

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 384 619**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/47** (2006.01)  
**A61P 29/00** (2006.01)  
**C07D 217/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05747952 .9**  
96 Fecha de presentación: **06.05.2005**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1745024**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **24.01.2007**

54 Título: **Isoquinolinas 1-aril-4-sustituidas**

30 Prioridad:  
**08.05.2004 US 569182 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**09.07.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**09.07.2012**

73 Titular/es:  
**Novartis International Pharmaceutical Ltd.**  
**131 Front Street**  
**Hamilton, BM**

72 Inventor/es:  
**LEE, Kyungae;**  
**YUAN, Jun;**  
**MAYNARD, George D.;**  
**HUTCHISON, Alan y**  
**MITCHELL, Scott**

74 Agente/Representante:  
**Lehmann Novo, Isabel**

ES 2 384 619 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

Isoquinolinas 1-aril-4-sustituidas

## CAMPO DE LA INVENCIÓN

5 Esta invención se refiere generalmente a isoquinolinas 1-aril-4-sustituidas que tienen propiedades farmacológicas útiles. La invención se refiere además al uso de tales compuestos para tratar una variedad de trastornos inflamatorios y del sistema inmunitario, y como sondas para la localización de receptores de C5a.

## ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

10 C5a, un péptido de 74 aminoácidos, se genera en la cascada del complemento mediante la escisión de la proteína del complemento C5 por la enzima convertasa del complemento C5. C5a tiene efectos tanto anafilatóticos (*por ejemplo*, broncoconstrictor y espasmogénico vascular) como quimiotácticos. Por lo tanto, es activo engendrando las fases tanto vascular como celular de las respuestas inflamatorias. Debido a que es una proteína plasmática y, por lo tanto, generalmente casi instantáneamente disponible en un sitio de un estímulo incitador, es un mediador clave en términos de la iniciación de la serie compleja de sucesos que da como resultado un aumento y amplificación de un estímulo inflamatorio inicial. Se cree que los efectos anafilatóticos y quimiotácticos del péptido C5a están mediados a través de su interacción con el receptor de C5a (antígeno de CD88), un receptor acoplado a proteína G (GPCR) unido a membrana, de 52 kD. C5a es un quimioatrayente potente para leucocitos polimorfonucleares, llevando a neutrófilos, basófilos, eosinófilos y monocitos a sitios de inflamación y/o lesión celular. C5a es uno de los agentes quimiotácticos más potentes conocidos para una amplia variedad de tipos de células inflamatorias. C5a también "ceba" o prepara a los neutrófilos para diversas funciones antibacterianas (*por ejemplo*, fagocitosis). Adicionalmente, C5a estimula la liberación de mediadores inflamatorios (*por ejemplo*, histaminas, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, prostaglandinas, y leucotrienos) y la liberación de enzimas lisosómicas y otros componentes citotóxicos a partir de granulocitos. Entre sus otras acciones, C5a también promueve la producción de radicales de oxígeno activados, y la contracción del músculo liso.

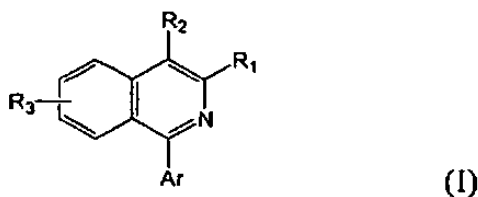
25 Considerables pruebas experimentales implican a niveles elevados de C5a en un número de enfermedades autoinmunitarias y trastornos inflamatorios y relacionados. Los agentes que bloquean la unión de C5a a su receptor, y otros agentes, incluyendo agonistas inversos, que modulan la transducción de señales asociada con interacciones del receptor de C5a, pueden inhibir los sucesos patógenos, incluyendo quimiotaxia, asociados con actividad de anafilatoxina que contribuye a tales afecciones inflamatorias y autoinmunitarias. La presente invención proporciona tales agentes, y tiene otras ventajas relacionadas.

30 El documento 03/028730 describe una composición farmacéutica que comprende (a) un inhibidor de fosfodiesterasa 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y (b) al menos uno de los ingredientes activos seleccionados del grupo que consiste en (i) un agente antidiabético; (ii) inhibidores de HMG-Co-A reductasa; (iii) un agente antihipertensivo; y (iv) un inhibidor de la recaptación de serotonina (SSRI) o, en cada caso, una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica se puede emplear para el tratamiento de disfunción sexual, hiperglucemia, hiperinsulinemia, hiperlipidemia, hipertrigliceridemia, diabetes, resistencia a insulina, metabolismo alterado de la glucosa, afecciones de tolerancia alterada a la glucosa (IGT), afecciones de glucosa plasmática en ayunas alterada, obesidad, retinopatía diabética, nefropatía diabética, glomeruloesclerosis, neuropatía diabética, síndrome X, disfunción eréctil, insuficiencia cardíaca coronaria, hipertensión, especialmente ISH, angina de pecho, infarto de miocardio, apoplejía, restenosis vascular, disfunción endotelial, adaptabilidad vascular alterada, insuficiencia cardíaca congestiva.

El documento WO 03/082828 describe tetrahidroisoquinolinas sustituidas como moduladores del receptor del receptor de C5a, y el uso de tales compuestos para tratar una variedad de trastornos inflamatorios y del sistema inmunitario, y como sondas para la localización de receptores de C5a.

## SUMARIO DE LA INVENCIÓN

45 En ciertos aspectos, la presente invención proporciona análogos de isoquinolina 1-aril-4-sustituida de Fórmula I:



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que:

R<sub>1</sub> se selecciona de hidrógeno, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, (cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>;

R<sub>2</sub> es -(CR<sub>A</sub>R<sub>B</sub>)OR<sub>4</sub>;

5 R<sub>3</sub> representa entre 0 y 4 sustituyentes, cada uno de los cuales se selecciona independientemente de halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo opcionalmente sustituido, haloalquilo opcionalmente sustituido, alqueno opcionalmente sustituido, alquino opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, alcoxi opcionalmente sustituido, haloalcoxi opcionalmente sustituido, hidroxialquilo opcionalmente sustituido, alcoxialquilo opcionalmente sustituido, mono- y di-alquilamino opcionalmente sustituido, aminoalquilo opcionalmente sustituido, -E-(CR<sub>C</sub>R<sub>D</sub>)<sub>m</sub>-Z, y -E-(CR<sub>C</sub>R<sub>D</sub>)<sub>m</sub>-XR<sub>A</sub>;

10 R<sub>4</sub> es:

15 (i) alquilo de C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, (cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, mono- o di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-amino)-alquilo de C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, (heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, aril-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, o (heteroaril)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub>, alcanilo de C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)amino(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), mono- y di-alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-amino(alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), (heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros)alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> y XR<sub>y</sub>; o

(ii) se une a R<sub>5</sub> para formar, con el nitrógeno al que están unidos R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub>, un heterociclo que tiene de 1 a 3 anillos, 5 a 7 miembros anulares en cada anillo, en el que el heterociclo está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub>, oxo y W-Z;

R<sub>5</sub> es:

20 (i) hidrógeno;

(ii) alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, (carbociclo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, metilamino, dimetilamino, trifluorometilo y trifluorometoxi; o

25 (iii) está unido a R<sub>4</sub> para formar, con el nitrógeno al que están unidos R<sub>5</sub> y R<sub>4</sub>, un heterociclo que tiene de 1 a 3 anillos, 5 a 7 miembros anulares en cada anillo, en el que el heterociclo está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub>, oxo y W-Z;

Ar es fenilo mono-, di- o tri-sustituido, naftilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido, en el que Ar es heteroarilo opcionalmente sustituido cuando R<sub>2</sub> es -NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>;

30 R<sub>A</sub>, R<sub>A'</sub> y R<sub>B</sub>, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan independientemente en cada caso de: (i) hidrógeno e hidroxilo, y (ii) grupos alquilo, grupos cicloalquilo, y grupos (cicloalquil)alquilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyente(s) seleccionado(s) independientemente de oxo, hidroxilo, halógeno, ciano, amino, alcoxi de C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>, -NH(alquilo de C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>), -N(alquilo de C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>)(alquilo de C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>), -NHC(=O)(alquilo de C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>), -N(alquilo de C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>)C(=O)(alquilo de C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>), -NHS(O)<sub>n</sub>(alquilo de C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>), -S(O)<sub>n</sub>(alquilo de C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>), -S(O)<sub>n</sub>NH(alquilo de C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>), -S(O)<sub>n</sub>N(alquilo de C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>)(alquilo de C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>), y Z;

35 R<sub>x</sub> se escoge independientemente, en cada caso, de halógeno, hidroxilo, amino, ciano, nitro, -COOH, -C(=O)NH<sub>2</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-carbonilo, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>)aminocarbonilo, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)amino, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxialquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>, haloalcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>, (cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, y -S(O)<sub>n</sub>alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

R<sub>y</sub> es:

40 (i) hidrógeno; o

(ii) alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>, carbociclo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> o (heterociclo de 3 a 10 miembros)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 6 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub>, oxo, -NH(alcanilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -N(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alcanilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -NHS(O)<sub>n</sub>-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -N(S(O)<sub>n</sub>alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)<sub>2</sub>, -S(O)<sub>n</sub>NH-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -S(O)<sub>n</sub>N(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)<sub>2</sub>;

45 E es un enlace covalente sencillo, oxígeno, o NR<sub>A</sub>;

X se selecciona independientemente, en cada caso, del grupo que consiste en -CH<sub>2</sub>-, -CHR<sub>B</sub>-, -O-, -C(=O)-, -C(=O)O-, -S(O)<sub>n</sub>-, -NH-, -NR<sub>B</sub>-, -C(=O)NH-, -C(=O)NR<sub>B</sub>-, -S(O)<sub>n</sub>NH-, -S(O)<sub>n</sub>NR<sub>B</sub>-, -NHC(=O)-, -NR<sub>B</sub>C(=O)-, -NHS(O)<sub>n</sub>-, y -NR<sub>B</sub>S(O)<sub>n</sub>-;

50 Y y Z se seleccionan independientemente, en cada caso, de grupos carbocíclico o heterocíclico de 3 a 7 miembros, que están saturados, insaturados o son aromáticos, que están opcionalmente sustituidos con uno o

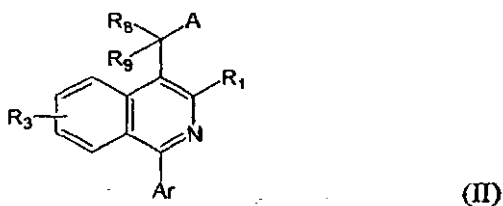
varios sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, oxo, hidroxilo, amino, ciano, alquilo de C<sub>1-4</sub>, -O(alquilo de C<sub>1-4</sub>), -NH(alquilo de C<sub>1-4</sub>), -N(alquilo de C<sub>1-4</sub>)(alquilo de C<sub>1-4</sub>), y -S(O)<sub>n</sub>(alquilo);

5 Q es un grupo carbocíclico opcionalmente sustituido o un grupo heterocíclico opcionalmente sustituido, que está saturado, insaturado o es aromático, y comprende entre 3 y 18 átomos anulares dispuestos en 1, 2 ó 3 anillos que están condensados, en espiro o acoplados mediante un enlace;

m se selecciona independientemente en cada caso de números enteros que oscilan de 0 a 8; y

n es un número entero seleccionado independientemente en cada caso de 0, 1, y 2.

En otros ciertos aspectos, los compuestos proporcionados aquí son análogos de isoquinolina 1-aril-4-sustituida de Fórmula II:



10

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que:

Ar es fenilo sustituido, naftilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido;

A es OR<sub>4</sub>;

R<sub>1</sub> se escoge de:

15 hidrógeno, alquilo de C<sub>1-6</sub>, alqueno de C<sub>2-6</sub>, alquino de C<sub>2-6</sub>, alcoxi de C<sub>1-6</sub>, haloalquilo de C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi de C<sub>1-6</sub>, o (cicloalquil C<sub>3-7</sub>)-alquilo de C<sub>0-4</sub>;

R<sub>3</sub> representa entre 0 y 4 sustituyentes, cada uno de los cuales se selecciona independientemente de hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo opcionalmente sustituido, alqueno opcionalmente sustituido, alquino opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, alcoxi opcionalmente sustituido, alcoxialquilo opcionalmente sustituido, hidroxialquilo opcionalmente sustituido, mono- y di-alquilamino opcionalmente sustituido, aminoalquilo opcionalmente sustituido, cicloalquiloxi opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, arilalquilo opcionalmente sustituido, ariloxi opcionalmente sustituido, arilalquiloxi opcionalmente sustituido, heterociclo opcionalmente sustituido, heterociclo-oxi opcionalmente sustituido, -E-(CR<sub>C</sub>R<sub>D</sub>)<sub>m</sub>-Z, o -E-(CR<sub>C</sub>R<sub>D</sub>)<sub>m</sub>-XR<sub>A</sub>;

20

R<sub>4</sub> es:

25 (i) alquilo de C<sub>2-8</sub>, alqueno de C<sub>2-8</sub>, alquino de C<sub>2-8</sub>, (cicloalquilo C<sub>3-7</sub>)-alquilo de C<sub>0-4</sub>, mono- o di-(alquil C<sub>1-4</sub>-amino)-alquilo de C<sub>2-4</sub>, (heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros)-alquilo de C<sub>0-4</sub>, aril-alquilo de C<sub>0-4</sub>, o heteroaril-alquilo de C<sub>0-4</sub>, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub>, alcanoilo de C<sub>2-4</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1-4</sub>)-amino(alquilo de C<sub>1-4</sub>), mono- y di-alquil C<sub>1-4</sub>-amino(alcoxi de C<sub>1-4</sub>), (heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros)-alquilo de C<sub>0-4</sub> y XR<sub>y</sub>; o

30 (ii) está unido a R<sub>5</sub> para formar, con el nitrógeno al que están unidos R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub>, un heterociclo que tiene 1 a 3 anillos, 5 a 7 miembros anulares en cada anillo, en el que el heterociclo está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub>, oxo y W-Z;

R<sub>5</sub> es:

(i) hidrógeno;

35 (ii) alquilo de C<sub>1-6</sub>, alqueno de C<sub>2-6</sub>, alquino de C<sub>2-6</sub>, (carbociclo C<sub>3-7</sub>)-alquilo de C<sub>0-4</sub>, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo de C<sub>1-4</sub>, alcoxi de C<sub>1-4</sub>, metilamino, dimetilamino, trifluorometilo y trifluorometoxi; o

(iii) está unido a R<sub>4</sub> para formar un heterociclo opcionalmente sustituido;

R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se seleccionan independientemente de:

40 (i) hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo de C<sub>1-6</sub>, alqueno de C<sub>2-6</sub>, alquino de C<sub>2-6</sub>, alcoxi de C<sub>1-6</sub>, alquil C<sub>1-6</sub>-amino o cicloalquil C<sub>3-7</sub>-alquilo de C<sub>0-4</sub>;

E es un enlace covalente sencillo, oxígeno, o NR<sub>A</sub>;

X es un enlace covalente sencillo,  $-CR_A R_B-$ ,  $-O-$ ,  $-C(=O)-$ ,  $-C(=O)O-$ ,  $-S(O)_n-$  o  $-NR_B-$ ; y

R<sub>y</sub> es:

(i) hidrógeno; o

5 (ii) alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, alquenilo de C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>, alquinilo de C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>, carbociclo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> o (heterociclo de 3 a 10 miembros)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 6 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub>, oxo, -NH(alcanoilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -N(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alcanoilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -NHS(O<sub>n</sub>)-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -N(S(O<sub>n</sub>))alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -S(O<sub>n</sub>)NH-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -S(O<sub>n</sub>)N(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)<sub>2</sub>;

W es un enlace covalente sencillo,  $-CR_A R_B-$ ,  $-NR_B-$  u  $-O-$ ;

10 Z se selecciona independientemente, en cada caso, de carbociclos y heterociclos de 3 a 7 miembros, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, oxo, -COOH, hidroxilo, amino, ciano, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)amino y -S(O<sub>n</sub>)-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

R<sub>A</sub> y R<sub>B</sub> se seleccionan, en cada caso, de:

(i) hidrógeno; y

15 (ii) alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, alquenilo de C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>, alquinilo de C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>, (carbociclo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> saturado o parcialmente saturado y (heterociclo de 3 a 10 miembros)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> saturado o parcialmente saturado, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 6 sustituyentes seleccionados independientemente de oxo, hidroxilo, halógeno, ciano, amino, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)amino, -COOH, -C(=O)NH<sub>2</sub>,  
20 -NHC(=O)(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -N(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)C(=O)(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -NHS(O<sub>n</sub>)-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, SO<sub>3</sub>H, -S(O<sub>n</sub>)-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -S(O<sub>n</sub>)NH-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -S(O<sub>n</sub>)N(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y Z;

R<sub>C</sub> y R<sub>D</sub> se seleccionan independientemente de R<sub>A</sub>, hidroxilo, alcoxi de C<sub>1-6</sub>, y oxo;

25 R<sub>x</sub> se escoge independientemente, en cada caso, de halógeno, hidroxilo, amino, ciano, nitro, -COOH, -C(=O)NH<sub>2</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-carbonilo, mono- y di-(alquil C<sub>1-6</sub>)aminocarbonilo, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquenilo de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquinilo de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)amino, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxialquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>, haloalcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>, (cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, y -S(O<sub>n</sub>)-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

m es un número entero seleccionado independientemente en cada caso de 0-8; y

n es un número entero seleccionado independientemente en cada caso de 0, 1 y 2.

30 En ciertas realizaciones, los moduladores del receptor de C5a proporcionados aquí muestran una afinidad elevada por el receptor de C5a (es decir, una constante de afinidad para la unión al receptor de C5a de menos de 1 micromolar) o una afinidad muy elevada por el receptor de C5a (es decir, una constante de afinidad para la unión al receptor de C5a de menos de 100 nanomolar). En ciertas realizaciones, tales moduladores muestran una afinidad por el receptor de C5a humano que es mayor que aquella por el receptor de C5a de rata o de ratón, preferiblemente al menos cinco veces mayor, más preferiblemente diez veces mayor. La afinidad de un compuesto por el receptor de C5a se puede determinar, por ejemplo, vía un ensayo de unión a radioligando, tal como el ensayo proporcionado en el Ejemplo 16.

35 En ciertos aspectos, los moduladores como se describen aquí son antagonistas del receptor de C5a, tales como agonistas inversos. Algunos de tales compuestos muestran una EC<sub>50</sub> de 1 micromolar o menos, 500 nM o menos, 100 nM o menos, o 25 nM o menos, en un ensayo de quimiotaxia mediado por el receptor de C5a *in vitro* estándar (tal como el ensayo proporcionado en el Ejemplo 11), o un ensayo de movilización de calcio (como se describe en el Ejemplo 18).

40 En aspectos adicionales, los antagonistas del receptor de C5a están esencialmente libres de la actividad de agonista del receptor de C5a (es decir, muestran una actividad agonista menor de 5% en un ensayo de unión a GTP, como se describe en el Ejemplo 17).

45 La presente invención proporciona además, en otros aspectos, composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un modulador del receptor de C5a como se describe aquí, en combinación con un vehículo o excipiente fisiológicamente aceptable. También se proporcionan procedimientos para preparar tales composiciones farmacéuticas. Tales composiciones son particularmente útiles en el tratamiento de inflamación mediada por C5a, tal como inflamación asociada con diversos trastornos inflamatorios y del sistema inmunitario.

50 En aspectos adicionales, se proporcionan métodos para inhibir la actividad transductora de señales de un receptor de C5a celular, y comprenden poner en contacto una célula que expresa un receptor de C5a con al menos un modulador del receptor de C5a como se describe aquí, y reducir de ese modo la transducción de señales por un receptor de C5a.

Se proporcionan además métodos para inhibir la unión de C5a a un receptor de C5a *in vitro*, que comprende poner en contacto el receptor de C5a con al menos un modulador del receptor de C5a como se describe aquí, en condiciones y en cantidades suficientes para inhibir de forma detectable la unión de C5a a un receptor de C5a.

5 La presente invención proporciona además métodos para inhibir la unión de C5a a un receptor de C5a en un paciente humano, que comprende poner en contacto células que expresan el receptor de C5a con al menos un modulador del receptor de C5a como se describe aquí.

10 En aspectos adicionales, la presente invención proporciona métodos para tratar un paciente que necesita de tratamiento antiinflamatorio o tratamiento inmunomodulador. Tales métodos comprenden generalmente administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un modulador del receptor de C5a como se describe aquí. El tratamiento de seres humanos, animales de compañía domesticados (mascotas) o animales de ganado que sufren tales afecciones está contemplado por la presente invención. En ciertos aspectos, se proporcionan métodos para tratar un paciente que sufre de fibrosis cística, artritis reumatoide, psoriasis, enfermedad cardiovascular, lesión por reperfusión, o asma bronquial, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un modulador del receptor de C5a como se describe aquí. En aspectos adicionales, se proporcionan métodos para tratar un paciente que sufre de apoplejía, infarto de miocardio, aterosclerosis, cardiopatía isquémica, o lesión por reperfusión isquémica, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un modulador del receptor de C5a como se describe aquí.

15 La presente invención proporciona además métodos para inhibir la quimiotaxia celular mediada por el receptor de C5a (preferiblemente la quimiotaxia de leucocitos (*por ejemplo*, neutrófilos)), que comprende poner en contacto glóbulos blancos de mamífero con una cantidad terapéuticamente eficaz de un modulador del receptor de C5a como se describe aquí. En ciertas realizaciones, los glóbulos blancos son glóbulos blancos de primates, tales como glóbulos blancos de seres humanos.

20 En aspectos adicionales, la presente invención proporciona métodos para usar un modulador del receptor de C5a como se describe aquí como una sonda para la localización de receptores, particularmente receptores de C5a. Tal localización se puede lograr, por ejemplo, en secciones de tejidos (*por ejemplo*, vía autorradiografía) o *in vivo* (*por ejemplo*, vía tomografía de emisión positrónica, PET, o tomografía computerizada de emisión positrónica individual, SPECT, barrido y formación de imágenes). En ciertos aspectos, la presente invención proporciona métodos para localizar receptores de C5a en una muestra de tejido, que comprende: (a) poner en contacto la muestra de tejido que contiene receptores de C5a con un compuesto marcado de forma detectable como se describe aquí, en condiciones que permitan la unión del compuesto a receptores de C5a; y (b) detectar el compuesto unido. Tales métodos pueden, opcionalmente, comprender además una etapa de lavado de la muestra de tejido puesta en contacto, antes de la detección. Los marcadores detectables adecuados incluyen, por ejemplo, radiomarcadores tales como  $^{125}\text{I}$ , tritio,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{32}\text{P}$  y  $^{99}\text{Tc}$ .

25 La presente invención también proporciona preparaciones farmacéuticas empaquetadas, que comprenden: (a) una composición farmacéutica como se describe aquí en un recipiente; y (b) instrucciones para usar la composición para tratar un paciente que sufre una o más afecciones sensibles a la modulación del receptor de C5a, tales como artritis reumatoide, psoriasis, cardiovasculopatía, lesión por reperfusión, asma bronquial, apoplejía, infarto de miocardio, aterosclerosis, cardiopatía isquémica, o lesión por reperfusión isquémica.

30 En todavía otro aspecto, la presente invención proporciona métodos para preparar los compuestos descritos aquí, incluyendo los intermedios.

Estos y otros aspectos de la presente invención serán manifiestos con la referencia a la siguiente descripción detallada.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

35 Como se señala anteriormente, la presente invención proporciona isoquinolinas 1-aril-4-sustituidas que modulan la activación del receptor de C5a y/o la transducción de señales mediada por el receptor de C5a. Tales compuestos se pueden usar *in vitro* o *in vivo* para modular (preferiblemente inhibir) la actividad del receptor de C5a en una variedad de contextos.

#### DESCRIPCIÓN QUÍMICA Y TERMINOLOGÍA

40 Los compuestos se describen generalmente aquí usando nomenclatura estándar. Para compuestos que tienen centros asimétricos, se debería entender que están englobados (excepto que se especifique de otro modo) todos los isómeros ópticos y sus mezclas. Los compuestos con dos o más elementos asimétricos también pueden estar presentes como mezclas de diastereómeros. Además, los compuestos con dobles enlaces carbono-carbono pueden aparecer en las formas Z y E, incluyéndose todas las formas isómeras de los compuestos en la presente invención excepto que se especifique de otro modo. Cuando un compuesto existe en diversas formas tautómeras, un compuesto citado no está limitado a un tautómero específico cualquiera, sino más bien está destinado a englobar todas las formas tautómeras. Los compuestos citados están destinados además a englobar compuestos en los que uno o más átomos están sustituidos con un isótopo (*es decir*, un átomo que tiene el mismo número atómico pero

diferente número másico). A título de ejemplo general, y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio, y los isótopos de carbono incluyen  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ , y  $^{14}\text{C}$ .

Ciertos compuestos se describen aquí usando una fórmula general que incluye variables (*por ejemplo*,  $R_1$ - $R_5$ ,  $R_8$ - $R_{13}$ , Ar). Excepto que se especifique de otro modo, cada variable dentro de tal fórmula se define independientemente de cualquier otra variable; y cualquier variable que se produce más de una vez en una fórmula se define independientemente en cada aparición. De este modo, por ejemplo, si se muestra que un grupo está sustituido con 0-2  $R^*$ , el grupo puede estar no sustituido o sustituido con hasta dos grupos  $R^*$ , y  $R^*$  en cada aparición se selecciona independientemente de la definición de  $R^*$ . También, las combinaciones de sustituyentes y/o variables son permisibles sólo si tales combinaciones dan como resultado compuestos estables.

La expresión "isoquinolinas 1-aril-4-sustituidas", como se usa aquí, se refiere a compuestos de Fórmula I, Fórmula II y/u otras Fórmula(s) proporcionadas aquí, así como sus sales farmacéuticamente aceptables. Será manifiesto que tales compuestos pueden estar sustituidos adicionalmente como se indica (por ejemplo, las isoquinolinas 1-aril-3,4-disustituidas están englobadas por el término "isoquinolinas 1-aril-4-sustituidas").

Una "sal farmacéuticamente aceptable" de un compuesto citado aquí es una sal de ácido o de base que se considera generalmente en la técnica como adecuada para uso en contacto con los tejidos de seres humanos o animales sin toxicidad o carcinogenicidad excesiva, y preferiblemente sin irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación. Tales sales incluyen sales de ácidos minerales y orgánicos de restos básicos tales como aminas, así como sales de álcalis u orgánicas de restos ácidos tales como ácidos carboxílicos. Las sales farmacéuticas específicas incluyen, pero sin limitarse a, sales de ácidos tales como clorhídrico, fosfórico, bromhídrico, málico, glicólico, fumárico, sulfúrico, sulfámico, sulfanílico, fórmico, toluenosulfónico, metanosulfónico, bencenosulfónico, etanodisulfónico, 2-hidroxiethylsulfónico, nítrico, benzoico, 2-acetoxibenzoico, cítrico, tartárico, láctico, esteárico, salicílico, glutámico, ascórbico, pamoico, succínico, fumárico, maleico, propiónico, hidroximaleico, yodhídrico, fenilacético, alcanico tal como acético,  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$ , en el que n es 0-4, y similares. De forma similar, los cationes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sodio, potasio, calcio, aluminio, litio y amonio. Aquellos de pericia normal en la técnica reconocerán otras sales farmacéuticamente aceptables para los compuestos proporcionados aquí, incluyendo aquellas dadas a conocer por *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17ª ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, p. 1418 (1985). En general, una sal de ácido o de base farmacéuticamente aceptable se puede sintetizar a partir de un compuesto progenitor que contiene un resto básico o ácido mediante cualquier método químico convencional. De forma breve, tales sales se pueden preparar haciendo reaccionar las formas de ácido o de base libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido o base apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente se prefiere el uso de medios no acuosos, tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo.

Será manifiesto que cada compuesto de Fórmula I o Fórmula II (y/u otra(s) Fórmula(s) proporcionada(s) aquí) se pueden formular, aunque no es necesario, como un hidrato, solvato, o complejo no covalente. Además, las diversas formas y polimorfos cristalinos están dentro del alcance de la presente invención, como lo están los profármacos de los compuestos de las Fórmulas proporcionados aquí. Un "profármaco" es un compuesto que puede no satisfacer completamente los requisitos estructurales de los compuestos proporcionados aquí, pero se modifica *in vivo* tras la administración a un paciente, para producir un compuesto de Fórmula I, Fórmula II u otra fórmula proporcionada aquí. Por ejemplo, un profármaco puede ser un derivado acilado de un compuesto como se proporciona aquí. Los profármacos incluyen compuestos en los que grupos hidroxilo, amina o sulfhidrilo están unidos enlazados a cualquier grupo que, cuando se administran a un sujeto mamífero, se escinde para formar un grupo hidroxilo, amino o sulfhidrilo libre, respectivamente. Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, derivados de acetato, formiato, fosfato y benzoato de grupos funcionales de alcohol y amina dentro de los compuestos proporcionados aquí. Los profármacos de los compuestos proporcionados aquí se pueden preparar modificando grupos funcionales presentes en los compuestos, de manera que las modificaciones se escinden *in vivo* para generar los compuestos progenitores.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" (o dosis) es una cantidad que, con la administración a un paciente, da como resultado un beneficio discernible al paciente (*por ejemplo*, proporciona alivio detectable de una afección que está siendo tratada). Tal alivio se puede detectar usando cualquier criterio apropiado, incluyendo el alivio de uno o más síntomas. Una cantidad terapéuticamente eficaz o dosis generalmente da como resultado una concentración de compuesto en un fluido corporal (tal como sangre, plasma, suero, CSF, fluido sinovial, linfa, fluido intersticial celular, lágrimas u orina) que es suficiente para inhibir la quimiotaxia de glóbulos blancos en un ensayo *in vitro*, y/o alterar la actividad o activación del receptor de C5a según se mide mediante un ensayo de movilización de calcio *in vitro*. Será manifiesto que el beneficio discernible al paciente puede ser manifiesto tras la administración de una única dosis, o puede hacerse manifiesto tras la administración repetida de la dosis terapéuticamente eficaz según un régimen predeterminado, dependiendo de la indicación para la que se administra el compuesto.

Un "sustituyente", como se usa aquí, se refiere a un resto molecular que está enlazado covalentemente a un átomo en una molécula de interés. Por ejemplo, un "sustituyente anular" puede ser un resto, tal como un halógeno, un grupo alquilo, un grupo haloalquilo, u otro sustituyente descrito aquí, que está enlazado covalentemente a un átomo (preferiblemente un átomo de carbono o de nitrógeno) que es un miembro anular. El término "sustituido", como se usa aquí, significa que uno cualquiera o más hidrógenos en el átomo designado está sustituido por una selección de

los sustituyentes indicados, con la condición de que no se exceda la valencia normal del átomo designado, y de que la sustitución dé como resultado un compuesto estable (es decir, un compuesto que se puede aislar, caracterizar y ensayar para determinar la actividad biológica). Cuando un sustituyente es oxo (es decir, =O), entonces se sustituyen 2 hidrógenos en el átomo. Un grupo oxo que es un sustituyente de un átomo de carbono aromático da como resultado una conversión de -CH- en -C(=O)-, y la pérdida de aromaticidad. Por ejemplo, un grupo piridilo sustituido con oxo es una piridona.

La frase "opcionalmente sustituido" indica que un grupo puede estar no sustituido o sustituido en uno o más de cualquiera de las posiciones disponibles, típicamente las posiciones 1, 2, 3, 4 ó 5, mediante uno o más sustituyentes adecuados, tales como los descritos aquí. La sustitución opcional también puede estar indicada por la frase "sustituido con 0 a X sustituyentes", en la que X es el número máximo de sustituyentes.

Los sustituyentes adecuados incluyen, por ejemplo, halógeno, ciano, amino, hidroxilo, nitro, azido, CONH<sub>2</sub>, -COOH, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, alquilo (por ejemplo, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), alqueno (por ejemplo, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>), alquino (por ejemplo, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>), alcoxi (por ejemplo, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), éter de alquilo (por ejemplo, éter de alquilo de C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>), alquiltio (por ejemplo, alquiltio de C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), haloalquilo (por ejemplo, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), hidroxialquilo (por ejemplo, hidroxialquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), aminoalquilo (por ejemplo, aminoalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), haloalcoxi (por ejemplo, haloalcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), alcanilo (por ejemplo, alcanilo de C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), alcanona (por ejemplo, alcanona de C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), alcaniloxi (por ejemplo, alcanilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-oxi), alcoxycarbonilo (por ejemplo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-carbonilo), mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)amino, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)aminocarbonilo, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)sulfonamido, alquilsulfonilo (por ejemplo, alquil C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-sulfonilo), alquilsulfonilo (por ejemplo, alquil C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-sulfonilo), arilo (por ejemplo, fenilo), arilalquilo (por ejemplo, (aril C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>)-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, tal como bencilo y fenetilo), ariloxi (por ejemplo, aril C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>-oxi, tal como fenoxi), arilalcoxi (por ejemplo, (aril C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>)-alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>) y/o grupos heterocíclicos de 3 a 8 miembros tales como cumarililo, quinolinilo, piridilo, pirazinilo, pirimidilo, furilo, pirrolilo, tienilo, tiazolilo, oxazolilo, imidazolilo, indolilo, benzofuranilo, benzotiazolilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropirano, piperidinilo, morfolino o pirrolidinilo. Ciertos grupos en las fórmulas proporcionadas aquí están opcionalmente sustituidos con 1 a 3, 1 a 4 ó 1 a 5 sustituyentes seleccionados independientemente.

Un guión ("-") que no está entre dos letras o símbolos se usa para indicar un punto de unión para un sustituyente. Por ejemplo, -CONH<sub>2</sub> está unido a través del átomo de carbono.

Como se usa aquí, "alquilo" está destinado a incluir grupos hidrocarbonados alifáticos saturados tanto de cadena lineal como ramificados, y cuando se especifica, que tienen el número especificado de átomos de carbono. De este modo, la expresión "alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>" (o "alquilo de C<sub>1-6</sub>"), como se usa aquí, indica un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono. "alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>" se refiere a un enlace covalente sencillo (alquilo de C<sub>0</sub>) o a un grupo alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>. Grupos alquilo incluyen los grupos que tienen de 1 a 8 átomos de carbono (alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), de 1 a 6 átomos de carbono (alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) y de 1 a 4 átomos de carbono (alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), tal como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, 2-pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, 2-hexilo, 3-hexilo, y 3-metilpentilo. En ciertas realizaciones, grupos alquilo preferidos son metilo, etilo, propilo, butilo, y 3-pentilo. "Aminoalquilo" es un grupo alquilo tal como se define anteriormente sustituido con uno o más sustituyentes -NH<sub>2</sub>. "Hidroxialquilo" es un grupo hidroxilo tal como se define anteriormente sustituido con uno o más sustituyentes -OH.

"Alquilenilo" se refiere a un grupo alquilo divalente, tal como se define anteriormente. Alquilenilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> es un enlace covalente sencillo o un grupo alquilenilo que tiene 1 y 4 átomos de carbono.

"Alqueno" se refiere a una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada que comprende uno o más enlaces carbono-carbono insaturados, tales como etenilo y propenilo. Los grupos alqueno incluyen los grupos alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> y alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> (que tienen de 2 a 8, 2 a 6 ó 2 a 4 átomos de carbono, respectivamente), tal como etenilo, alilo o isopropenilo.

"Alquino" se refiere a cadenas hidrocarbonadas lineales o ramificadas que comprenden uno o más triples enlaces carbono-carbono. Los grupos alquino incluyen los grupos alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> y alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, que tienen de 2 a 8, 2 a 6 ó 2 a 4 átomos de carbono, respectivamente. Los grupos alquino incluyen, por ejemplo, los grupos tales como etinilo y propinilo.

Mediante el término "alcoxi," tal como se usa aquí, se quiere decir un grupo alquilo, alqueno o alquino como se describe anteriormente unido vía un puente de oxígeno. Los grupos alcoxi incluyen los grupos alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> que tienen de 1 a 6 ó 1 a 4 átomos de carbono, respectivamente. Metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, n-butoxi, sec-butoxi, terc-butoxi, n-pentoxi, 2-pentoxi, 3-pentoxi, isopentoxi, neopentoxi, hexoxi, 2-hexoxi, 3-hexoxi, y 3-metilpentoxi son grupos alcoxi representativos. Similarmente, "alquiltio" se refiere a un grupo alquilo, alqueno o alquino tal como se describe anteriormente, unido vía un puente de azufre.

El término "alcanoilo" se refiere a un grupo alquilo tal como se define anteriormente unido a través de un puente de carbonilo. Los grupos alcanoilo incluyen los grupos alcanoilo de C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alcanoilo de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> y alcanoilo de C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> que tienen de 2 a 8, 2 a 6 ó 2 a 4 átomos de carbono, respectivamente. "alcanoilo de C<sub>1</sub>" se refiere a -(C=O)-H, que (junto con alcanoilo de C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>) está englobado por la expresión "alcanoilo de C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>." Etanoilo es alcanoilo de C<sub>2</sub>.



Una "alcanona" es un grupo alquilo tal como se define anteriormente con el número indicado de átomos de carbono sustituido al menos una posición con un grupo oxo. "alcanona de C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>", "alcanona de C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>" y "alcanona de C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>" se refieren a una alcanona que tiene de 3 a 8, 6 ó 4 átomos de carbono, respectivamente. A título de ejemplo, un grupo alcanona de C<sub>3</sub> tiene la estructura -CH<sub>2</sub>-(C=O)-CH<sub>3</sub>.

5 Similarmente, "éter de alquilo" se refiere a un sustituyente de éter lineal o ramificado enlazado vía un enlace carbono-carbono. Los grupos éter de alquilo incluyen los grupos éter de alquilo de C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, éter de alquilo de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> y éter de alquilo de C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, que tienen de 2 a 8, 6 ó 4 átomos de carbono, respectivamente. Como ejemplos, un grupo éter de alquilo de C<sub>2</sub> tiene la estructura -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>.

10 El término "alcoxicarbonilo" se refiere a un grupo alcoxi unido a través de un puente ceto (-C(=O)-) (por ejemplo, un grupo que tiene la estructura general -C(=O)-O-alquilo). Los grupos alcoxicarbonilo incluyen los grupos alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-carbonilo, que tienen de 1 a 8, 6 ó 4 átomos de carbono, respectivamente, en la porción alquilo del grupo (es decir, el carbono del puente ceto no está incluido en el número indicado de átomos de carbono). "alcoxi C<sub>1</sub>-carbonilo" se refiere a -C(=O)-O-CH<sub>3</sub>; alcoxi C<sub>3</sub>-carbonilo indica -C(=O)-C(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> o -C(=O)-O-(CH)(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

15 "alcanoiloxi," tal como se usa aquí, se refiere a un grupo alcanoilo enlazado vía un puente de oxígeno (por ejemplo, un grupo que tiene la estructura general -O-C(=O)-alquilo). Los grupos alcanoiloxi incluyen los grupos alcanoil C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-oxi, que tienen de 1 a 8, 6 ó 4 átomos de carbono, respectivamente, en la porción alquilo del grupo.

20 "Alquilamino" se refiere a una amina secundaria o terciaria que tiene la estructura general -NH-alquilo o -N(alquilo)(alquilo), en la que cada alquilo puede ser igual o diferente. Tales grupos incluyen, por ejemplo, los grupos mono- y di-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)amino, en los que cada alquilo puede ser igual o diferente y puede tener de 1 a 8 átomos de carbono, así como los grupos mono- y di-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)amino y los grupos mono- y di-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)amino. "Mono- o di-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-amino)alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>" se refiere a un grupo mono- y di-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)amino que está enlazado vía un enlace covalente sencillo (alquilo de C<sub>0</sub>) o un grupo alquileo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> (es decir, un grupo que tiene la estructura general -alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>-NH-(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) o -alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>-N(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, en el que cada alquilo puede ser igual o diferente. Similarmente, "mono- o di-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)amino-alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>" se refiere a un grupo alquilamino enlazado vía un grupo alcoxi (es decir, un grupo de fórmula -O-(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-NH(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) o -O-(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.

"(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)(2-acetamida)amino" se refiere a un grupo amino en el que se sustituye un hidrógeno por alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y el otro hidrógeno se sustituye por un grupo 2-acetamida.

30 El término "aminocarbonilo" se refiere a un grupo amida (es decir, -(C=O)NH<sub>2</sub>). "Mono- o di-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)aminocarbonilo" se refiere a un grupo amida en el que uno o ambos de los átomos de hidrógeno está sustituido por un alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> seleccionado independientemente. Tales grupos pueden asimismo indicarse mediante "-C(=O)NH(alquilo)" o "-C(=O)N(alquilo)(alquilo)."

35 El término "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo y yodo. Un "haloalquilo" es un grupo alquilo ramificado o lineal, sustituido con 1 o más átomos de halógeno (por ejemplo, grupos "halo-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>" que tienen de 1 a 8 átomos de carbono; grupos "halo-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>" que tienen de 1 a 6 átomos de carbono). Ejemplos de grupos haloalquilo incluyen, pero no se limitan a, mono-, di- o tri-fluorometilo; mono-, di- o tri-clorometilo; mono-, di-, tri-, tetra- o penta-fluoroetilo; y mono-, di-, tri-, tetra- o penta-cloroetilo. Grupo haloalquilo típicos son trifluorometilo y difluorometilo. En ciertos compuestos proporcionados aquí, no están presentes más de 5 ó 3 grupos haloalquilo. El término "haloalcoxi" se refiere a un grupo haloalquilo tal como se define antes unido vía un puente de oxígeno. Los grupos "halo-alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>" tienen de 1 a 8 átomos de carbono.

40 Un "carbociclo" es un grupo aromático saturado, parcialmente saturado o aromático que tienen 1 ó 2 anillos condensados, colgantes o espiro, con 3 a 8 átomos en cada anillo, y siendo todos los miembros anulares carbono. El término "carbociclo" engloba grupos aromáticos tales como fenilo y naftilo, así como grupos que comprenden anillos tanto aromáticos como no aromáticos (por ejemplo, tetrahidronaftilo), y grupos con anillos saturados y parcialmente saturados (tales como ciclohexilo y ciclohexenilo). Cuando se indican las sustituciones, los carbocilos pueden estar sustituidos en cualquier átomo anular en los que tal sustitución da como resultado un compuesto estable. El término "carbociclo de C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>" se refiere a dichos grupos que tienen de 3 a 10 miembros anulares. Un grupo "(carbociclo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>)alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>" es un carbociclo de C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> que está enlazado vía un enlace covalente sencillo o un grupo alquileo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>.

45 Algunos carbociclos son "cicloalquilo" (es decir, un carbociclo saturado o parcialmente saturado). Dichos grupos tienen típicamente de 3 a 8 átomos de carbono anulares; en algunas realizaciones, tales grupos tienen de 3 a 7 átomos de carbono anulares. Ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo, así como tales grupos modificados por la presencia de uno o más dobles o triples enlaces (por ejemplo, ciclohexenilo) y grupos anulares en puente o enjaulados saturados tales como norbornano o adamantano. Si está sustituido, cualquier átomo de carbono anular puede estar enlazado a cualquier sustituyente indicado.

55 En la expresión "(cicloalquil)alquilo, "cicloalquilo" y "alquilo" son como se definen antes, y el punto de unión está en el grupo alquilo. Esta expresión engloba, pero no se limita a, ciclopropilmetilo, ciclohexilmetilo y ciclohexiletilo.

“(cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>” se refiere a anillos cicloalquilo de 3 a 7 miembros que están enlazados vía un enlace covalente sencillo o un alquileo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>.

De manera similar, “(cicloalquil)alcoxi” se refiere a un grupo cicloalquilo enlazado vía un grupo alcoxi (es decir, un grupo de fórmula O-alquil-cicloalquilo).

5 “Cicloalcoxi” se refiere a un cicloalquilo tal como se describe antes enlazado vía un puente de oxígeno (por ejemplo, ciclopentiloxi o ciclohexiloxi).

Otros carbociclos son “arilo” (es decir, carbociclos que comprenden al menos un anillo aromático). Además del anillo o anillos aromáticos, puede estar presente un anillo o anillo no aromáticos adicionales en un grupo arilo. Los grupos arilo representativos incluyen fenilo, naftilo (por ejemplo, 1-naftilo y 2-naftilo), bifenilo, tetrahidronaftilo y indanilo.

10 El término “arilalquilo” se refiere a un grupo arilo que está enlazado vía un grupo alquileo. Algunos grupos arilalquilo son aril-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>2</sub>, en los que un grupo arilo está enlazado vía un enlace covalente sencillo o un resto metileno o etileno. Tales grupos incluyen, por ejemplos, los grupos en los que fenilo o naftilo está enlazado vía un enlace o alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>, tal como bencilo, 1-fenil-etilo y 2-fenil-etilo.

15 El término “ariloxi” se refiere a un grupo arilo enlazado vía un oxígeno (es decir, un grupo que tiene la estructura general -O-arilo). Fenoxi es un grupo ariloxi representativo.

El término “arilalcoxi” se refiere a un grupo arilo enlazado vía un grupo alcoxi (es decir, un grupo que tiene la estructura general -O-alquil-arilo).

Un “heteroátomo” es un átomo diferente de un carbono, tal como oxígeno, azufre o nitrógeno.

20 El término “heterociclo” o “grupo heterocíclico” se utiliza para indicar grupos saturados, parcialmente saturados o aromáticos que tienen 1 ó 2 anillo condensados, colgantes o espiro, con 3 a 8 átomos en cada anillo, y en la menos un anillo de 1 a 4 heteroátomos seleccionados independientemente de N, O y S, siendo los restantes átomos carbono. Algunos heterociclos son unos grupos de 3 a 10 miembros monocíclicos o bicíclicos; Otros son grupos de 4 a 6 miembros monocíclicos. El anillo heterocíclico puede estar unido a cualquier heteroátomo o átomo de carbono que da como resultado una estructura estable, y puede estar sustituido en átomo(s) de carbono y/o nitrógeno si el compuesto resultante es estable. Cualesquiera heteroátomos de nitrógeno y/o azufre pueden estar opcionalmente oxidados, y cualquier nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado.

25 Las variaciones en la expresión “(heterociclo)alquilo” se refieren a un enlace covalente sencillo o un grupo alquileo. Tales grupos incluyen, por ejemplo, grupos de (heterociclo de 3 a 10 miembros)alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, en los que el heterociclo contiene de 3 a 10 miembros anulares y está enlazado vía un enlace covalente sencillo o alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>. Excepto que se especifique de otro modo, la porción de heterociclo de tales grupos puede estar saturada, parcialmente saturada o aromática. “(heterocicloalquilo de 4 a 6 miembros)alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>” se refiere a un grupo heterocicloalquilo de 4 a 6 miembros anulares que está enlazado vía un enlace covalente sencillo o un alquileo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>.

30 Ciertos heterociclos son “heteroarilo” (es decir, grupos que comprenden al menos un anillo aromático que tiene de 1 a 4 heteroátomos). Cuando el número total de átomos de S y O en el grupo heteroarilo supera 1, entonces estos heteroátomos no son adyacentes entre sí; preferiblemente, el número total de átomos de S y O en un grupo heteroarilo no es más de 1, 2 ó 3, más preferiblemente 1 ó 2 y lo más preferible no es más de 1. Ejemplos de grupos heteroarilo incluyen piridilo, furanilo, indolilo, primidinilo, piridizinilo, pirazinilo, imidazolilo, oxazolilo, tienilo, tiazolilo, triazolilo, isoxazolilo, quinolinilo, pirrolilo, pirazolilo, y 5,6,7,8-tetrahidroisoquinolina.

35 Otros heterociclos se denominan aquí como “heterocicloalquilo” (es decir, heterociclos saturados o parcialmente saturados). Los grupos heterocicloalquilo tienen 1 ó 2 anillos, cada uno con 3 a alrededor de 8 átomos anulares, y más típicamente de 5 a 7 átomos anulares. Ejemplos de grupos heterocicloalquilo incluyen morfolinilo, piperazinilo, piperidinilo y pirrolidinilo.

45 Ejemplos adicionales de grupos heterociclo incluyen, pero no se limitan a, acridinilo, azocinilo, bencimidazolilo, benzofuranilo, benzotiofuranilo, benzotiofenilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzotriazolilo, benzotetrazolilo, bencisoxazolilo, bencisotiazolilo, bencimidazolilino, carbazolilo, NH-carbazolilo, carbolinilo, cromanilo, cromenilo, cinolinilo, decahidroquinolinilo, 2*H*,6*H*-1,5,2-ditiazinilo, dihidrofuro[2,3-*b*]tetrahidrofurano, furanilo, furazanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, imidazolilo, 1*H*-indazolilo, indolenilo, indolinilo, indolizínilo, indolilo, 3*H*-indolilo, isobenzofuranilo, isocromanilo, isoindazolilo, isoindolinilo, isoindolilo, isoquinolinilo, isotiazolilo, isoxazolilo, morfolinilo, naftiridinilo, octahidroisoquinolinilo, oxadiazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, oxazolidinilo, oxazolilo, oxazolidinilo, pirimidinilo, fenantridinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxatiinilo, fenoxazinilo, ftalazinilo, piperazinilo, piperidinilo, pteridinilo, purinilo, piranilo, pirazinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridoxazol, piridoimidazol, piridotiazol, piridinilo, piridilo, pirimidinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, 2*H*-pirrolilo, pirrolilo, quinazolínilo, quinolinilo, 4*H*-quinolizínilo, quinoxalinilo, quinuclidinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidroisoquinolinilo, tetrahidroquinolinilo, 6*H*-1,2,5-tiadiazinilo, 1,2,3-tiadiazolilo,

1,2,4-tiadiazolilo, 1,2,5-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, tiantrenilo, tiazolilo, tienilo, tienotiazolilo, tienooxazolilo, tienoimidazolilo, tiofenilo, triazinilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, 1,2,5-triazolilo, 1,3,4-triazolilo, y xantenilo.

Un "receptor de C5a" es un receptor acoplado a proteína G que se une específicamente al péptido C5a. Ciertos receptores de C5a preferidos son humanos, tales como el producto proteico de la secuencia que produce el producto de PCR del receptor de C5a humano descrito por Gerard y Gerard (1991) *Nature* 349:614-17. El receptor de C5a humano también puede ser el descrito por Boulay (1991) *Biochemistry* 30(12):2993-99 (la secuencia nucleotídica que codifica receptor está disponible en el número de acceso de GENBANK M62505). Los receptores de C5a que no son de primate incluyen el receptor de C5a de rata (codificado por la secuencia nucleotídica que tiene los números de acceso de GENBANK X65862, Y09613 ó AB003042), el receptor de C5a canino (codificado por la secuencia nucleotídica que tiene el número de acceso de GENBANK X65860), y el receptor de C5a de cobaya (codificado por la secuencia nucleotídica que tiene el número de acceso de GENBANK U86103).

Un "modulador del receptor de C5a" (también denominado aquí como un "modulador") es cualquier compuesto que modula la activación y/o actividad del receptor de C5a (*es decir*, la transducción de señales mediada por el receptor de C5a, según se mide usando un ensayo de quimiotaxia mediado por el receptor de C5a, o el ensayo de movilización de calcio como se proporciona aquí). En ciertas realizaciones, tal modulador puede mostrar una constante de afinidad para la unión a un receptor de C5a de menos de 1 micromolar en un ensayo de unión a radioligando del receptor de C5a estándar; y/o una  $EC_{50}$  de menos de 1 micromolar en un ensayo de quimiotaxia mediado por el receptor de C5a estándar o un ensayo de movilización de calcio. En otras realizaciones, el modulador del receptor de C5a puede mostrar una constante de afinidad o  $EC_{50}$  de menos de 500 nM, 200 nM, 100 nM, 50 nM, 25 nM, 10 nM o 5 nM en tal ensayo. Un modulador puede ser un agonista o antagonista del receptor de C5a, aunque, para ciertos fines descritos aquí, un modulador inhibe preferiblemente la activación de C5a que resulta de la unión de C5a (*es decir*, el modulador es un antagonista). Además, o como alternativa, un modulador puede actuar como un agonista inverso del receptor de C5a. En ciertas realizaciones, los moduladores proporcionados aquí modulan la activación y/o actividad de un receptor de C5a de primate, tal como el receptor de C5a humano, que puede ser un receptor clonado, un receptor expresado recombinantemente o un receptor expresado de forma natural. Para tratar animales no humanos de cualquier especie particular, se prefiere un compuesto que muestra una afinidad elevada por el receptor de C5a de esa especie particular.

Ciertos moduladores del receptor de C5a muestran actividad elevada en un ensayo de quimiotaxia mediado por el receptor de C5a *in vitro* estándar, como se especifica en el Ejemplo 11, aquí. Tales compuestos muestran una  $EC_{50}$  de 4  $\mu$ M o menos en tal ensayo de quimiotaxia mediado por C5a estándar, preferiblemente una  $EC_{50}$  de 1  $\mu$ M o menos en tal ensayo, más preferiblemente una  $EC_{50}$  de 0,1  $\mu$ M o menos en tal ensayo, e incluso más preferiblemente una  $EC_{50}$  de 10 nM o menos en tal ensayo.

Un "agonista inverso" de un receptor de C5a es un compuesto que reduce la actividad del receptor de C5a por debajo de su nivel de actividad basal en ausencia de C5a añadido. Los agonistas inversos también pueden inhibir la actividad de C5a en el receptor de C5a, y/o pueden inhibir la unión de C5a al receptor de C5a. La capacidad de un compuesto para inhibir la unión de C5a al receptor de C5a se puede medir mediante un ensayo de unión, tal como el ensayo de unión a radioligando dado en el Ejemplo 16. La actividad basal del receptor de C5a se puede determinar a partir de un ensayo de unión a GTP, tal como el ensayo del Ejemplo 17. La reducción de la actividad del receptor de C5a también se puede determinar a partir de un ensayo de unión a GTP o un ensayo de movilización de calcio, tal como el ensayo del Ejemplo 18.

Un "antagonista neutro" del receptor de C5a es un compuesto que inhibe la actividad de C5a en el receptor de C5a, pero no cambia significativamente la actividad basal del receptor de C5a. Los antagonistas neutros del receptor de C5a pueden inhibir la unión de C5a al receptor de C5a.

Un "agonista parcial" del receptor de C5a eleva la actividad del receptor de C5a por encima del nivel de actividad basal del receptor en ausencia de C5a, pero no eleva la actividad del receptor de C5a hasta el nivel provocado por niveles saturantes del agonista natural, C5a. Los compuestos agonistas parciales pueden inhibir la unión de C5a al receptor de C5a. Los agonistas parciales del receptor de C5a elevan habitualmente la actividad del receptor de C5a, produciendo un nivel de elevación que oscila desde 5% hasta 90% del nivel de actividad provocado por concentraciones saturantes del receptor del agonista natural, C5a.

## MODULADORES DEL RECEPTOR DE C5A

Como se señala anteriormente, la presente invención proporciona isoquinolinas 1-aril-4-sustituidas de Fórmulas I y II, que se pueden usar para alterar la actividad del receptor de C5a en una variedad de contextos, incluyendo en el tratamiento de pacientes que sufren enfermedades o trastornos sensibles a la modulación del receptor de C5a, tales como trastornos autoinmunitarios y afecciones inflamatorias. Los moduladores del receptor de C5a también se pueden usar en una variedad de ensayos *in vitro* (*por ejemplo*, ensayos para determinar la actividad del receptor), como sondas para la detección y localización del receptor de C5a, y como patrones en ensayos de unión a ligandos y transducción de señales mediada por el receptor de C5a.

Algunos compuestos de Fórmula I o II, incluyen aquellos en los que R<sub>1</sub> es hidrógeno, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o (cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>. Otros compuestos de Fórmula I o II incluyen aquellos en los que R<sub>1</sub> es hidrógeno, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> o alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, o compuestos en los que R<sub>1</sub> es hidrógeno, metilo, etilo, o metoxi.

- 5 Otros compuestos de Fórmula I o II incluyen aquellos en los que R<sub>3</sub> representa entre 0 y 2 sustituyentes, cada uno de los cuales se selecciona independientemente de alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, COOH, CONH<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1-6</sub>)amino, (amino)alquilo de C<sub>0-6</sub>. En algunos otros compuestos, R<sub>3</sub> está preferiblemente ausente, por ejemplo, el anillo carbocíclico de la isoquinolina no está sustituido.
- 10 Otros compuestos de Fórmula I o II incluyen aquellos en los que R<sub>3</sub> es R<sub>3</sub> representa entre 0 y 2 sustituyentes, cada uno de los cuales se selecciona independientemente de alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, COOH, CONH<sub>2</sub>, y SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.

Aún otros compuestos de Fórmula I o II incluyen aquellos en los que R<sub>4</sub> es:

- 15 (i) alquilo de C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, (cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, mono- o di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>amino)-alquilo de C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, (heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, fenil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, piridil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, pirimidinil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, tienil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, imidazolil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, pirrolil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, pirazolil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, benzisotiazolilo o tetrahidronaftilo, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub>, alcanilo de C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-amino-alquilo de (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), mono- y di-alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-amino(alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), (heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> y XR<sub>y</sub>; o
- 20 (ii) está unido a R<sub>5</sub> para formar, con el nitrógeno al que están unidos R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub>, un heterociclo que tiene de 1 a 3 anillos, 5 a 7 miembros anulares en cada anillo, en el que el heterociclo está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub>, oxo y W-Z; y

R<sub>5</sub> es:

- (i) hidrógeno;
- 25 (ii) alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, o (carbociclo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, metilamino, dimetilamino, trifluorometilo y trifluorometoxi; o
- (iii) está unido a R<sub>4</sub> para formar un heterociclo opcionalmente sustituido.

- 30 En algunos otros compuestos de Fórmula I o II, Ar es fenilo mono-, di-, o tri-sustituido, naftilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido. En algunos otros compuestos de Fórmula I, II o IX, Ar es fenilo mono-, di-, o tri-sustituido, o Ar es 1-naftilo, 2-naftilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridizinilo, tienilo, tiazolilo, pirazolilo, imidazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, indazolilo, indolilo, pirrolilo, furanilo, o triazolilo, cada uno de los cuales está opcionalmente mono-, di-, o tri-sustituido.

- 35 En todavía otros compuestos de Fórmula I o II, Ar es fenilo sustituido con 1 y 3 restos seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo de C<sub>1-6</sub> opcionalmente sustituido, alqueno de C<sub>2-6</sub> opcionalmente sustituido, alquino de C<sub>2-6</sub> opcionalmente sustituido, alcoxi de C<sub>1-6</sub> opcionalmente sustituido, (alcoxi C<sub>1-6</sub>)-alquilo de C<sub>1-6</sub> opcionalmente sustituido, (amino)alquilo de C<sub>1-6</sub> opcionalmente sustituido, y mono- y di-(alquil C<sub>1-6</sub>)amino opcionalmente sustituido.

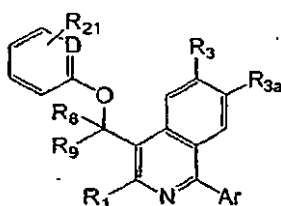
- 40 Algunos compuestos de Fórmula I o II incluyen aquellos en los que A es NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub> y se denominan aquí como compuestos de Fórmula II-a. Algunos compuestos de Fórmula II-a incluyen aquellos en los que: R<sup>4</sup> se selecciona de (cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, fenil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, piridil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, pirimidinil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, tienil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, imidazolil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, pirrolil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, pirazolil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, indolil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, indazolil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, benzocicloalqueno-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, decahidronaftil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, benzisotiazolil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, tetrahidroquinolinil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> y tetrahidronaftil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 4 grupos seleccionados independientemente de R<sub>x</sub>, mono- y di-alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-amino(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), mono- y di-alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-amino(alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), (heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, alcanilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> y alcanil C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>-oxi; y R<sub>5</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> o (carbociclo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>.
- 45

- 50 En otros compuestos de Fórmula II-a proporcionados aquí incluyen aquellos en los que R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> están unidos para formar un heterociclo saturado o parcialmente saturado que tiene 1 ó 2 anillos condensados o espiró; en el que el heterociclo está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, amino, ciano, -COOH, -CH<sub>2</sub>COOH, alcoxi C<sub>1-6</sub>carbonilo, -CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>-alquilo de C<sub>1-6</sub>, -C(=O)NH<sub>2</sub>, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)amino, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>, haloalcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>, (cicloalquilo de C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, -S(O<sub>n</sub>)-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, SO<sub>3</sub>H, y fenilo.

Algunos otros compuestos de Fórmula II-a incluyen aquellos en los que  $R_4$  y  $R_5$  están unidos para formar anillo heterocíclico saturado de 4 a 7 miembros que está sustituido con 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo de  $C_1$ - $C_2$ , alcoxi de  $C_1$ - $C_2$ , trifluorometilo, difluorometilo, trifluorometoxi difluorometoxi,  $-COOH$ ,  $-CH_2COOH$ , alcoxi  $C_{1-2}$ -carbonilo, y  $-CH_2CO_2$ -alquilo de  $C_{1-2}$ .  
 Algunos otros compuestos de Fórmula II-a incluyen aquellos en los que  $R_4$  y  $R_5$  se combinan para formar un azepanilo, morfolinilo, homomorfolinilo, pirrolidinilo, piperazinilo, homopiperazinilo, piperidinilo, homopiperidinilo, y similares.

En algunos otros compuestos de Fórmula II-a en los que  $R_4$  y  $R_5$  se combinan para formar un heterociclo, heterociclo el cual comprende 2 anillos, cada uno de los anillos está sustituido con 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo de  $C_1$ - $C_2$ , alcoxi de  $C_1$ - $C_2$ , trifluorometilo, difluorometilo, trifluorometoxi, y difluorometoxi. Algunos compuestos de Fórmula II-a en los que  $R_4$  y  $R_5$  se combinan para formar un heterociclo bicíclico incluyen aquellos en los que el heterociclo es tetrahydroquinolinilo, tetrahydroisoquinolinilo, decahydroquinolinilo, decahydroisoquinolinilo, indazolilo, indolinilo, fenilimidazolilo, piridoxazinilo, benzoxazinilo, o similares.

Aún otros compuestos proporcionados aquí incluyen aquellos de Fórmula II-b que satisfacen la Fórmula VIII:



(VIII)

en la que:

D es CH o N;

$R_3$  y  $R_{3a}$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo de  $C_{1-6}$ , alcoxi de  $C_{1-6}$ , haloalquilo de  $C_{1-6}$ , haloalcoxi de  $C_{1-6}$ ,  $COOH$ ,  $CONH_2$ ,  $SO_2NH_2$ , hidroxilo, halógeno, y amino;

$R_{21}$  representa de 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de  $R_x$  y  $LR_d$ ; o dos grupos  $R_{21}$  adyacentes están unidos para formar un anillo carbocíclico o heterocíclico de 5 a 7 miembros condensado, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de  $R_x$ ;

L es un enlace covalente sencillo o  $-CH_2-$ ; y

$R_d$  es piperazinilo, morfolinilo, piperidinilo o pirrolidinilo.

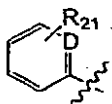
Algunos compuestos según la Fórmula VIII proporcionada aquí incluyen aquellos en los que:  $R_{21}$  representa de 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de  $R_x$  y  $LR_d$ ;

$R_1$  es hidrógeno, alquilo de  $C_{1-6}$ , alqueno de  $C_{2-6}$ , alquino de  $C_{2-6}$ , alcoxi de  $C_{1-6}$ , haloalquilo de  $C_{1-6}$ , haloalcoxi de  $C_{1-6}$ , o (cicloalquil  $C_3$ - $C_7$ )-alquilo de  $C_0$ - $C_4$ ;

$R_8$  y  $R_9$  se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo de  $C_{1-6}$ , alqueno de  $C_{1-6}$ , (cicloalquil  $C_3$ - $C_7$ )-alquilo de  $C_{1-4}$  y alcoxi de  $C_{1-6}$ ; y

Ar es fenilo que está mono-, di-, o tri-sustituido, o 1-naftilo, 2-naftilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridazinilo, tienilo, tiazolilo, pirazolilo, imidazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, pirrolilo, furanilo, indolilo, indazolilo, y triazolilo, cada uno de los cuales está opcionalmente mono-, di-, o tri-sustituido.

Todavía otros compuestos de Fórmula VIII incluyen aquellos en los que el grupo designado:



se selecciona de naftilo, tetrahydronaftilo, benzofuranilo, benzodioxolilo, indanilo, indolilo, indazolilo, benzodioxolilo, benzo[1,4]dioxanilo y benzoxazolilo, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de  $R_x$ .

Algunos compuestos de cualquier Fórmula II, II-a, II-b, o VIII incluyen aquellos compuestos en los que el sustituyente Ar es fenilo mono-, di-, o tri-sustituido, naftilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido. En otros compuestos de cualquier Fórmula II, II-a, II-b, o VIII, Ar se selecciona del grupo que consiste en fenilo mono-,

di-, o tri-sustituido, o Ar es 1-naftilo, 2-naftilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridizinilo, tienilo, tiazolilo, pirazolilo, imidazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, indazolilo, indolilo, pirrolilo, furanilo, y triazolilo, cada uno de los cuales está opcionalmente mono-, di-, o tri-sustituido.

5 Algunos otros compuestos de cualquier Fórmula II, II-a, II-b o VIII incluyen aquellos compuestos en los que el sustituyente Ar es fenilo sustituido con 1 y 3 restos seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo de C<sub>1-6</sub> opcionalmente sustituido, alquenilo de C<sub>2-6</sub> opcionalmente sustituido, alquinilo de C<sub>2-6</sub> opcionalmente sustituido, alcoxi de C<sub>1-6</sub> opcionalmente sustituido, (alcoxi C<sub>1-6</sub>)-alquilo de C<sub>1-6</sub> opcionalmente sustituido, (amino)-alquilo de C<sub>1-6</sub> opcionalmente sustituido, mono- y di-(alquil C<sub>1-4</sub>)amino opcionalmente sustituido.

10 Algunos compuestos de Fórmula II, II-a, II-b o VIII incluyen aquellos en los que R<sub>1</sub> es hidrógeno, alquilo de C<sub>1-6</sub>, alquenilo de C<sub>2-6</sub>, alquinilo de C<sub>2-6</sub>, alcoxi de C<sub>1-6</sub>, haloalquilo de C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi de C<sub>1-6</sub>, o (cicloalquil C<sub>3-7</sub>)-alquilo de C<sub>0-4</sub>. En otros compuestos de Fórmula II, II-a, II-b, o VIII, R<sub>1</sub> es hidrógeno, alquilo de C<sub>1-4</sub> o alcoxi de C<sub>1-4</sub>, o R<sub>1</sub> es hidrógeno, metilo, etilo, o metoxi.

15 Todavía otros compuestos de Fórmula II, II-a, II-b, o VIII incluyen aquellos en los que R<sub>3</sub> representa entre 0 y 2 sustituyentes, cada uno de los cuales se selecciona independientemente de alquilo de C<sub>1-6</sub>, alcoxi de C<sub>1-6</sub>, haloalquilo de C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi de C<sub>1-6</sub>, hidroxilo, COOH, CONH<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1-6</sub>)amino, o (amino)-alquilo de C<sub>0-6</sub>. En algunos otros compuestos de Fórmula II, II-a, II-b, o VIII, R<sub>3</sub> representa entre 0 y 2 sustituyentes, cada uno de los cuales se selecciona independientemente de alquilo de C<sub>1-6</sub>, alcoxi de C<sub>1-6</sub>, hidroxilo, COOH, CONH<sub>2</sub>, y SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.

20 En algunos compuestos de fórmula I, II, y de otras fórmulas descritas antes, restos "opcionalmente sustituido" están sustituidos con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de oxo, hidroxilo, halógeno, ciano, amino, nitro, -COOH, aminocarbonilo, -SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, alquilo de C<sub>1-6</sub>, alquenilo de C<sub>1-6</sub>, alquinilo de C<sub>1-6</sub>, haloalquilo de C<sub>1-6</sub>, aminoalquilo de C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo de C<sub>1-6</sub>, carboxialquilo de C<sub>1-6</sub>, alcoxi de C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi de C<sub>1-6</sub>, alquil C<sub>1-6</sub>-tio, alcanoilo de C<sub>1-6</sub>, alcanoil C<sub>1-6</sub>-oxi, alcanona de C<sub>1-6</sub>, éter de alquilo de C<sub>1-6</sub>, mono- o di-(alquil C<sub>1-6</sub>)amino-alquilo de C<sub>0-6</sub>, -NHC(=O)(alquilo de C<sub>1-6</sub>), -N(alquil C<sub>1-6</sub>)C(=O)(alquilo de C<sub>1-6</sub>), -NHS(O)<sub>n</sub>(alquilo de C<sub>1-6</sub>), -(alquil C<sub>1-6</sub>)C(=O)NH<sub>2</sub>, -(alquil C<sub>1-6</sub>)C(=O)NH(alquilo de C<sub>1-6</sub>), -(alquil C<sub>1-6</sub>)C(=O)NH(alquil C<sub>1-6</sub>)(alquilo de C<sub>1-6</sub>), -S(O)<sub>n</sub>(alquilo de C<sub>1-6</sub>), -S(O)<sub>n</sub>NH(alquilo de C<sub>1-6</sub>), -S(O)<sub>n</sub>N(alquil C<sub>1-6</sub>)(alquilo de C<sub>1-6</sub>), y Z, en el que n y Z son como se describen antes. En otros compuestos de Fórmula I y otras Fórmulas descritas anteriormente, restos "opcionalmente sustituidos" están sustituidos con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de hidroxilo, halógeno, ciano, amino, -COOH, aminocarbonilo, -SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, alquilo de C<sub>1-4</sub>, haloalquilo de C<sub>1-4</sub>, alcoxi de C<sub>1-4</sub>, haloalcoxi de C<sub>1-4</sub>, y mono- o di-(alquil C<sub>1-4</sub>)amino-alquilo de C<sub>0-4</sub>. De manera similar, en algunos compuestos, los restos "mono-, di- o tri-sustituidos" están sustituidos con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados independientemente de los grupos indicados anteriormente.

35 Ciertos compuestos según las Fórmulas proporcionadas aquí, que tienen dos o más centros estereogénicos, tienen un exceso diastereomérico de al menos 50%. Por ejemplo, tales compuestos pueden tener un exceso diastereomérico de al menos 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, o 98%. Algunos de tales compuestos tienen un exceso diastereomérico de al menos 99%.

40 Algunos compuestos según las Fórmulas proporcionadas aquí, que tienen uno o más centros estereogénicos, tienen un exceso enantiomérico de al menos 50%. Por ejemplo, tales compuestos pueden tener un exceso enantiomérico de al menos 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, o 98%. Algunos de tales compuestos tienen un exceso diastereomérico de al menos 99%. Será manifiesto que se pueden obtener enantiómeros individuales (formas ópticamente activas) mediante síntesis asimétrica, síntesis a partir de precursores ópticamente puros, o mediante resolución de los racematos. La resolución de los racematos se puede lograr, por ejemplo, mediante métodos convencionales tales como cristalización en presencia de un agente de resolución, o cromatografía, usando, por ejemplo, una columna de HPLC quiral.

45 Las isoquinolinas 1-aryl-4-sustituidas y sus sales farmacéuticamente aceptables proporcionadas aquí alteran (modulan) de forma detectable la actividad del receptor de C5a y/o la unión a ligandos, según se determina usando un ensayo de quimiotaxia mediado por el receptor de C5 *in vitro* estándar (descrito en el Ejemplo 11), el ensayo de unión a radioligando (descrito en el Ejemplo 16), o el ensayo de movilización de calcio mediada por el receptor de C5a (descrito en el Ejemplo 18). Los compuestos preferidos muestran una EC<sub>50</sub> de alrededor de 500 nM o menos en tal ensayo de quimiotaxia mediado por el receptor de C5a estándar, el ensayo de unión a radioligandos, y/o el ensayo de movilización de calcio, más preferiblemente una EC<sub>50</sub> de alrededor de 250 nM o menos en tal ensayo, todavía más preferiblemente una EC<sub>50</sub> de alrededor de 200, 150, 100, 50, 25, 10 ó 5 nM o menos en tal ensayo.

55 La caracterización inicial de los compuestos se puede llevar a cabo convenientemente usando un ensayo de unión al receptor de C5a o un ensayo funcional, tal como se expone en los Ejemplos, y se puede facilitar aplicando tales ensayos en un marco de identificación de alto rendimiento. Los ensayos adicionales adecuados para determinar los efectos de compuestos de pequeñas moléculas sobre la unión al receptor de C5a y la actividad moduladora del receptor, así como los ensayos adecuados para medir sus efectos sobre la neutropenia inducida por C5a *in vivo*, se pueden encontrar en la bibliografía publicada, por ejemplo en la patente US 5.807.824, por ejemplo su descripción a este respecto en los Ejemplos 6-9, columnas 19-23, así como su discusión de complemento e inflamación en las

columnas 1-2. Aquellos de pericia en la técnica reconocerán que tales ensayos se pueden adaptar fácilmente al uso de células o animales de diferentes especies según se considere apropiado.

En ciertas realizaciones, los compuestos preferidos tienen propiedades farmacológicas favorables, incluyendo biodisponibilidad oral (de manera que una dosis oral subletal o preferiblemente una dosis oral farmacéuticamente aceptable, preferiblemente menor que 2 gramos, más preferiblemente menor o igual a un gramo, puede proporcionar un efecto detectable *in vivo*, tal como una reducción de la neutropenia inducida por C5a), capacidad para inhibir la quimiotaxia de leucocitos a concentraciones nanomolares y preferiblemente a concentraciones subnanomolares, baja toxicidad (un compuesto preferido es no tóxico cuando se administra a un sujeto una cantidad moduladora del receptor de C5a), efectos secundarios mínimos (un compuesto preferido produce efectos secundarios comparables a placebo cuando se administra a un sujeto una cantidad moduladora del receptor de C5a del compuesto), baja unión a proteínas séricas, y una semivida *in vitro* e *in vivo* adecuada (un compuesto preferido muestra una semivida *in vitro* que es igual a una semivida *in vivo*, permitiendo una dosificación Q.I.D., preferiblemente una dosificación T.I.D., más preferiblemente una dosificación B.I.D., y lo más preferible una dosificación de una vez al día). También es deseable la distribución en el cuerpo a sitios de actividad del complemento (*por ejemplo*, los compuestos usados para tratar trastornos del SNC penetrarán preferiblemente la barrera hematoencefálica, mientras que se prefieren típicamente niveles cerebrales bajos de compuestos usados para tratar trastornos periféricos).

Los ensayos habituales que son bien conocidos en la técnica se pueden usar para evaluar estas propiedades, e identificar compuestos superiores para un uso particular. Por ejemplo, los ensayos usados para predecir la biodisponibilidad incluyen el transporte a través de monocapas de células intestinales humanas, tales como monocapas de células Caco-2. La penetración de la barrera hematoencefálica de un compuesto en seres humanos se puede predecir a partir de los niveles cerebrales del compuesto en animales de laboratorio a los que se les da el compuesto (*por ejemplo*, intravenosamente). La unión a proteínas séricas se puede predecir a partir de ensayos de unión a albúmina, tales como los descritos por Oravcova, et al. (1996) *Journal of Chromatography B* 677:1-27. La semivida de los compuestos es inversamente proporcional a la frecuencia de dosificación de un compuesto requerido para lograr una cantidad terapéuticamente eficaz. Las semividas *in vitro* de los compuestos se puede predecir a partir de ensayos de semivida microsómica, como se describen en Kuhnz y Gieschen (1998) *Drug Metabolism and Disposition* 26:1120-27.

Como se señala anteriormente, los compuestos preferidos proporcionados aquí son no tóxicos. En general, la expresión "no tóxico", como se usa aquí, se debe entender en un sentido relativo, y está destinada a referirse a cualquier sustancia que ha sido aprobada por la United States Food and Drug Administration ("FDA") para la administración a mamíferos (preferiblemente seres humanos), o, manteniendo los criterios establecidos, es susceptible a la aprobación por la FDA para la administración a mamíferos (preferiblemente seres humanos). Además, un compuesto no tóxico muy preferido generalmente satisface uno o más de los siguientes criterios: (1) no inhibe sustancialmente la producción de ATP celular; (2) no prolonga significativamente los intervalos QT cardíacos; (3) no provoca agrandamiento sustancial del hígado, y (4) no provoca una liberación sustancial de enzimas hepáticas.

Como se usa aquí, un compuesto que "no inhibe sustancialmente la producción de ATP celular" es un compuesto que satisface los criterios expuestos en el Ejemplo 20, aquí. En otras palabras, las células tratadas como se describe en el Ejemplo 20 con 100  $\mu$ M de tal compuesto muestran niveles de ATP que son al menos 50% de los niveles de ATP detectados en células no tratadas. En realización mucho más preferidas, tales células muestran niveles de ATP que son al menos 80% de los niveles de ATP detectados en células no tratadas.

Un compuesto que "no prolonga significativamente los intervalos QT cardíacos" es un compuesto que no da como resultado una prolongación estadísticamente significativa de los intervalos QT cardíacos (según se determina mediante electrocardiografía) en cobayas, cerdos enanos o perros al administrar dos veces la dosis mínima que produce una concentración *in vivo* terapéuticamente eficaz. En ciertas realizaciones preferidas, una dosis de 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 40 ó 50 mg/kg, administrada parenteral u oralmente, no da como resultado una prolongación estadísticamente significativa de los intervalos QT cardíacos. Por "estadísticamente significativa" se quiere decir resultados que varían desde el control al nivel de  $p < 0,1$  o más preferible al nivel de  $p < 0,05$  de significancia, según se mide usando un ensayo paramétrico estándar de significancia estadística, tal como la prueba de la t de Student.

Un compuesto "no provoca agrandamiento sustancial del hígado" si el tratamiento diario de roedores de laboratorio (*por ejemplo*, ratones o ratas) durante 5-10 días con dos veces la dosis mínima que produce una concentración *in vivo* terapéuticamente eficaz da como resultado un incremento en la relación de peso del hígado a peso corporal que no es mayor de 100% con respecto a controles emparejados. En realizaciones mucho más preferidas, tales dosis no provocan un agrandamiento del hígado de más de 75% o 50% con respecto a los controles emparejados. Si se usan mamíferos no roedores (*por ejemplo*, perros), tales dosis no deberían dar como resultado un incremento de la relación de peso del hígado a peso corporal de más de 50%, preferiblemente no más de 25%, y preferiblemente no más de 10% con respecto a controles no tratados emparejados. Las dosis preferidas en tales ensayos incluyen 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 40 ó 50 mg/kg, administradas parenteral u oralmente.

De forma similar, un compuesto "no promueve la liberación sustancial de enzimas hepáticas" si la administración de dos veces la dosis mínima que produce una concentración *in vivo* terapéuticamente eficaz no eleva los niveles

séricos de ALT, LDH o AST en roedores de laboratorio en más de 100% con respecto a controles tratados falsamente emparejados. En realizaciones mucho más preferidas, tales dosis no elevan tales niveles séricos en más de 75% o 50% con respecto a controles emparejados. Como alternativa, un compuesto "no promueve la liberación sustancial de enzimas hepáticas" si, en un ensayo de hepatocitos *in vitro*, las concentraciones (en medios de cultivo u otras de tales disoluciones que se ponen en contacto y se incuban con hepatocitos *in vitro*) equivalentes a dos veces la concentración terapéutica *in vivo* mínima del compuesto no provoca liberación detectable de ninguna de tales enzimas hepáticas en el medio de cultivo por encima de los niveles de referencia observados en medios procedentes de células de control tratadas falsamente emparejadas. En realizaciones mucho más preferidas, no hay liberación detectable de ninguna de tales enzimas hepáticas en el medio de cultivo por encima de los niveles de referencia cuando tales concentraciones de compuestos son cinco veces, y preferiblemente diez veces la concentración terapéutica *in vivo* mínima del compuesto.

En otras realizaciones, ciertos compuestos preferidos no inhiben o inducen actividades de la enzima de citocromo P450 microsomal, tales como la actividad de CYP1A2, actividad de CYP2A6, actividad de CYP2C9, actividad de CYP2C19, actividad de CYP2D6, actividad de CYP2E1, o actividad de CYP3A4, a una concentración igual a la concentración *in vivo* terapéuticamente eficaz mínima.

Algunos compuestos preferidos no son clastogénicos o mutagénicos (*por ejemplo*, según se determina usando ensayos estándar tales como el ensayo de micronúcleos *in vitro* de células de ovario de hámster chino, el ensayo de linfoma de ratón, el ensayo de aberración cromosómica de linfocitos humanos, el ensayo de micronúcleo de médula ósea de roedor, y el test de Ames o similar) a una concentración igual a la concentración *in vivo* terapéuticamente eficaz mínima. En otras realizaciones, ciertos compuestos preferidos no inducen intercambio de cromátidas hermanas (por ejemplo, en células de ovario de hámster chino) a tales concentraciones.

En ciertas realizaciones, los compuestos preferidos ejercen sus efectos moduladores sobre el receptor con especificidad elevada. Esto significa que sólo se unen a, activan, o inhiben la actividad de ciertos receptores distintos de los receptores de C5a con constantes de afinidad mayores que 100 nanomolar, preferiblemente mayores que 1 micromolar, más preferiblemente mayores que 4 micromolar. También se proporcionan aquí compuestos moduladores del receptor de C5a altamente específicos que presentan una afinidad mayor de 200 veces por el receptor de C5a que por otros receptores celulares. Tales receptores incluyen receptores de neurotransmisores, tales como receptores alfa- o beta-adrenérgicos, receptores muscarínicos (particularmente receptores m1, m2 o m3), receptores dopamínicos, y receptores de glutamato metabotrópicos; así como receptores de histaminas y receptores de citocinas (*por ejemplo*, receptores de interleucinas, particularmente receptores de IL-8). Tales receptores también pueden incluir receptores de GABA<sub>A</sub>, receptores peptídicos bioactivos (distintos de los receptores de C5a y receptores de C3a, incluyendo receptores de NPY o VIP), receptores de neurocininas, receptores de bradicininas, y receptores de hormonas (*por ejemplo*, receptores de CRF, receptores de hormona liberadora de tirotrina o receptores de hormona concentradora de melanina). Los compuestos que actúan con especificidad elevada generalmente presentan menores efectos secundarios indeseables.

Dentro de ciertas realizaciones, los moduladores proporcionados aquí no se unen de forma detectable a receptores que no median respuestas inflamatorias, tales como receptores de GABA, receptores de MCH, receptores de NPY, receptores dopamínicos, receptores serotoninicos y receptores de VR1, con afinidad elevada o incluso moderada. Además, o como alternativa, ciertos moduladores preferidos del receptor de C5a muestran una afinidad por el receptor de C5a que es sustancialmente mayor que para receptores que no median respuestas inflamatorias (*por ejemplo*, al menos cinco veces mayor, al menos diez veces mayor, o al menos 100 veces mayor). Los ensayos para evaluar la unión a receptores que no median respuestas inflamatorias incluyen, por ejemplo, los descritos en la patente US 6.310.212, por ejemplo su descripción de ensayos de unión al receptor de GABA<sub>A</sub> en los Ejemplos 14, columnas 16-17; en la solicitud de patente US nº 10/152.189, por ejemplo su descripción de un ensayo de unión al receptor de MCH en el Ejemplo 2, páginas 104-105; en la patente US 6.362.186, por ejemplo su descripción de los ensayos de unión a los receptores de CRF<sub>1</sub> y NPY en los Ejemplos 19, columnas 45-46; en la patente US 6.355.644, por ejemplo su descripción de un ensayo de unión al receptor dopamínico en la columna 10; y en la patente US 6.482.611, por ejemplo su descripción de ensayos de unión al receptor de VR1 en los Ejemplos 4-5, columna 14. Será manifiesto que los moduladores del receptor de C5a proporcionados aquí se pueden unir, aunque no es necesario, a uno o más receptores conocidos por mediar respuestas inflamatorias, tales como receptores de C3a y/o receptores de A<sub>3</sub>.

Ciertos compuestos preferidos son antagonistas del receptor de C5a que no poseen actividad agonista significativa (*por ejemplo*, mayor que 5%) en cualquiera de los ensayos funcionales mediados por el receptor de C5a explicados aquí. Específicamente, esta actividad agonista indeseada se puede evaluar, por ejemplo, en el ensayo de unión a GTP del Ejemplo 17, midiendo la unión a GTP mediada por pequeñas moléculas en ausencia del agonista natural, C5a. De forma similar, en un ensayo de movilización de calcio (*por ejemplo*, aquel del Ejemplo 18), un compuesto de molécula pequeña se puede ensayar directamente para determinar la capacidad del compuesto para estimular niveles de calcio en ausencia del agonista natural, C5a. El grado preferido de actividad agonista de C5a mostrada por compuestos proporcionados aquí es menor que 10%, 5% o 2% de la respuesta provocada por el agonista natural, C5a.



También se prefieren, en ciertas realizaciones, moduladores del receptor de C5a que inhiben la aparición de estallido oxidativo (OB) inducido por C5a en respuestas inflamatorias (*por ejemplo*, neutrófilo), como se puede determinar convenientemente usando un ensayo de OB de neutrófilos *in vitro*.

5 Para los fines de detección, los compuestos proporcionados aquí se pueden marcar isotópicamente o radiomarcarse. En consecuencia, los compuestos citados en la Fórmula I (o cualquier otra fórmula citada específicamente aquí) pueden tener uno o más átomos sustituidos por un átomo del mismo elemento que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico encontrado habitualmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden estar presentes en compuestos proporcionados aquí incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$  y  $^{36}\text{Cl}$ . Además, la sustitución con isótopos pesados tales como deuterio (*es decir*,  $^2\text{H}$ ) puede producir ciertas ventajas terapéuticas que resultan de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo una mayor semivida *in vivo* o requisitos reducidos de dosificación, y, por tanto, pueden ser preferida en algunas circunstancias.

#### COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

15 La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más moduladores del receptor de C5a proporcionados aquí, junto con al menos un vehículo o excipiente fisiológicamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender, por ejemplo, uno o más de agua, tampones (*por ejemplo*, disolución salina tamponada neutra o disolución salina tamponada con fosfato), etanol, aceite mineral, aceite vegetal, dimetilsulfóxido, hidratos de carbono (*por ejemplo*, glucosa, manosa, sacarosa o dextranos), manitol, proteínas, adyuvantes, polipéptidos o aminoácidos tales como glicina, antioxidantes, agentes quelantes tales como EDTA o glutatona y/o conservantes. Como se señala anteriormente, en las composiciones farmacéuticas proporcionadas aquí se pueden incluir (aunque no es necesario) otros ingredientes activos.

20 Las composiciones farmacéuticas se pueden formular para cualquier manera apropiada de administración, incluyendo, por ejemplo, la administración tópica, oral, nasal, rectal o parenteral. El término parenteral, como se usa aquí, incluye la inyección subcutánea, intradérmica, intravascular (*por ejemplo*, intravenosa), intramuscular, espinal, intracraneal, intratecal e intraperitoneal, así como cualquier inyección similar o técnica de infusión. En ciertas realizaciones, se prefieren composiciones en una forma adecuada para uso oral. Tales formas incluyen, por ejemplo, comprimidos, trociscos, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsión, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. En aún otras realizaciones, las composiciones proporcionadas aquí se pueden formular como un liofilizado. La formulación para administración tópica puede ser preferida para ciertas afecciones (*por ejemplo*, en el tratamiento de afecciones de la piel tales como quemaduras o prurito).

30 Las composiciones destinadas para uso oral pueden comprender además uno o más componentes tales como agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y/o agentes conservantes, a fin de proporcionar preparaciones de aspecto y sabor agradables. Los comprimidos contienen el ingrediente activo en mezcla con excipientes fisiológicamente aceptables que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Tales excipientes incluyen, por ejemplo, diluyentes inertes (*por ejemplo*, carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio), agentes de granulación y disgregantes (*por ejemplo*, almidón de maíz o ácido algínico), agentes de unión (*por ejemplo*, almidón, gelatina o goma arábiga) y agentes lubricantes (*por ejemplo*, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco). Los comprimidos pueden estar no revestidos, o se pueden revestir mediante técnicas conocidas, para retrasar la desintegración y absorción en el tubo digestivo y proporcionar de ese modo una acción sostenida a lo largo de un período más prolongado. Por ejemplo, se puede emplear un material de retraso en el tiempo, tal como un monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

45 Las formulaciones para uso oral también se pueden presentar como cápsulas de gelatina duras, en las que el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte (*por ejemplo*, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín), o como cápsulas de gelatina blandas, en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso (*por ejemplo*, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva).

Las suspensiones acuosas contienen el material o materiales activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes incluyen agentes de suspensión (*por ejemplo*, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato sódico, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábiga); y agentes dispersantes o humectantes (*por ejemplo*, fosfátidos de origen natural tales como lecitina, productos de condensación de un óxido de alquileno con ácidos grasos tales como estearato de polioxi-etileno, productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga tales como heptadecaetilenoxietanol, productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tales como monooleato de polioxi-etilensorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tales como monooleato de polioxi-etilensorbitán). Las suspensiones acuosas también pueden comprender uno o más conservantes, por ejemplo p-hidroxibenzoato de etilo o de n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes saborizantes, y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

Las suspensiones oleosas se pueden formular suspendiendo los ingredientes activos en un aceite vegetal (*por ejemplo*, aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco), o en un aceite mineral tal como

parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante tal como cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Se pueden añadir agentes edulcorantes, tales como los expuestos anteriormente, y/o agentes saborizantes para proporcionar preparaciones orales de sabor agradable. Tales suspensiones se pueden conservar mediante la adición de un antioxidante, tal como ácido ascórbico.

5 Los polvos o gránulos dispersables, adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua, proporcionan el ingrediente activo en mezcla con un agente dispersante o humectante, agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes adecuados y los agentes de suspensión se ejemplifican mediante los ya mencionados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, tales como agentes edulcorantes, saborizantes y colorantes.

10 Las composiciones farmacéuticas también pueden estar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal (*por ejemplo*, aceite de oliva o aceite de cacahuete), un aceite mineral (*por ejemplo*, parafina líquida) o una mezcla de los mismos. Los agentes emulsionantes adecuados incluyen gomas de origen natural (*por ejemplo*, goma arábiga o goma de tragacanto), fosfátidos de origen natural (*por ejemplo*, lecitina de haba de soja, y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol), anhídridos (*por ejemplo*, monooleato de sorbitán) y productos de condensación de ésteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol con óxido de etileno (*por ejemplo*, monooleato de polioxietilensorbitán). Una emulsión puede comprender también uno o más agentes edulcorantes y/o saborizantes.

15 Los jarabes y elixires se pueden formular con agentes edulcorantes, tales como glicerol, propilenglicol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones también pueden comprender uno o más emolientes, conservantes, agentes saborizantes y/o agentes colorantes.

20 Las formulaciones para administración tópica comprenden típicamente un vehículo tópico combinado con un agente o agentes activos, con o sin componentes opcionales adicionales. Los vehículos tópicos y componentes adicionales adecuados son bien conocidos en la técnica, y será manifiesto que la elección de un vehículo dependerá de la forma física particular y modo de suministro. Los vehículos tópicos incluyen agua; disolventes orgánicos tales como alcoholes (por ejemplo, etanol o alcohol isopropílico) o glicerina; glicoles (por ejemplo, butileno, isopreno o propilenglicol); alcoholes alifáticos (por ejemplo, lanolina); mezclas de agua y disolventes orgánicos, y mezclas de disolventes orgánicos tales como alcohol y glicerina; materiales a base de lípidos tales como ácidos grasos, acilgliceroles (incluyendo aceites, tales como aceite mineral, y grasas de origen natural o sintético), fosfoglicéridos, esfingolípidos y ceras; materiales a base de proteínas, tales como colágeno y gelatina; materiales a base de silicona (tanto no volátiles como volátiles); y materiales a base de hidrocarburos tales como microesponjas y matrices poliméricas. Una composición puede incluir además uno o más componentes adaptados para mejorar la estabilidad o eficacia de la formulación aplicada, tales como agentes estabilizantes, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, ajustadores de la viscosidad, agentes gelantes, conservantes, antioxidantes, potenciadores de la penetración de la piel, humectantes y materiales de liberación sostenida. Los ejemplos de tales componentes se describen en Martindale - The Extra Pharmacopoeia (Pharmaceutical Press, Londres 1993) y Martin (ed.), Remington's Pharmaceutical Sciences. Las formulaciones pueden comprender microcápsulas, tales como hidroximetilcelulosa o microcápsulas de gelatina, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas o nanocápsulas.

25 Una formulación típica se puede preparar en una variedad de formas físicas, incluyendo, por ejemplo, sólidos, pastas, cremas, espumas, lociones, geles, polvos, líquidos acuosos y emulsiones. El aspecto físico y la viscosidad de tales formas pueden estar gobernados por la presencia y cantidad de emulsionante o emulsionantes y ajustador o ajustadores de la viscosidad presentes en la formulación. Los sólidos son generalmente firmes y no vertibles, y habitualmente se formulan como barras o palitos, o en forma de partículas; los sólidos pueden ser opacos o transparentes, y pueden contener opcionalmente disolventes, emulsionantes, humectantes, emolientes, fragancias, tintes/colorantes, conservantes y otros ingredientes activos que incrementan o potencian la eficacia del producto final. Las cremas y lociones a menudo son similares entre sí, difiriendo principalmente en su viscosidad; tanto las lociones como las cremas pueden ser opacas, translúcidas o transparentes, y a menudo contienen emulsionantes, disolventes, y agentes que ajustan la viscosidad, así como humectantes, emolientes, fragancias, tintes/colorantes, conservantes y otros ingredientes activos que incrementan o potencian la eficacia del producto final. Los geles se pueden preparar con un intervalo de viscosidades, desde una viscosidad espesa o elevada hasta una viscosidad fina o baja. Estas formulaciones, al igual que aquellas de las lociones y cremas, también pueden contener disolventes, emulsionantes, humectantes, emolientes, fragancias, tintes/colorantes, conservantes y otros ingredientes activos que incrementan o potencian la eficacia del producto final. Los líquidos son menos espesos que las cremas, lociones, o geles, y a menudo no contienen emulsionantes. Los productos tópicos líquidos contienen a menudo disolventes, emulsionantes, humectantes, emolientes, fragancias, tintes/colorantes, conservantes y otros ingredientes activos que incrementan o potencian la eficacia del producto final.

30 Los emulsionantes adecuados para uso en formulaciones tópicas incluyen, pero no se limitan a, emulsionantes iónicos, alcohol cetearílico, emulsionantes no iónicos como polioxietileno éster, estearato de PEG-40, cetareth-12, cetareth-20, cetareth-30, alcohol cetareth, estearato de PEG-100 y estearato de glicerilo. Los agentes adecuados que ajustan la viscosidad incluyen, pero no se limitan a, coloides protectores o gomas no iónicas tales como hidroxietilcelulosa, goma de xantana, silicato de aluminio y magnesio, sílice, cera microcristalina, cera de

abejas, parafina, y palmitato de cetilo. Una composición de gel se puede formar mediante adición de un agente gelante tal como quitosano, metilcelulosa, etilcelulosa, polialcohol vinílico, policuaternios, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carbomer o glicirricinato amoniacal. Los tensioactivos adecuados incluyen, pero no se limitan a, tensioactivos no iónicos, anfóteros, iónicos y aniónicos. Por ejemplo, con las formulaciones tópicas se puede usar uno o más de copoliol dimeticona, polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 80, lauramida DEA, cocamida DEA, y cocamida MEA, oleil betaína, cloruro de cocamidopropil fosfatidil PG-dimonio, y laureth sulfato de amonio. Los conservantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, antimicrobianos, tales como metilparabeno, propilparabeno, ácido sórbico, ácido benzoico, y formaldehído, así como estabilizantes físicos y antioxidantes tales como vitamina E, ascorbato sódico/ácido ascórbico y galato de propilo. Los humectantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, ácido láctico y otros hidroxiacidos y sus sales, glicerina, propilenglicol, y butilenglicol. Los emolientes adecuados incluyen alcohol de lanolina, lanolina, derivados de lanolina, colesterol, vaselina, neopentanoato de isoestearilo y aceites minerales. Las fragancias y colores adecuados incluyen, pero no se limitan a, FD&C Red No. 40 y FD&C Yellow No. 5. Otros ingredientes adicionales adecuados que se pueden incluir en una formulación tópica incluyen, pero no se limitan a, abrasivos, absorbentes, agentes contra la formación de tortas, agentes antiespumantes, agentes antiestáticos, astringentes (por ejemplo, hamamelis, extractos alcohólicos y de hierbas tales como extracto de camomila), aglutinantes/excipientes, agentes tamponantes, agentes quelantes, agentes formadores de película, agentes acondicionadores, propelentes, agentes opacificantes, ajustadores del pH y protectores.

Un ejemplo de un vehículo tópico adecuado para formulación de un gel es: hidroxipropilcelulosa (2,1%); alcohol isopropílico/agua 70/30 (90,9%); propilenglicol (5,1%); y Polisorbato 80 (1,9%). Un ejemplo de un vehículo tópico adecuado para formulación como una espuma es alcohol cetílico (1,1%); alcohol estearílico (0,5%); Quaternium 52 (1,0%); propilenglicol (2,0%); etanol 95 PGF3 (61,05%); agua desionizada (30,05%); propelente hidrocarbonado P75 (4,30%). Todos los porcentajes están en peso.

Los modos típicos de suministro para composiciones tópicas incluyen la aplicación usando los dedos; la aplicación usando un aplicador físico tal como una tela, tejido, torunda, palito o cepillo; pulverización (incluyendo pulverización de llovizna, en aerosol o de espuma); aplicación por cuentagotas; rociado; empapamiento; y enjuagado. También se pueden usar vehículos de liberación controlada.

Una composición farmacéutica se puede preparar como una suspensión acuosa u oleosa inyectable estéril. El modulador, dependiendo del vehículo y la concentración usados, se puede suspender o disolver en el vehículo. Tal composición se puede formular según la técnica conocida usando agentes dispersantes, agentes humectantes y/o agentes de suspensión adecuados, tales como los mencionados anteriormente. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear están agua, 1,3-butanodiol, disolución de Ringer y disolución isotónica de cloruro de sodio. Además, como disolvente o medio de suspensión, se pueden emplear aceites fijos estériles. Para este fin, se puede emplear cualquier aceite fijo blando, incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como ácido oleico encuentran uso en la preparación de composiciones inyectables, y los adyuvantes tales como anestésicos locales, conservantes y/o agentes tamponantes se pueden disolver en el vehículo.

Los moduladores de C5a descritos aquí se pueden formular como formulaciones inhaladas, incluyendo pulverizaciones, nebulizaciones, o aerosoles. Tales formulaciones son particularmente útiles para el tratamiento de asma u otras afecciones respiratorias. Para formulaciones de inhalación, los compuestos proporcionados aquí se pueden suministrar vía cualesquiera métodos de inhalación conocidos por los expertos en la técnica. Tales métodos y dispositivos de inhalación incluyen, pero no se limitan a, inhaladores de dosis medidas, con propelentes tales como CFC o HFA, o propelentes que son fisiológica y medioambientalmente aceptables. Otros dispositivos adecuados son inhaladores operados mediante la respiración, inhaladores de polvo seco de múltiples dosis, y nebulizadores de aerosol. Las formulaciones de aerosol para uso en el presente método incluyen típicamente propelentes, tensioactivos y codisolventes, y se pueden rellenar en recipientes de aerosol convencionales que están cerrados mediante una válvula medidora adecuada.

Las composiciones inhalantes pueden comprender composiciones líquidas o en polvo que contienen el ingrediente activo, que son adecuadas para nebulización y uso intrabronquial, o composiciones de aerosol administradas vía una unidad de aerosol que dispensa dosis medidas. Las composiciones líquidas adecuadas comprenden el ingrediente activo en un disolvente inhalante acuoso, farmacéuticamente aceptable, por ejemplo disolución salina isotónica o agua bacteriostática. Las disoluciones se administran por medio de una bomba o un dispensador de pulverización nebulizada actuada por compresión, o mediante cualquier otro medio convencional para hacer o permitir que la cantidad de dosis requerida de la composición líquida sea inhalada en los pulmones del paciente. Las formulaciones adecuadas, en las que el vehículo es un líquido, para administración, por ejemplo, como una pulverización nasal o como gotas nasales, incluyen disoluciones acuosas u oleosas del ingrediente activo.

Las formulaciones adecuadas para administración nasal en las que el vehículo es un sólido incluyen un polvo grueso que tiene un tamaño de partículas, por ejemplo, en el intervalo de 20 a 500 micrómetros, que se administra de manera que se administre esnifándolo (es decir, mediante inhalación rápida a través del conducto nasal desde un recipiente del polvo mantenido cerca de la nariz). Las composiciones en polvo adecuadas incluyen, a título de ilustración, preparaciones en polvo del ingrediente activo mezclado a conciencia con lactosa u otros polvos inertes aceptables para la administración intrabronquial. Las composiciones en polvo se pueden administrar vía un

dispensador de aerosol, o se pueden encerrar en una cápsula rompible, que se puede insertar por el paciente en un dispositivo que taladra la cápsula y hace que el polvo salga en una corriente constante adecuada para la inhalación.

Los moduladores también se pueden preparar en forma de supositorios (por ejemplo, para administración rectal). Tales composiciones se pueden preparar mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado, que es sólido a temperaturas normales pero líquido a la temperatura rectal y que por lo tanto se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Los excipientes adecuados incluyen, por ejemplo, manteca de cacao y polietilenglicoles.

Las composiciones farmacéuticas se pueden formular como formulaciones de liberación sostenida (es decir, una formulación tal como una cápsula que efectúa una liberación lenta del modulador tras la administración). Tales formulaciones se pueden preparar generalmente usando tecnología bien conocida, y se pueden administrar, por ejemplo, mediante implantación oral, rectal o subcutánea, o mediante implantación en el sitio diana deseado. Los vehículos para uso en tales formulaciones son biocompatibles, y también pueden ser biodegradables. Preferiblemente, la formulación proporciona un nivel relativamente constante de liberación del modulador. La cantidad de modulador contenida en una formulación de liberación sostenida depende, por ejemplo, del sitio de implantación, de la velocidad y duración esperada de liberación, y de la naturaleza de la afección a tratar o prevenir.

Además de o junto con los modos anteriores de administración, un modulador se puede añadir convenientemente al alimento o al agua de beber (por ejemplo, para administración a animales no humanos, incluyendo animales de compañía (tales como perros y gatos) y ganado). Las composiciones de pienso para animales y agua para beber se pueden formular de manera que el animal tome una cantidad apropiada de la composición junto con su dieta. También puede ser conveniente presentar la composición como una premezcla para la adición al pienso o al agua para beber.

Los moduladores se administran generalmente en una cantidad terapéuticamente eficaz. Las dosis sistémicas preferidas oscilan desde alrededor de 0,1 mg hasta alrededor de 140 mg por kilogramo de peso corporal por día (alrededor de 0,5 mg a alrededor de 7 g por paciente por día), siendo las dosis orales generalmente alrededor de 5-10 veces mayores que las dosis intravenosas. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con los materiales vehículo para producir una única forma de dosificación variará dependiendo del hospedante tratado y del modo particular de administración. Las formas unitarias de dosificación contendrán generalmente entre alrededor de 1 mg y alrededor de 500 mg de un ingrediente activo.

También se proporcionan aquí composiciones farmacéuticas envasadas, que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un antagonista del receptor de C5a en un recipiente (preferiblemente cerrado herméticamente) e instrucciones para usar un antagonista del receptor de C5a para tratar una afección sensible a la modulación del receptor de C5a (por ejemplo, artritis reumatoide, psoriasis, cardiovascularopatía, lesión por reperfusión, asma bronquial, trastorno obstructivo pulmonar crónico (COPD), fibrosis quística, enfermedad de Alzheimer, apoplejía, infarto de miocardio, aterosclerosis, cardiopatía isquémica o lesión por isquemia-reperfusión). El agente o agentes activos se pueden formular para la administración en una única preparación farmacéutica (por ejemplo, en la misma composición farmacéutica). Como alternativa, cada uno de los agentes activos se puede formular para la administración separada, mediante la misma vía de administración o vías diferentes. En una preparación farmacéutica envasada, una cantidad terapéuticamente eficaz se puede envasar como una única unidad de dosis; como alternativa, por conveniencia, se pueden envasar juntas múltiples dosis. El modulador del receptor de C5a se puede presentar en cualquier recipiente adecuado, incluyendo, pero sin limitarse a, un envase de plástico, papel, metal o vidrio, tal como una ampolla, botella, vial, envase de blíster, bolsa de infusión, jeringuilla, inhalador o tubo. Por ejemplo, una preparación farmacéutica envasada para administración oral de un agente activo puede comprender un envase de blíster que contiene filas de comprimidos. Pueden estar presentes instrucciones en una etiqueta adherida al recipiente o en el envase exterior, o se pueden proporcionar como un inserto del envase.

#### MÉTODO DE USO

Los moduladores de C5a proporcionados aquí se pueden usar como agonistas o (preferiblemente) antagonistas, tales como agonistas inversos, de receptores de C5a en una variedad de contextos, tanto *in vitro* como *in vivo*. En ciertos aspectos, los antagonistas de C5a se pueden usar para inhibir la unión del ligando del receptor de C5a (por ejemplo, C5a) al receptor de C5a *in vitro* o *in vivo*. En general, tales métodos comprenden la etapa de poner en contacto un receptor de C5a con una concentración suficiente de uno o más moduladores del receptor de C5a según se proporciona aquí, en presencia del ligando del receptor de C5a en disolución acuosa o en condiciones adecuadas de otro modo para la unión del ligando al receptor de C5a. El receptor de C5a puede estar presente en suspensión (por ejemplo, en una preparación de membrana o celular aislada), o en una célula cultivada o aislada. En ciertas realizaciones, el receptor de C5a es expresado por una célula presente en un paciente, y la disolución acuosa es un fluido corporal. En general, la concentración del modulador del receptor de C5a puesto en contacto con el receptor debería ser suficiente para inhibir la unión de C5a al receptor de C5a *in vitro*, según se mide, por ejemplo, usando un ensayo de movilización del calcio o un ensayo de quimiotaxia como se describe aquí.

También se proporcionan aquí métodos para modular, preferiblemente inhibir, la actividad transductora de señales de un receptor de C5a. Tal modulación se puede lograr poniendo en contacto un receptor de C5a (ya sea *in vitro* o *in vivo*) con una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más moduladores del receptor de C5a proporcionados

aquí, en condiciones adecuadas para la unión del modulador o moduladores al receptor. El receptor puede estar presente en disolución o suspensión, en una preparación celular cultivada o aislada, o en un paciente. La modulación de la actividad transdutora de señales se puede evaluar detectando un efecto sobre la conductancia del ion calcio (también denominada como movilización o flujo de calcio), o detectando un efecto sobre la quimiotaxia celular mediada por el receptor de C5a. El modulador o moduladores del receptor de C5a proporcionados aquí se administran preferiblemente a un paciente (por ejemplo, un ser humano) de forma oral o tópica, y están presentes en al menos un fluido corporal del animal mientras modulan la actividad transdutora de señales del receptor de C5a.

La presente invención proporciona además métodos para tratar pacientes que sufren afecciones sensibles a la modulación del receptor de C5a. Como se usa aquí, el término "tratamiento" engloba tanto un tratamiento modificador de la enfermedad como un tratamiento sintomático, cualquiera de ellos puede ser profiláctico (es decir, antes del comienzo de los síntomas, a fin de prevenir, retrasar o reducir la gravedad de los síntomas) o terapéutico (es decir, después del comienzo de los síntomas, a fin de reducir la gravedad y/o duración de los síntomas). Una afección es "sensible a la modulación del receptor de C5a" si la modulación de la actividad del receptor de C5a da como resultado un alivio de la afección o un síntoma de la misma. Los pacientes pueden incluir primates (especialmente seres humanos), animales de compañía domesticados (tales como perros, gatos, caballos) y ganado (tales como ganado vacuno, cerdos, ovejas), con dosis como se describe aquí.

Las afecciones que son sensibles a la modulación del receptor de C5a incluyen las siguientes:

Trastornos autoinmunitarios - por ejemplo artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico (y glomerulonefritis asociada), psoriasis, enfermedad de Crohn, síndrome de intestino irritable, dermatomiositis, esclerosis múltiple, asma bronquial, pénfigo, penfigoide, esclerodermia, miastenia grave, estados hemolíticos y trombocitopénicos autoinmunitarios, síndrome de Goodpasture (y glomerulonefritis y hemorragia pulmonar asociadas), rechazo de injerto tisular, y rechazo hiperagudo de órganos transplantados.

Para terapia del asma, los antagonistas del receptor de C5a proporcionados aquí se pueden usar para prevenir o disminuir la gravedad tanto del ataque de asma agudo de fase temprana como las reacciones de fase tardía que siguen, tales como ataque de asma.

Inflamación, trastornos inflamatorios y afecciones relacionadas - Por ejemplo neutropenia, septicemia, choque séptico, enfermedad de Alzheimer, apoplejía, inflamación asociada con quemaduras graves, lesión pulmonar, y lesión por isquemia-reperfusión, osteoartritis, así como síndrome disneico (del adulto) agudo (ARDS), trastorno obstructivo pulmonar crónico (COPD), síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), enfermedad inflamatoria multisistémica de comienzo neonatal (NOMID), síndrome de Muckle-Wells, liquen plano, síndrome autoinflamatorio familiar inducido por frío (FCAS), enfermedad inflamatoria del intestino (IBD), colitis, fibrosis quística, aneurisma aórtico abdominal roto y síndrome de disfunción orgánica múltiple (MODS). También están incluidas las secuelas patológicas asociadas con diabetes mellitus insulino dependiente (incluyendo retinopatía diabética), nefropatía lúpica, nefritis de Heyman, nefritis membranosa y otras formas de glomerulonefritis, respuestas de sensibilidad por contacto, e inflamación que resulta del contacto de la sangre con superficies artificiales que pueden provocar activación del complemento, como sucede, por ejemplo, durante la circulación extracorpórea de la sangre (por ejemplo, durante hemodiálisis o vía una máquina de corazón-pulmón, por ejemplo, en asociación con cirugía vascular tal como injerto de bypass de arteria coronaria o sustitución de válvula cardíaca) tal como síndrome de post-diálisis extracorpórea, o en asociación con contacto con otras superficies de vasijas o recipientes artificiales (por ejemplo, dispositivos de asistencia ventricular, máquinas cardíacas artificiales, tubería de transfusión, bolsas de almacenamiento de sangre, plasmaféresis, plaquetaféresis, y similares).

Trastornos cardiovasculares y cerebrovasculares - por ejemplo infarto de miocardio, trombosis coronaria, oclusión vascular, reoclusión vascular post-quirúrgica, aterosclerosis, lesión del sistema nervioso central traumática, y cardiopatía isquémica. Por ejemplo, se puede administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado aquí a un paciente con riesgo de infarto de miocardio o trombosis (es decir, un paciente que tiene uno o más factores de riesgo reconocidos para infarto de miocardio o trombosis, tales como, pero sin limitarse a, obesidad, tabaquismo, tensión arterial elevada, hipercolesterolemia, historial previo o genético de infarto de miocardio o trombosis) a fin de reducir el riesgo de infarto de miocardio o trombosis.

Trastornos oculares - por ejemplo retinopatías vasculares, inflamación ocular, degeneración macular relacionada con la edad, vitreorretinopatía proliferativa, enfermedad de Behcet, queratoconjuntivitis estacional, infarto capilar retiniano, hemorragia retiniana, prevención de complicaciones oculares durante terapia con IFN- $\alpha$ , y uveítis.

Vasculitis - por ejemplo inmunovasculitis, poliangiítis microscópica, síndrome de Churg-Strauss, síndrome de Kawasaki, granulomatosis de Wegener y vasculitis urticarial.

Infección por VIH y SIDA - los moduladores del receptor de C5a proporcionados aquí se pueden usar para inhibir la infección por VIH, retrasar la progresión de SIDA o disminuir la gravedad de síntomas de la infección por VIH y SIDA.

En un aspecto adicional, los moduladores del receptor de C5a se pueden usar para perfusionar un órgano de un donante antes del trasplante del órgano a un paciente receptor. Tal perfusión se lleva a cabo preferiblemente

usando una disolución (por ejemplo, composición farmacéutica) que comprende una concentración del modulador que es suficiente para inhibir *in vitro* y/o *in vivo* los efectos mediados por el receptor de C5a. Tal perfusión reduce preferiblemente la gravedad o frecuencia de una o más de las secuelas inflamatorias después del trasplante de órganos, cuando se compara con lo que ocurre en receptores de trasplantes de control (incluyendo, sin restricción, control histórico), que han recibido trasplantes de órganos de donantes que no han sido perfusionados de esta manera.

En otros aspectos, los antagonistas de C5a proporcionados aquí se pueden usar para tratar la enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, y pérdida de función cognitiva asociada con cirugía de bypass cardiopulmonar y procedimientos relacionados. Tales métodos comprenden la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de C5a proporcionado aquí a un paciente que sufre una o más de las afecciones anteriores, o que se considera que está en riesgo de desarrollar una o más de tales afecciones.

En un aspecto adicional, los moduladores del receptor de C5a de la actual invención se pueden usar en el tratamiento de trastornos asociados con embarazo, incluyendo síndrome antifosfolípido.

Los pacientes adecuados incluyen aquellos pacientes que sufren o son susceptibles a un trastorno o enfermedad identificada aquí. Los pacientes típicos para el tratamiento como se describe aquí incluyen mamíferos, particularmente primates, especialmente seres humanos. Otros pacientes adecuados incluyen animales de compañía domesticados, tales como un perro, gato, caballo, y similar, o un animal de granja tal como ganado vacuno, cerdo, ovejas y similares.

En general, los métodos de tratamiento proporcionados aquí comprenden administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos proporcionados aquí. Los regímenes de tratamiento pueden variar dependiendo del compuesto usado y de la afección particular a tratar; para el tratamiento de la mayoría de los trastornos, se prefiere una frecuencia de administración de 4 veces al día o menos. En general, es más preferido un régimen de dosificación de 2 veces al día, siendo particularmente preferido una dosificación de una vez al día. Sin embargo, se entenderá que el nivel de dosis específico y el régimen de tratamiento para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del paciente, el tiempo y día de administración, la velocidad de excreción, cualesquiera fármacos coadministrados y la gravedad de la enfermedad particular, así como el juicio del médico que lo prescribe. En general, se prefiere el uso de la dosis mínima suficiente para proporcionar terapia eficaz. Los pacientes se pueden monitorizar generalmente para determinar la eficacia terapéutica usando criterios médicos o veterinarios adecuados para la afección que se esté tratando o previniendo.

Ciertos métodos de tratamiento proporcionados aquí comprenden además administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos o sus formas proporcionados aquí, en combinación con al menos un agente farmacéutico antiinflamatorio o inmunomodulador.

Como se señala anteriormente, ciertos compuestos y composiciones proporcionados aquí son útiles como inhibidores de la quimiotaxia mediada por el receptor de C5a (por ejemplo, se pueden usar como patrones en ensayos de tal quimiotaxia). En consecuencia, se proporcionan aquí métodos para inhibir la quimiotaxia celular mediada por el receptor de C5a, preferiblemente quimiotaxia leucocitaria (por ejemplo, neutrofílica). Tales métodos comprenden poner en contacto glóbulos blancos (particularmente glóbulos blancos de primate, especialmente glóbulos blancos de ser humano) con uno o más compuestos proporcionados aquí. Preferiblemente, la concentración es suficiente para inhibir la quimiotaxia de los glóbulos blancos en un ensayo de quimiotaxia *in vitro*, de manera que los niveles de quimiotaxia observados en un ensayo de control son significativamente mayores, como se describe anteriormente, que los niveles observados en un ensayo al que se ha añadido un compuesto como se describe aquí.

Los niveles de dosificación del orden de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 140 mg por kilogramo de peso corporal por día son útiles en el tratamiento o prevención de afecciones que implican actividad patógena de C5a (alrededor de 0,5 mg a alrededor de 7 g por paciente humano por día). La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con los materiales vehículo para producir una única forma de dosificación variará dependiendo del hospedante tratado y del modo de administración particular. Las formas unitarias de dosificación contendrán generalmente entre alrededor de 1 mg y alrededor de 500 mg de un ingrediente activo. Para compuestos administrados oralmente, transdérmicamente, intravenosamente, o subcutáneamente, se prefiere que se administre una cantidad suficiente del compuesto para lograr una concentración sérica de 5 ng (nanogramos)/ml-10 µg (microgramos)/ml de suero, más preferiblemente se debería administrar suficiente modulador del receptor de C5a para lograr una concentración sérica de 20 ng-1 µg/ml de suero, lo más preferible se debería de administrar suficiente modulador del receptor de C5a para lograr una concentración sérica de 50 ng/ml-200 ng/ml de suero. Para inyección directa en el sinovio (para el tratamiento de artritis), se debería de administrar suficiente modulador del receptor de C5a para lograr una concentración local de aproximadamente 1 micromolar.

En aspectos separados, la presente invención proporciona una variedad de usos *in vitro* e *in vivo* no farmacéuticos para los compuestos proporcionados aquí. Por ejemplo, tales compuestos se pueden marcar y usar como sondas para la detección y localización del receptor de C5a (en muestras tales como preparaciones celulares o secciones

de tejidos, preparaciones o sus fracciones). Los compuestos también se pueden usar como controles positivos en ensayos para determinar la actividad del receptor de C5a, como patrones para determinar la capacidad de un agente candidato para unirse a un receptor de C5a, o como radiotrazadores para la formación de imágenes mediante tomografía de emisión positrónica (PET), o para la tomografía computerizada de emisión fotónica individual (SPECT). Tales métodos se pueden usar para caracterizar receptores de C5a en sujetos vivos. Por ejemplo, un modulador del receptor de C5a se puede marcar usando cualquiera de una variedad de técnicas bien conocidas (por ejemplo, radiomarcado con un radionúclido tal como tritio, como se describe aquí), y se puede incubar con una muestra durante un tiempo de incubación adecuado (por ejemplo, determinado ensayando en primer lugar el transcurso de tiempo de la unión). Tras la incubación, el compuesto no unido se elimina (por ejemplo, mediante lavado), y el compuesto unido se detecta usando cualquier método adecuado para el marcador empleado (por ejemplo, autorradiografía o recuento por centelleo para compuestos radiomarcados; se pueden usar métodos espectroscópicos para detectar grupos luminiscentes y grupos fluorescentes). Como control, de la misma manera se puede procesar una muestra emparejada que contiene compuesto marcado y una mayor cantidad (por ejemplo, mayor de 10 veces) de compuesto no marcado. Una mayor cantidad de marcador detectable que queda en la muestra de ensayo que en el control indica la presencia de receptor de C5a en la muestra. Los ensayos de detección, incluyendo autorradiografía de receptores (mapeado de receptores) del receptor de C5a en células cultivadas o muestras de tejido, se pueden llevar a cabo como se describe por Kuhar en las secciones 8.1.1 a 8.1.9 de *Current Protocols in Pharmacology* (1998) John Wiley & Sons, Nueva York.

Los moduladores proporcionados aquí también se pueden usar en una variedad de métodos de separación celular conocidos. Por ejemplo, los moduladores se pueden enlazar a la superficie interior de una placa de cultivo tisular o de otro soporte, para uso como ligandos de afinidad para inmovilizar y aislar de ese modo receptores de C5a (por ejemplo, aislar células que expresan el receptor) *in vitro*. En una realización preferida, un modulador enlazado a un marcador fluorescente, tal como fluoresceína, se pone en contacto con las células, que entonces se analizan (o se aíslan) mediante clasificación celular activada por fluorescencia (FACS).

#### PREPARACIÓN DE LOS COMPUESTOS

En los Esquemas 1-5 se muestran métodos representativos para preparar isoquinolinas 1-aril-4-sustituidas. Los expertos en la técnica reconocerán que los reactivos y transformaciones sintéticas en los siguientes Esquemas se pueden modificar fácilmente para producir compuestos adicionales de Fórmula I y Fórmula II. Cuando se necesita un grupo protector, se puede emplear una etapa de desprotección opcional. Los grupos protectores adecuados y la metodología para la protección y desprotección, tales como los descritos en *Protecting Groups in Organic Synthesis* de T. Greene, son bien conocidos. Los compuestos e intermedios que requieran protección/desprotección serán fácilmente manifiestos.

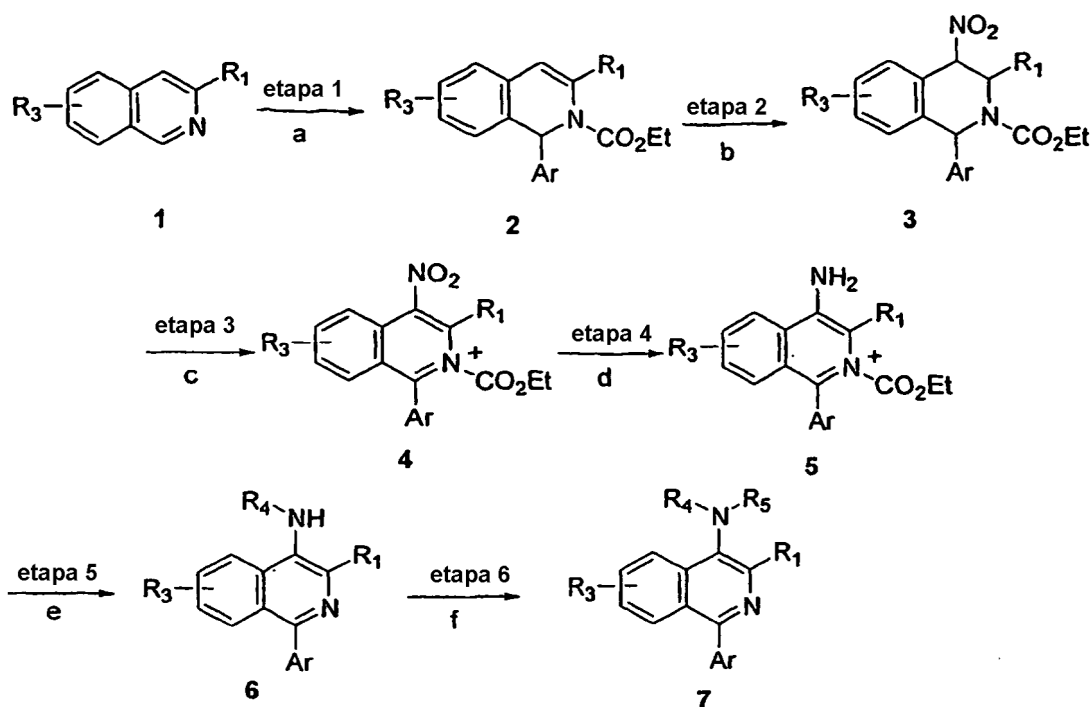
Las abreviaturas usadas en los siguientes Esquemas y Ejemplos son las siguientes:

AC <sub>2</sub> O	anhídrido acético
BOP	hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris(dimetilamino)-fosfonio
n-BuLi	n-butil-litio
CDCl <sub>3</sub>	cloroformo deuterado
DCE	1,2-dicloroetano
DCM	diclorometano
DEAD	azidocarboxilato de dietilo
DIBAL-H	hidruro de diisobutilaluminio
DDEA	diisopropiletilamina
DMA	N,N-dimetilacetamida
DMAP	4-N,N-dimetilaminopiridina
DMF	N,N-dimetilformamida
DPPF	1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno
EtOAc	acetato de etilo
h	horas
HOAc	ácido acético

	HPLC	cromatografía de líquidos de alta presión
	RMN <sup>1</sup> H	resonancia magnética nuclear de protón
	Hz	hercio
	LAH	hidruro de litio y aluminio
5	LDA	diisopropilamido de litio
	LC/MS	cromatografía de líquidos/espectrometría de masas
	MEK	metil etil cetona (2-butanona)
	MHz	megahercio
	min.	minutos
10	MS	espectrometría de masas
	(M+)	masa + 1
	NMP	N-metil-2-pirrolidona
	NBS	N-bromosuccinimida
	δ	desplazamiento químico
15	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0)
	POCl <sub>3</sub>	oxicloruro de fósforo
	PrMgCl	cloruro de n-propilmagnesio
	PTLC	cromatografía de capa fina preparativa
	THF	tetrahidrofurano
20	TMSCN	cianuro de trimetilsililo
	18-C-6	18-corona-6



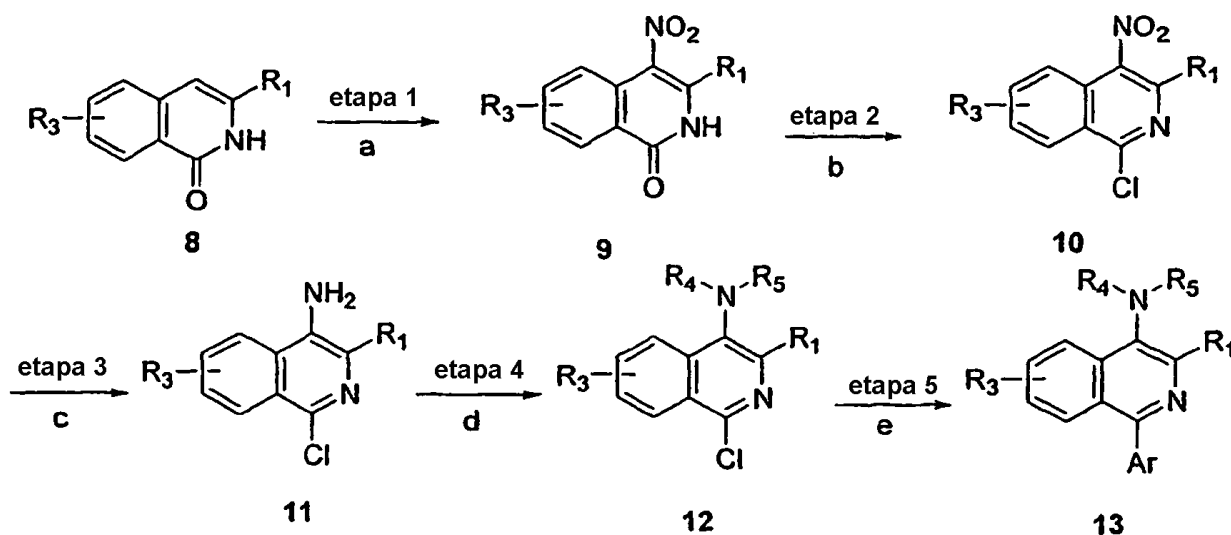
Esquema 1. Preparación de compuestos de fórmula I en la que  $R_2$  es  $NR_1R_5$



a) 1.  $\text{ClCO}_2\text{Et}$ , 2.  $\text{ArMgBr}$ , b)  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HOAc}$ , c)  $\text{HBr}$ ,  $\text{HOAc}$ , d)  $\text{H}_2$ ,  $\text{Pd(C)}$ ,  $\text{HCl conc.}$ ,  $\text{MeOH}$ , e)  $\text{R}'\text{CO}_2\text{H}$ ,  $\text{NaBH}_4$ , f)  $\text{R}_5\text{Br}$ ,  $t\text{-BuOK/DMSO}$

5 El Esquema 1 ilustra un método para preparar compuestos de Fórmula I e la que  $R_2$  es  $NR_4R_5$ . Los ejemplos ilustrativos para este método se proporcionan en el Ejemplo 1 a partir del documento WO 98/277066.

Esquema 2. Preparación de compuestos de fórmula I en la que  $R_2$  es  $NR_1R_5$



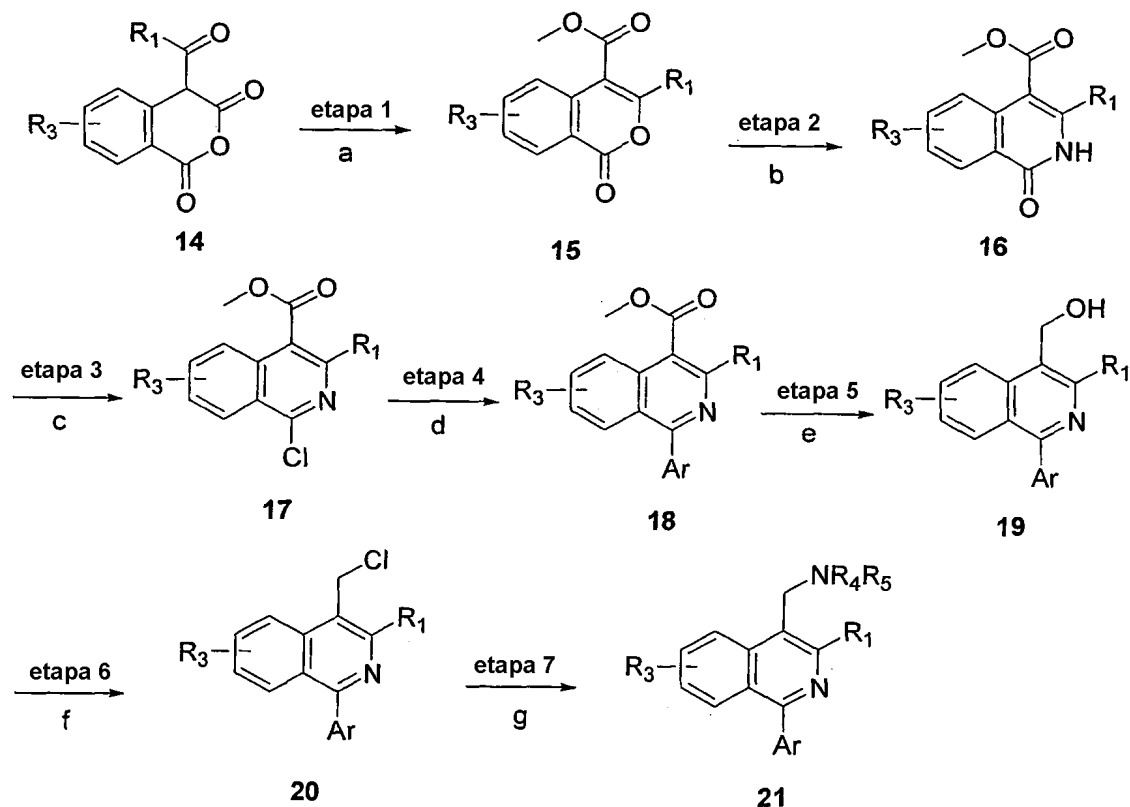
a)  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HOAc}$ , b)  $\text{POCl}_3$ , c)  $\text{SnCl}_2$ ,  $\text{HCl}$ , d)  $\text{R}'\text{CHO}$ ,  $\text{Nab(OAc)}_3\text{H}$ , e)  $\text{ArB(OH)}_3$ ,  $\text{Pd(PPh}_3)_4$

10 El Esquema 2 ilustra un método para preparar compuestos de Fórmula I en la que  $R_2$  es  $NR_4R_5$ , y  $\text{Ar}$  se introduce en la última etapa. En la etapa 1, 8 se convierte en el nitroderivado 9 vía la acción de ácido nítrico en ácido acético. El tratamiento de 9 con oxiclورو de fósforo en la etapa 2 produce un compuesto clorado 10. La reducción del grupo nitro en 10 se logra en la etapa 3 mediante tratamiento con clورو de estaño (II) y ácido clorhídrico. La etapa 4 supone la introducción de la sustitución alquímica mediante aminación reductora para formar 12. El derivado clorado 12 se convierte en la arilisoquinolina correspondiente 13 en la etapa 5 mediante reacción de acoplamiento con paladio. El derivado clorado 12 sirve como un intermedio versátil para la introducción de una variedad de grupos

15

arilo usando diversas estrategias de acoplamiento estándar (por ejemplo acoplamiento catalizado con paladio) con agentes reaccionantes de arilestano o ácidos arilborónicos.

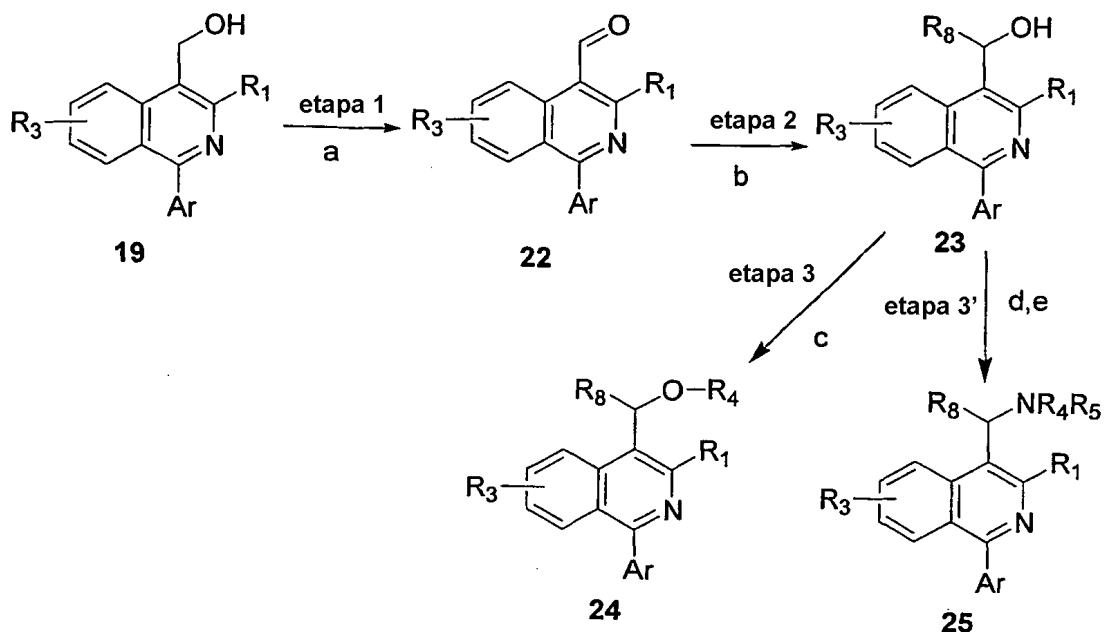
Esquema 3. Preparación de compuestos de fórmula I en la que  $R_2$  es  $-(CR_A R_B)OR_4$ ,  $-CR_A R_B NR_4 R_5$



5 a) MeOH, HCl, b)  $NH_4OH$ , c)  $POCl_3$ , d)  $ArB(OH)_2$ ,  $Pd(PPh_3)_4$ , e) LAH, f)  $SOCl_2$ , g)  $R_4R_5NH$ , base

El esquema 3 muestra un método para preparar compuestos de Fórmula I en la que  $R_2$  es  $-(CR_A R_B)OR_4$ , o  $-CR_A R_B NR_4 R_5$ . En la etapa 1, **14** se convierte en el derivado de éster **15** en condiciones ácidas en metanol. El tratamiento de **15** con hidróxido amónico en la etapa 2 produce el compuesto amínico **16**. El tratamiento de **16** con oxiclورو de fósforo en la etapa 3 produce el compuesto clorado **17**. El derivado clorado **17** se convierte en la arilisoquinolina correspondiente **18** en la etapa 4 mediante reacción de acoplamiento con paladio. La reducción del grupo éster con hidruro de litio y aluminio proporciona el compuesto **19**, que es seguido del tratamiento con cloruro de tionilo en la etapa 6 para proporcionar el compuesto clorado **20**. La conversión de **20** a **21** se logra con la amina correspondiente en presencia de base.

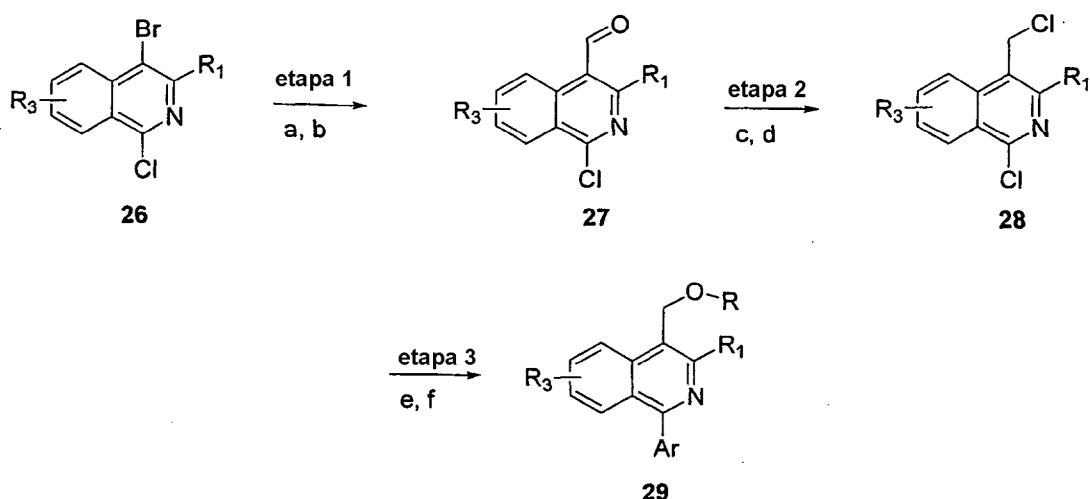
10

Esquema 4. Preparación de compuestos de fórmula I en la que  $R_2$  es  $-(CR_A R_B)OR_4$ ,  $-CR_A R_B NR_4 R_5$ 

a)  $(COCl)_2$ , DMSO,  $Et_3N$ , b)  $R_8MgBr$ , c)  $NaH$ ,  $R_4Br$ , d)  $SOCl_2$ , e)  $R_4R_5NH$

5 El esquema 4 ilustra un método para preparar compuestos de Fórmula I en la que  $R_2$  es  $-(CR_A R_B)OR_4$ , o  $-CR_A R_B NR_4 R_5$ . En la etapa 1, **19** se oxida a aldehído **22** en condiciones de Swern. La adición de un reactivo de Grignard a **22** en la etapa 2 proporciona el hidroxicoompuesto **23**. El tratamiento de **23** con hidruro de sodio y un haluro de alquilo en la etapa 3 produce el compuesto **24**. El derivado **23** se convierte en la amina correspondiente mediante un tratamiento inicial con cloruro de tionilo en la etapa 3', para proporcionar un compuesto clorado que se convierte a **25** en presencia de una amina.

10 Esquema 5. Preparación de compuestos de fórmula I, en la que  $R_2$  es  $-(CR_A R_B)OR_1$ ,



a)  $n-BuLi$ , THF, b) DMF, c) LAH, d)  $SOCl_2$ , e) ROH, base, f)  $Ar-B(OH)_2$ ,  $Pd(PPh_3)_4$ , base

15 El esquema 5 ilustra un método para preparar compuestos de Fórmula I en la que  $R_2$  es  $-(CR_A R_B)OR_4$  o  $-CR_A R_B NR_4 R_5$ . En la etapa 1, **26** sufre intercambio de halógeno de litio, y se hace reaccionar con dimetilformamida para producir el aldehído **27**. La reducción con hidruro de litio y aluminio es seguida mediante reacción con cloruro de tionilo en la etapa 2, para producir el compuesto clorado **28**. El tratamiento de **28** con un nucleófilo de oxígeno es seguido de acoplamiento con paladio con una especie de arilboro para producir el compuesto **29** en la etapa 3.

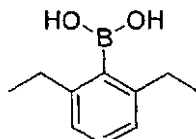
Los ejemplos representativos para la preparación de compuestos de Fórmula I y Fórmula II (y las otras Fórmulas proporcionadas aquí) mediante los métodos ilustrados en los Esquemas anteriores se proporcionan en los siguientes

Ejemplos. Excepto que se especifique de otro modo, todos los materiales de partida y reactivos son de grado comercial estándar, y se usan sin purificación adicional, o se preparan fácilmente a partir de tales materiales mediante métodos normales. Los expertos en la técnica de síntesis orgánica reconocerán que los materiales de partida y las condiciones de reacción se pueden variar para lograr el producto final deseado.

## 5 EJEMPLOS

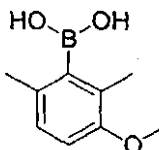
### EJEMPLO 1. PREPARACIÓN DE CIERTOS MATERIALES DE PARTIDA

#### A. SÍNTESIS DE ÁCIDO 2,6-DIETILFENILBORÓNICO



10 Se añadió gota a gota 2,6-dietilbromobenceno (38,2 g, 180,2 mmoles) a través de un embudo adicional durante un período de 1 h a una disolución de n-BuLi (2,0 M en ciclohexano, 99,1 ml, 198,2 mmoles) en THF (380 ml) a -75°C. Tras la adición, la mezcla de reacción se agitó a -75°C durante 30 min.; se añadió lentamente borato de trimetilo (28,1 g, 270,3 mmoles) durante un período de 40 minutos. La mezcla de reacción se calentó hasta la temperatura ambiente toda la noche. Se añadió lentamente HCl 2N (250 ml), y la mezcla resultante se agitó durante 1 h. La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con éter (2 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, y los disolventes se eliminaron *a vacío*. Se añadió hexano (400 ml) al residuo, y se formó un precipitado blanco. La filtración, y el secado *a vacío* dan ácido 2,6-dietilfenilborónico como un sólido blanco. RMN <sup>1</sup>H: (CDCl<sub>3</sub>) 7,22 (t, 1H), 7,04 (s, 2H), 4,65 (s, 2H), 2,64 (q, 4H), 1,22 (t, 6H).

#### B. SÍNTESIS DE ÁCIDO 2,6-DIMETIL-3-METOXIBENCENOBORÓNICO



#### 20 Etapa 1. Preparación del aldehído

Una disolución de 2-bromo-m-xileno (4,2 g, 23 mmoles) en diclorometano (5 ml) a -78°C se añadió gota a gota a una disolución de tetracloruro de titanio (5,0 ml, 45 mmoles) y éter metílico de diclorometilo (2,3 ml, 25 mmoles) en diclorometano (20 ml). Después de que la adición estuvo terminada, la mezcla se dejó calentar hasta la temperatura ambiente, y se agitó durante 4 h adicionales antes de verterla en agua helada. La reacción se extrajo con diclorometano. La fracción orgánica se lavó con agua, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), y se concentró para dar el aldehído como un sólido amarillo pálido, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional: RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) 10,1 (s, 1H), 7,68 (d, 1H), 7,22 (d, 1H), 2,79 (s, 3H), 2,45 (s, 3H).

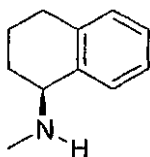
#### Etapa 2. Preparación del éter metílico

30 Se añadió ácido M-cloroperoxibenzoico (68%, 8,4 g, 33 mmoles) a una disolución del aldehído anterior (4,7 g) en diclorometano (120 ml). La mezcla se agitó a reflujo toda la noche, y se concentró *a vacío*. El residuo se disolvió en acetato de etilo, y se lavó sucesivamente con NaHCO<sub>3</sub> saturado (3 veces), NaHSO<sub>3</sub> saturado, y agua. La fracción orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), y se concentró para dar el formiato bruto. El formiato se trató con carbonato de potasio (4 g) en etanol (80 ml) a temperatura ambiente durante 20 min., seguido de filtración y concentración para dar el alcohol correspondiente. El alcohol bruto se disolvió en acetona (160 ml), y se añadió sulfato de dimetilo (2,7 ml, 29 mmoles), y carbonato de potasio (8,0 g, 58 mmoles). La mezcla se agitó a reflujo durante 5 h. Después de enfriar hasta la temperatura ambiente, la filtración, concentración, y cromatografía ultrarrápida proporcionaron el éter metílico deseado como un aceite incoloro. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) 7,02 (d, 1H), 6,73 (d, 1H), 3,80 (s, 3H), 2,37 (s, 3H), 2,35 (s, 3H).

#### Etapa 3. Preparación de ácido 2,6-dimetil-3-metoxibencenoborónico

40 Una disolución de 2,4-dimetil-3-bromoanisol (3,3 g, 15 mmoles) en THF (15 ml) se añadió gota a gota a -78°C a una disolución de n-butil-litio (11 ml de 1,6M en hexano, 17 mmoles) en THF (35 ml). Después de 30 min., se añadió borato de trimetilo (2,3 ml, 20 mmoles), y la mezcla se dejó calentar hasta la temperatura ambiente toda la noche. La mezcla se vertió sobre HCl al 10%, y se extrajo con acetato de etilo. La fracción orgánica se lavó con salmuera saturada, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), y se concentró para dar el producto deseado como un aceite parduzco. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) 6,98 (d, 1H), 6,75 (d, 1H), 4,64 (br s), 3,80 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,22 (s, 3H).

## F. SÍNTESIS DE (S)-METIL-(1,2,3,4-TETRAHIDRO-NAFTALEN-1-IL)-AMINA



Se añadió gota a gota cloroformiato de etilo (7,74 g, 71,3 mmoles) a una mezcla de (S)-1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-1-ilamina (10,0 g, 67,9 mmoles) y  $K_2CO_3$  (18,8 g, 136 mmoles) en  $CH_3CN$  (100 ml). La mezcla resultante se agitó a la temperatura ambiente toda la noche. Se añadió agua (100 ml), y la mezcla se extrajo con éter (2 x 100 ml). El extracto combinado se lavó con HCl 1 N (2 x 10 ml), con agua, se secó ( $Na_2SO_4$ ), y se concentró a vacío para dar éster etílico del ácido (S)-(1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-1-il)-carbámico como un sólido.

Se añadió lentamente éster etílico del ácido (1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-1-il)-carbámico (5,0 g, 22,8 mmoles) en nitrógeno a una suspensión de  $LiAlH_4$  (2,6 g, 68 mmoles) en THF (50 ml). La mezcla resultante se calentó a  $75^\circ C$  con agitación durante 2 h. Al enfriar, se añadieron a la mezcla  $Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$  (15,0 g) y éter (100 ml). La mezcla resultante se agitó a la temperatura ambiente durante 1 h, se filtró a través de celita, y se concentró a vacío. Se añadieron HCl 1 N (20 ml) y éter (20 ml) al residuo. La capa orgánica se separó y se desechó. La capa acuosa se basificó con NaOH 1 N, y se extrajo con  $CH_2Cl_2$  (2 x 25 ml). El extracto combinado se lavó con agua (2x), se secó ( $Na_2SO_4$ ) y se concentró para dar (S)-metil-(1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-1-il)-amina como un aceite.  $[\alpha]^{RT} = -10,6$  (0,02, EtOH). RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ ) 7,30 (m, 1H), 7,06-7,20 (m, 3H), 3,66 (t, 1H), 2,78 (m, 2H), 2,50 (s, 3H), 1,70-2,00 (m, 4H).

Se aplicaron procedimientos similares en la síntesis de las siguientes aminas:

(R)-Metil-(1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-1-il)-amina;

(S)-Etil-(1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-1-il)-amina;

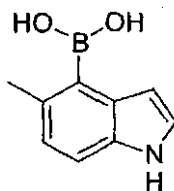
(S)-Propil-(1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-1-il)-amina;

(S)-Indan-1-il-metil-amina;

(±)Metil-(1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-1-il)-amina; y

(±)Indan-1-il-metil-amina.

## G. SÍNTESIS DE ÁCIDO 5-METILINDOL-4-BORÓNICO



Se añadió lentamente ácido nítrico fumante ( $HNO_3$  fumante amarillo >90%) a una disolución de 2-bromo-*m*-xileno (20 g, 150 mmoles) en ácido acético (100 ml) enfriado en un baño de hielo (por encima del punto de congelación). La mezcla resultante se dejó calentar hasta la temperatura ambiente, se agitó durante 1 h, y se calentó a  $80^\circ C$  durante 2 h o hasta que la reacción estuvo terminada mediante análisis por GC/MS seguido del tratamiento base a microescala. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente, y se vertió en hielo/agua con agitación. Los precipitados amarillos resultantes se recogieron mediante filtración por succión, y se secaron al aire para obtener 2,6-dimetil-3-nitrobromobenceno.

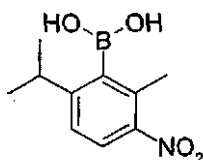
Se añadió reactivo de Brederick (*tert*-butoxisbis(dimetilamino)metano (16 g, 91 mmoles) a una disolución de 2,6-dimetil-3-nitrobromobenceno (20 g, 87 mmoles) en DMF anhidra (120 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a  $120-125^\circ C$  bajo  $N_2$  durante 5 h o hasta que el material de partida se consumió en su mayoría según TLC. La mezcla de reacción se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente, se vertió en agua (300 ml), y se extrajo con diclorometano (100 ml x 3). Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron, y se concentraron para obtener una mezcla de enaminas como un aceite marrón oscuro. Este material se usó en la siguiente etapa sin purificación.

La mezcla bruta se disolvió en ácido acético/agua (250 ml de 4:1), se enfrió hasta  $0^\circ C$ , y se trató con polvo de cinc (57 g, 870 mmoles) añadido lentamente en porciones. Tras completar la adición, la mezcla de reacción se calentó a  $110^\circ C$  durante 4 h. El cinc se eliminó mediante filtración a través de una almohadilla de celita, y el filtrado se extrajo con diclorometano (100 ml x 3). Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se

concentraron, y se purificaron mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (EtOAc/hexano 1:20) para obtener 4-bromo-5-metilindol como un aceite morado claro.

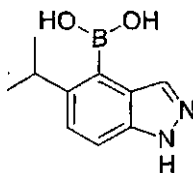
5 Una disolución de 4-bromo-5-metilindol (800 mg, 3,8 mmoles) en éter anhidro (8 ml) se añadió con agitación a una suspensión de hidruro de potasio (560 mg, 4,2 mmoles, dispersión al 30% en aceite mineral) en éter anhidro a 0°C bajo argón. La mezcla resultante se enfrió hasta -78°C, y se añadió lentamente terc-butil-litio (4,9 ml de 1,7 M en pentano, 8,4 mmoles). La mezcla color crema resultante se agitó a -78°C durante 1 h. Se añadió lentamente borato de tributilo (3,1 ml, 11,4 mmoles), y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h a -78°C antes de dejarla calentar lentamente hasta la temperatura ambiente. Se añadió más éter anhidro para facilitar la agitación. Después de agitar durante 24 h, la mezcla pegajosa resultante se diluyó con éter, y se transfirió en porciones, con agitación, a una disolución preenfriada de ácido fosfórico 1 M (50 ml). Después de agitar durante 30 min., la mezcla ácida se extrajo con éter dietílico (75 ml x 3), y los extractos combinados se extrajeron con hidróxido de sodio 1 N (20 ml x 4). Los extractos básicos combinados se enfriaron con un baño de hielo, se acidificaron con ácido fosfórico 1 M, y se extrajeron con acetato de etilo (20 ml x 3). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron sulfato de sodio anhidro, se filtraron, y se concentraron para obtener un residuo beige. El residuo se trituró con hexano para obtener el ácido 5-metilindol-4-borónico deseado como una goma beige.

#### H. SÍNTESIS DE ÁCIDO 6-ISOPROPIL-2-METIL-3-NITROBENCENOBORÓNICO



20 Se añadió ácido 6-isopropil-2-metilbencenoborónico (8 g) en porciones durante 1 h a HNO<sub>3</sub> al 90% (50 ml) a -40°C, manteniendo una temperatura interna por debajo de -30°C. Tras la adición, la mezcla se agitó a -40 hasta -30°C durante 15 min., después se vertió sobre hielo, y se diluyó con agua. El sólido se recogió mediante filtración, se lavó con agua, y se secó para dar ácido 6-isopropil-2-metil-3-nitrobencenoborónico como un sólido blanco. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>) 7,78 (d, 2H), 7,30 (d, 2H), 2,85 (m, 1H), 2,38 (s, 3H), 1,15 (d, 6H).

#### I. SÍNTESIS DE ÁCIDO 5-ISOPROPIL-1H-INDAZOL-4-BORÓNICO



25 Etapa 1. Preparación de 4-bromo-5-isopropil-1H-indazol

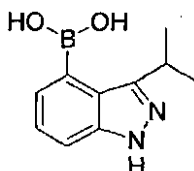
30 Se añadió lentamente ácido nítrico (30 ml, fumante) a una disolución enfriada con hielo de 2-isopropil-6-metilbromobenceno (10 g, 213 mmoles) en ácido acético (60 ml). La mezcla se calentó 1 h a 90°C, y se enfrió hasta la temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vertió en 200 ml de agua con hielo, y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 60 ml). Los extractos combinados se lavaron con NaOH 1 N (3 x 40 ml) y después con agua (40 ml), se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), y se concentraron para producir 2-isopropil-6-metil-5-nitro-bromobenceno bruto que se disolvió en AcOH (75 ml)/EtOH (75 ml). A esto se le añadió Fe en polvo (5,3 g, 95 mmoles), y la mezcla se puso a reflujo durante 2 h. La mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente, se diluyó con agua, y se neutralizó con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sólido. La mezcla se extrajo con EtOAc, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), y se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (elución con hexano/EtOAc 4:1) para producir 3-bromo-4-isopropil-2-metil-anilina. Una disolución de NaNO<sub>2</sub> (798 mg, 12 mmoles) en H<sub>2</sub>O (10 ml) se añadió gota a gota a 0°C a una suspensión de 3-bromo-4-isopropil-2-metil-anilina (2,4 g, 11 mmoles) en HBF<sub>4</sub> (15 ml)-H<sub>2</sub>O (15 ml), y la mezcla se agitó durante 1 h a 0°C. El sólido resultante se filtró, se lavó con agua fría y después con Et<sub>2</sub>O, y se secó a presión reducida para producir la sal de diazonio como un sólido beige. La sal de diazonio se añadió en una porción a la mezcla de KOAc (1,5 g, 15 mmoles) y 18-C-6 (98 mg, 0,37 mmoles) en CHCl<sub>3</sub> libre de etanol (70 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 1 h, y el sólido resultante se eliminó mediante filtración. El filtrado se lavó con agua, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), y se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (elución con hexano/EtOAc 4:1) para producir 4-bromo-5-isopropil-1H-indazol. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) 8,03 (br s, 1H), 7,41 (d, 1H), 7,35 (d, 1H), 3,55 (m, 1H), 1,24 (d, 6H).

45 Etapa 2. Preparación de ácido 5-isopropil-1H-indazol-4-borónico

Una disolución de 4-bromo-5-isopropil-1H-indazol (1,6 g, 6,9 mmoles) en Et<sub>2</sub>O (4 ml) se añadió lentamente a una suspensión de KH (1,0 g de dispersión al 30% en aceite mineral, 7,7 mmoles) en Et<sub>2</sub>O (20 ml) a 0°C, y la mezcla se agitó durante 20 min. Después de enfriar hasta -78°C, se añadió t-BuLi (8,9 ml de 1,7 M en hexano, 15 mmoles), y la

mezcla resultante se agitó durante 40 min. a  $-78^{\circ}\text{C}$ . A esto se le añadió  $\text{B}(\text{On-BU})_3$  (5,6 ml, 21 mmoles), y la mezcla se agitó durante 24 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se paralizó con  $\text{H}_3\text{PO}_4$  1N, y se extrajo con  $\text{Et}_2\text{O}$ . Las capas de  $\text{Et}_2\text{O}$  combinadas se volvieron a extraer con NaOH 1N (3 x 10 ml). Los extractos de NaOH combinados se acidificaron con  $\text{H}_3\text{PO}_4$  1N, y se extrajeron con EtOAc. Los extractos de EtOAc se lavaron con salmuera saturada, se secaron ( $\text{MgSO}_4$ ), y se concentraron para producir ácido 5-isopropil-1*H*-indazol-4-borónico. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 7,85 (s, 1H), 7,42 (d, 1H), 7,37 (d, 1H), 3,6 (br s, 2H), 2,88 (m, 1H), 1,32 (d, 6H).

#### J. SÍNTESIS DE ÁCIDO 3-ISOPROPIL-1*H*-INDAZOL-4-BORÓNICO



##### Etapa 1. Preparación de 1-(2-bromo-6-fluoro-fenil)-2-metil-propan-1-ona

A una disolución de *n*-BuLi (25 ml de disolución 1,6 M en hexano, 40 mmoles) en THF (100 ml) se añadió 2,2,6,6-tetrametilpiperidina (6,8 ml, 40 mmoles) a  $-78^{\circ}\text{C}$ , y la mezcla se agitó durante 20 min. A esto se le añadió 3-bromofluorobenceno (7,0 g, 40 mmoles). Después de agitar durante 3 h a  $-78^{\circ}\text{C}$ , se añadió DMF (15 ml, 200 mmoles), y la mezcla se calentó hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La mezcla se paralizó con HCl 1N, y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se secaron ( $\text{MgSO}_4$ ), y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (elución con hexano/EtOAc 10:1) para producir 2-bromo-6-fluoro-benzaldehído. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 10,4 (s, 1H), 7,48-7,39 (m, 2H), 7,18-7,14 (m, 1H).

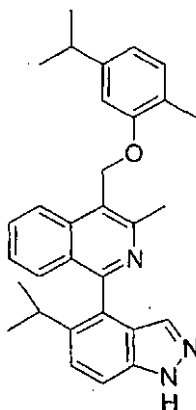
Se añadió cloruro de isopropilmagnesio (18 ml de 2 M en  $\text{Et}_2\text{O}$ , 35 mmoles) a una disolución de 2-bromo-6-fluoro-benzaldehído (6,0 g, 30 mmoles) en THF (40 ml) a  $-78^{\circ}\text{C}$ , y la mezcla se agitó durante 1 h a  $0^{\circ}\text{C}$ . La mezcla se vertió en  $\text{NH}_4\text{Cl}$  saturado, y se extrajo con EtOAc. El alcohol bruto resultante se oxidó directamente mediante oxidación de Swern para producir 1-(2-bromo-6-fluoro-fenil)-2-metil-propan-1-ona. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 7,38 (d, 1H), 7,22 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 3,10 (m, 1H), 1,11 (d, 6H).

##### Etapa 2. Preparación de ácido 3-isopropil-1*H*-indazol-4-borónico

Una mezcla de 1-(2-bromo-6-fluoro-fenil)-2-metil-propan-1-ona (1,1 g, 4,5 mmoles) e hidrazina anhidra (0,17 ml, 5,4 mmoles) en etilenglicol (10 ml) se calentó durante 16 h a  $160^{\circ}\text{C}$ . Se añadió agua, y la mezcla se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Los extractos combinados se secaron ( $\text{MgSO}_4$ ), y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para producir 4-bromo-3-isopropil-1*H*-indazol. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 10,1 (brs, 1H), 7,38 (d, 1H), 7,32 (d, 1H), 7,17 (t, 1H), 3,99 (m, 1H), 1,43 (d, 6H).

El 4-bromo-3-isopropil-1*H*-indazol se convirtió al ácido borónico correspondiente siguiendo procedimientos análogos al dado en el ejemplo precedente. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 7,44 (d, 1H), 7,32 (t, 1H), 7,05 (d, 1H), 3,56 (m, 1H), 1,38 (d, 6H). LCMS (*m/z*): 205,45 (MH) $^+$ .

#### EJEMPLO 2. SÍNTESIS DE 1-(5-ISOPROPIL-1*H*-INDAZOL-4-IL)-4-(5-ISOPROPIL-2-METIL-FENOXIMETIL)-3-METIL-ISOQUINOLINA



##### Etapa 1. Preparación de 1-cloro-3-metil-isoquinolin-4-carbaldehído

Se añadió gota a gota *n*-BuLi (12,3 ml de 1,6 M en hexano, 20 mmoles) a una disolución de 4-bromo-1-cloro-3-metil-isoquinolina (4,6 g, 18 mmoles) en THF (80 ml) a  $-78^{\circ}\text{C}$ , y la mezcla se agitó durante 40 min. Después, se añadió

lentemente DMF (4,2 ml, 54 mmoles). El baño frío se retiró, y la agitación se continuó durante 15 min. La mezcla se acidificó con HCl 1N hasta pH 2, y se extrajo con éter. Los extractos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y se concentraron a vacío. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice para dar 1-cloro-3-metil-isoquinolin-4-carbaldehído. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) 10,9 (s, 1H), 9,06 (d, 1H), 8,40 (d, 1H), 7,88 (t, 1H), 7,70 (t, 1H), 2,99 (s, 3H).

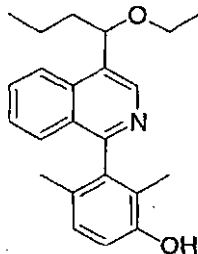
5 Etapa 2. Preparación de 1-cloro-4-clorometil-3-metil-isoquinolina

Se añadió LAH (3,6 ml de 1M en THF, 3,62 mmoles) a una disolución de 1-cloro-3-metil-isoquinolin-4-carbaldehído (744 mg, 3,62 mmoles) en THF (10 ml) a 0°C. Después de agitar durante 30 min. a temperatura ambiente, la mezcla se paralizó con pequeñas cantidades de sulfato de sodio saturado, y se filtró a través de una almohadilla de celita. El filtrado se concentró a vacío para dar el alcohol bruto. Se añadió SOCl<sub>2</sub> (13 ml de 2M en DCM, 25 mmoles) a una disolución del alcohol bruto en DCM (5 ml). Después de agitar durante 1 h a la temperatura ambiente, la mezcla se concentró a vacío, y el residuo se cromatografió sobre gel de sílice para dar 1-cloro-4-clorometil-3-metil-isoquinolina. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) 8,44 (d, 1H), 8,18 (d, 1H), 8,02 (t, 1H), 7,82 (t, 1H), 5,03 (s, 2H), 3,00 (s, 3H).

Etapa 3. Preparación de 1-(5-isopropil-1*H*-indazol-4-il)-4-(5-isopropil-2-metil-fenoximetil)-3-metil-isoquinolina

Una disolución de 1-cloro-4-clorometil-3-metil-isoquinolina (150 mg, 0,66 mmoles) se añadió a una mezcla de carvacrol (199 mg, 1,33 mmoles) y CsCO<sub>3</sub> (645 mg, 1,98 mmoles) en DMF (8 ml). Después de agitar toda la noche a la temperatura ambiente, se añadió agua, y la mezcla se extrajo con éter. Los extractos combinados se lavaron con salmuera saturada, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y se concentraron a vacío. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice para dar 1-cloro-4-(5-isopropil-2-metil-fenoximetil)-3-metil-isoquinolina. Una mezcla de 1-cloro-4-(5-isopropil-2-metil-fenoximetil)-3-metil-isoquinolina (220 mg, 0,65 mmoles), ácido 5-isopropilindazol-4-borónico (173 mg, 0,85 mmoles), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (38 mg, 0,033 mmoles), y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,3 ml de 2M en H<sub>2</sub>O) en dioxano (8 ml). La mezcla se calentó durante 18 h a 100°C. Después de enfriar hasta la temperatura ambiente se añadió agua, y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y se concentraron a vacío. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice para dar 1-(5-isopropil-1*H*-indazol-4-il)-4-(5-isopropil-2-metil-fenoximetil)-3-metil-isoquinolina RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) 10,6 (brs, 1H), 8,18 (d, 1H), 7,68 (t, 1H), 7,54 (d, 1H), 7,53 (s, 2H), 7,42 (s, 1H), 7,36 (t, 1H), 7,14 (d, 1H), 7,06 (s, 1H), 6,86 (d, 1H), 5,59 (s, 2H), 3,01-2,94 (m, 1H), 2,91 (s, 3H), 2,78-2,71 (m, 1H), 2,20 (s, 3H), 1,32 (d, 6H), 1,22 (d, 3H), 1,13 (d, 3H). LCMS (m/z): 464,3 (MH)<sup>+</sup>.

**EJEMPLO 6. SÍNTESIS DE 3-[4-(1-ETOXI-BUTIL)-ISOQUINOLIN-1-IL]-2,4-DIMETIL-FENOL**



Etapa 1. Preparación de 1-[1-(3-metoxi-2,6-dimetil-fenil)-isoquinolin-4-il]-butan-1-ol

30 Se añadió gota a gota a -78°C n-PrMgCl (4,7 ml de una disolución 2M en THF, 9,36 mmoles) a una disolución de 1-(3-metoxi-2,6-dimetil-fenil)-isoquinolin-4-carbaldehído (2,48 g, 8,51 mmoles), y la mezcla se dejó calentar hasta la temperatura ambiente. Tras paralizar con NH<sub>4</sub>Cl saturado, la mezcla se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera saturada, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y se concentraron. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice para dar 1-[1-(3-metoxi-2,6-dimetil-fenil)-isoquinolin-4-il]-butan-1-ol como una espuma blanca.

35 RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>Cl) mezcla 1:1 de atropisómeros 8,71 (s, 1H), 8,26 (dd, 1H), 7,71 (t, 1H), 7,57 (d, 1H), 7,46 (t, 1H), 7,11 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 5,43-5,39 (m, 1H), 3,87 (s, 3H), 2,21 (br s, 1H), 2,09-2,01 (m, 2H), 1,80 (2s, 3H), 1,74 (2s, 3H), 1,70-1,46 (m 2H), 1,01 (t, 3H).

Etapa 2. Preparación de 3-[4-(1-bromo-butil)-isoquinolin-1-il]-2,4-dimetil-fenol

40 Una disolución de 1-[1-(3-metoxi-2,6-dimetil-fenil)-isoquinolin-4-il]-butan-1-ol (117 mg, 0,33 mmoles) en DMF (2 ml) se añadió a una suspensión de NaH (67 mg, dispersión al 60% en aceite mineral, 1,7 mmoles) en DMF (4 ml) a 0°C. Después de agitar durante 45 min., se añadió lentamente EtI (0,26 ml, 3,3 mmoles). Después de agitar durante 10 min. a 0°C, la mezcla se dejó calentar hasta la temperatura ambiente, y la agitación se continuó durante 1 h. Se añadió agua, y la mezcla se extrajo con Et<sub>2</sub>O. Los extractos combinados se lavaron con salmuera saturada, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y se concentraron para dar el éter deseado, que se disolvió en DCM (12 ml). Después de enfriar hasta -78°C, se añadió gota a gota BBr<sub>3</sub> (3,2 ml de disolución 1 M en DCM, 3,2 mmoles), y la mezcla se dejó calentar hasta la temperatura ambiente. Después de agitar durante 1 h, se añadieron cuidadosamente MeOH (3 ml) y HCl 1N (50 ul). Tras calentar durante 10 min. a 80°C, la mezcla se enfrió, y después se basificó con NaOH 1N



hasta pH 10. La mezcla resultante se extrajo con DCM, y los extractos combinados se lavaron con salmuera saturada. El secado sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y la concentración se siguieron de cromatografía ultrarrápida para dar 3-[4-(1-bromo-butil)-isoquinolin-1-il]-2,4-dimetil-fenol como una espuma amarilla.

5 RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>Cl) mezcla 1:1 de atropisómeros 8,81 (s, 1H), 8,31 (d, 1H), 7,82 (t, 1H), 7,64 (d, 1H), 7,52 (t, 1H), 7,20 (br s, 1H), 6,90 (d, 1H), 6,73 (d, 1H), 5,71-5,66 (m, 1H), 2,71-2,58 (m, 1H), 2,50-2,38 (m, 1H), 1,79 (2s, 3H), 1,68 (2s, 3H), 1,61-1,52 (m, 2H), 1,06 (t, 3H).

Etapa 3. Preparación de 3-[4-(1-etoxi-butil)-isoquinolin-1-il]-2,4-dimetil-fenol

10 Una mezcla de 3-[4-(1-bromo-butil)-isoquinolin-1-il]-2,4-dimetil-fenol (110 mg, 0,29 mmoles) y c-HCl (30 ul) en EtOH (12 ml) se calentó a reflujo durante 18 h. Tras eliminar el disolvente, el residuo se diluyó con DCM, y se neutralizó con NaOH 1N. Las capas se separaron, y la capa acuosa se extrajo con DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y se concentraron. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice para dar 3-[4-(1-etoxi-butil)-isoquinolin-1-il]-2,4-dimetil-fenol junto con el material de partida sin reaccionar.

15 NMR <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>Cl) 8,62 (s, 1H), 8,39 (d, 1H), 7,71 (t, 1H), 7,62 (d, 1H), 7,47 (t, 1H), 6,85 (d, 1H), 6,68 (d, 1H), 4,89 (t, 1H), 3,53-3,44 (m, 2H), 2,12-2,05 (m, 1H), 1,99-1,89 (m, 1H), 1,78 (s, 3H), 1,65 (s, 3H), 1,61-1,35 (m, 2H), 1,25 (t, 3H), 0,97 (t, 3H).

LCMS (m/z):350,2 (MH)<sup>+</sup>.

#### EJEMPLO 8. ISOQUINOLINAS 1-ARIL-4-SUSTITUIDAS ADICIONALES:

20 Los compuestos mostrados en la Tabla I se prepararon según los procedimientos dados en los Esquemas anteriores, e ilustrados adicionalmente en los Ejemplos anteriores. Todos los compuestos en la Tabla 1 y en los Ejemplos 1-6 muestran una IC<sub>50</sub> de 2 micromolar o menos en el ensayo de movilización del calcio proporcionado en el Ejemplo 18, aquí.

El dato de LG/MS se proporciona en la Tabla I, junto con el tiempo de retención en minutos y un número (1, 2 ó 3) que indica el método usado. Los métodos de LC/MS son los siguientes:

Método 1:

25 Instrumentación de HPLC/MS analítica: Los análisis se llevaron a cabo usando una bomba Waters de la serie 600 (Waters Corporation, Milford, MA), un detector de conjunto de diodos Waters 996 y un muestreador automatizado Gilson 215 (Gilson Inc, Middleton, WI), y un analizador de masas mediante ionización por electropulverización de tiempo de vuelo Micromass® LCT. Los datos se adquieren usando software MassLynx™ 4.0, con un procesamiento de OpenLynx Global Server™, OpenLynx™, y AutoLynx™.

30 Las condiciones de HPLC analítica: columna de 4,6 x 50mm, Chromolith™ SpeedROD RP-18e (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania); UV 10 espectros/s, 220-340 nm sumados; caudal 6,0 ml/min.; volumen de inyección 1 µl;

Condiciones del gradiente – la fase móvil A es 95% de agua, 5% de metanol con 0,05% de TFA; la fase móvil B es 95% de metanol, 5% de agua con 0,025% de TFA, y el gradiente es 0-0,5 min. 10-100% de B, manteniendo a 100% de B hasta 1,2 min., volviendo a 10 % de B a 1,21 min., y el tiempo de ciclo de inyección a inyección es 2,15 min.

35 Condiciones de MS analítica: voltaje del capilar 3,5 kV; voltaje del cono 30 V; la temperatura de desolvatación y de la fuente son 350°C y 120°C, respectivamente; intervalo de masas 181-750 con un tiempo de barrido de 0,22 segundos y un retraso entre barridos de 0,05 min.

Método 2:

40 Instrumentación de HPLC: Los análisis se llevaron a cabo usando una bomba Waters de la serie 600 (Waters Corporation, Milford, MA), un detector de conjunto de diodos Waters 996 y un automuestreador Gilson 215 (Gilson Inc, Middleton, WI). Los datos se adquieren usando el software MassLynx 4.0, con un procesamiento OpenLynx.

Condiciones de HPLC: columna de 4,6 x 50 mm, Chromolith SpeedRod (Merck AEG); UV 5 espectros/s, 220,254 nm; caudal 6,0 ml/min.; volumen de inyección 1-10 µl;

45 Condiciones del gradiente - Fase móvil A 95% de agua, 5% de metanol con 0,05% de ácido fórmico; Fase móvil B 95% de metanol, 5% de agua con 0,025% de ácido fórmico;

Gradiente:	Tiempo (mins.)	% de B
	0	5
	0,01	5
	1,0	100
	2	100
	2,1	5

Instrumentación de MS: Los experimentos de LC-MS se llevaron a cabo usando un espectrómetro de masas Waters ZMD II.

5 Condiciones de MS: Ionización positiva mediante electropulverización; voltaje del capilar 3,5 kV; voltaje del cono 30 V; temperatura de desolvatación y de la fuente 250°C y 100°C respectivamente; intervalo de masas 120-800 con un tiempo de barrido de 0,5 segundos y un retraso entre barridos de 0,1 minutos.

Método 3:

10 Instrumentación de HPLC: Los análisis se llevaron a cabo usando una bomba Waters de la serie 600 (Waters Corp.), un detector de conjunto de diodos Waters 996 y un automuestreador Gilson 215 (Gilson Inc.). Los datos se adquirieron usando el software MassLynx 4.0, con el procesamiento OpenLynx.

Las condiciones de HPLC: columna de 4,6 x 50mm, XTerra MS C18, 5 m (Waters Corp.); UV 10 espectros/s, 220-254 nm; caudal 4,0 ml/min.; volumen de inyección 1-10 µl;

Condiciones del gradiente - Fase móvil A 95% de agua, 5% de metanol con 0,05% de ácido fórmico; Fase móvil B 95% de metanol, 5% de agua con 0,025% ácido fórmico;

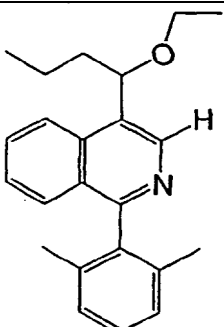
Gradiente:	Tiempo (mins.)	% de B
	0	5
	0,01	5
	2,0	100
	3,50	100
	3,51	5

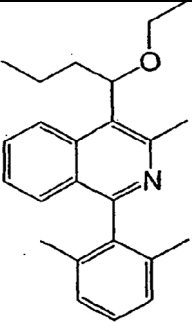
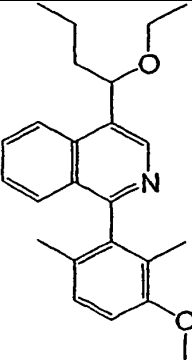
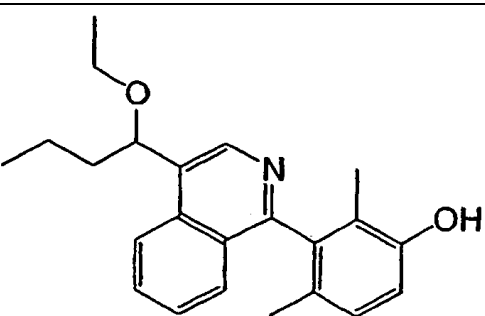
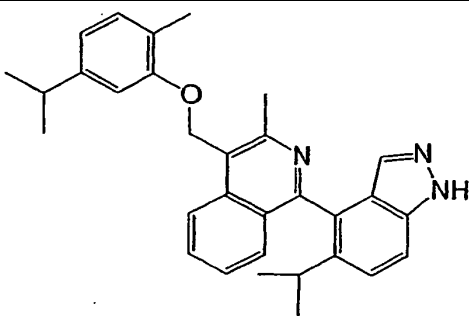
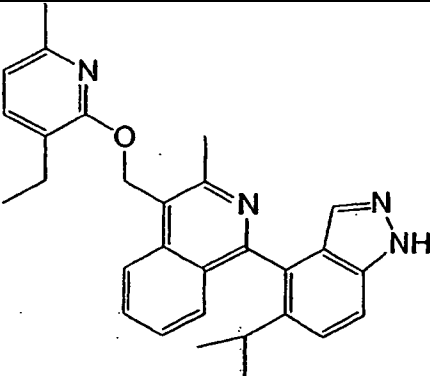
15

Instrumentación de MS: Los experimentos de LC-MS se llevaron a cabo usando un espectrómetro de masas Waters ZMD II.

20 Condiciones de MS: Ionización positiva mediante electropulverización; voltaje del capilar 3,5 kV; voltaje del cono 30 V; temperatura de desolvatación y de la fuente 250°C y 100°C respectivamente; intervalo de masas 120-800 con un tiempo de barrido de 0,5 segundos y un retraso entre barridos de 0,1 minutos.

Tabla I

Compuesto n°	Estructura	LCMS Tiempo de retención (min)	LCMS Masa (uma)	LCMS M+H (uma)
83		1,18	333,2	334,3

89		1,17	347,2	348,2
94		1,23	363,2	364,2
98		1,14	349,2	350,2
99		1,27	463,3	464,4
100		1,23	450,2	451,4

**EJEMPLO 9. PREPARACIONES FARMACÉUTICAS DE ADMINISTRACIÓN ORAL E INTRAVENOSA**

A. Los comprimidos que contienen un antagonista de C5a y un agente antiartrítico que no es un antagonista del receptor de C5a se pueden preparar como se ilustra más abajo:

Ingrediente	Cantidad
Antagonista del receptor de C5a	5 mg – 500 mg
Agente terapéutico inactivo para el receptor de C5a	1 mg – 500 mg
Diluyente, aglutinante, disgregante, lubricante, excipientes	c.s. 200 – 400 mg

5

B. Los comprimidos que contienen un antagonista del receptor de C5a como el único ingrediente activo se pueden preparar como se ilustra más abajo:

Ingrediente	mg	mg
Antagonista del receptor de C5a	10	50
Celulosa microcristalina	70,4	352
Manitol granular	15,1	75,5
Croscarmelosa sódica	3,0	15,0
Dióxido de silicio coloidal	0,5	2,5
Estearato de magnesio (polvo impalpable)	1,0	5,0
Total (mg)	100	500

10

C. Los comprimidos que contienen un antagonista del receptor de C5a y un agente inactivo para el receptor de C5a se pueden preparar según lo siguiente:

Ingrediente	mg	mg
Antagonista del receptor de C5a	10	25
Agente terapéutico inactivo para el receptor de C5a	10	25
Celulosa microcristalina	40	100
Almidón de maíz alimentario modificado	1,05	4,25
Estearato de magnesio	1,25	0,5

D. Las formulaciones intravenosas que contienen un antagonista del receptor de C5a y un agente inactivo para el receptor de C5a se pueden preparar según lo siguiente:

Ingrediente	Cantidad
Antagonista del receptor de C5a	0,5 – 10 mg
Agente terapéutico inactivo para el receptor de C5a	0,5 – 10 mg
Citrato sódico	5 – 50 mg
Ácido cítrico	1 – 15 mg
Cloruro sódico	1 – 8 mg
Agua para inyección	hasta 1,0 litro

E. Las suspensiones orales que contienen un antagonista del receptor de C5a y un agente inactivo para el receptor de C5a se pueden preparar según lo siguiente:

Ingrediente	Cantidad por 5 ml de dosis
Antagonista del receptor de C5a	5 – 100 mg
Agente terapéutico inactivo para el receptor de C5a	0,5 – 100 mg
Polivinilpirrolidona	150 mg
Monolaurato de polioxietilensorbitán	25 mg
Ácido benzoico	10 mg hasta 5 ml con disolución de sorbitol (70%)

#### EJEMPLO 10. PREPARACIÓN DE SONDAS RADIOMARCADAS

5 Los compuestos proporcionados aquí se preparan como sondas radiomarcadas llevando a cabo su síntesis usando precursores que comprenden al menos un átomo que es un radioisótopo. El radioisótopo es preferiblemente al menos uno de carbono (preferiblemente  $^{14}\text{C}$ ), hidrógeno (preferiblemente  $^3\text{H}$ ), azufre (preferiblemente  $^{35}\text{S}$ ), o yodo (preferiblemente  $^{125}\text{I}$ ). Tales sondas radiomarcadas se sintetizan convenientemente mediante un proveedor de radioisótopos que se especializa en la síntesis particularizada de compuestos de sonda radiomarcados. Tales  
10 proveedores incluyen Amersham Corporation, Arlington Heights, IL; Cambridge Isotope Laboratories, Inc. Andover, MA; SRI International, Menlo Park, CA; Wizard Laboratories, West Sacramento, CA; ChemSyn Laboratories, Lexena, KS; American Radiolabeled Chemicals, Inc., St. Louis, MO; y Moravek Biochemicals Inc., Brea, CA.

15 Los compuestos de sondas marcados con tritio también se preparan convenientemente de forma catalítica vía intercambio catalizado por platino en ácido acético tritiado, intercambio catalizado por ácido en ácido trifluoroacético tritiado, o intercambio catalizado heterogéneamente con gas tritio. Tales preparaciones también se llevan a cabo convenientemente como un radiomarcaje particularizado mediante cualquiera de los proveedores enunciados en el párrafo anterior, usando como sustrato un compuesto proporcionado aquí. Además, ciertos precursores se pueden someter a intercambio de tritio-halógeno con gas tritio, reducción con gas tritio de enlaces insaturados, o reducción usando borotrituro de sodio, según sea apropiado.

#### 20 EJEMPLO 11. ENSAYO PARA QUIMIOTAXIA MEDIADA POR EL RECEPTOR DE C5A

Este ejemplo proporciona un ensayo estándar para la quimiotaxia mediada por el receptor de C5a.

25 Células promonocíticas humanas U937 (o neutrófilos humanos o no humanos purificados) se tratan con dibutilil cAMP durante 48 h antes de llevar a cabo el ensayo. Los neutrófilos humanos, o aquellos procedentes de otras especies de mamíferos, se usan directamente tras el aislamiento. Las células se peletizan y se resuspenden en medio de cultivo que contiene 0,1% de suero fetal bovino (FBS) y 10  $\mu\text{g/ml}$  de calceína AM (un colorante fluorescente). Esta suspensión se incuba entonces a  $37^\circ\text{C}$  durante 30 minutos de manera que las células recogen el colorante fluorescente. La suspensión se centrifuga entonces brevemente para peletizar las células, las cuales se resuspenden entonces en medio de cultivo que contiene 0,1% de FBS a una concentración de aproximadamente  $3 \times 10^6$  células/ml. Alícuotas de esta suspensión celular se transfieren a tubos de ensayo limpios, que contienen  
30 vehículo (1% de DMSO en medio de cultivo que contiene 0,1% de FBS) o concentraciones variables de un compuesto de interés, y se incuban a temperatura ambiente durante al menos 30 minutos. El ensayo de quimiotaxia se lleva a cabo en placas de 96 pocillos CHEMO TX 101-8 (Neuro Probe, Inc.; Gaithersburg, MD). Los pocillos inferiores de la placa se llenan con medio que contiene 0,10 nM de C5a, derivado preferiblemente de la misma especie de mamífero que los neutrófilos u otras células (por ejemplo, C5a humano para células U937 humanas). Los pocillos superiores de la placa se llenan con suspensiones celulares (tratadas con compuesto o con vehículo). La placa se coloca entonces en una incubadora de cultivo tisular durante 60 minutos. La superficie superior de la placa se lava con PBS para eliminar la suspensión celular en exceso. Entonces se determina el número de células que han migrado al pocillo inferior usando un lector de fluorescencia. Entonces se calcula el índice de quimiotaxia (la relación de células migradas a número total de células cargadas) para cada concentración de compuesto, para  
40 determinar un valor de  $\text{EC}_{50}$ .

45 Como control para asegurar que las células retienen la capacidad quimiotáctica en presencia del compuesto de interés, los pocillos inferiores de la placa se pueden llenar con concentraciones variables de quimioatrayentes que no median la quimiotaxia vía el receptor de C5a, tal como suero activado con zimosano (ZAS), N-formilmetil-leucil-fenilalanina (FMLP) o leucotrieno B4 (LTB4), en lugar de C5a, en condiciones en las cuales los compuestos proporcionados aquí no inhiben preferiblemente de forma detectable la quimiotaxia. Los moduladores del receptor de C5a preferidos muestran valores de  $\text{EC}_{50}$  menores que  $1 \mu\text{M}$  en el ensayo anterior para quimiotaxia mediada por C5a.

**EJEMPLO 12. EXPRESIÓN DE UN RECEPTOR DE C5A**

Un ADNc de receptor de C5a humano se obtiene mediante PCR usando 1) un cebador directo que añade un sitio de unión a ribosoma de Kozak, y 2) un cebador inverso que no añade secuencia adicional, y 3) una alícuota de una librería de ADNc de cerebro fetal humano de Stratagene como molde. La secuencia del producto de PCR resultante se describe en la Solicitud Internacional PCT WO 02/49993 como SEC ID NO: 1. El producto de la PCR se subclona en el vector de clonación pCR-Script AMP (STRATAGENE, La Jolla, CA) en el sitio Srf I. Entonces se corta usando las enzimas de restricción EcoRI y NotI y se subclona en la orientación apropiada para la expresión en el vector de expresión baculovírico vector pBacPAK 9 (CLONTECH, Palo Alto, CA) que se ha digerido con EcoRI y NotI.

**EJEMPLO 13. PREPARACIONES BACULOVÍRICAS PARA LA EXPRESIÓN DE C5A**

El vector de expresión baculovírico del receptor de C5a humano (hC5a) se cotransfecta junto con BACULOGOLD DNA (BD PharMingen, San Diego, CA) en células Sf9. El sobrenadante del cultivo de células Sf9 se cosecha tres días después de la transfección. El sobrenadante que contiene el virus recombinante se diluye en serie en medio de insecto de Hink TNM-FH (JRH Biosciences, Kansas City) suplementado con sales de Grace y con 4,1 mM de L-Gln, 3,3 g/l de LAH, 3,3 g/l de yeastolate ultrafiltrado y 10% de suero fetal bovino inactivado por calor (en lo sucesivo "medio de insecto"), y se ensayó en placa en busca de placas recombinantes. Después de cuatro días, las placas recombinantes se seleccionan y se cosechan en 1 ml de medio de insecto, para la amplificación. Cada volumen de 1 ml de baculovirus recombinante (en la pasada o) se usa para infectar un matraz T25 separado que contiene  $2 \times 10^6$  células Sf9 en 5 ml de medio de insecto. Después de cinco días de incubación a 27°C, el medio sobrenadante se cosecha de cada una de las infecciones T25 para uso como inóculo de pasada 1.

Entonces se escogieron dos de siete clones baculovíricos recombinantes para una segunda ronda de amplificación, usando 1 ml del lote de la pasada 1 para infectar  $1 \times 10^8$  células en 100 ml de medio de insecto dividido en 2 matraces T175. Cuarenta y ocho horas después de la infección, el medio de la pasada 2 procedente de cada preparación de 100 ml se cosechó y se ensayó en placas para determinar el título. Los peletes celulares de la segunda ronda de amplificación se ensayaron para determinar la unión por afinidad como se describe más abajo, para verificar la expresión del receptor recombinante. Entonces se inició una tercera ronda de amplificación usando una multiplicidad de infección de 0,1 para infectar un litro de células Sf9. Cuarenta horas después de la infección, el medio sobrenadante se cosecha para producir un lote baculovírico de pasada 3.

El pelete celular que queda se ensaya para determinar la unión por afinidad usando el protocolo de DeMartino et al. (1994) J. Biol. Chem. 269(20):14446-14450 (ensayos de unión en la página 14447), adaptados según lo siguiente. El radioligando es 0,005-0,500 nM de [<sup>125</sup>I]C5a (recombinante humano) (New England Nuclear Corp., Boston, MA); las células baculovíricas que expresan el receptor de hC5a se usan en lugar de las células 293; el tampón de ensayo contiene 50 mM de Hepes pH 7,6, 1 mM de CaCl<sub>2</sub>, 5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,1% de BSA, pH 7,4, 0,1 mM de bacitracina, y 100 KIU/ml de aprotinina; la filtración se lleva a cabo usando filtros de GF/C WHATMAN (preempapados en 1,0% de polietilenimina durante 2 h antes del uso); y los filtros se lavaron dos veces con 5 ml de tampón de unión frío sin BSA, bacitracina, o aprotinina.

El título del lote baculovírico de la pasada 3 se determina mediante ensayo en placa y se lleva a cabo un experimento de ensayo de unión, de multiplicidad de infección, de transcurso de tiempo de incubación, para determinar las condiciones para la expresión óptima del receptor.

Una multiplicidad de infección de 0,1 y un período de incubación de 72 h fueron los mejores parámetros de infección encontrados para la expresión del receptor de hC5a en cultivos de infección de células Sf9 de 1 litro.

**EJEMPLO 14. INFECCIONES BACULOVÍRICAS**

Se infectaron células Sf9 (INVITROGEN Corp., Carlsbad CA), de fase logarítmica con uno o más lotes de baculovirus recombinante, seguido del cultivo en medio de insecto a 27°C. Las infecciones se llevaron a cabo sólo con virus que dirige la expresión del receptor de hC5a o con este virus en combinación con tres lotes de virus de la expresión de la subunidad de proteína G: 1) lote de virus que codifica proteína G GO<sub>12</sub> de rata (BIOSIGNAL #V5J008), 2) lote de virus que codifica proteína G b1 bovina (BIOSIGNAL #V5H012), y 3) lote de virus que codifica proteína G g2 humana (BIOSIGNAL #V6B003), que se puede obtener de BIOSIGNAL Inc., Montreal.

Las infecciones se llevaron a cabo convenientemente a una multiplicidad de infección de 0,1:1,0:0,5:0,5. A las 72 h después de la infección, se analizó una muestra de suspensión celular para determinar la viabilidad mediante exclusión de colorante de azul de tripán, y las células Sf9 que quedan se cosecharon vía centrifugación (3000 rpm/10 min./4°C).

**EJEMPLO 15. MEMBRANAS CELULARES DE INSECTOS RECOMBINANTES PURIFICADAS**

Se resuspendieron peletes de células Sf9 en tampón de homogeneización (10 mM de HEPES, 250 mM de sacarosa, 0,5 mg/ml de leupeptina, 2 mg/ml de aprotinina, 200 mM de PMSF, y 2,5 mM de EDTA, pH 7,4) y se homogeneizaron usando un homogeneizador POLYTRON (ajuste 5 durante 30 segundos). El homogenado se centrifugó (536 x g/10 min./4°C) para peletizar los núcleos. El sobrenadante que contiene membranas aisladas se

decantó a un tubo de centrifugadora limpio, se centrifugó (48.000 x g/30 min., 4°C) y el pelete resultante se resuspendió en 30 ml de tampón de homogeneización. Esta etapa de centrifugación y resuspensión se repitió dos veces. El pelete final se resuspendió en PBS de Dulbecco enfriado con hielo, que contiene 5 mM de EDTA, y se almacenó en alícuotas congeladas a -80°C hasta que se necesitaron. La concentración de proteína de la preparación de membrana resultante (en lo sucesivo "membranas P2") se midió convenientemente usando un ensayo de proteína Bradford (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). Mediante esta medida, un cultivo de 1 litro de células produce típicamente 100-150 mg de proteína de membrana total.

#### EJEMPLO 16. ENSAYOS DE UNIÓN DE RADIOLIGANDO

Las membranas P2 purificadas, preparadas mediante el método dado anteriormente, se resuspendieron mediante homogeneización Dounce (mano de mortero apretado) en tampón de unión (50 mM de Hepes pH 7,6, 120 nM de NaCl, 1 mM de CaCl<sub>2</sub>, 5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,1% de BSA, pH 7,4, 0,1 mM de bacitracina, 100 KIU/ml de aprotinina).

Para ensayos de unión de saturación, se añadieron membranas (5-50 µg) a tubos de polipropileno que contienen 0,005-0,500 nM de [<sup>125</sup>I]C5a (humano (recombinante), New England Nuclear Corp., Boston, MA) con un volumen de ensayo final de 0,25 ml. La unión no específica se determina en presencia de 300 nM de hC5a (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), y da cuenta de menos de 10% de la unión total. Para la evaluación de los efectos del nucleótido guanina sobre la afinidad del receptor, se añade GTPγS a tubos duplicados a la concentración final de 50 µM.

Para el análisis de competición, se añadieron membranas (5-50 µg) a tubos de polipropileno que contienen 0,030 nM de [<sup>125</sup>I]C5a (humano). Se añaden desplazadores no radiomarcados a ensayos separados a concentraciones que oscilan desde 10<sup>-10</sup> M hasta 10<sup>-5</sup> M, para producir un volumen final de 0,250 ml. La unión no específica se determina en presencia de 300 nM de hC5a (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) y da cuenta de menos de 10% de la unión total. Tras una incubación de 2 h a temperatura ambiente, la reacción se termina mediante filtración a vacío rápida. Las muestras se filtran sobre filtros de GF/C WHATMAN preempapados (en 1,0% de polietilimina durante 2 h antes del uso), y se aclararon 2 veces con 5 ml de tampón de unión frío sin BSA, bacitracina, o aprotinina. La radioactividad unida que queda se cuantificó mediante recuento gamma. K<sub>i</sub> y el coeficiente de Hill ("nH") se determinan mediante ajuste de la ecuación de Hill a los valores medidos, con la ayuda de software SIGMAPLOT.

#### EJEMPLO 17. UNIÓN DE GTP INDUCIDA POR AGONISTA

La actividad de unión de GTP-gamma<sup>35</sup>S ("unión de GTP") estimulada por agonista se puede usar para identificar compuestos agonistas y antagonistas y para diferenciar compuestos antagonistas neutros de aquellos que poseen actividad agonista inversa. Esta actividad también se puede usar para detectar agonismo parcial mediado por compuestos antagonistas. Un compuesto que se analiza en este ensayo se denomina aquí como un "compuesto de ensayo". La actividad de unión de GTP estimulada por agonista se mide según lo siguiente: se usan cuatro lotes baculovíricos independientes (uno que dirige la expresión del receptor de hC5a y tres que dirigen la expresión de cada una de las tres subunidades de una proteína G heterotrimérica) para infectar un cultivo de células Sf9 como se describe anteriormente.

La unión de GTP estimulada por agonista en membranas purificadas (preparadas como se describe anteriormente) se evalúa usando como agonista hC5a (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, USA) a fin de averiguar que la combinación o combinaciones de receptor/proteína G alfa-beta-gamma produce una respuesta funcional según se mide mediante la unión de GTP.

Se resuspendieron membranas P2 mediante homogeneización Dounce (mano de mortero apretado) en tampón de ensayo de unión de GTP (50 mM de Tris pH 7,0, 120 mM de NaCl, 2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 2 mM de EGTA, 0,1% de BSA, 0,1 mM de bacitracina, 100 KIU/ml de aprotinina, 5 mM de GDP) y se añadieron a tubos de reacción a una concentración de 30 µg de proteína/tubo de reacción. Después de añadir dosis crecientes del agonista hC5a a concentraciones que oscilan desde 10<sup>-12</sup> M hasta 10<sup>-6</sup> M, se iniciaron las reacciones mediante la adición de 100 pM de GTPgamma<sup>35</sup>S con un volumen de ensayo final de 0,25 ml. En experimentos de competición, los compuestos de ensayo no radiomarcados (por ejemplo, compuestos de Fórmula I) se añaden a ensayos separados a concentraciones que oscilan desde 10<sup>-10</sup> M hasta 10<sup>-5</sup> M junto con 10 mM de hC5a, para producir un volumen final de 0,25 ml.

Los antagonistas neutros son aquellos compuestos de ensayo que reducen la actividad de unión de GTP estimulada por C5a con respecto, pero no por debajo de, la línea base (el nivel de GTP unido mediante membranas en este ensayo en ausencia de C5a añadido u otro agonista y en ausencia adicional de cualquier compuesto de ensayo).

Por el contrario, en ausencia de C5a añadido, ciertos compuestos preferidos reducen por debajo de la línea base la actividad de unión de GTP de las membranas que contienen el receptor, y de este modo se caracterizan como agonistas inversos. Si un compuesto de ensayo que presenta actividad antagonista no reduce la actividad de unión de GTP por debajo de la línea base en ausencia del agonista C5a, se caracteriza como un antagonista neutro.

Un compuesto de ensayo antagonista que eleva la actividad de unión de GTP por encima de la línea base en ausencia de hC5a añadido se caracteriza en este ensayo por tener actividad agonista parcial. Los compuestos antagonistas preferidos proporcionados aquí no elevan la actividad de unión de GTP en tales condiciones más de

10% por encima de la línea base, preferiblemente no más de 5% por encima de la línea base, y lo más preferible no más de 2% por encima de la línea base.

5 Tras una incubación de 60 minutos a temperatura ambiente, las reacciones se terminan mediante filtración a vacío sobre filtros de GF/C (preempapados en tampón de lavado, 0,1% de BSA) seguido del lavado con tampón de lavado enfriado con hielo (50 mM de Tris pH 7,0, 120 mM de NaCl). La cantidad de GTPgamma<sup>35</sup>S unido al receptor (y de ese modo unido a la membrana) se determina midiendo la radioactividad unida, preferiblemente mediante espectrometría de centelleo de líquidos de los filtros lavados. La unión no específica se determina usando 10 mM de GTPgammaS, y representa típicamente menos de 5 por ciento de la unión total. El dato se expresa como porcentaje por encima del basal (línea base). Los resultados de estos experimentos de unión de GTP se analizan usando el software SIGMAPLOT (SPSS Inc., Chicago, IL).

### EJEMPLO 18. ENSAYOS DE MOVILIZACIÓN DE CALCIO

#### A. Respuesta a C5a

15 Se hicieron crecer células U937 en medio de diferenciación (1 mM de dibutilil cAMP en medio RPMI 1640 que contiene 10% de suero fetal bovino) durante 48 h a 37°C, y después se volvieron a sembrar en placas de 96 pocillos adecuadas para uso en un lector de placas FLIPR™ (Molecular Devices Corp., Sunnyvale CA). Las células se hicieron crecer 24 h adicionales (hasta 70-90% de confluencia) antes del ensayo. Las células se lavaron entonces una vez con disolución de Krebs Ringer. Se añadió colorante sensible al calcio FLUO-3 (Molecular Probes, Inc. Eugene, OR) a 10 µg/ml y se incubó con las células en disolución de Krebs Ringer a temperatura ambiente durante 1 a 2 h. Las placas de 96 pocillos se lavaron entonces para eliminar el colorante en exceso. Las respuestas de fluorescencia, medidas mediante excitación a 480 nm y emisión a 530 nm, se monitorizan con la adición de C5a humano a las células hasta una concentración final de 0,01-30,0 nM, usando el dispositivo FLIPR™ (Molecular Devices). Las células U937 diferenciadas muestran típicamente señales de 5.000-50.000 unidades de luz fluorescente arbitrarias, en respuesta a la estimulación agonista.

#### B. Ensayos para la determinación de respuestas de ATP

25 Células U937 diferenciadas (preparadas y ensayadas como se describe anteriormente en "A. Respuesta a C5a") se estimulan mediante la adición de ATP (en lugar de C5a) hasta una concentración final de 0,01 a 30 µM. Esta estimulación dispara típicamente una señal de 1.000 a 12.000 unidades de luz de fluorescencia arbitrarias. Ciertos compuestos preferidos producen menos de un 10%, preferiblemente menos de un 5%, y lo más preferible menos de un 2% de alteración de esta señal de movilización de calcio cuando se lleva a cabo este ensayo de control en presencia o ausencia de los compuestos.

#### C. Ensayos para la identificación de agentes moduladores del receptor: Antagonistas y agonistas

Los expertos en la técnica reconocerán que el ensayo de movilización de calcio descrito anteriormente se puede adaptar fácilmente para identificar compuestos de ensayo que tienen actividad agonista o antagonista en el receptor de C5a humano.

35 Por ejemplo, a fin de identificar compuestos antagonistas, se lavaron células U937 diferenciadas y se incubaron con el colorante Fluo-3 como se describe anteriormente. Una hora antes de medir la señal de fluorescencia, se incubó un conjunto de las células con una concentración 1 µM de al menos un compuesto a ensayar. La respuesta de fluorescencia al añadir subsiguientemente 0,3 nM (concentración final) de C5a recombinante humano se monitorizó usando el lector de placas FLIPR™. Los compuestos antagonistas provocan al menos una disminución de dos veces en la respuesta de fluorescencia con relación a aquella medida en presencia de C5a humano solo. Los compuestos antagonistas preferidos provocan al menos una disminución de 5 veces, preferiblemente al menos 10 veces, más preferiblemente al menos 20 veces en la respuesta de la fluorescencia con relación a aquella medida en presencia de C5a humano solo. Los compuestos agonistas provocan un incremento en la fluorescencia sin la adición de C5a, incremento el cual estará al menos parcialmente bloqueado por un antagonista del receptor de C5a conocido.

45 Si se examinan múltiples concentraciones de compuesto antagonista como se describe en el párrafo anterior, se puede determinar la concentración requerida para proporcionar una inhibición del 50% de la respuesta de C5a 0,3 nM (en lo sucesivo denominada como IC<sub>50</sub>). El valor de IC<sub>50</sub> se calcula ajustando el porcentaje de inhibición calculado a partir de las unidades de fluorescencia relativas (RFU), obtenidas en el FLIPR, frente a la concentración de compuesto antagonista a la siguiente ecuación:

$$50 \quad y = m_1 * (1/(1+(m_2/m_0)^{m_3})),$$

en la que y = % de inhibición de la señal inducida por C5a, m<sub>0</sub> = concentración de compuesto antagonista, m<sub>1</sub> = inhibición máxima de la señal inducida por C5a por la concentración más elevada de compuesto antagonista, m<sub>2</sub> = IC<sub>50</sub>, y m<sub>3</sub> = pendiente de Hill. Los datos se ajustan a esta ecuación usando regresión de mínimos cuadrados, para determinar IC<sub>50</sub> y la pendiente de Hill. La K<sub>i</sub> se calcula usando la ecuación de Cheng-Prusoff:

$$55 \quad K_i = IC_{50}/(1+[L]/K_d),$$



en la que  $IC_{50}$  se determina como se describe anteriormente, [L] es la concentración de C5a usada para ensayar la actividad del compuesto antagonista, y  $K_d$  es la constante de disociación de C5a humano recombinante.

**EJEMPLO 19. ENSAYOS PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD AGONISTA DE ANTAGONISTAS DEL RECEPTOR DE C5A DE PEQUEÑA MOLÉCULA**

5 Ciertos compuestos preferidos de Fórmula I son antagonistas del receptor de C5a que no poseen actividad agonista significativa (por ejemplo, mayor que 5%) en ninguno de los ensayos funcionales mediados por C5a explicados aquí. Tal actividad agonista se puede evaluar, por ejemplo, en el ensayo de unión de GTP inducida por C5a dado anteriormente, midiendo la unión de GTP mediada por pequeñas moléculas en ausencia del agonista natural, C5a. De forma similar, en el ensayo de movilización de calcio, tal como el ensayo descrito anteriormente, un compuesto de pequeña molécula se puede evaluar directamente para determinar la capacidad del compuesto para estimular los niveles de calcio en ausencia del agonista natural, C5a. El grado preferido de actividad agonista de C5a mostrado por ciertos compuestos proporcionados aquí es menor que 10%, más preferiblemente menor que 5%, y lo más preferible menor que 2% de la respuesta provocada por el agonista natural, C5a.

**EJEMPLO 20. ENSAYO DE TOXICIDAD DE MDCK**

15 Este Ejemplo ilustra la evaluación de la toxicidad del compuesto usando un ensayo de citotoxicidad de célula de riñón canino de Madin Darby (MDCK).

Se añade 1  $\mu$ l de compuesto de ensayo a cada pocillo de una placa de 96 pocillos de fondo transparente (PACKARD, Meriden, CT) para dar una concentración final de compuesto en el ensayo de 10 micromolar, 100 micromolar o 200 micromolar. A los pocillos de control se añade disolvente sin compuesto de ensayo.

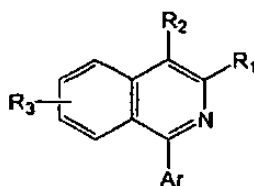
20 Células de MDCK, ATCC nº CCL-34 (American Type Culture Collection, Manassas, VA), se mantienen en condiciones estériles siguiendo las instrucciones en la hoja de información de producción de la ATCC. Las células de MDCK confluentes se tripsinizaron, se cosecharon y se diluyeron hasta una concentración de  $0,1 \times 10^6$  células/ml con medio tibio (37°C) (medio esencial mínimo de Eagle VITACELL, nº de catálogo ATCC 30-2003). Se añadieron a cada pocillo 100  $\mu$ l de células diluidas, excepto para cinco pocillos de control de la curva patrón que contienen 100  $\mu$ l de medio tibio sin células. La placa se incubó entonces a 37°C en 95% de  $O_2$ , 5% de  $CO_2$  durante 2 h con agitación constante. Tras la incubación, se añadieron por pocillo 50  $\mu$ l de disolución de lisis de células de mamífero (disponible como un componente del kit de detección de ATP luminiscente de PACKARD (Meriden, CT) ATP-LITE-M, los pocillos se cubrieron con un adhesivo PACKARD TOPSEAL, y las placas se agitaron a aproximadamente 700 rpm en un agitador adecuado, durante 2 minutos.

30 Los compuestos que provocan toxicidad disminuirán la producción de ATP, con relación a las células no tratadas. El kit de detección de ATP luminiscente de PACKARD ATP-LITE-M, nº de producto 6016941, se usa generalmente según las instrucciones del fabricante para medir la producción de ATP en células de MDCK tratadas y no tratadas. Se dejó que los reactivos de PACKARD ATP-LITE-M se equilibrasen hasta la temperatura ambiente. Una vez equilibrados, se reconstituyó la disolución de sustrato liofilizada en 5,5 ml de disolución de tampón de sustrato (procedente del kit). La disolución estándar de ATP liofilizada se reconstituyó en agua desionizada para dar un lote de 10 mM. Para los cinco pocillos de control, se añadieron 10  $\mu$ l del patrón de PACKARD diluido en serie a cada uno de los pocillos de control de la curva patrón para producir una concentración final en cada pocillo subsiguiente de 200 nM, 100 nM, 50 nM; 25 nM y 12,5 nM. La disolución de sustrato de PACKARD (50  $\mu$ l) se añadió a todos los pocillos, que entonces se cubrieron, y las placas se agitaron a aproximadamente 700 rpm en un agitador adecuado durante 2 min. Al fondo de cada placa se adhirió un trozo de papel adhesivo PACKARD blanco, y las muestras se adaptaron a la oscuridad envolviendo las placas en papel metalizado y colocándolas en la oscuridad durante 10 min. Entonces se midió la luminiscencia a 22°C usando un contador de luminiscencia (por ejemplo, contador de luminiscencia y de centelleo de microplacas PACKARD TOPCOUNT o TECAN SPECTRAFLUOR PLUS), y se calcularon los niveles de ATP a partir de la curva patrón. Los niveles de ATP en las células tratadas con el compuesto o compuestos de ensayo se compararon con los niveles determinados para células no tratadas. Las células tratadas con 10  $\mu$ M de un compuesto de ensayo preferido mostraron niveles de ATP que son al menos 80%, preferiblemente al menos 90%, de las células no tratadas. Cuando se usó una concentración de 100  $\mu$ M del compuesto de ensayo, las células tratadas con compuestos de ensayo preferidos mostraron niveles de ATP que son al menos 50%, preferiblemente al menos 80%, de los niveles de ATP detectados en las células no tratadas.

50

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto según la fórmula I



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que:

5  $R_1$  se selecciona de hidrógeno, alquilo de  $C_1-C_6$ , alquenilo de  $C_2-C_6$ , alquinilo de  $C_2-C_6$ , alcoxi de  $C_1-C_6$ , haloalquilo de  $C_1-C_6$ , haloalcoxi de  $C_1-C_6$ , (cicloalquil  $C_3-C_7$ )-alquilo de  $C_0-C_4$ ;

$R_2$  es  $-(CR_A R_B)OR_4$ ;

10  $R_3$  representa entre 0 y 4 sustituyentes, cada uno de los cuales se selecciona independientemente de halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo opcionalmente sustituido, haloalquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, alcoxi opcionalmente sustituido, haloalcoxi opcionalmente sustituido, hidroxialquilo opcionalmente sustituido, alcoxialquilo opcionalmente sustituido, mono- y di-alquilamino opcionalmente sustituido, aminoalquilo opcionalmente sustituido,  $-E-(CR_C R_D)_m-Z$ , y  $-E-(CR_C R_D)_m-XR_A$ ;

$R_4$  es:

15 (i) alquilo de  $C_2-C_8$ , alquenilo de  $C_2-C_8$ , alquinilo de  $C_2-C_8$ , (cicloalquil  $C_3-C_7$ )-alquilo de  $C_0-C_4$ , mono- o di-(alquil  $C_1-C_4$ -amino)-alquilo de  $C_2-C_4$ , (heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros)-alquilo de  $C_0-C_4$ , aril-alquilo de  $C_0-C_4$ , o (heteroaril)-alquilo de  $C_0-C_4$ , cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de  $R_x$ , alcanoilo de  $C_2-C_4$ , mono- y di-(alquil  $C_1-C_4$ )amino(alquilo de  $C_1-C_4$ ), mono- y di-alquil  $C_1-C_4$ -amino(alcoxi de  $C_1-C_4$ ), (heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros)alquilo de  $C_0-C_4$  y  $XR_y$ ; o

20 (ii) se une a  $R_5$  para formar, con el nitrógeno al que están unidos  $R_4$  y  $R_5$ , un heterociclo que tiene de 1 a 3 anillos, 5 a 7 miembros anulares en cada anillo, en el que el heterociclo está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de  $R_x$ , oxo y  $W-Z$ ;

$R_5$  es:

(i) hidrógeno;

25 (ii) alquilo de  $C_1-C_6$ , alquenilo de  $C_2-C_6$ , alquinilo de  $C_2-C_6$ , (carbociclo  $C_3-C_7$ )-alquilo de  $C_0-C_4$ , cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo de  $C_1-C_4$ , alcoxi de  $C_1-C_4$ , metilamino, dimetilamino, trifluorometilo y trifluorometoxi; o

30 (iii) está unido a  $R_4$  para formar, con el nitrógeno al que están unidos  $R_5$  y  $R_4$ , un heterociclo que tiene de 1 a 3 anillos, 5 a 7 miembros anulares en cada anillo, en el que el heterociclo está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de  $R_x$ , oxo y  $W-Z$ ;

Ar es fenilo mono-, di- o tri-sustituido, naftilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido, en el que Ar es heteroarilo opcionalmente sustituido cuando  $R_2$  es  $-NR_4R_5$ ;

35  $R_A$ ,  $R_{A'}$  y  $R_B$ , que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan independientemente en cada caso de: (i) hidrógeno e hidroxilo, y (ii) grupos alquilo, grupos cicloalquilo, y grupos (cicloalquil)alquilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyente(s) seleccionado(s) independientemente de oxo, hidroxilo, halógeno, ciano, amino, alcoxi de  $C_{1-6}$ ,  $-NH$ (alquilo de  $C_{1-6}$ ),  $-N$ (alquilo de  $C_{1-6}$ )(alquilo de  $C_{1-6}$ ),  $-NHC(=O)$ (alquilo de  $C_{1-6}$ ),  $-N$ (alquilo de  $C_{1-6}C(=O)$ (alquilo de  $C_{1-6}$ ),  $-NHS(O)_n$ (alquilo de  $C_{1-6}$ ),  $-S(O)_n$ (alquilo de  $C_{1-6}$ ),  $-S(O)_nNH$ (alquilo de  $C_{1-6}$ ),  $-S(O)_nN$ (alquilo de  $C_{1-6}$ )(alquilo de  $C_{1-6}$ ), y  $Z$ ;

40  $R_x$  se escoge independientemente, en cada caso, de halógeno, hidroxilo, amino, ciano, nitro,  $-COOH$ ,  $-C(=O)NH_2$ , alcoxi  $C_1-C_6$ -carbonilo, mono- y di-(alquil  $C_{1-6}$ )aminocarbonilo, alquilo de  $C_1-C_6$ , alquenilo de  $C_2-C_6$ , alquinilo de  $C_2-C_6$ , mono- y di-(alquil  $C_1-C_6$ )amino, alcoxi de  $C_1-C_6$ , hidroxialquilo de  $C_1-C_2$ , haloalquilo de  $C_1-C_2$ , haloalcoxi de  $C_1-C_2$ , (cicloalquil  $C_3-C_7$ )-alquilo de  $C_0-C_4$ , y  $-S(O)_n$ alquilo de  $C_1-C_6$ ;

$R_y$  es:

(i) hidrógeno; o

(ii) alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>, carbociclo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> o (heterociclo de 3 a 10 miembros)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 6 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub>, oxo, -NH(alcanoilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -N(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alcanoilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -NHS(O<sub>n</sub>)-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -N(S(O<sub>n</sub>)-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)<sub>2</sub>, -S(O<sub>n</sub>)NH-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -S(O<sub>n</sub>)N(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)<sub>2</sub>;

5 E es un enlace covalente sencillo, oxígeno, o NR<sub>A</sub>;

X se selecciona independientemente, en cada caso, del grupo que consiste en -CH<sub>2</sub>-, -CHR<sub>B</sub>-, -O-, -C(=O)-, -C(=O)O-, -S(O)<sub>n</sub>-, -NH-, -NR<sub>B</sub>-, -C(=O)NH-, -C(=O)NR<sub>B</sub>-, -S(O)<sub>n</sub>NH-, -S(O)<sub>n</sub>NR<sub>B</sub>-, -NHC(=O)-, -NR<sub>B</sub>C(=O)-, -NHS(O)<sub>n</sub>-, y -NR<sub>B</sub>S(O)<sub>n</sub>-;

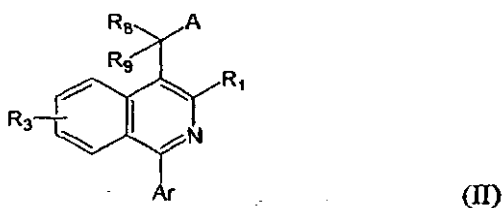
10 Y y Z se seleccionan independientemente, en cada caso, de grupos carbocíclico o heterocíclico de 3 a 7 miembros, que están saturados, insaturados o son aromáticos, que están opcionalmente sustituidos con uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, oxo, hidroxilo, amino, ciano, alquilo de C<sub>1-4</sub>, -O(alquilo de C<sub>1-4</sub>), -NH(alquilo de C<sub>1-4</sub>), -N(alquilo de C<sub>1-4</sub>)(alquilo de C<sub>1-4</sub>), y -S(O)<sub>n</sub>(alquilo);

15 Q es un grupo carbocíclico opcionalmente sustituido o un grupo heterocíclico opcionalmente sustituido, que está saturado, insaturado o es aromático, y comprende entre 3 y 18 átomos anulares dispuestos en 1, 2 ó 3 anillos que están condensados, en espiro o acoplados mediante un enlace;

m se selecciona independientemente en cada caso de números enteros que oscilan de 0 a 8; y

n es un número entero seleccionado independientemente en cada caso de 0, 1, y 2.

2. Un compuesto según la Fórmula II:



20 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que:

Ar es fenilo sustituido, naftilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido;

A es OR<sub>4</sub>;

R<sub>1</sub> se escoge de hidrógeno, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o (cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>;

25 R<sub>3</sub> representa entre 0 y 4 sustituyentes, cada uno de los cuales se selecciona independientemente de hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo opcionalmente sustituido, alqueno opcionalmente sustituido, alquino opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, alcoxi opcionalmente sustituido, alcoxialquilo opcionalmente sustituido, hidroxialquilo opcionalmente sustituido, mono- y di-alquilamino opcionalmente sustituido, aminoalquilo opcionalmente sustituido, cicloalquiloxi opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, arilalquilo opcionalmente sustituido, ariloxi opcionalmente sustituido, arilalquiloxi opcionalmente sustituido, heterociclo opcionalmente sustituido, heterociclo-oxi opcionalmente sustituido, -E-(CR<sub>C</sub>R<sub>D</sub>)<sub>m</sub>-Z, o -E-(CR<sub>C</sub>R<sub>D</sub>)<sub>m</sub>-XR<sub>A</sub>;

R<sub>4</sub> es:

35 (i) alquilo de C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, (cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, mono- o di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-amino)alquilo de C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, (heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros)alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, aril-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, o heteroaril-alquilo de C<sub>0-4</sub>, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub>, alcanoilo de C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-amino(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), mono- y di-alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-amino(alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), (heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros)alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> y XR<sub>y</sub>; o

40 (ii) está unido a R<sub>5</sub> para formar, con el nitrógeno al que están unidos R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub>, un heterociclo que tiene 1 a 3 anillos, 5 a 7 miembros anulares en cada anillo, en el que el heterociclo está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub>, oxo y W-Z;

R<sub>5</sub> es:

(i) hidrógeno;

(ii) alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, (carbociclo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, metilamino, dimetilamino, trifluorometilo y trifluorometoxi; o

(iii) está unido a R<sub>4</sub> para formar un heterociclo opcionalmente sustituido;

5 R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se seleccionan independientemente de:

(i) hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-amino o cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>;

E es un enlace covalente sencillo, oxígeno, o NR<sub>A</sub>;

X es un enlace covalente sencillo, -CR<sub>A</sub>R<sub>B</sub>-, -O-, -C(=O)-, -C(=O)O-, -S(O)<sub>n</sub>- o -NR<sub>B</sub>-; y

10 R<sub>y</sub> es:

(i) hidrógeno; o

(ii) alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>, carbociclo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> o (heterociclo de 3 a 10 miembros)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 6 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub>, oxo, -NH(alcanoilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -N(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alcanoilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -NHS(O<sub>n</sub>)-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -N(S(O<sub>n</sub>))alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -S(O<sub>n</sub>)NH-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y -S(O<sub>n</sub>)N(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)<sub>2</sub>;

15

W es un enlace covalente sencillo, -CR<sub>A</sub>R<sub>B</sub>-, -NR<sub>B</sub>- u -O-;

Z se selecciona independientemente, en cada caso, de carbociclos y heterociclos de 3 a 7 miembros, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, oxo, -COOH, hidroxilo, amino, ciano, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)amino y -S(O<sub>n</sub>)-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y

20

R<sub>A</sub> y R<sub>B</sub> se seleccionan, en cada caso, de:

(i) hidrógeno; y

(ii) alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>, (carbociclo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> saturado o parcialmente saturado y (heterociclo de 3 a 10 miembros)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> saturado o parcialmente saturado, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 6 sustituyentes seleccionados independientemente de oxo, hidroxilo, halógeno, ciano, amino, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)amino, -COOH, -C(=O)NH<sub>2</sub>, -NHC(=O)(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -N(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)C(=O)(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -NHS(O<sub>n</sub>)-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, SO<sub>3</sub>H, -S(O<sub>n</sub>)alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -S(O<sub>n</sub>)NH-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -S(O<sub>n</sub>)N(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y Z;

25

R<sub>C</sub> y R<sub>D</sub> se seleccionan independientemente de R<sub>A</sub>, hidroxilo, alcoxi de C<sub>1</sub>-6, y oxo;

30

R<sub>x</sub> se escoge independientemente, en cada caso, de halógeno, hidroxilo, amino, ciano, nitro, -COOH, -C(=O)NH<sub>2</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-carbonilo, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-6)aminocarbonilo, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)amino, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxialquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>, haloalcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>, (cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, y -S(O<sub>n</sub>)alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

m es un número entero seleccionado independientemente en cada caso de 0-8; y

35

n es un número entero seleccionado independientemente en cada caso de 0, 1 y 2.

3. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 2, en el que:

A es OR<sub>4</sub>; y

R<sub>4</sub> es alquilo de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, fenil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, naftil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, piridil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, pirimidinil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, tienil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, imidazolil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> o pirrolil-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)amino(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), mono- y di-alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-amino(alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), (heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros)alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> y alcanoilo de C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>.

40

4. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 3, en el que R<sub>4</sub> es fenilo, bencilo, piridilo o piridilmetilo, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub>, mono- y di-alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-amino(alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>), mono- y di-alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-amino(alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), (heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros)alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> y alcanoilo de C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>.

45

5. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 3, en el que:

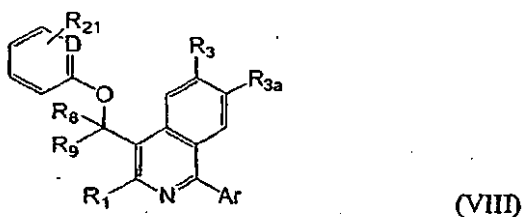
R<sub>1</sub> es hidrógeno, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, (cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>;

R<sub>3</sub> representa entre 0 y 2 sustituyentes, cada uno de los cuales se selecciona independientemente de alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)amino, (amino)alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>;

- 5 R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se escogen independientemente hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, (cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub> y alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y

Ar es fenilo mono-, di-, o tri-sustituido, o 1-naftilo, 2-naftilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridazinilo, tienilo, tiazolilo, pirazolilo, imidazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, pirrolilo, furanilo, indolilo, indazolilo y triazolilo, cada uno de los cuales está opcionalmente mono-, di-, o tri-sustituido.

- 10 6. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 3, en el que el compuesto tiene la fórmula:



en la que:

D es CH o N;

- 15 R<sub>3</sub> y R<sub>3a</sub> se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, COOH, CONH<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, hidroxilo, halógeno, y amino;

R<sub>21</sub> representa de 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub> y LR<sub>d</sub>; o dos grupos R<sub>21</sub> adyacentes están unidos para formar un anillo carbocíclico o heterocíclico de 5 a 7 miembros condensado, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub>;

- 20 L es un enlace covalente sencillo o -CH<sub>2</sub>-; y

R<sub>d</sub> es piperazinilo, morfolinilo, piperidinilo o pirrolidinilo.

7. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 6, en el que:

R<sub>21</sub> representa de 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R<sub>x</sub> y LR<sub>d</sub>;

- 25 R<sub>1</sub> es hidrógeno, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, haloalcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o (cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>;

R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, (cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> y alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y

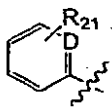
- 30 Ar es fenilo que está mono-, di-, o tri-sustituido, o 1-naftilo, 2-naftilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridazinilo, tienilo, tiazolilo, pirazolilo, imidazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, pirrolilo, furanilo, indolilo, indazolilo, y triazolilo, cada uno de los cuales está opcionalmente mono-, di-, o tri-sustituido.

8. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 2, 3 ó 6, en el que Ar es fenilo que está mono-, di- o tri-sustituido, naftilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido.

- 35 9. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 8, en el que Ar es fenilo mono-, di-, o tri-sustituido, o Ar es 1-naftilo, 2-naftilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridazinilo, tienilo, tiazolilo, pirazolilo, imidazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, indazolilo, pirrolilo, furanilo, o triazolilo, cada uno de los cuales está opcionalmente mono-, di-, o tri-sustituido.

- 40 10. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 8, en el que Ar es fenilo sustituido con 1 y 3 restos seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, alquino de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, alcoxi de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, (alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, (amino)-alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)amino opcionalmente sustituido.

11. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 6, en el que el grupo designado:



5 se selecciona de naftilo, tetrahidronaftilo, benzofuranilo, benzodioxolilo, indanilo, indolilo, indazolilo, benzodioxolilo, benzo[1,4]dioxanilo y benzoxazolilo, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de  $R_x$ .

12. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 2, en el que  $R_3$  está ausente.

10 13. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 2, en el que  $R_1$  es hidrógeno, alquilo de  $C_1-C_6$ , alquenilo de  $C_2-C_6$ , alquinilo de  $C_2-C_6$ , alcoxi de  $C_1-C_6$ , haloalquilo de  $C_1-C_6$ , haloalcoxi de  $C_1-C_6$ , (cicloalquil  $C_3-C_7$ )-alquilo de  $C_0-C_4$ .

14. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 13, en el que  $R_1$  es hidrógeno, alquilo de  $C_1-C_4$  o alcoxi de  $C_1-C_4$ .

15 15. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 14, en el que  $R_1$  es hidrógeno, metilo, etilo o metoxi.

16. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 2, en el que  $R_3$  representa entre 0 y 2 sustituyentes, cada uno de los cuales se selecciona independientemente de alquilo de  $C_{1-6}$ , alcoxi de  $C_{1-6}$ , haloalquilo de  $C_{1-6}$ , haloalcoxi de  $C_{1-6}$ , mono- y di-(alquil  $C_{1-6}$ )amino, (amino)alquilo de  $C_{0-6}$ .

20 17. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 16, en el que  $R_3$  representa entre 0 y 2 sustituyentes, cada uno de los cuales se selecciona independientemente de alquilo de  $C_{1-6}$ , y alcoxi de  $C_{1-6}$ .

18. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 2, en el que

$R_4$  es:

25 (i) alquilo de  $C_2-C_8$ , alquenilo de  $C_2-C_8$ , alquinilo de  $C_2-C_8$ , (cicloalquil  $C_3-C_7$ )-alquilo de  $C_0-C_4$ , mono- o di-(alquil  $C_1-C_4$ amino)-alquilo de  $C_2-C_4$ , (heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros)-alquilo de  $C_0-C_4$ , fenil-alquilo de  $C_0-C_4$ , piridil-alquilo de  $C_0-C_4$ , pirimidinil-alquilo de  $C_0-C_4$ , tienil-alquilo de  $C_0-C_4$ , imidazolil-alquilo de  $C_0-C_4$ , pirrolil-alquilo de  $C_0-C_4$ , pirazolil-alquilo de  $C_0-C_4$ , benzoisotiazolilo o tetrahidronaftilo, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de  $R_x$ , alcanilo de  $C_2-C_4$ , mono- y di-(alquil  $C_1-C_4$ )-amino-alquilo de  $(C_1-C_4)$ , mono- y di-alquil  $C_1-C_4$ -amino(alcoxi de  $C_1-C_4$ ), (heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros)-alquilo de  $C_0-C_4$  y  $XR_y$ ; o

30 (ii) está unido a  $R_5$  para formar, con el nitrógeno al que están unidos  $R_4$  y  $R_5$ , un heterociclo que tiene de 1 a 3 anillos, 5 a 7 miembros anulares en cada anillo, en el que el heterociclo está sustituido con 0 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de  $R_x$ , oxo y  $W-Z$ ; y

$R_5$  es:

35 (i) hidrógeno;

(ii) alquilo de  $C_1-C_6$ , alquenilo de  $C_2-C_6$ , alquinilo de  $C_2-C_6$ , o (carbociclo  $C_3-C_7$ )-alquilo de  $C_0-C_4$ , cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo de  $C_1-C_4$ , alcoxi de  $C_1-C_4$ , metilamino, dimetilamino, trifluorometilo y trifluorometoxi; o

(iii) está unido a  $R_4$  para formar un heterociclo opcionalmente sustituido.

40 19. Un compuesto o sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, en el que el compuesto muestra una  $IC_{50}$  de 500 nM o menos en un ensayo de quimiotaxia mediada por el receptor de  $C5a$  *in vitro* o un ensayo de movilización de calcio.

20. Un compuesto o sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, en el que el compuesto muestra menos de 5% de actividad agonista en un ensayo de unión de GTP.

45 21. Una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto o sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, en combinación con un vehículo o excipiente fisiológicamente aceptable.

22. Una composición farmacéutica según la reivindicación 21, en la que la composición farmacéutica se formula

como un fluido inyectable, un aerosol, una crema, un gel, una pastilla, una cápsula, un jarabe, o un parche transdérmico.

23. Un compuesto o sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, para uso en la inhibición de la actividad transductora de señales de un receptor de C5a celular.

5 24. Un método para inhibir la unión de C5a al receptor de C5a *in vitro*, comprendiendo el método poner en contacto el receptor de C5a con al menos un compuesto o sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 en condiciones y en una cantidad suficiente para inhibir de forma detectable la unión de C5a al receptor de C5a.

25. Un uso de un compuesto o sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una afección sensible a la modulación del receptor de C5a.

10 26. El uso según la reivindicación 25, en el que la afección es apoplejía, infarto de miocardio, aterosclerosis, cardiopatía isquémica, fibrosis, fibrosis cardíaca, o lesión por isquemia-reperfusión, fibrosis cística, o inflamación.

27. Un compuesto o sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, para uso en la inhibición de quimiotaxia celular mediada por el receptor de C5a.

28. Un método para localizar el receptor de C5a en una muestra tisular, que comprende:

15 (a) poner en contacto la muestra de tejido que contiene el receptor de C5a con un compuesto marcado de forma detectable según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 en condiciones que permitan la unión del compuesto a receptores de C5a; y

(b) detectar el compuesto unido.

29. Un método según la reivindicación 28, en el que el compuesto está radiomarcado.

20 30. Una preparación farmacéutica envasada, que comprende:

(a) una composición farmacéutica según la reivindicación 22 en un recipiente; y

(b) instrucciones para usar la composición para tratar a un paciente que sufre inflamación, o instrucciones para usar la composición para tratar a un paciente que sufre artritis reumatoide, psoriasis, cardiopatía, lesión por reperfusión, o asma bronquial, o instrucciones para usar la composición para tratar apoplejía, infarto de miocardio, aterosclerosis, cardiopatía isquémica, o lesión por isquemia-reperfusión.

25