

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 379 169**

51 Int. Cl.:
A61K 31/397 (2006.01) **C07D 205/04** (2006.01)
A61K 31/40 (2006.01)
A61K 31/445 (2006.01)
A61K 31/495 (2006.01)
A61K 31/195 (2006.01)
A61K 31/216 (2006.01)
C07C 323/63 (2006.01)
C07D 207/12 (2006.01)
C07D 211/32 (2006.01)
C07D 241/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04752678 .5**
96 Fecha de presentación: **19.05.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1638551**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **29.03.2006**

54 Título: **Composiciones y compuestos inmunosupresores**

30 Prioridad:
19.05.2003 US 471931 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
23.04.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
23.04.2012

73 Titular/es:
**IRM LLC
HURST HOLME 12 TROTT ROAD
HAMILTON HM 11, BM**

72 Inventor/es:
**MARSILJE, Thomas H.;
GRAY, Nathanael S.;
JIANG, Tao;
LU, Wenshuo y
PAN, Shifeng**

74 Agente/Representante:
Carvajal y Urquijo, Isabel

ES 2 379 169 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

Composiciones y compuestos inmunosupresores

Antecedentes de la invención

Campo de la Invención

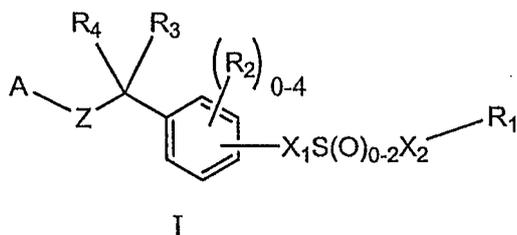
- 5 La invención proporciona una clase novedosa de compuestos inmunosupresores útiles en el tratamiento o la prevención de enfermedades o trastornos mediados por interacciones de linfocitos, particularmente enfermedades asociadas con la transducción de señales mediada por el receptor EDG.

Antecedentes

- 10 Los receptores EDG pertenecen a una familia de receptores acoplados a proteína G activados por lípidos estrechamente relacionados. EDG-1, EDG-3, EDG-5, EDG-6 y EDG-8 (también respectivamente denominados S1P1, S1P3, S1P2, S1P4 y S1P5) se identifican como receptores específicos para esfingosina-1-fosfato (S1P). EDG2 y EDG4 y EDG7 (también denominados LPA1, LPA2 y LPA3, respectivamente) son receptores específicos para lisofosfatídico (LPA). Entre los isotipos del receptor S1P, EDG-1, EDG-3 y EDG-5 están ampliamente expresados en diversos tejidos, mientras que la expresión de EDG-6 está confinada ampliamente a tejidos linfoides y plaquetas, y la de EDG-8 al sistema nervioso central. Los receptores EDG son responsables de la transducción de señales y se cree que desempeñan un papel importante en los procesos celulares que implican el desarrollo, la proliferación, el mantenimiento, la migración, la diferenciación, la plasticidad y la apoptosis celular. Ciertos receptores EDG están asociados con enfermedades mediadas por interacciones de linfocitos, por ejemplo, en el rechazo de trasplante, enfermedades autoinmunitarias, enfermedades inflamatorias, enfermedades infecciosas y cáncer. Una alteración en la actividad del receptor EDG contribuye a la patología y/o sintomatología de estas enfermedades. Por consiguiente, las moléculas que por sí mismas alteran la actividad de los receptores EDG son útiles como agentes terapéuticos en el tratamiento de tales enfermedades. El documento WO03/037271 se refiere a compuestos y a su uso en el tratamiento de estados inflamatorios.

Sumario de la invención

- 25 Esta solicitud se refiere a compuestos de fórmula I:

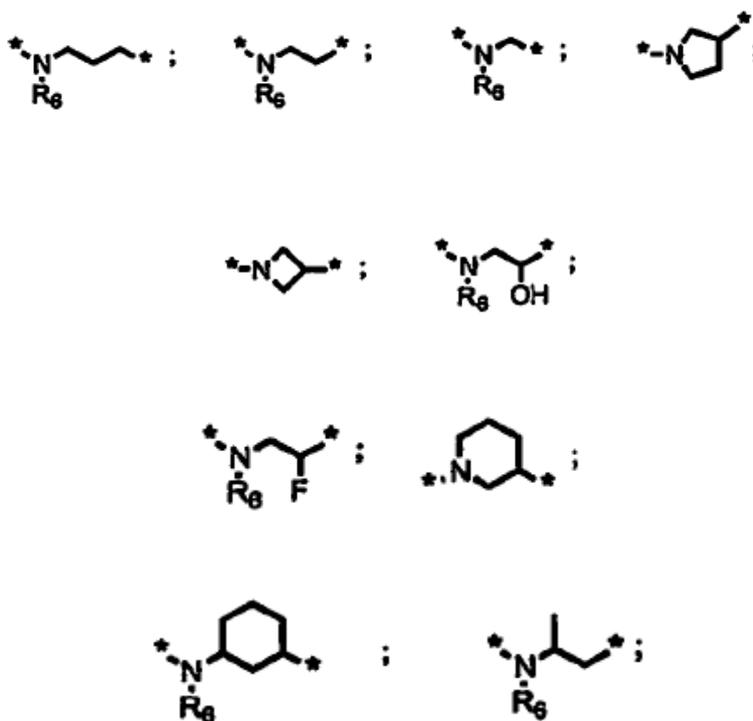


en la que:

A se elige de $-C(O)OH$;

X_1 y X_2 se seleccionan cada uno independientemente de un enlace o alquileo C_{1-6} ;

- 30 Z se elige de:



5 en las que los asteriscos izquierdo y derecho de Z indican el punto de unión entre $-C(R_3)(R_4)-$ y A de la fórmula I, respectivamente; R_6 se elige de hidrógeno y alquilo C_{1-6} ;

10 R_1 se elige de arilo C_{6-10} y heteroarilo C_{2-9} ; en los que cualquier arilo o heteroarilo de R_1 está opcionalmente sustituido con un radical elegido de halógeno, aril C_{6-10} -alquilo C_{0-4} , heteroaril C_{2-9} -alquilo C_{0-4} , cicloalquil C_{3-8} -alquilo C_{0-4} , heterocicloalquil C_{3-8} -alquilo C_{0-4} o alquilo C_{1-6} ; en los que cualquier grupo arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo de R_1 puede estar opcionalmente sustituido con de uno o cinco radicales elegidos de halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxilo C_{1-6} , alquilo C_{1-6} sustituido con halógeno y alcoxilo C_{1-6} sustituido con halógeno; y cualquier grupo alquilo de R_1 puede tener opcionalmente un metileno reemplazado con un átomo o grupo seleccionado de $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-NR_5-$ y $-O-$; en los que R_5 se selecciona de hidrógeno o alquilo C_{1-6} ;

R_2 se elige de alquilo C_{1-6} , alcoxilo C_{1-6} , cicloalquil C_{3-12} -alquilo C_{0-4} , halógeno, alquilo C_{1-6} sustituido con halógeno y alcoxilo C_{1-6} sustituido con halógeno;

15 R_3 y R_4 son ambos hidrógeno, y las sales y solvatos farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, hidratos) de tales compuestos e isómeros ópticos y cis/trans de los mismos.

Un segundo aspecto de la invención es una composición farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula I, isómero cis/trans u óptico individual o mezclas de isómeros del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, mezclado con uno o más excipientes adecuados.

20 La invención permite un método para tratar una enfermedad en un animal en el cual la alteración de la transducción de señal mediada por el receptor EDG puede prevenir, inhibir o mejorar la patología y/o sintomatología de la enfermedad, cuyo método comprende administrar al animal una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I, un isómero cis/trans u óptico individual o mezclas de isómeros del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 La invención permite el uso de un compuesto de la fórmula I en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad en un animal en el cual la alteración de la transducción de señal mediada por el receptor de EDG contribuye a la patología y/o sintomatología de la enfermedad.

Descripción de las realizaciones preferidas

30 La invención proporciona compuestos que son útiles en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos mediados por interacciones de linfocitos. También se proporcionan métodos para tratar tales enfermedades o trastornos.

Definiciones

En esta memoria descriptiva, a menos que se defina otra cosa:

- “Alquilo” como un grupo o como un elemento estructural de otros grupos, por ejemplo alquilo sustituido con halógeno, alcoxilo, acilo, alquiltio, alquilsulfonilo y alquilsulfino, puede ser de cadena o bien lineal o bien ramificada.
- 5 “Alqueno” como un grupo y como un elemento estructural de otros grupos contiene uno o más dobles enlaces carbono-carbono, y puede ser de cadena o bien lineal o bien ramificada. Cualquier doble enlace puede estar en la configuración *cis* o *trans*. “Alqueno” como un grupo y como un elemento estructural de otros grupos y compuestos contiene al menos un triple enlace $C\equiv C$ y también puede contener uno o más dobles enlaces $C=C$, y también, mientras sea posible, puede ser de cadena o bien lineal o bien ramificada. Cualquier grupo cicloalquilo, solo o como
- 10 un elemento estructural de otros grupos puede contener de 3 a 8 átomos de carbono, preferiblemente de 3 a 6 átomos de carbono. “Alqueno” y “alqueno” son radicales divalentes derivados de los grupos “alquilo” y “alqueno”, respectivamente. En esta solicitud, cualquier grupo alquilo de R^1 puede estar opcionalmente interrumpido por un miembro del grupo seleccionado de $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $NR^{20}-$ y $-O-$ (en los que R^{20} es hidrógeno o alquilo C_{1-6}). Estos grupos incluyen $-CH_2-O-CH_2-$, $-CH_2-S(O)_2-CH_2-$, $-(CH_2)_2-NR^{20}-CH_2-$, $-CH_2-O-(CH_2)_2-$, y similares.
- 15 “Ariolo” significa un conjunto de anillos aromáticos monocíclicos o bicíclicos condensados conteniendo de 6 a 10 átomos de carbono. Por ejemplo, el ariolo C_{6-12} puede ser fenilo, bifenilo, o naftilo, preferiblemente fenilo. Un anillo bicíclico condensado puede estar parcialmente saturado, por ejemplo, 1,2,3,4-tetrahidro-naftaleno, y similares. “Arieno” significa un radical divalente derivado de un grupo ariolo. Por ejemplo, el arieno tal como se usa en esta solicitud puede ser fenileno, bifenileno, naftileno y similares.
- 20 “Halo” o “halógeno” significa F, Cl, Br o I, preferiblemente F o Cl. Los compuestos y grupos alquilo sustituido con halógeno pueden estar parcialmente halogenados o perhalogenados, mediante lo cual en el caso de halogenación múltiple, los sustituyentes halógeno pueden ser idénticos o diferentes. Un grupo alquilo perhalogenado preferido es por ejemplo trifluorometilo o trifluorometoxilo.
- “Heteroarilo” significa ariolo, tal como se define en esta solicitud, con la adición de al menos un resto heteroátomo seleccionado de N, O o S, y cada anillo comprende de 5 a 6 átomos de anillo, a menos que se indique otra cosa. Por ejemplo, el heteroarilo C_2 incluye oxadiazol, triazol y similares. El heteroarilo C_9 incluye quinolina, 1,2,3,4-tetrahidro-quinolina, y similares. El heteroarilo C_{2-9} tal como se usa en esta solicitud incluye tienilo, piridinilo, furanilo, isoxazolilo, benzoxazolilo o benzo[1,3]dioxolilo, preferiblemente, tienilo, furanilo o piridinilo. “Heteroarileno” significa heteroarilo, tal como se define en esta solicitud, siempre que el conjunto de anillos comprenda un radical divalente.
- 25 Un sistema de anillos de heteroarilo bicíclico condensado puede estar parcialmente saturado, por ejemplo, 2,3-dihidro-1H-isoindol, 1,2,3,4-tetrahidro-quinolina y similares.

Tal como se usa en la presente invención, un compuesto selectivo de EDG-1 (agente o modulador) tiene una especificidad que es selectiva para EDG-1 sobre EDG-3 y sobre uno o más de EDG-5, EDG-6, y EDG-8. Tal como se usa en el presente documento, la selectividad para un receptor EDG (o un “receptor selectivo”) sobre otro receptor EDG (un “receptor no selectivo”) significa que el compuesto tiene una potencia mucho más alta en la inducción de actividades mediadas por el receptor EDG selectivo (por ejemplo, EDG-1) que la del receptor EDG específico S1P no selectivo. Si se mide en un ensayo de unión $GTP-\gamma S$ (tal como se describe en el ejemplo a continuación), un compuesto selectivo de EDG-1 típicamente tiene una CE_{50} (concentración eficaz que provoca el 50% de la respuesta máxima) para un receptor selectivo (EDG-1) que es de al menos 5, 10, 25, 50, 100, 500 ó 1000 veces más bajo que su CE_{50} para un receptor no selectivo (por ejemplo uno o más de EDG-3, EDG-5, EDG-6 y EDG-8).

35

40

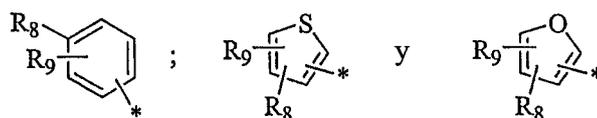
Descripción detallada de la invención

La invención proporciona compuestos que son útiles para tratar o prevenir enfermedades o trastornos que son mediados por interacciones de linfocitos. En una realización, para compuestos de la fórmula I, R_1 es fenilo, naftilo, furanilo o tienilo opcionalmente sustituido con halógeno, aril C_{6-10} -alquilo C_{0-4} , heteroaril C_{2-9} -alquilo C_{0-4} , cicloalquil C_{3-8} -alquilo C_{0-4} , heterocicloalquil C_{3-8} -alquilo C_{0-4} , o alquil C_{1-6} ; en los que cualquier grupo ariolo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo de R_1 puede estar opcionalmente sustituido con de uno a cinco radicales elegidos de alquilo C_{1-6} , alcoxilo C_{1-6} , alquilo C_{1-6} sustituido con halógeno, y alcoxilo C_{1-6} sustituido con halógeno; y cualquier grupo alquilo de R_1 puede tener opcionalmente un metileno reemplazado con un átomo o grupo seleccionado de $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-NR_5-$, y $-O-$; en los que R_5 se elige de hidrógeno o alquilo C_{1-6} ;

45

50

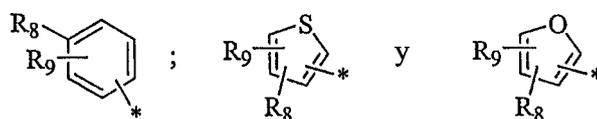
En una realización adicional, R_1 se elige de:



- 5 en las que el asterisco es el punto de unión de R₁ con X₂; R₈ es halógeno, aril C₆₋₁₀-alquilo C₀₋₄, heteroaril C₂₋₉-alquilo C₀₋₄, cicloalquil C₃₋₈-alquilo C₀₋₄, heterocicloalquil C₃₋₈-alquilo C₀₋₄ o alquilo C₁₋₆; en los que cualquier grupo arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo de R₈ puede estar opcionalmente sustituido con de 1 a 3 radicales elegidos de halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ sustituido con halógeno, y alcoxilo C₁₋₆ sustituido con halógeno; y cualquier grupo alquilo de R₁ puede tener opcionalmente un metileno reemplazado con un átomo o grupo elegido de -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -NR₅-, y -O-; en los que R₅ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆; y R₉ se elige de halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ sustituido con halógeno y alcoxilo C₁₋₆ sustituido con halógeno.

En otra realización, R₂ se selecciona de metilo, etilo, ciclopropilo, cloro, bromo, flúor y metoxilo.

- 10 En otra realización, R₁ se elige de:



en las que R₈ se elige de halógeno, ciclohexilo, tienilo, 3,3-dimetil-butilo, piridinilo, ciclopentilo y piperidinilo; en los que R₈ puede estar opcionalmente sustituido con de 1 a 3 radicales seleccionados de trifluorometilo, metoxilo, flúor, trifluorometoxilo y metilo; y R₉ se elige de trifluorometilo, flúor, metilo, cloro, metoxilo y etilo.

- 15 Los compuestos preferidos de la invención se seleccionan de ácido 1-[4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico, ácido 3-[4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-bencilamino]-propiónico, ácido 1-[4-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-bencilsulfanil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico, ácido 1-[4-(2-etil-bifenil-4-ilmetilsulfanil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico, ácido 3-[4-(2-metil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-bencilamino]-propiónico, ácido 1-[4-(4-bromo-3-metil-fenilsulfanilmetil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico, ácido 1-[4-(2-metil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico, ácido 3-[4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilmetilsulfanil)-bencilamino]-propiónico, ácido 1-[4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilmetilsulfanil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico, ácido 3-[4-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-bencilsulfanil)-bencilamino]-propiónico, ácido 3-[4-(2'-etil-2-trifluorometil-bifenil-4-ilmetilsulfanil)-bencilamino]-propiónico, ácido 1-[4-(2'-etil-2-trifluorometil-bifenil-4-ilmetilsulfanil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico, ácido 3-[4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilmetansulfanil)-bencilamino]-propiónico y ácido 3-[4-(2-etil-bifenil-4-ilmetilsulfanil)-bencilamino]-propiónico.
- 20
- 25

Además, los compuestos preferidos también se muestran en los ejemplos y en la tabla 1, más adelante.

- Los compuestos de fórmula 1 pueden existir en forma libre o forma de sal, por ejemplo, sales de adición con ácidos inorgánicos u orgánicos. Cuando están presentes los grupos hidroxilo, estos grupos también pueden estar presentes en forma de sal, por ejemplo, una sal de amonio o sales con metales tales como litio, sodio, potasio, calcio, zinc o magnesio o mezclas de los mismos. Los compuestos de fórmula 1 y sus sales en forma de hidrato o sulfato también son parte de la invención.
- 30

- Cuando los compuestos de fórmula 1 tienen centros asimétricos en la molécula, se obtienen varios isómeros ópticos. La presente invención también abarca enantiómeros, racematos, diaestereoisómeros y mezclas de los mismos. Además, cuando los compuestos de fórmula 1 incluyen isómeros geométricos, la presente invención abarca compuestos cis, compuestos trans y mezclas de los mismos. Se aplican consideraciones similares con relación a los materiales de partida que presentan átomos de carbono asimétricos o enlaces insaturados tal como se mencionó anteriormente.
- 35

Métodos y composiciones farmacéuticas para tratar estados inmunomoduladores

- Los compuestos de fórmula 1 en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, presentan propiedades farmacológicas valiosas, por ejemplo, propiedades para la modulación de la recirculación de linfocitos, por ejemplo, tal como se indica a través de las pruebas *in vitro* e *in vivo* del ejemplo 5 y por tanto se indican para terapia. Los compuestos de fórmula 1 preferiblemente muestran una CE₅₀ en el rango de 1 x 10⁻¹¹ a 1 x 10⁻⁵ M, preferiblemente menos de 50 nM. Los compuestos presentan selectividad para uno o más receptores EDG/S1P, preferiblemente EDG-1/S1P-1. Los moduladores selectivos EDG-1/S1P-1 de la presente invención pueden identificarse a través del ensayo del enlace de un compuesto a EDG-1/S1P-1 y uno más de otros receptores EDG/S1P (por ejemplo, EDG-3/S1P-3, EDG-5/S1P-2, EDG-6/S1P-4 y EDG-8/S1P-5). Un modulador selectivo de EDG-1/S1P-1 normalmente tiene
- 40
- 45

una CE_{50} para el receptor EDG-1/S1P-1 en el rango de 1×10^{-11} a 1×10^{-5} M, preferiblemente menos de 50 nM, más preferiblemente menos de 5 nM. También tiene una CE_{50} para uno o más receptores EDG/S1P que al menos 5,10, 25, 50, 100, 500 ó 1000 veces mayor que su CE_{50} para EDG-1/S1P-1. Por tanto, alguno de los compuestos moduladores EDG-1/S1P1 tendrá una CE_{50} para EDG-1/S1P-1 de menos de 5 nM mientras que su CE_{50} para uno más de otros receptores EDG/S1P son de al menos 100 nM o mayores. Además del ensayo de la actividad de unión de los receptores EDG/S1P, los agentes selectivos EDG-1/S1P-1 también se puede identificar a través de la investigación de la habilidad del agente de prueba para modificar un proceso celular o actividad mediada por un receptor EDG/S1P.

Los compuestos de fórmula I son, por tanto, útiles en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos mediados por interacciones de linfocitos, por ejemplo en trasplantes, tal como rechazo agudo o crónico de alo o xenoinjertos de células, tejidos u órganos o función de injerto retrasada, enfermedad de injerto contra el huésped, enfermedades autoinmunitarias, por ejemplo, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, tiroides de Hashimoto, esclerosis múltiple, miastenia grave, diabetes tipo I o II y trastornos asociados con las mismas, vasculitis, anemia perniciosa, síndrome de Sjogren, uveítis, psoriasis, oftalmopatía de Graves, alopecia areata y otros, enfermedades alérgicas, por ejemplo, asma alérgica, dermatitis atópica, conjuntivitis/rinitis alérgica, dermatitis alérgica de contacto, enfermedades inflamatorias opcionalmente con reacciones aberrantes subyacentes, por ejemplo, enfermedad del intestino inflamatoria, enfermedad de Crohn, o colitis ulcerosa, asma intrínseca, lesión pulmonar inflamatoria, lesión hepática inflamatoria, lesión glomerular inflamatoria, aterosclerosis, artrosis, dermatitis irritante de contacto, y además dermatitis eczematosa, dermatitis seborreica, manifestaciones cutáneas de trastornos mediados inmunológicamente, enfermedad ocular inflamatoria, queratoconjuntivitis, miocarditis o hepatitis, lesión por isquemia/perfusión, por ejemplo, infarto de miocardio, choque, isquemia del intestino, insuficiencia renal o choque hemorrágico, choque traumático, linfomas de células T o leucemias de células T, enfermedades infecciosas, por ejemplo choque tóxico (por ejemplo, superantígeno inducido), choque séptico, síndrome de afección respiratoria en adultos o infecciones virales, por ejemplo SIDA, hepatitis viral, infección bacteriana crónica, o demencia senil. Ejemplos de trasplantes de células, tejidos u órganos sólidos incluyen, por ejemplo, islotes pancreáticas, células madre, médula espinal, tejido de la córnea, tejido neuronal, corazón, pulmón, corazón-pulmón combinado, riñón, hígado, intestino, páncreas, tráquea o esófago. Para los usos anteriores la dosis requerida por supuesto variará dependiendo del modo de administración, el estado particular que se va a tratar y el efecto deseado.

Además, los compuestos de fórmula I son útiles en quimioterapia de cáncer, particularmente para quimioterapia de cáncer de tumores sólidos, por ejemplo, cáncer de mama, o como agente antiangiogénico.

La dosis requerida por supuesto variará dependiendo del modo de la administración, el estado particular que se va a tratar y el efecto deseado. En general, los resultados satisfactorios se indica que se van a obtener sistemáticamente a dosis diarias de alrededor de aproximadamente 0,03 a 2,5 mg/kg por peso corporal. Una dosis diaria indicada para un mamífero más grande, por ejemplo seres humanos, está en el intervalo de desde aproximadamente 0,5 mg hasta aproximadamente 100 mg, convenientemente administrada, por ejemplo, en dosis divididas hasta cuatro veces al día o en forma retardada. Las formas farmacéuticas unitarias adecuadas para administración oral comprenden de desde aproximadamente 1 hasta 50 mg de principio activo.

Los compuestos de fórmula I pueden administrarse mediante cualquier ruta convencional, en particular por vía enteral, por ejemplo, por vía oral, por ejemplo en forma de comprimidos o cápsulas, o por vía parenteral, por ejemplo, en forma de disoluciones o suspensiones inyectables, por vía tópica, por ejemplo en forma de lociones, geles, pomadas o cremas, o en forma nasal o un supositorio. Las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula I en forma libre una forma de sal farmacéuticamente aceptable en asociación con al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable pueden fabricarse de manera convencional mezclándolas con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de fórmula I pueden administrarse en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, tal como se indicó anteriormente. Dichas sales pueden prepararse en de manera convencional y presentar el mismo orden de actividad que los compuestos libres.

Según lo anterior la presente invención permite además.

1.1 Un método para prevenir o tratar enfermedades o trastornos mediados por linfocitos, por ejemplo, tal como se indicó anteriormente, en un sujeto que necesita tal tratamiento, cuyo método comprende administrar a dicho sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

1.2 Un método para prevenir o tratar rechazo de trasplante agudo o crónico o enfermedades inflamatorias o autoinmunitarias mediadas por células T, por ejemplo tal como se indicó anteriormente, en un sujeto que necesita tal tratamiento, cuyo método comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

- 1.3 Un método para inhibir o controlar angiogénesis no regulada, por ejemplo, angiogénesis mediada por esfingosina-1-fosfato (S1P), en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 5 1.4 Un método para prevenir o tratar enfermedades mediadas por un proceso de neo-angiogénesis o asociado con angiogénesis no regulada en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La invención proporciona adicionalmente.
2. Un compuesto de fórmula I, en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable para su uso como producto farmacéutico, por ejemplo, en cualquiera de los métodos indicados en 1.1 a 1.4 anteriores.
- 10 3. Una composición farmacéutica, por ejemplo, para su uso en cualquiera de los métodos como en 1.1 a 1.4 anteriores, comprendiendo un compuesto de fórmula I en forma libre o forma de sal farmacéuticamente aceptable en asociación con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable del mismo.
4. Un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la preparación de una composición farmacéutica para su uso en cualquiera de los métodos como en 1.1 a 1.4 anteriores.
- 15 Los compuestos de fórmula I pueden administrarse como principio activo sólo o junto con, por ejemplo un adyuvante para, otros fármacos por ejemplo, agentes inmunosupresores o inmunomoduladores u otros agentes anti-inflamatorios, por ejemplo, para el tratamiento o la prevención de rechazo agudo o crónico a alo o xenoinjertos o trastornos autoinmunitarios, o un agente quimioterapéutico, por ejemplo un agente anti-proliferativo de célula médica. Por ejemplo los compuestos de fórmula I pueden utilizarse en combinación con un inhibidor de calcineurina, por ejemplo, ciclosporina A o FK 506; y un inhibidor de mTOR, por ejemplo, rapamicina, 40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina, CCI779, ABT578 o AP23573; una ascomicina que tiene propiedades inmunosupresoras, por ejemplo, ABT-281, ASM981, etc.; corticosteroides; ciclofosfamida; azatiopreno; metotrexato; leflunomida; mizoribina; ácido micofenólico; micofenolato de mofetilo; 15-desoxiespergualina o un homólogo, análogo o derivado inmunosupresor del mismo; los anticuerpos monoclonales inmunosupresores, por ejemplo, anticuerpos monoclonales para los receptores de leucocito, por ejemplo, MHC, CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD25, CD28, CD40, CD45, CD58, CD80, CD86 o sus ligandos; otros compuestos inmunomoduladores, por ejemplo, una molécula de unión recombinante que tiene al menos una parte del dominio extracelular de CTLA4 o un mutante de la misma, por ejemplo, al menos una parte extracelular de CTLA4 o un mutante de la misma unido a una secuencia de no de proteína, por ejemplo, CTLA4lg (por ejemplo ATCC68629 designada) un mutante de la misma, por ejemplo, LEA29Y; inhibidores de la molécula de adhesión, por ejemplo, antagonistas LFA-1, antagonistas ICAM-1 o -3, antagonistas VCAM-4 o antagonistas VLA-4; o un agente quimioterapéutico.
- 20
- 25
- 30
- Por el término "agente quimioterapéutico" se entiende cualquier agente quimioterapéutico e incluye pero no se limita a,
- i. un inhibidor de aromatasas,
- 35 ii. un antiestrógeno, un antiandrógeno (especialmente en el caso de cáncer de próstata) o un agonista de gonadorelina,
- iii. un inhibidor de topoisomerasa I o un inhibidor de topoisomerasa II,
- iv. un agente activo de microtúbulos, un agente de alquilación, un antimetabolito antineoplástico un compuesto de platino,
- 40 v. un compuesto que selecciona como diana/disminuye la actividad proteínica o lípido cinasa o la actividad proteínica o lípido fosfatasa, y además un compuesto antiangiogénico o un compuesto que induce los procesos de diferenciación celular,
- vi. un receptor de bradiquinina I o un antagonista de angiotensina II,
- 45 vii. un inhibidor de ciclooxigenasa, un bisfosfonato, un inhibidor de histona deacetilasa, un inhibidor de heparanasa (previene la degradación de sulfato de heparán), por ejemplo, PI-88, un modificador de la respuesta biológica, preferiblemente linfocinas o interferones, por ejemplo, interferon α , un inhibidor de ubiquitinación, un inhibidor que bloquea rutas antiapoptóticas,
- viii. un inhibidor de isoformas oncogénicas Ras, por ejemplo, H-Ras, K-Ras o N-Ras, o un inhibidor de farnesil transferasa, por ejemplo, L-744,832 o DK8G557,

ix. un inhibidor de telomerasa, por ejemplo, telomestatina,

x. un inhibidor de proteasa, un inhibidor de metaloproteinasa de la matriz, un inhibidor de metionina aminopeptidasa, por ejemplo bengamida o un derivado de la misma, o un inhibidor de proteosoma, por ejemplo, PS-341 y/o

xi. un inhibidor de mTOR.

5 El término “inhibidor de aromatasa” tal como se usa en el presente documento se refiere a un compuesto que inhibe la producción de estrógeno, es decir, la conversión de los sustratos de androstendiona y testosterona a estrona y estradiol, respectivamente. El término incluye, pero no se limita a esteroides, especialmente atamestano, exemestano y formestano y, el particular, no esteroides, especialmente aminogutatimida, roglitimida, piridoglutimida, trilostano, testolactona, quetoconazol, vorozol, fadrozol, anastrozol y letrozol. Una combinación de la invención que
10 comprende un agente quimioterapéutico que es un inhibidor de aromatasa es particularmente útil para el tratamiento de tumores positivos del receptor de hormonas, por ejemplo, tumores de mama.

15 El término “antiestrógeno” tal como se usa en el presente documento se refiere a un compuesto que antagonista el efecto de los estrógenos al nivel de receptor del estrógeno. El término incluye, pero no se limita a tamoxifeno, fulvestrant, raloxifeno y clorhidrato de raloxifeno. Una combinación de la invención que comprende un agente quimioterapéutico que es un antiestrógeno es particularmente útil para el tratamiento de tumores positivos del receptor de estrógeno, por ejemplo, tumores de mama.

El término “antiandrógeno” tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier sustancia que puede inhibir los efectos biológicos de las hormonas androgénicas e incluye, pero no se limita a, bicalutamida.

20 El término “agonista de gonadorelina” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a abarelix, goserelina y acetato de goserelina.

El término “inhibidor de topoisomerasa I” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita topotecán, irinotecan, 9-nitrocampotecina y el conjugado de camptotecina macromolecular PNU-166148 (compuesto AI en el documento W099/17804).

25 El término “inhibidor de topoisomerasa II” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a las antraciclinas tales como doxorubicina, daunorubicina, epirubicina, idarubicina y nemorubicina, las antraquinonas mitoxantrona y losoxantrona, y las podofilotoxinas etopósido y tenipósido.

30 El término “agente activo de microtúbulos” se refiere a los agentes estabilizadores de microtúbulos y desestabilizadores de microtúbulos que incluyen, pero no se limitan a taxanos, por ejemplo, paclitaxel y docetaxel, alcaloides de la vinca, por ejemplo, vinblastina, especialmente sulfato de vinblastina, vincristina especialmente sulfato de vincristina, y vinorelbina, discodermolidas y epotilonas y derivados de los mismos, por ejemplo epotilona B un derivado del mismo.

El término “agente de alquilación” tal como se usa en el presente documento incluye pero no se limita a busulfano, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalán o nitrosourea (BCNU o Gliadel™).

35 El término “antimetabolito antineoplástico” incluye, pero no se limita 5-fluorouracilo, capecitabina, gemcitabina, citarabina, fludarabina, tioguanina, metotrexato y edatrexato.

El término “compuesto de platino” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a carboplatino, cis-platino y oxaliplatino.

40 El término “compuestos que seleccionan como diana/disminuyen una actividad proteína o lípido cinasa o compuestos antiangiogénicos adicionales” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a inhibidores de proteína tirosina cinasa y/o inhibidores de serina y/o treonina cinasa o inhibidores de lípido cinasa, por ejemplo, compuestos que seleccionan como diana, disminuyen, o inhiben la actividad de la familia del factor de crecimiento epidémico de las tirosina cinasas del receptor (EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4 como homo-o heterodímeros), la familia del factor de crecimiento endotelial vascular de tirosina cinasas del receptor (VEGFR), los receptores del factor de crecimiento derivados de plaquetas (PDGFR), los receptores del factor de crecimiento de fibroblasto (FGFR), el receptor 1 del factor de crecimiento de tipo insulina (IGF-1R), la familia de tirosina cinasa del receptor Trk, la familia de tirosina cinasa del receptor AX₁, la tirosina cinasa del receptor Ret, la tirosina cinasa del receptor Kit/SCFR, los miembros de la familia c-Ab1 y sus productos de fusión de gen (por ejemplo, BCR-Ab1), miembros de cinasa C de proteína (PKC), y la familia Raf de serina/treonina cinasas, miembros de la familia de cinasa MEK, SRC, JAK, FAK, PDK o PI (3), o la familia de cinasa relacionada con cinasa PI(3), y/o miembros de la
45 familia cinasa dependiente de ciclina (CDK) y compuestos antiangiogénicos que tienen otro mecanismo para su actividad, por ejemplo, no relacionados con la inhibición de cinasa de proteína o lípido.
50

Los compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de VEGFR son especialmente compuestos, proteínas o anticuerpos que inhiben la tirosina cinasa del receptor VEGF, inhiben un receptor VEGF o se unen a VEGF, y son en particular los compuestos, proteínas o anticuerpos monoclonales que genéricamente y específicamente se describen en el documento WO 98/35958, por ejemplo, 1-(4-cloroanilino)-4-(4-piridilmetil)ftalazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, por ejemplo, el succinato, en el documento WO00/27820, por ejemplo un derivado de amida de ácido N-aril(tio)antranílico por ejemplo 2-[(4-piridil)metil]amino-N-[3-metoxi-5-(trifluorometil)fenil]benzamida o 2-[(1-óxido-4-piridil)metil]amino-N-[3-trifluorometilfenil]benzamida, o en los documentos WO 00/09495, WO 00/59509, WO 98/11223, WO 00/27819 y EP 0 769 947; aquellos tal como se describen por M. Prewett *et al.* en Cancer Research 59 (1999) 5209-5218, por F. Yuan *et al.* en Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 93, págs. 14765-14770, Dic. 1996, por Z. Zhu *et al.* en Cancer Res. 58, 1998, 3209-3214, y por J. Mordenti *et al.* en Toxicologic Pathology, Vol. 27, no. 1, págs. 14-21, 1999; en los documentos WO 00/37502 y WO 94/10202; Angiostatina, descrito por M. S. O'Reilly *et al.*, Cell 79,1994, 315-328; EndostatinTM, descrito por M. S. O'Reilly *et al.*, Cell 88, 1997, 277-285; amidas de ácido antranílico; ZD4190; ZD6474; SU5416; SU6668; o anticuerpos anti-VEGF o anticuerpos del receptor anti-VEGF receptor, por ejemplo RhuMab.

15 Por anticuerpo se entiende anticuerpos monoclonales intactos, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos formados de al menos dos anticuerpos intactos, y fragmentos de anticuerpos siempre que presentan la actividad biológica deseada.

Los compuestos que se seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de la familia del receptor del factor de crecimiento epidémico son especialmente compuestos, proteínas o anticuerpos que inhiben miembros de la familia tirosina cinasa del receptor EGF, por ejemplo, el receptor EGF, ErbB2, ErbB3 y ErbB4 o se unen a EGF o ligandos relacionados con EGF, o que tienen un efecto inhibidor doble sobre la cinasa del receptor VEGF y ErbB y son en particular aquellos compuestos, proteínas o anticuerpos monoclonales que genéricamente y específicamente se dan a conocer en el documento WO 97/02266, por ejemplo el compuesto del ejemplo 39, o en los documentos EP 0 564 409, WO 99/03854, EP 0520722, EP 0 566 226, EP 0 787 722, EP 0 837 063, US 5.747.498, WO 98/10767, WO 97/30034, WO 97/49688, WO 97/38983 y, especialmente, WO 96/30347 (por ejemplo, el compuesto conocido como CP 358774), el documento WO 96/33980 (por ejemplo, el compuesto ZD 1839) y el documento WO 95/03283 (por ejemplo el compuesto ZM105180) o PCT/EP02/08780; por ejemplo trastuzumab(Herpetin^R), cetuximab, Iressa, OSI-774, CI-1033, EKB-569, GW-2016, EI.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6.3 o E7.6.3.

Los compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de PDGFR son especialmente compuestos que inhiben el receptor PDGF, por ejemplo, un derivado de N-fenil-1-pirimidin-amina, por ejemplo, imatinib.

Los compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de los miembros de la familia c-Abl y sus productos de fusión de gen son, por ejemplo, un derivado de N-fenil-2-pirimidin-amina, por ejemplo imatinib; PD180970; AG957; o NSC 680410.

Los compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad de cinasa de proteína C, Raf, MEK, SRC, JAK, FAK y miembros de la familia PDK, o cinasa PI(3) o miembros de la familia relacionados con cinasa PI (3), y/o miembros de la familia de cinasa dependiente de ciclina (CDK) son especialmente aquellos derivados de estaurosporina descritos en el documento EP 0 296 110, por ejemplo, midostaurina; ejemplos de otros compuestos adicionales incluyen, por ejemplo, UCN-01, safingol, BAY 43-9006, Briostatina 1, Perifosina; Ilmofosina; RO318220 y RO 320432; GO 6976; Isis 3521; o LY333531/LY379196.

Los compuestos antiangiogénicos adicionales son por ejemplo, talidomida (TALOMIDA) y TNP-470.

Los compuestos que seleccionan como diana, disminuyen o inhiben la actividad proteína o lípido fosfatasa son, por ejemplo, inhibidores de fosfatasa 1, fosfatasa 2A, PTEN o CDC25, por ejemplo, ácido ocaidaico y derivado de los mismos.

45 Los compuestos que inducen los procesos de diferenciación celular son, por ejemplo, ácido retinoico, α -, γ - o δ -tocoferol o α -, γ - o δ -tocotrienol.

El término inhibidor de ciclooxigenasa tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a, por ejemplo, celecoxib (Celebrex[®]), rofecoxib (Vioxx[®]), etoricoxib, valdecoxib o un ácido 5-alquil-2-amilaminofenilacético, por ejemplo, ácido 5-metil-2-(2'-cloro-6'-fluoroanilino)fenilacético.

50 El término "inhibidor de desacetilasa de histona" tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a, EM-27-275, SAHA, piroxamida, FR-901228 o ácido valproico.

El término "bisfosfonatos" tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a, ácido etridrónico, clodrónico, tiludrónico, pamidrónico, alendrónico, ibandrónico, risedrónico y zoledrónico.

El término “inhibidor de metaloproteinasas de la matriz” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita a inhibidores peptidomimético y no peptidomiméticos de colágeno, derivados de tetraciclina, por ejemplo, el inhibidor péptidomimético de hidroxamato batimastat y su análogo biodisponible por vía oral marimastat, prinomastat, BMS-279251, BAY 12-9566, TAA211 o AAJ996.

5 El término “inhibidor de mTOR” tal como se usa en el presente documento incluye, pero no se limita rapamicina (sirolimus o un derivado de la misma, por ejemplo, 32-deoxorapamicina, 16-pent-2-iniloxi-2-deoxorapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32(S)-dihidro-rapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32(S)-dihidro-40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina y, más preferiblemente, 40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina. Ejemplos adicionales de derivados de rapamicina incluyen, por ejemplo, CCI779 o 40-[3-hidroxi-2-(hidroximetil)-2-metilpropanoato]-rapamicina o una sal farmacéuticamente
10 aceptable del mismo, tal como se dan a conocer en el documento USP 5.362.718, ABT578 o 40-(tetrazolil)-rapamicina, particularmente 40-epi-(tetrazolil)-rapamicina, por ejemplo tal como se describe en el documento WO 99/15530, o rapálogos tal como se describen en los documentos WO 98/02441 y WO01/14387, por ejemplo AP23573.

15 Cuando los compuestos de fórmula 1 se administran en conjunción con otros compuestos inmunosupresores/inmunomoduladores, anti-inflamatorios o de terapia quimioterapéutica, la dosificación del compuesto inmunosupresor, inmunomodulador, anti-inflamatorio o quimioterapéutico co-administrado por supuesto variará dependiendo del tipo de co-fármaco empleado, por ejemplo si es un asteroide o un inhibidor de calcineurina, o el fármaco específico empleado, o del estado que se está tratando, etc.

Según lo anterior mencionado la presente invención permite aún en un aspecto adicional:

20 5. Un método tal como se definió anteriormente que comprende la co-administración, por ejemplo, concomitantemente o en secuencia, de una cantidad no tóxica terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I y al menos una segunda sustancia de fármaco, por ejemplo, un fármaco inmunosupresor, inmunomoduladores, anti-inflamatorio o quimioterapéutico, por ejemplo, tal como se indicó anteriormente.

La invención también proporciona:

25 6. Una combinación farmacéutica, por ejemplo, un kit que comprende a) un primer agente que es un compuesto de fórmula I tal como se da a conocer en el presente documento, en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, y b) al menos un co-agente, por ejemplo, un fármaco inmunosupresor, inmunomoduladores, anti-inflamatorio o quimioterapéutico, por ejemplo, tal como se dio a conocer anteriormente. El kit puede comprender instrucciones para su administración.

30 Los términos “co-administración” o “administración combinada” o similares tal como se usa en el presente documento se entienden que abarcan administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un paciente individual, y pretenden incluir regímenes de tratamiento en los que los agentes no necesariamente se administran a través de la misma vía de administración o al mismo tiempo.

35 El término “combinación farmacéutica” tal como se usa en el presente documento significa un producto que resulta de la mezcla combinación de más de un principio activo e incluye combinaciones tanto fijas como no fijas, del principio activo. El término “combinación fija” significa que los principios activos, por ejemplo, un compuesto de la fórmula I y un co-agente, ambos se administran a un paciente simultáneamente en forma de una entidad individual o dosificación. El término “combinación no fija” significa que los principios activos, por ejemplo un compuesto de la fórmula I y un co-agente, ambos se administran a un paciente como entidades separadas o bien simultánea,
40 concurrente o bien secuencialmente sin límites de tiempo específicos, en los que dicha administración proporciona niveles terapéuticamente eficaces de los dos compuestos en el cuerpo del paciente. Este último también se aplica a terapia de cóctel, por ejemplo, la administración de tres o más principios activos.

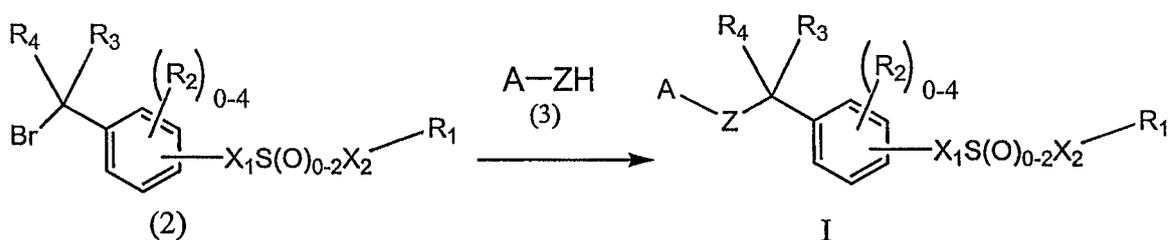
Métodos para preparar compuestos de la invención

45 Los procedimientos para la preparación de compuestos inmunomoduladores de la invención son tal como sigue. En las reacciones descritas, puede ser necesario proteger los grupos funcionales reactivos, por ejemplo, los grupos hidroxilo, amino, imino, tio o carboxilo, cuando éstos se desean en el producto final, para evitar su participación no deseada en las reacciones. Pueden usarse grupos protectores convencionales según la práctica convencional, por ejemplo, ver, T. W. Greene y P. G. M. Wuts in “Protective Groups in Organic Chemistry”, John Wiley y Sons, 1991.

Los compuestos de fórmula I pueden prepararse procediendo como en el siguiente esquema de reacción 1:

50

ESQUEMA DE REACCIÓN 1

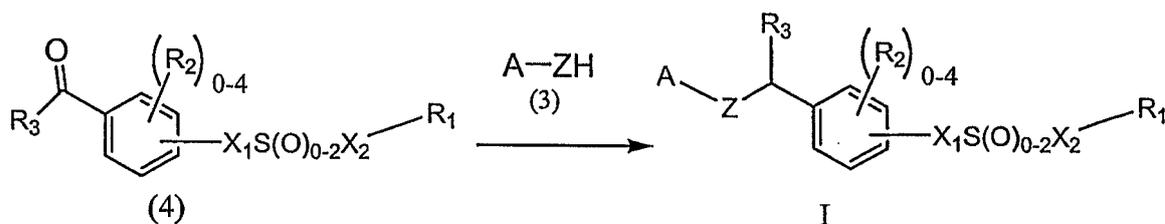


5 en el que R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , X_1 , X_2 , A y Z son como se definen para la fórmula 1 anterior. Los compuestos de fórmula I pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula 2 con un compuesto de fórmula 3 en presencia de un disolvente adecuado (por ejemplo, DCM, DMF y similares) y una base adecuada (por ejemplo, DIEA, NaOH o similares). La reacción avanza a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 100°C y puede llevar hasta 48 horas para completarse.

Los compuestos de la fórmula I en la que R_3 es hidrógeno o alquilo C_{1-6} y R_4 es hidrógeno, pueden prepararse avanzando como en el siguiente esquema de reacción 2:

10

ESQUEMA DE REACCIÓN 2



15 en el que, R_1 , R_2 , X_1 , X_2 , A y Z son como se definen para la fórmula I anterior. Los compuestos de fórmula I pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula 4 con un compuesto de fórmula 3 en presencia de un disolvente adecuado (por ejemplo, MeOH y similares) una base adecuada (por ejemplo, TEA y similares) y un agente de reducción adecuado (por ejemplo NaCNBH_3 , y similares). La reacción avanza a una temperatura aproximadamente de 0 a aproximadamente 100°C y puede llevar hasta 48 horas para completarse.

Procedimientos adicionales para la preparación de los compuestos de la invención

20 Un compuesto de la invención puede prepararse como una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable a haciendo reaccionar la forma de base libre del compuesto con un ácido inorgánico o orgánico farmacéuticamente aceptable. Alternativamente, una sal de adición de base farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención puede prepararse haciendo reaccionar la forma de ácido libre del compuesto con una base inorgánica u orgánica farmacéuticamente aceptable. Alternativamente, las formas de sal de los compuestos de la invención pueden prepararse usando sales de los materiales de partida o productos intermedios.

25 Las formas de ácido libre o de base libre de los compuestos de la invención pueden prepararse a partir de la forma de sal de adición de base o de la forma de sal de adición de ácido correspondiente, respectivamente. Por ejemplo, un compuesto de la invención en una forma de sal de adición de ácido puede convertirse en la base libre correspondiente tratándola con una base adecuada (por ejemplo, una disolución de hidróxido de amonio, hidróxido de sodio, y similares). Un compuesto de la invención en una forma de sal de adición de base puede convertirse en ácido libre correspondiente tratándola con un ácido adecuado (por ejemplo, ácido clorhídrico, etc.).

30 Los compuestos de la invención en forma no oxidada pueden prepararse a partir de en N-óxidos de compuestos de la invención tratándolos con un agente de reducción (por ejemplo, azufre, dióxido de azufre, trifenilfosina, borohidruro de litio, borohidruro de sodio, tricloruro de fósforo, tribromuro o similares) en un disolvente orgánico inerte adecuado (por ejemplo, acetonitrilo, etanol, dioxano acuoso o similares) a de 0°C a 80°C.

35 Los derivados de profármacos de los compuestos de la invención pueden prepararse mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica (por ejemplo, para detalles adicionales véanse Saulnier *et al.*, (1994), Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, Vol. 4, pág. 1985). Por ejemplo, los profármacos apropiados pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto no derivatizado de la invención con un agente de carbamitación adecuado (por ejemplo, clorhidrato de 1,1-aciloxialquilcarbano, carbonato de para-nitrofenilo, o similares).

Los derivados protegidos de los compuestos de la invención pueden prepararse mediante medios conocidos para los expertos en la técnica. Una descripción detallada de las técnicas aplicables para la creación de los grupos protectores y su eliminación puede encontrarse en T W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3ª edición, John Wiley and Sons, Inc., 1999.

- 5 Los compuestos de la presente invención pueden prepararse convenientemente, o formarse durante el procedimiento de la invención, como solvatos (por ejemplo, hidratos). Los hidratos de los compuestos de la presente invención pueden prepararse convenientemente mediante la recristalización en una mezcla de disolventes acuosos/orgánicos, utilizando disolventes orgánicos tales como dioxina, tetrahidrofurano o metanol.

- 10 Los compuestos de la invención pueden prepararse como sus estereoisómeros individuales haciendo reaccionar una mezcla racémica del compuesto con un agente de resolución ópticamente activo para formar un par de compuestos diaestereoisoméricos, separando los diaestereómeros y recuperando los enantiómeros ópticamente puros. Aunque la resolución de los enantiómeros puede llevarse a cabo utilizando derivados diaestereoméricos covalentes de los compuestos de la invención, se prefieren los complejos desasociables (por ejemplo, sales diaestereoméricas cristalinas). Los diaestereómeros tienen distintas propiedades físicas (por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidades, reactividad, etc.) y pueden separarse fácilmente aprovechando de estas disimilitudes. Los diaestereómeros pueden separarse mediante cromatografía, o preferiblemente mediante técnicas de separación/resolución con base en las diferencias en la solubilidad. Entonces se recupera el enantiómero ópticamente puro, junto con el agente de resolución, a través de cualquier medio práctico que no daría como resultado la racemización. Una descripción más detallada de las técnicas aplicables a la resolución de los estereoisómeros de los compuestos a partir de su mezcla racémica puede encontrarse en Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley And Sons, Inc., 1981.

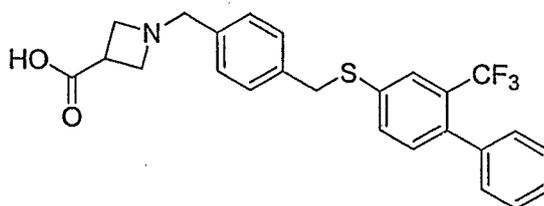
En resumen, los compuestos de fórmula I pueden prepararse mediante un procedimiento, que implica:

- (a) esquemas de reacción 1 ó 2 anteriores; y
- (b) convertir opcionalmente un compuesto de la presente invención en una sal farmacéuticamente aceptable;
- 25 (c) convertir opcionalmente una forma de sal de un compuesto de la invención en una forma no de sal;
- (d) convertir opcionalmente una forma no oxidada de un compuesto de la invención en un N-óxido farmacéuticamente aceptable;
- (e) convertir opcionalmente una forma de N-óxido de un compuesto de la invención en su forma no oxidada;
- 30 (f) resolver opcionalmente un isómero individual de un compuesto de la invención a partir de una mezcla de isómeros;
- (g) convertir opcionalmente un compuesto no derivatizado de la invención en un derivado de profármaco farmacéuticamente aceptable; y
- (h) convertir opcionalmente un derivado de profármaco de un compuesto de la invención en su forma no derivatizada.
- 35 En tanto que la producción de los materiales de partida no se describe particularmente, los compuestos se conocen o pueden prepararse de manera análoga a los métodos conocidos en la técnica o tal como se dan a conocer en los ejemplos a continuación en el presente documento.

- 40 Un experto en la técnica apreciará que las transformaciones anteriores solamente son representativas de los métodos para la preparación de los compuestos de la presente invención, y que también pueden utilizarse similarmente los otros métodos bien conocidos.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos proporcionan descripciones detalladas de la preparación de los compuestos representativos y se ofrecen para ilustrar, pero no limitan la presente invención.

Ejemplo 1Ácido 1-[4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico

- 5 A una disolución de 4-bromo-3-(trifluorometil)anilina (360 mg, 1,50 mmoles, 1 equivalente) en DMF (5 ml) se le añade ácido fenilborónico (274 mg, 2,25 mmoles, 1,5 equivalentes), K_2CO_3 (621 mg, 4,5 mmoles, 3 equivalentes) y tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) (173 mg, 0,15 mmoles, 0,1 equivalentes). Se purga la mezcla con N_2 (g) durante 5 minutos y se calienta a $120^\circ C$ durante 20 h. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se diluye la reacción con EtOAc y se lava con H_2O seguido por NaCl acuoso saturado. Se seca la disolución orgánica sobre Na_2SO_4 : Después de la concentración, se purifica el residuo mediante cromatografía de gel de sílice en gradiente (hexanos a hexanos/EtOAc 3:1) para dar 2-trifluorometil-bifenil-4-ilamina. [EM: (ES^+) 238,1 (M+1) $^+$].
- 10 Se disuelve 2-trifluorometil-bifenil-4-ilamina (175 mg, 0,7377 mmoles, 1 equivalente) en una mezcla de CH_3OH 80,75 ml), H_2O (0,75 ml), HCl acuoso concentrado (0,4 ml). Se enfría esta disolución hasta $0^\circ C$ y se añade lentamente una disolución de $NaNO_2$ (71 mg, 1,033 mmoles, 1,4 equivalentes) disuelta en H_2O (0,30 ml) a lo largo de 1 hora manteniendo la temperatura de reacción a $0^\circ C$. Después de que se completa se adiciona rápidamente la mezcla de reacción a una disolución de sal de potasio de ácido O-etil-xantánico (237 mg, 1,475 mmoles, 2 equivalentes) en H_2O (0,70 ml) la cual se había precalentado hasta $65^\circ C$. Se agita esta mezcla de reacción a $65^\circ C$ durante 15 minutos. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se diluye la reacción con EtOAc y se lava con H_2O seguido por NaCl acuoso saturado. Se seca la disolución orgánica sobre Na_2SO_4 . Después de la concentración, se purifica el residuo mediante cromatografía de gel de sílice (hexanos/EtOAc 9:1) para dar éster S-(2-trifluorometil-bifenil-4-il) de éster O-etílico de ácido ditiocarbónico.
- 20 A una disolución de éster S-(2-trifluorometil-bifenil-4-il) de éster O-etílico de ácido ditiocarbónico (128 mg, 0,3738 mmoles) en EtOH (5 ml) se le añade NaOH acuoso (1 N, 5 ml). Se calienta la mezcla a $65^\circ C$ durante 3 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se añade HCl 1 N (acuoso) hasta que se ajusta el pH de la reacción a aproximadamente pH=5. Se diluye la reacción con EtOAc y se lava con H_2O seguido por NaCl acuoso saturado. Se seca la disolución orgánica sobre Na_2SO_4 . Después de la concentración, se disuelve el producto 2-trifluorometil-bifenil-4-tiol crudo obtenido (64 mg, 0,2519 mmoles) en 5 ml de EtOH. Se añade $NaBH_4$ (19 mg, 0,5039 mmoles, 2 equivalentes) a esta disolución. Se agita la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 25 minutos punto en el cual se añade 4-(bromometil)benzoato de metilo (58 mg, 0,2519 mmoles, 1 equivalente), en DMF (1,5 ml) a la reacción. Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos adicionales. Se elimina EtOH a vacío. Se diluye la disolución de DMF resultante con EtOAc y se lava con H_2O seguido de NaCl acuoso saturado. Se seca la disolución orgánica sobre Na_2SO_4 . Después de la concentración, se purifica el residuo mediante cromatografía de gel de sílice (hexanos/EtOAc 3:1) para dar éster metílico de ácido 4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-benzoico. [EM: (ES^+) 425,1 (M+23) $^+$].
- 35 A una disolución de éster metílico de ácido 4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-benzoico (83 mg, 0,2062 mmoles, 1 equivalente) en tolueno anhidro (5 ml) enfriada a $-78^\circ C$ se le añade DIBAL-H (tolueno 1 M, 0,41 ml, 0,41 mmoles, 2 equivalentes). Se agita la mezcla a $-78^\circ C$ durante 30 minutos. Se extingue la reacción mediante la adición de NH_4Cl punto después el cual se deja la mezcla de reacción calentar hasta temperatura ambiente. Se diluye la reacción con EtOAc y se lava con HCl 1 N (acuoso), H_2O , y NaCl acuoso saturado. Se seca la disolución orgánica sobre Na_2SO_4 . Después de la concentración, se purifica el residuo mediante cromatografía de gel de sílice (hexanos/EtOAc 1:1) para dar [4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-fenil]-metanol. [EM:(ES^+) 397,1 (M+23) $^+$].
- 40 A una disolución de [4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-fenil]-metanol (162 mg, 0,4327 mmoles, 1 equivalente) en DCM anhidro (5 ml) se le añade PPh_3 (148 mg, 0,5625 mmoles, 1,3 equivalentes). Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 5 minutos punto en el cual se enfría la reacción hasta $0^\circ C$. A la mezcla de reacción a $0^\circ C$ se le añade una disolución DE CBr_4 (187 mg, 0,5625 mmoles, 1,3 equivalentes) en 2 ml de DCM anhidro. Se deja la reacción calentar hasta temperatura ambiente y se agita por 12 h. Se somete la mezcla de reacción directamente a cromatografía de gel de sílice (hexanos/EtOAc 6:1) para dar 4-(4-bromometil-bencilsulfanil)-2-trifluorometil-bifenilo.
- 45

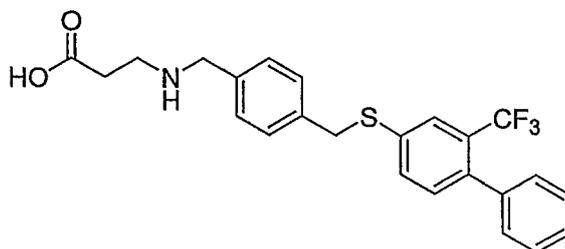
A una disolución de 4-(4-bromometil-bencilsulfanil)-2-trifluorometil-bifenilo (185 mg, 0,4230 mmoles, 1 equivalentes) en DCM (7 ml) anhidro se le añade éster metílico de ácido azetidín-3-ácido carboxílico (sal de HCl, 96 mg, 0,6345 mmoles, 1,5 equivalentes) y DIEA (0,74 ml, 4,230 mmoles, 10 equivalentes). Se agita la mezcla a temperatura

ambiente durante 3 horas. Se somete la mezcla de reacción directamente a cromatografía de gel de sílice (gradiente de hexanos/EtOAc 5:1 a hexanos/EtOAc 1:2) para dar éster metílico de ácido 1-[4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico.

5 A una disolución de éster metílico de ácido 1-[4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico (129 mg, 0,2736 mmoles, 1 equivalente) en una mezcla de MeOH (5 ml) y H₂O (0,5 ml) se le añade LiOH-H₂O (23 mg, 0,5472 mmoles, 2 equivalentes). Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de la concentración, se purifica el producto crudo mediante RP LC-EM preparativa para dar ácido 1-[4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico: ¹H-RMN (CD₃OD, 400 MHz) δ 7,61 (s, 1H), 7,60 (d, 1H), 7,56 (d, 2H), 7,46-7,39 (m, 6H), 7,29 (d, 2H), 4,42 (s, 2H), 4,35 (s, 2H), 4,31 (d, 4H), 3,73-3,61 (m, 1H); EM(ES⁺): (458,1, M+1)⁺.

10 Ejemplo 2

Ácido 3-[4-(2-Trifluorometil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-bencilamino]-propiónico

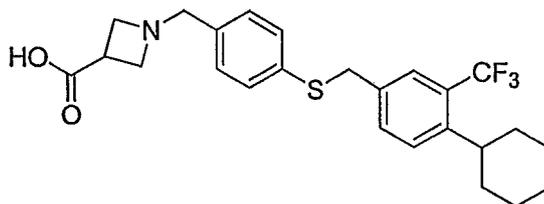


15 Se sintetiza éster terc-butílico de ácido 3-[4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-bencilamino]-propiónico de manera similar tal como se describió anteriormente mediante reacción de 4-(4-bromometil-bencil-sulfanil)-2-trifluorometil-bifenilo con éster terc-butílico de ácido 3-amino-propiónico.

20 A una disolución de éster terc-butílico de ácido 3-[4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-bencilamino]-propiónico (24 mg, 0,0478 mmoles, 1 equivalente) en DCM (2 ml) se le añade trietilsilano (0,038 ml, 0,2392 mmoles, 5 equivalentes) seguido por TFA (2 ml). Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de la concentración, se purifica el producto crudo mediante RP LC-EM preparativa para dar ácido 3-[4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-bencilamino]-propiónico: ¹H-RMN(CD₃OD, 400 MHz) δ 7,66 (s, 1H), 7,60 (d, 1H), 7,55-7,38 (m, 7H), 7,28-7,21 (m, 3H), 4,33 (s, 2H), 4,18 (s, 2H), 3,26 (t, 2H), 2,72 (t, 2H); EM(ES⁺): (446,1, M+1)⁺.

Ejemplo 3

Ácido 1-[4-(4-Ciclohexil-3-trifluorometil-bencil-sulfanil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico



25 Etapa 1: Síntesis del producto intermedio: 4-bromometil-1-ciclohexil-2-trifluorometil-benceno

30 A una disolución de 4-cloro-3-trifluorometil-benzaldehído (2,1 g, 10 mmoles) en metanol (30 ml) a 0°C se le añade NaBH₄ (400 mg, 10,6 mmoles). Después de 2 horas, se extingue la reacción mediante adición lenta de H₂O (20 ml), seguido de HCl acuoso (1 N, 10 ml). Se extrae la mezcla con 3 porciones de 20 ml de EtOAc. Se lavan las fases orgánicas combinadas con NaCl acuoso saturado, y se secan (Na₂SO₄). Después de la concentración, se usa directamente el producto crudo (4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-metanol en el siguiente etapa sin purificación adicional.

35 A una disolución de (4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-metanol crudo en DMF (anhidro, 40 ml) a 0°C se le añade NaH (600 mg, 15 mmoles). Después de agitar durante 30 minutos, se añade gota a gota bencilbromuro de 4-metoxilo (2,21 g, 11 mmoles) a través de una jeringa. Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 h, se extingue la reacción vertiéndola en una mezcla de hielo y NH₄Cl acuoso saturado. Se extrae la mezcla con 3 porciones de 30 ml de EtOAc (3 x 30 ml), y se lavan las fases orgánicas combinadas con NaCl acuoso saturado y se secan (Na₂SO₄). Después de la concentración, se purifica el producto crudo a través de cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 5% en hexanos) para dar 1-cloro-4-(4-metoxi-benciloximetil)-2-trifluorometil-benceno como un aceite incoloro.

5 A una mezcla de 1-cloro-4-(4-metoxi-benciloximetil)-2-trifluorometil-benceno (1,5 g, 4,5 mmoles) y una disolución de THF de bromuro de ciclohexilzinc (0,5 M, 27 ml) en NMP (30 ml) se le añade bis(tri-*t*-butilfosfina)paladio(0) (115 mg, 0,225 mmoles). Se purga la mezcla con N₂ durante 5 minutos, seguido por calentamiento a 120°C durante 12 horas bajo N₂. Después de enfriar a temperatura ambiente, se extingue la reacción mediante H₂O (100 ml) adicionales y HCl acuoso (1 N, 20 ml). Se extrae la mezcla con 3 porciones de 40 ml de EtOAc. Se lavan las fases orgánicas combinadas con NaHCO₃ acuoso saturado, NaCl acuoso saturado, y se secan (Na₂SO₄). Después de la concentración, se purifica el residuo mediante cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 5% en hexanos) para dar 1-ciclohexil-4-(4-metoxi-benciloximetil)-2-trifluorometil-benceno como un aceite incoloro.

10 Se disuelve 1-ciclohexil-4-(4-metoxi-benciloximetil)-2-trifluorometil-benceno obtenido en una mezcla de TFA y DCM (8 ml, 1:1 v/v). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, se evaporan todos los materiales volátiles y se disuelve el residuo obtenido en EtOAc y se lava con NaHCO₃ acuoso saturado. Se separa la fase orgánica, se lava con HCl acuoso saturado y se seca sobre Na₂SO₄. Después de la concentración, se purifica el residuo mediante cromatografía de gel de sílice (acetato de etilo al 20% en hexanos) para dar (4-ciclohexil-3-trifluorometil-fenil)-metanol como un aceite incoloro.

15 A una mezcla de (4-ciclohexil-3-trifluorometil-fenil)-metanol (300 mg, 1,16 mmoles) y PPh₃ (460 mg, 1,74 mmoles) en 5 ml de DCM a 0°C se le añade CBr₄ (580 mg, 1,74 mmoles) disuelto en DCM (2 ml). Se agita la reacción a 0°C durante 1 hora seguido por concentración. Se purifica el residuo obtenido mediante cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 5% en hexanos) para dar 4-bromometil-1-ciclohexil-2-trifluorometil-benceno como un sólido blanco.

Etapa 2: Síntesis del ácido 1-[4-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-bencil)sulfanil-bencil]-azetidín-3-carboxílico

20 En un matraz de fondo redondo equipado con un aparato Dean-Stark, se calienta una mezcla de 4-metil-tiobenzaldehído (5 g, 32,8 mmoles), propanodiol (2,75 g, 36,1 mmoles) y ácido toluenosulfónico (550 mg, 3,28 mmoles) en tolueno (300 ml, anhidro) se calentó a reflujo bajo N₂. Después de 5 horas, se enfría la mezcla de reacción a temperatura ambiente, y se lava con 3 porciones de 40 ml de NaHCO₃ acuoso saturado. Se concentra la fase orgánica y se purifica el producto crudo obtenido mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 15% en hexanos) para dar 2-(4-metilsulfanil-fenil)-[1,3]dioxano como un aceite amarillo.

30 A una disolución de 2-(4-metilsulfanil-fenil)-[1,3]dioxano (2 g, 9,5 mmoles) en 50 ml de DCM a 0°C se le añade *m*-CPBA (2,46 g, 10,5 mmoles). Se agita la mezcla a 0°C durante 1 hora después de lo cual se añade Ca(OH)₂ (770 mg, 10,5 mmoles). Se agita la reacción durante 30 minutos adicionales, después se diluye la mezcla de reacción con DCM y se filtra a través de Celite. Se recoge el filtrado y se concentra para dar 2-(4-metansulfanil-fenil)-[1,3]dioxano como un sólido blanco.

35 Se disuelve 2-(4-metansulfanil-fenil)-[1,3]dioxano (400 mg, 1,76 mmoles) en 20 ml de acetonitrilo, se añade 2,6-lutidina (0,64 ml, 5,5 mmoles) y se enfría la disolución a -10°C. Se añade gota a gota a través de una jeringa TFAA (0,75 ml, 5,3 mmoles). Se agita la reacción durante 1 hora de -10° a 0°C. Se evaporan todos los materiales volátiles mientras que se mantiene la mezcla de reacción a 0°C. Se añade una mezcla de MeOH y trietilamina (50 ml, 1:1 v/v) que se ha enfriado previamente hasta 0°C. Se deja la mezcla resultante calentar y se agita a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se evaporan todos los volátiles. Se disuelve el residuo obtenido en dietil éter y se lava con NH₄Cl acuoso saturado. Se separa la fase orgánica, se seca sobre Na₂SO₄, y se concentra para dar 4-[1,3]dioxan-2-il-bencenotiol crudo como un aceite amarillo, el cual se usa inmediatamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

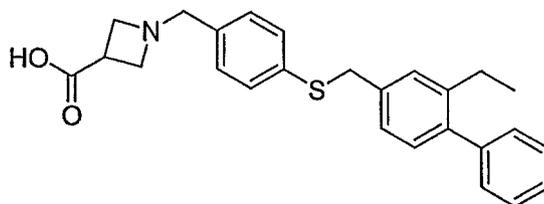
40 Se disuelve 4-[1,3]dioxan-2-il-bencenotiol crudo (0,9 mmoles) en DMF (15 ml, anhidro). Se enfría la disolución hasta 0°C seguido por la adición de NaH (76 mg, 1,8 mmoles). Después de agitar durante 30 minutos, se añade gota a gota el 4-bromometil-1-ciclohexil-2-trifluorometil-benceno preparado anteriormente (0,8 mmoles) disuelto en 2 ml de DMF) a través de una jeringa. Se agita la mezcla durante 1 hora, después se vacía en una mezcla de hielo y NH₄Cl acuoso saturado. Se extrae la fase acuosa con 3 porciones de 30 ml de dietil éter. Se lavan las fases orgánicas combinadas con NaCl acuoso saturado, se secan (Na₂SO₄), y se concentran. Se purifica el residuo obtenido mediante cromatografía de gel de sílice (acetato de etilo al 10% en hexanos) para dar 2-[4-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-bencil)sulfanil-fenil]-[1,3]dioxano como un sólido blanco.

50 A una disolución de 2-[4-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-bencil)sulfanil-fenil]-[1,3] dioxano (90 mg, 0,2 mmoles) en 10 ml de THF (10 ml), se le añade HCl acuoso (2 N, 0,7 ml). Se agita la disolución a temperatura ambiente durante 4 horas. Se diluye la disolución con dietil éter (30 ml), y se lava con tres porciones de 10 ml de NaHCO₃ acuoso saturado. Se lava la fase orgánica con NaCl acuoso saturado, se seca sobre Na₂SO₄, y se concentra parcialmente, seguido por dilución con MeOH (10 ml). A la disolución resultante se le añade trietilamina (0,5 ml) y ácido azetidín-3-carboxílico (46 mmoles, 0,4 mmoles). Se agita la mezcla resultante a 50°C durante 30 minutos. Se enfría la reacción hasta temperatura ambiente y se añade NaCNBH₃ (63 mg, 1 mmol). Se agita la mezcla resultante durante 30 minutos seguido por concentración hasta sequedad. Se purifica el producto crudo a través de RP LC-EM preparativa para dar ácido 1-4-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-bencil)sulfanil-bencil-azetidín-3-carboxílico como un aceite incoloro.

¹H-RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,55-7,54 (m, 2H), 7,52-7,35 (m, 5H), 4,39 (s, 2H), 4,35 (m, 4H), 4,17 (s, 2H), 3,68 (tt, 1H), 2,90 (tt, 1H), 1,87-1,75 (m, 5H), 1,72-1,48 (m, 5H); EM(ES⁺): (464,2, M+1)⁺.

Ejemplo 4

Ácido 1-[4-(2-etil-bifenil-4-ilmetilsulfanil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico



5

Etapas 1: Síntesis del intermediario: 4-bromometil-2-etil-bifenilo

A una mezcla de 4-amino-3-etilbenzonitrilo (4 g, 27,4 mmoles) y CuBr₂ (9,2 g, 41,1 mmoles) en acetonitrilo (150 ml) se le añade gota a gota nitrito de isoamilo (5,5 ml, 41,1 mmoles). Después de que se completó la adición, se calienta la mezcla a 60°C durante 4 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se concentra la mezcla de reacción parcialmente. Se añade dietil éter y se lava la mezcla con NH₄Cl acuoso saturado. Se seca la fase orgánica sobre Na₂SO₄ y se concentra. Se purifica el residuo obtenido mediante cromatografía de gel de sílice para dar 4-bromo-3-etil benzonitrilo como un aceite de color marrón claro.

Se calienta una mezcla de 4-bromo-3-etilbenzonitrilo (1 g, 4,76 mmoles), ácido fenilborónico (1,16 g, 9,5 mmoles), K₂CO₃ (1,97 g, 14,3 mmoles) y Pd(PPh₃)₄ (543 mg, 0,48 mmoles) en 16 ml de DMF anhidro en un tubo sellado a 120°C durante 12 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se vierte la mezcla de reacción en una mezcla de hielo y NH₄Cl acuoso saturado. Se extrae la mezcla con EtOAc (3 x 30 ml). Se lavan las fases orgánicas combinadas con NaCl acuoso saturado, se secan (Na₂SO₄) y se concentran. Se purifica el producto crudo obtenido mediante cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 5% en hexanos) para dar 2-etil-bifenil-4-carbonitrilo como un aceite incoloro.

A la disolución de 2-etil-bifenil-4-carbonitrilo (0,95 g, 4,58 mmoles) en etanol (50 ml) se le añade KOH sólido (2,56 g, 45,8 mmoles). Se calienta la mezcla resultante a reflujo durante 12 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se evapora el disolvente hasta sequedad a presión reducida. Se añade lentamente H₂O (100 ml) y HCl acuoso (2 N) hasta que el pH se ajuste hasta aproximadamente un pH=1. Se extrae la mezcla EtOAc (3 x 50 ml). Se lavan las fases orgánicas combinadas con NaCl acuoso saturado, se secan (Na₂SO₄), y se concentran. Se disuelve el ácido 2-etil-bifenil-4-carboxílico crudo obtenido en 20 ml de metanol. Se añade HCl acuoso concentrado (5 ml) y se calienta la mezcla a reflujo durante 4 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se concentra la mezcla de reacción a presión reducida. Se disuelve el residuo obtenido en dietil éter y se lava con NaHCO₃ (3 x 10 ml). Se separa la fase orgánica y se seca sobre Na₂SO₄. Después de la concentración, se disuelve éster metílico de ácido 2-etil-bifenil-4-carboxílico en THF (5 ml) y se añade gota a gota a la mezcla de LAH (200 mg, 5,2 mmoles) en THF (15 ml, anhidro) a 0°C. Después de 1 hora, se extingue la reacción mediante la adición lenta de H₂O, seguido por la adición de HCl (1 N, 20 ml). Se extrae la mezcla con EtOAc (3 x 40 ml). Se lavan las fases orgánicas combinadas con NaHCO₃, NaCl acuoso saturado, y se secan (Na₂SO₄). Después de la concentración, se purifica el producto crudo mediante cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 20% en hexanos) para dar (2-etil-bifenil-4-il)-metanol como un aceite incoloro.

A una mezcla de (2-etil-bifenil-4-il)-metanol (780 mg, 3,67 mmoles) y PPh₃ (1,44 g, 5,5 mmoles) en 15 ml de DCM a 0°C se le añade CBr₄ (1,82 g, 5,5 mmoles) en 2 ml de DCM. Se agita la reacción a 0°C durante 1 hora seguido por concentración. Se purifica el residuo obtenido mediante cromatografía de gel de sílice (EtOAc al 5% en hexanos) para dar 4-bromometil-2-etil-bifenilo como un aceite incoloro.

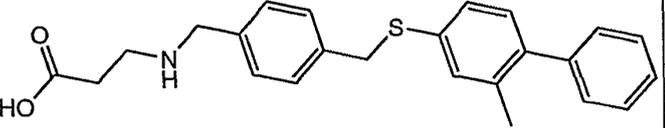
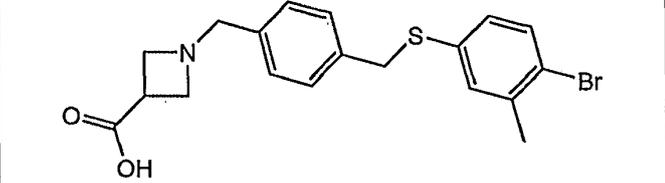
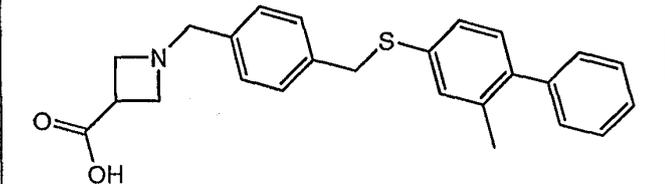
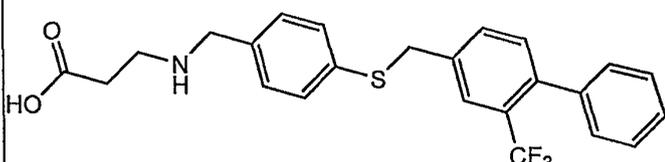
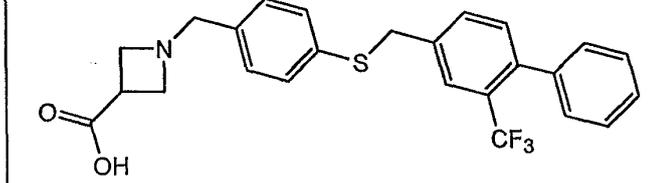
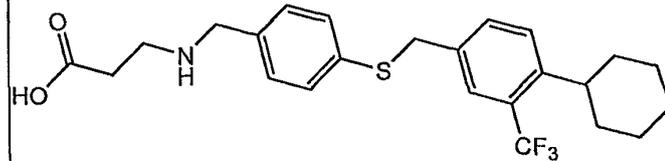
Etapas 2: Síntesis del ácido 1-[4-(2-etil-bifenil-4-ilmetilsulfanil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico

Al utilizar 4-bromometil-2-etil-bifenilo en lugar de 4-bromometil-1-ciclohexil-2-trifluorometil-benceno en el procedimiento anteriormente descrito dio ácido 1-[4-(2-etil-bifenil-4-ilmetilsulfanil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico: ¹H-RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,44- 7,23 (m, 11H), 7,12 (s 1H), 4,50 (s, 2H), 4,39-4,33 (m, 5H), 4,27 (s, 2H), 3,68 (tt, 1H), 2,54 (q 2H), 1,03 (t, 3H); EM(ES⁺): (418,2, M+1)⁺.

Al repetir el procedimiento descrito en los ejemplos anteriores, utilizando los materiales de partida apropiados, pueden sintetizarse los siguientes compuestos de fórmula I (tabla 1).

45

TABLA 1

Compuesto	Estructura	Datos Físicos MS ES (M+1)
5		391.5
6		406.3
7		403.5
8		445.5
9		457.5
10		451.5

5 filtro de células, se vuelve a centrifugar entonces a 50.000 x g durante 25 minutos a 4°C. Se vuelve a suspender el sedimento en el tampón B (glicerol al 15%, HEPES 20 mM, pH 7,4, cóctel de inhibidor de proteasa completo libre de EDTA 0,1 mM [1 comprimido/10 ml]). Se determina la concentración de proteínas de la preparación utilizando el equipo de ensayo de proteínas BCA (Pierce) utilizando BSA como patrón. Se toman alícuotas de las membranas y se mantienen congeladas a -80°C.

10 Se preparan disoluciones de compuestos de prueba que oscilan entre 10 mM y 0,01 nM en DMSO. Se diluye S1P en una disolución de BSA al 4% como controles positivos. Se diluye la cantidad deseada de la preparación de membranas con tampón de ensayo helado (HEPES 20 mM, pH 7,4, NaCl 100 mM, MgCl₂ 10 mM, BSA libre de ácidos grasos al 0,1 %, GDP 5 μM) y se agitan bien con vórtex. Se distribuyen 2 μl o menos del compuesto en cada pocillo de una placa de ensayo de poliestireno de 96 pocillos de fondo redondo, seguido por la adición de 100 μl de membranas diluidas (3-10 μg/pocillo) y se mantienen sobre hielo hasta la adición de GTPγS caliente. Se diluye [³⁵S]-GTPγS 1:1000 (v/v) con tampón de ensayo frío y se añaden 100 μl dentro de cada pocillo. Se lleva a cabo la reacción a temperatura ambiente durante 90 minutos antes de cosechar las membranas en una placa de filtro Perkin-Elmer Unifilter® GF/B-96 utilizando varios lavados con tampón (HEPES 20 mM, pH 7,4, NaCl 100 mM, MgCl₂ 10 mM), y un enjuague con etanol al 95%, se seca el filtro en un horno a 37°C durante 30 minutos. Se añade MicroScint-20 y se sella la placa para el recuento por centelleo en TopCount. Se obtienen los valores de CE50 ajustando las curvas de unión a GTP[Y-35S] (datos sin procesar) con la herramienta para el ajuste de la curva de respuesta a la dosis de GraphPad Prism. Se utilizan seis o doce diferentes concentraciones para generar una curva de respuesta a la concentración (utilizando tres puntos de datos por concentración).

20 Se llevan a cabo los ensayos de unión a EDG-3, 5, 6 y 8 GTP[γ-³⁵S] de una manera comparable con el ensayo de unión a EDG-1 GTP[γ-³⁵S] utilizando membranas de células CHO que expresan de manera estable receptores etiquetados o no etiquetados con c-myc c-terminal. Para cada preparación de membrana, en primer lugar se ejecutan los experimentos de titulación con control SIP para determinar la cantidad óptima de membranas que se van a añadir por pocillo de ensayo. Se sometieron a prueba los compuestos de la invención de acuerdo con el ensayo anterior y se observó que presentan selectividad para el receptor EDG-1. Por ejemplo, el compuesto 9 tiene una CE50 de 0,82 nM en el ensayo anterior y es al menos 1000 veces selectivo para EDG-1 en comparación con uno o más de los otros receptores incluyendo EDG-3, EDG-5, EDG-6 y EDG-8.

B. In vitro: Ensayo de flujo de calcio FLIPR

30 Se someten a prueba los compuestos de la invención para determinar la actividad de los agonistas sobre EDG-1, EDG-3, EDG-5, y EDG-6 con un ensayo de flujo de calcio FLIPR. En resumen, se mantienen las células CHO que expresan un receptor EDG en medio F-12K (ATCC), que contiene FBS al 5%, con 500 ug/ml de G418. Antes del ensayo, se siembran en placas las células en 384 placas con fondo transparente negras a la densidad de 10.000 células/pocillo/25 μl en el medio de F-12K que contiene FBS al 1%. El segundo día, se lavan las células tres veces (25 μl/cada una) con tampón de lavado. Se añaden aproximadamente 25 μl de tinte a cada pocillo y se incuban durante 1 hora a 37°C y 5% de CO₂. Entonces se lavan las células cuatro veces con tampón de lavado (25 μl/cada una). Se somete a ensayo el flujo del calcio tras añadir 25 μl de disolución de SEQ2871 a cada pocillo de células. Se realiza el mismo ensayo con células que expresan cada uno de los diferentes receptores EDG. Se registra la titulación en el ensayo de flujo de calcio FLIPR a lo largo de un intervalo de 3 minutos, y se cuantifica con una respuesta con un porcentaje con un pico de altura máxima relativa a la activación de EDG-1.

40 C. In Vivo: Ensayos de investigación para la medición de la reducción de linfocitos en la sangre y evaluación del efecto en el corazón

45 Medición de los linfocitos circulantes: Se disuelven los compuestos en DMSO y se diluyen para obtener una concentración final de DMSO al 4% (v/v, concentración final) y entonces se diluyen adicionalmente en un volumen constante de Tween 80 al 25%/H₂O, v/v. Se incluyen Tween 80 al 25%/H₂O (200, μl), DMSO al 4% y FTY720 (10 μg) como los controles negativo y positivo, respectivamente. Se les administró a ratas (C57bl/6 macho, de 6-10 semanas de edad) 250-300 μl de la disolución del compuesto por vía oral mediante alimentación bajo anestesia con isoflurano corta.

50 Se recoge sangre del seno retro-orbital a las 6 y 24 horas después de la administración del fármaco bajo anestesia con isoflurano corta. Se someten las muestras de sangre completa a análisis hematológico. Se determinan los recuentos de linfocitos periféricos utilizando un analizador automatizado. Se tiñen subpoblaciones de linfocitos sanguíneos periféricos con anticuerpos específicos conjugados con fluorocromo y se analizan utilizando un clasificador de células de activación fluorescente (FacsCalibur). Se utilizan dos ratas para evaluar la actividad de disminución de linfocitos de cada compuesto clasificado. El resultado es una DE50, que se define como la dosis eficaz requerida que presenta un 50% de disminución de linfocitos en la sangre. Se someten a prueba los compuestos de la invención de acuerdo con el ensayo anterior y se encontró que preferiblemente presentan una DE₅₀ de menos de 0,5 mg/kg. Por ejemplo, el compuesto 9 presenta una DE₅₀ de < 0,1 mg/kg.

Evaluación del efecto en el corazón: Los efectos de los compuestos en la función cardiaca se monitorizan utilizando el sistema de clasificación ECG AnonyMOUSE. Los electrocardiogramas se registran en ratas conscientes (C57bl/6 macho, de 6-10 semanas de edad) antes de la administración del compuesto. Entonces se procesan las señales ECG y se analizan utilizando el software thee-MOUSE. Además, se inyectan i.p. 90 µg de compuesto diluidos adicionalmente en 200 µl de agua, 15% de DMSO. Se usan cuatro ratas para evaluar el efecto en el corazón de cada compuesto.

D. In Vivo: Actividad antiangiogénica

Se implantan por vía subcutánea cámaras porosas que contienen (i) esfingosina-1-fosfato (5 µM/cámara) o (ii) VEGF humano (1 µg/cámara) en 0,5 ml de 0,8% p/v de agar (que contiene heparina, 20 U/ml) en el costado de las ratas. SIP o VEGF inducen el crecimiento de tejido vascularizado alrededor de la cámara. Esta respuesta es dependiente de la dosis y puede cuantificarse midiendo el peso y el contenido en sangre del tejido. Se tratan las ratas una vez al día por vía oral o por vía intravenosa con un compuesto de fórmula I, comenzando 4-6 horas después del implante de las cámaras y continuando durante 4 días. Se sacrifican los animales para la medición de los tejidos vascularizados 24 horas antes de la última dosis. Se determina el peso y el contenido de la sangre de los tejidos vascularizados alrededor de la cámara. Los animales tratados con un compuesto de fórmula I muestran un peso y/o contenido en sangre reducido en los tejidos vascularizados en comparación con los animales tratados con el vehículo solo. Los compuestos de fórmula I son antiangiogénicos cuando se administran a una dosis de aproximadamente 0,3 a aproximadamente de 3 mg/kg.

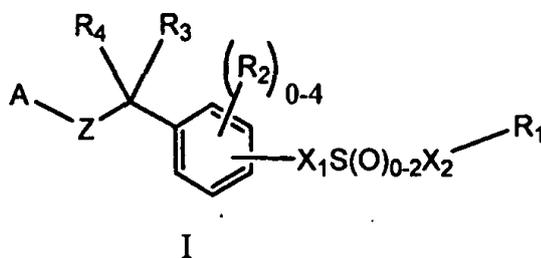
E. In vitro: Actividad antitumoral

Se usó una línea célula de cáncer de mama de ratón originalmente aislada de carcinomas de mamífero, por ejemplo, JygMC(A). Se ajusta el número de células a 5×10^5 para la siembra en placas en medio fresco antes del procedimiento. Se incuban las células con medio fresco que contiene timidina 2,5 mM sin FCS durante 12 horas y después se lavan dos veces con PBS, seguido por la adición de medio fresco con FCS al 10% y se incuban adicionalmente durante otras 12 horas. A continuación se incuban las células con medio fresco que contiene 2,5 mM de timidina sin FCS durante 12 horas. Para liberar las células del bloqueo, las células se lavan dos veces con PBS y se vuelven a sembrar en placas en medio fresco con FCS al 10%. Después de la sincronización, se incuban las células con o sin varias concentraciones de un compuesto de fórmula I durante 3, 6, 9, 12, 18 ó 24 horas. Las células se cosechan después del tratamiento con EDTA al 0,2%, se fijan con disolución de etanol al 70% helada, se hidrolizan con 250 g/ml de ARNasaA (tipo 1-A: Sigma Chem. Co.) a 37°C durante 30 minutos y se tiñen con yoduro de propidio a 10 mg/mg durante 20 minutos. Después del período de incubación, se determina el número de células tanto a través de recuento de células en un contador Coulter como a través del ensayo colorimétrico SRB. En estas condiciones, los compuestos de fórmula I inhiben la proliferación de las células tumorales a concentraciones que oscilan entre 10^{-12} y 10^{-6} M.

Se entiende que los ejemplos y las realizaciones descritas en el presente documento son solamente para fines ilustrativos.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto seleccionado de fórmula I:

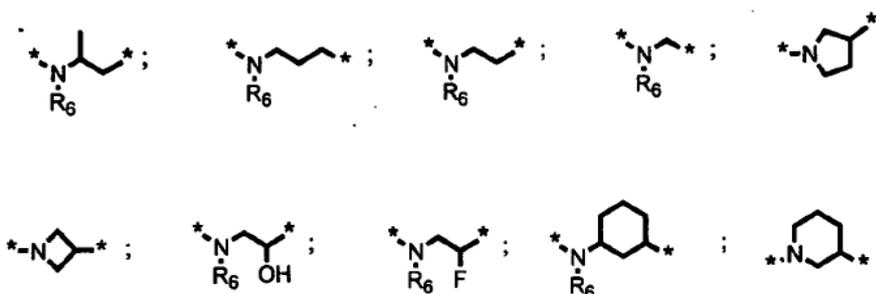


en la que:

5 A se elige de $-C(O)OH$;

X_1 y X_2 se seleccionan cada uno independientemente de un enlace o alquileo C_{1-6} ;

Z se selecciona de:



10 en las que los asteriscos izquierdo y derecho de Z indican el punto de unión entre $-C(R_3)(R_4)-$ y A de fórmula I, respectivamente; R_6 se elige de hidrógeno y alquilo C_{1-6} ;

15 R_1 se elige de arilo C_{6-10} y heteroarilo C_{2-9} ; en los que cualquier arilo o heteroarilo de R_1 está opcionalmente sustituido con un radical elegido de halógeno, aril C_{6-10} -alquilo C_{0-4} , heteroaril C_{2-9} -alquilo C_{0-4} , cicloalquil C_{3-8} -alquilo C_{0-4} , heterocicloalquil C_{3-8} -alquilo C_{0-4} o alquilo C_{1-6} ; en los que cualquier grupo arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo de R_1 puede estar opcionalmente sustituido con de uno a cinco radicales elegidos de halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxilo C_{1-6} , alquilo C_{1-6} sustituido con halógeno y alcoxilo C_{1-6} sustituido con halógeno; y cualquier grupo alquilo de R_1 puede tener opcionalmente un metileno reemplazado con un átomo o grupo elegido de $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-NR_5-$ y $-O-$; en los que R_5 se elige de hidrógeno o alquilo C_{1-6} ;

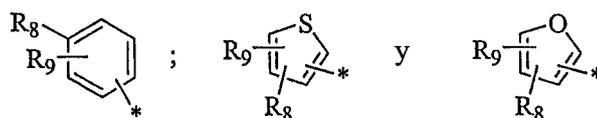
20 R_2 se elige de alquilo C_{1-6} , alcoxilo C_{1-6} , cicloalquil C_{3-12} -alquilo C_{0-4} , halógeno, alquilo C_{1-6} sustituido con halógeno y alcoxilo C_{1-6} sustituido con halógeno;

25 R_3 y R_4 son ambos hidrógeno.

y las sales, hidratos, solvatos, isómeros ópticos e isómeros cis/trans farmacéuticamente aceptables del mismo.

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R_1 es fenilo, naftilo, furanilo o tienilo opcionalmente sustituido con halógeno, aril C_{6-10} -alquilo C_{0-4} , heteroaril C_{2-9} -alquilo C_{0-4} , cicloalquil C_{3-8} -alquilo C_{0-4} , heterocicloalquil C_{3-8} -alquilo C_{0-4} o alquilo C_{1-6} ; en los que cualquier grupo arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo de R_1 puede estar opcionalmente sustituido con de uno a cinco radicales elegidos de halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxilo C_{1-6} , alquilo C_{1-6} sustituido con halógeno y alcoxilo C_{1-6} sustituido con halógeno; y cualquier grupo alquilo de R_1 puede tener opcionalmente un metileno reemplazado con un átomo o grupo elegido de $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-NR_5-$ y $-O-$; en los que R_5 es hidrógeno o alquilo C_{1-6} .

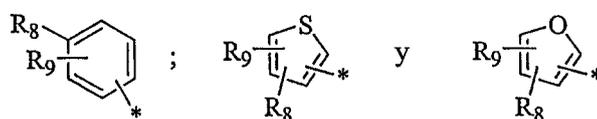
3. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R_1 se elige de:



5 en las que el asterisco es el punto de unión de R₁ con X₂; R₈ es halógeno, aril C₆₋₁₀-alquilo C₀₋₄, heteroaril C₂₋₉-alquilo C₀₋₄, cicloalquil C₃₋₈-alquilo C₀₋₄, heterocicloalquil C₃₋₈-alquilo C₀₋₄ o alquilo C₁₋₆; en los que cualquier grupo arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo de R₈ puede estar opcionalmente sustituido con de 1 a 3 radicales elegidos de halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ sustituido con halógeno y alcoxilo C₁₋₆ sustituido con halógeno; y cualquier grupo alquilo de R₈ puede tener opcionalmente un metileno reemplazado con un átomo o grupo seleccionado de -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -NR₅- y -O-; en los que R₅ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆; y R₉ se elige de halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ sustituido con halógeno y alcoxilo C₁₋₆ sustituido con halógeno.

10 4. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R₂ se selecciona de metilo, etilo, ciclopropilo, cloro, bromo, flúor y metoxilo.

5. Compuesto según la reivindicación 4, en el que R₁ se elige de:



15 en las que R₈ se elige de halógeno, fenilo, ciclohexilo, tienilo, 3,3-dimetil-butilo, piridinilo, ciclopentilo y piperidinilo; en las que R₈ puede estar opcionalmente sustituido con de 1 a 3 radicales elegidos de trifluorometilo, metoxilo, flúor, trifluorometoxilo y metilo; y R₉ se elige de trifluorometilo, flúor, metilo, cloro, metoxilo y etilo.

20 6. Compuesto según la reivindicación 5, seleccionado de ácido 1-[4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico, ácido 3-[4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-bencilamino]-propiónico, ácido 1-[4-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-bencilsulfanil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico, ácido 1-[4-(2-etil-bifenil-4-ilmetil-sulfanil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico, ácido 3-[4-(2-metil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-bencilamino]-propiónico, ácido 1-[4-(4-bromo-3-metil-fenilsulfanilmetil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico, ácido 1-[4-(2-metil-bifenil-4-ilsulfanilmetil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico, ácido 3-[4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilmetil-sulfanil)-bencilamino]-propiónico, ácido 1-[4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilmetil-sulfanil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico, ácido 3-[4-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-bencilsulfanil)-bencilamino]-propiónico, ácido 3-[4-(2'-etil-2-trifluorometil-bifenil-4-ilmetil-sulfanil)-bencilamino]-propiónico, ácido 1-[4-(2'-etil-2-trifluorometil-bifenil-4-ilmetil-sulfanil)-bencil]-azetidín-3-carboxílico, ácido 3-[4-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilmetil-sulfanil)-bencilamino]-propiónico y ácido 3-[4-(2-etil-bifenil-4-ilmetil-sulfanil)-bencilamino]-propiónico.

7. Composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según la reivindicación 1 en combinación con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

30 8. Composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en combinación con un agente inmunosupresor, un agente de inmunomodulación u otro agente antiinflamatorio.

9. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más de:

i. un inhibidor de aromatasas,

35 ii. un antiestrógeno, un antiandrógeno (especialmente en el caso de cáncer de próstata) o un agonista de gonadorelina,

iii. un inhibidor de topoisomerasa I o un inhibidor de topoisomerasa II,

iv. un agente activo de microtúbulos, un agente de alquilación, un antimetabolito antineoplástico o un compuesto de platino,

40 v. un compuesto que selecciona como diana/disminuye una actividad proteína o lípido cinasa o una actividad proteína o lípido fosfatasa, un compuesto antiangiogénico adicional o un compuesto que induce procesos de diferenciación celular,

- vi. un receptor de bradiquinina I o un antagonista de angiotensina II,
- vii. un inhibidor de ciclooxigenasa, un bisfosfonato, un inhibidor de histona deacetilasa, un inhibidor de heparanasa (previene la degradación de sulfato de heparán), por ejemplo, PI-88, un modificador de la respuesta biológica, preferiblemente una linfocina o interferones, un inhibidor de ubiquitinación o un inhibidor que bloquea rutas antiapoptóticas,
- 5
- viii. un inhibidor de isoformas oncogénicas Ras, por ejemplo, H-Ras, K-Ras o N-Ras, o un inhibidor de farnesil transferasa, por ejemplo, L-744,832 o DK8G557,
- ix. un inhibidor de telomerasa, por ejemplo, telomestatina,
- x. un inhibidor de proteasa, un inhibidor de metaloproteínasa de la matriz, un inhibidor de metionina aminopeptidasa, por ejemplo bengamida o un derivado de la misma, o un inhibidor de proteosoma, por ejemplo, PS-341 y/o
- 10
- xi. un inhibidor de mTOR.
10. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para tratar o prevenir rechazo de trasplante agudo o crónico o enfermedades inflamatorias o autoinmunitarias mediadas por células T, para inhibir o controlar angiogénesis no regulada, o para prevenir o tratar enfermedades mediadas por un proceso de neo-angiogénesis o asociadas con angiogénesis no regulada.
- 15
11. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para tratar o prevenir enfermedades o trastornos seleccionados de rechazo agudo o crónico de alo o xenoinjertos de células, tejidos u órganos o función de injerto retrasada, enfermedad de injerto contra el huésped, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, tiroides de Hashimoto, esclerosis múltiple, miastenia grave, diabetes tipo I o II y los trastornos asociados con las mismas, vasculitis, anemia perniciosa, síndrome de Sjogren, uveítis, psoriasis, oftalmopatía de Graves, alopecia areata, enfermedades alérgicas, enfermedad del intestino inflamatoria, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, asma intrínseca, lesión pulmonar inflamatoria, lesión hepática inflamatoria, lesión glomerular inflamatoria, aterosclerosis, artrosis, dermatitis irritante de contacto, dermatitis eczematosa, dermatitis seborreica, manifestaciones cutáneas de trastornos mediados inmunológicamente, enfermedad ocular inflamatoria, queratoconjuntivitis, miocarditis, hepatitis,
- 20
- 25
- lesión por isquemia/reperfusión, enfermedades infecciosas y demencia senil.