X, Y y Z sea -CH=; L es -S-, -S(O)-, o -S(O)₂-;

R¹ se selecciona del grupo que consiste en CN, COOR⁵, SO₂R⁶ y halógeno;

10 R² se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₁₂ opcionalmente sustituido, alqueno C₁-C₁₂ opcionalmente sustituido, alquino C₁-C₈ opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido y heteroarilo opcionalmente sustituido, y SR³, en los que los sustituyentes se seleccionan del grupo que consiste en alquilo C₁-C₄, NH₂, halo y CN; y en la que R³ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₁₂ opcionalmente sustituido, alqueno C₁-C₈ opcionalmente sustituido, alquino C₁-C₈ opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido y heteroarilo opcionalmente sustituido, en los que los sustituyentes se seleccionan del grupo que consiste en NH₂, halo y CN;

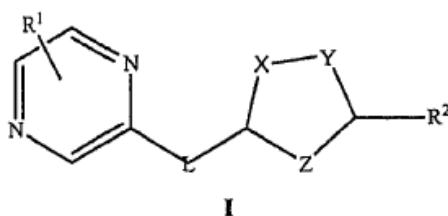
15 R⁴ es H o alquilo C₁-C₈;

R⁵ y R⁶ son cada uno independientemente alquilo C₁-C₄;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de aterosclerosis en un sujeto.

2. Compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que X e Y son cada uno -N=.
- 20 3. Compuesto para su uso según la reivindicación 2, en el que Z es -S-.
4. Compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que L es -S-.
5. Compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que R¹ es CN.
6. Compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que R² es SR³.
7. Compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que R³ es alquilo C₁-C₄.
- 25 8. Compuesto para su uso según la reivindicación 7, en el que R³ es metilo.
9. Compuesto para su uso según la reivindicación 1, seleccionándose el compuesto del grupo que consiste en
- 3-(5-(Metiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo
- 3-(5-(Etiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo
- 3-(5-(Aliltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo
- 30 3-(5-(Propiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo
- 3-(5-(Butiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo
- 3-(5-(Isobutiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo
- 3-(5-(Pentiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo
- 3-(5-(Dodeciltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo
- 35 3-(5-(Benciltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo
- 3-(5-(Mercapto)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo

- 3-(5-(Isopropiltio)-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-iltio)pirazin-2-carbonitrilo
 3-(5-(Metiltio)-1,2,4-tiadiazol-3-iltio)pirazin-2-carbonitrilo
 3-(5-Metil-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo
 3-(5-Butil-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo
 5 3-(4-Metil-4H-1,2,4-triazol-3-iltio)pirazin-2-carbonitrilo
 3-(1-Metil-1H-imidazol-2-iltio)pirazin-2-carbonitrilo, y
 2-Cloro-3-(5-(metiltio)-1,3,4-tiadiazol-2-iltio)pirazina
 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos,
 10. Compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que el sujeto es mamífero.
 10 11. Compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que el sujeto es humano.
 12. Uso de un compuesto de fórmula I



- 15 en la que X, Y y Z se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -N=, -S-, -CH= y $\text{---}\overset{\text{R}^4}{\text{N}}\text{---}$, siempre que al menos dos de X, Y y Z no sean -S-, y siempre que no más de uno de X, Y y Z sea -CH=; L es -S-, -S(O)-, o -S(O)₂-;
- R¹ se selecciona del grupo que consiste en CN, COOR⁵, SO₂R⁶ y halógeno;
- 20 R² se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₁₂ opcionalmente sustituido, alquenilo C₁-C₁₂ opcionalmente sustituido, alquinilo C₁-C₈ opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido y heteroarilo opcionalmente sustituido, y SR³, en los que los sustituyentes se seleccionan del grupo que consiste en alquilo C₁-C₄, NH₂, halo y CN; y en la que R³ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₁₂ opcionalmente sustituido, alquenilo C₁-C₈ opcionalmente sustituido, alquinilo C₁-C₈ opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido y heteroarilo opcionalmente sustituido, en los que los sustituyentes se seleccionan del grupo que consiste en NH₂, halo y CN;
- R⁴ es H o alquilo C₁-C₈;
- 25 R⁵ y R⁶ son cada uno independientemente alquilo C₁-C₄;
- o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de un medicamento para tratar aterosclerosis en un sujeto.

Figura 1

A MGPPGSPWQWVTLILGLILPPAPFWLLNVLFPHTTPKAELSNHTRPVILVPGCLGNQLEAKDKPDDVNVNWCYRKTED
 FFIWLDLNMFLPLGVDCWIDNTRVVYNNRSSGLVSNAPGVQIRVPGFKTYSVEYLDSSKLAGYLHTLVQNLVNNGYVRDETV
 ETVRAAPYDWRLERPQOQEYTYRKLAGEVEEMHAAVYGRVFLGHSIGCLHLLYLLRQQA WKDRFDGFSLGAPWGGSIK
 PMLVTLASGDNQGPIMSSIKLKEQRITTSPPWMPFSRMAWPEHDVHFISTPSENVTGRDFQRFADLHEEGWYMWLQSRDL
 AGLPAPGVEVYCLYGVGLPTFRITYYDHGFPYTDIPVGLYEDGDDTVATRSTELCGLWQGRQPQPVHLLPLHGIOHLNM
 VFSNLTLHINAILLGAYRQGPASPFTASPERPPE

B MGLEPSPWQRVILLGLLPPATPFWLLNVLFPHTTPKAELSNHTRPVILVPGCLGNRLEAKDKPDDVNVNWCYRKTEDFP
 TIVLDENLPLGVDCWIDNTRIVYNHS SGRVSNAPGVQIRVPGFKTESVEYVDNKLAGYLHTLVQNLVNNGYVRDETV
 BRAAPYDWRLAPHQOQEYTYRKLAGEVEEMVAAVYGRVFLGHSIGCLHLLRQQA WKDRFDGFSLGAPWGGSIKAM
 RILASGDNQGPILSNIKLKEQRITTSPPWMLPAPHVWPEHDVHFISTPNNVTWQDFERFIDLHEEGWHMFLQSRDLLERL
 PARGVEVYCLYGGRPPTHITYYDHNFPYKDPVAALYEDGDDTVATRSTELCGLWQGRQSPVHLLPMNETDHLNMVFSNKTM
 HNAILLGAYRTPKSPASPSPPE

C mglpqspwqvwvillgllppatpfwllnvlfphttpkaelsnhtpvilvpgclgnrleakdkpddvnnvncyrktedffiwldffm
 flplgvdcwidntrvynssghmsnarpqvtrvpgfkytysveylidnklagyhlhtvqnlvnngyvrdevtvraapdwrlaprq
 deyyqklaglyecnyaygkpvthlghslgchvhlhtrpqgskdhfdgfsisgapwggspkmmrilasgdnqgipimsm ikhre
 eqrittspwmpahvvpedhvfisipnfytygqdfertadhfeegwhmfqsrllaglpapgvvevlyevgmpahfyiyvdhn
 fpykdpvaalyedddvatrstelcglwqgrqspvhlpmngidhnmvfnsktlehnaillgayrthgtrpkspstaslpptke

D MGX₁ P G S P W O X₂ V Y₃ L L L G I L L P P A X₄ P F W L L N V L F P P H T T P K A E L S N H T R P V I L V P G C L G N X₅ L E A K D K P D D V N V N W C Y R K T E D
 T B D F F T W L D X₆ N X₇ F L P L G V D C W I D N T R X₈ V Y N X₉ S S G X₁₀ V S N A P G V Q I R V P G F K T X₁₁ S V E Y X₁₂ D X₁₃ X₁₄ K L A G Y L H T L V Q
 N L V N N G Y V R D E T V R A A P Y D W R L X₁₅ P X₁₆ Q O X₁₇ E Y Y X₁₈ K L A G L V E M X₁₉ A A Y G R P V F L G H S I G C L H X₂₀ L X₂₁ F I L R Q P Q X₂
 W K D X₂₃ F I D G F S L G A P W G G S I K X₂₄ M X₂₅ X₂₆ L A S G D N Q G P I X₂₇ S X₂₈ I K I K E B Q R I T T S P W M X₂₉ P X₃₀ X₃₁ A W P E D H V F I S T P X₃
 F N Y T G X₃₃ D F X₃₄ R F F X₃₅ D L H F E B G W X₃₆ M X₃₇ L Q S R D L L X₃₈ X₃₉ I P A P G V E V Y C L Y G V G X₄₀ P T P X₄₁ T Y T Y D H X₄₂ F P Y X₄₃ D P V X₄₄
 X₄₅ L Y E D G D D T V A T R S T E L C G X₄₆ W O G R O X₄₇ Q P V H L L P X₄₈ X₄₉ X₅₀ X₅₁ Q H L N M V F S N L T X₅₂ E H N A I L L G A Y R Q Q P P X₅₃ S P X₅₄
 A S P X₅₅ P P P P X₅₆

X₁ = P, L; X₂ = W, R; X₃ = T, L; X₄ = A, T; X₅ = Q, R; X₆ = L, F; X₇ = M, L; X₈ = V, L; X₉ = R, H; X₁₀ = L, R; X₁₁ = Y, E; X₁₂ = L,
 V; X₁₃ = S, D; X₁₄ = S, N; X₁₅ = E, A; X₁₆ = Q, H; X₁₇ = E, Q; X₁₈ = R, K; X₁₉ = H, Y; X₂₀ = H, L; X₂₁ = Y, H; X₂₂ = A, S; X₂₃ = R,
 H; X₂₄ = P, A; X₂₅ = L, R; X₂₆ = V, L; X₂₇ = M, L; X₂₈ = S, N; X₂₉ = F, L; X₃₀ = R, P; X₃₁ = M, H; X₃₂ = S, N; X₃₃ = R, Q; X₃₄ = Q,
 E; X₃₅ = A, T; X₃₆ = Y, M; X₃₇ = W, F; X₃₈ = A, E; X₃₉ = G, R; X₄₀ = L, R; X₄₁ = R, H; X₄₂ = Q, N; X₄₃ = T, K; X₄₄ = G, A; X₄₅ = V,
 A; X₄₆ = L, Q; X₄₇ = P, S; X₄₈ = L, M; X₄₉ = H, N; X₅₀ = G, E; X₅₁ = L, T; X₅₂ = L, M; X₅₃ = A, K; X₅₄ = T, A; X₅₅ = E, S; X₅₆ = E, C

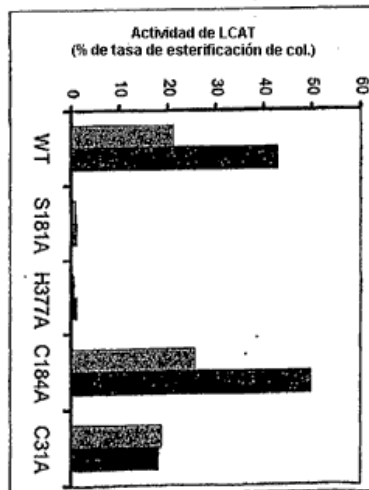
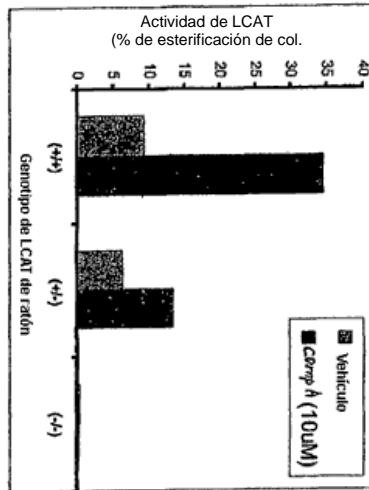


Figura 2

Figura 3

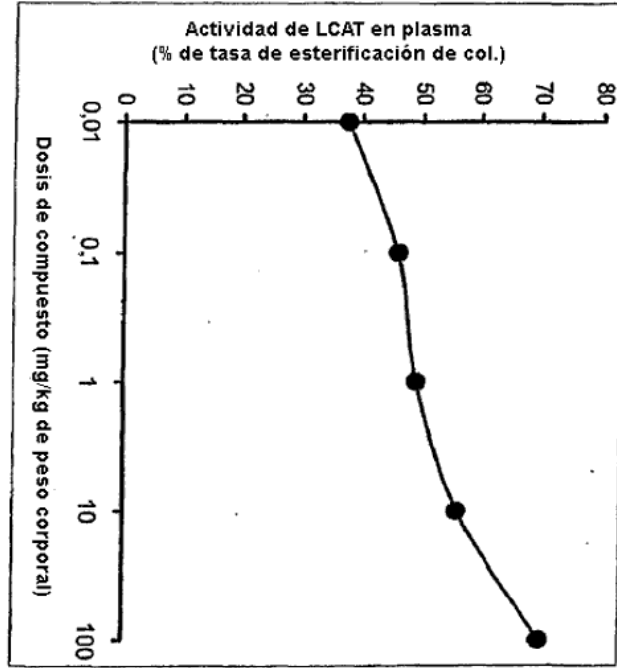


Figura 4

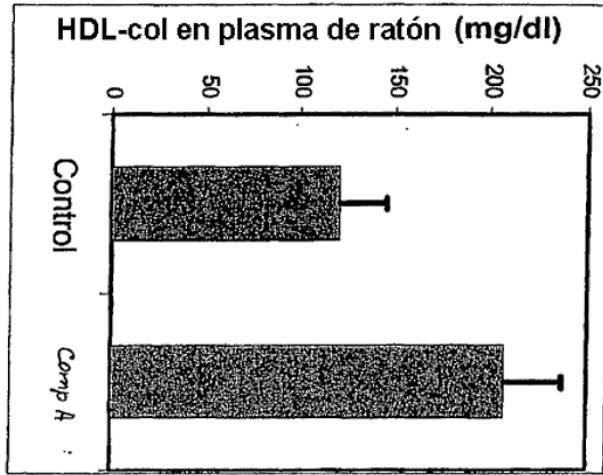
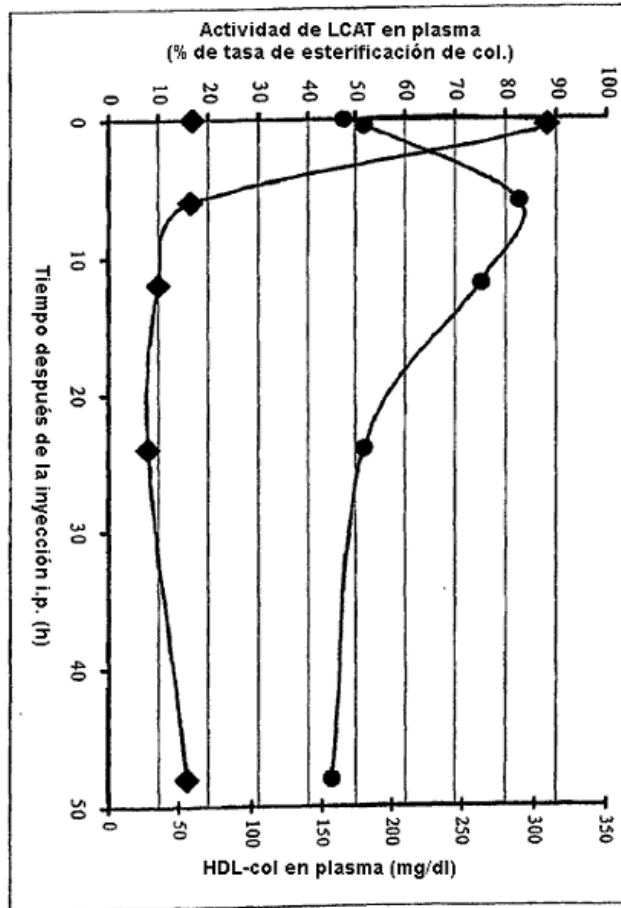


Figura 5



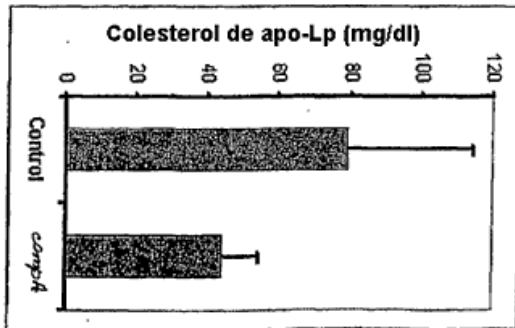
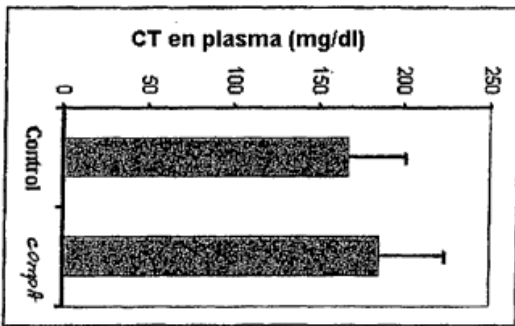
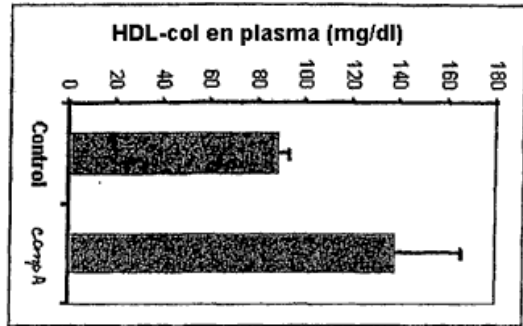


Figura 6

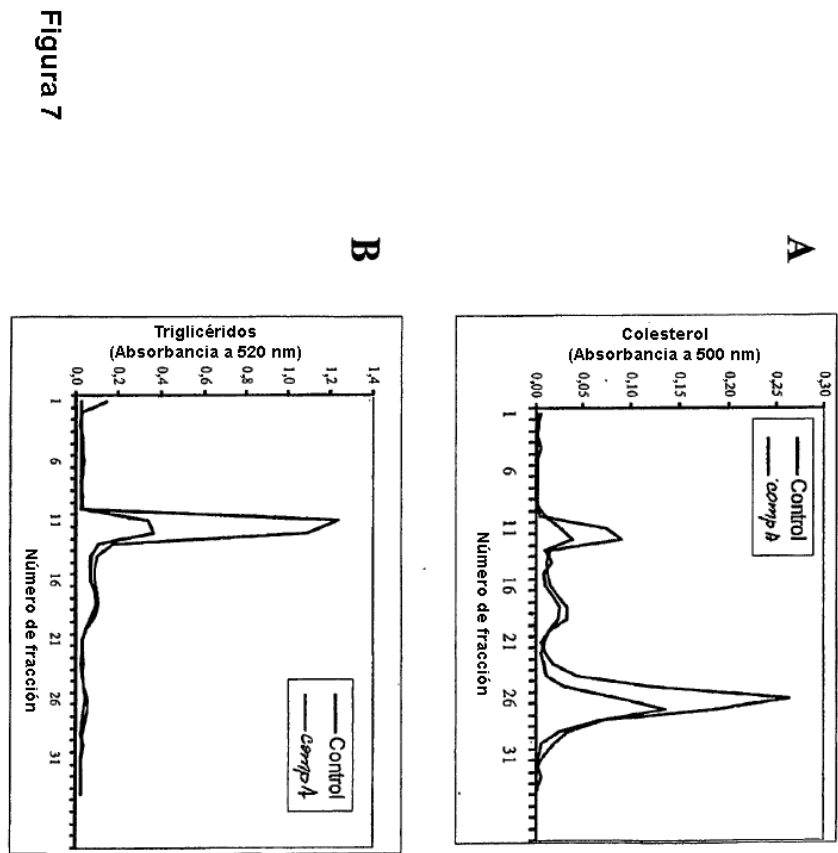


Figura 7