

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 389 063**

51 Int. Cl.:
C07D 495/04 (2006.01)
C07D 513/04 (2006.01)
A61K 31/4365 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61P 7/06 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08767502 .1**
96 Fecha de presentación: **29.04.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2150251**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **10.02.2010**

54 Título: **Derivados de tienopiridina y tiazolopiridina que inhiben la actividad proil hidroxilasa**

30 Prioridad:
04.05.2007 US 927772 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
22.10.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
22.10.2012

73 Titular/es:
AMGEN, INC (100.0%)
ONE AMGEN CENTER DRIVE
THOUSAND OAKS, CALIFORNIA 9132, US

72 Inventor/es:
ALLEN, JENNIFER R.;
BURLI, ROLAND;
FROHN, MICHAEL J.;
HUNGATE, RANDALL W.;
NEIRA, SUSANA C. y
REED, ANTHONY B.

74 Agente/Representante:
MILTENYI, Peter

ES 2 389 063 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

Derivados de tienopiridina y tiazolopiridina que inhiben la actividad proil hidroxilasa

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a compuestos que pueden inhibir proil hidroxilasas tales como HIF proil hidroxilasas, a compuestos que modulan los niveles de HIF, a compuestos que estabilizan HIF, a composiciones que comprenden los compuestos y a métodos para su uso para controlar los niveles de HIF. Los compuestos y las composiciones pueden usarse para tratar enfermedades o estados modulados por HIF tales como isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer y trastornos inflamatorios.

10 Antecedentes de la invención

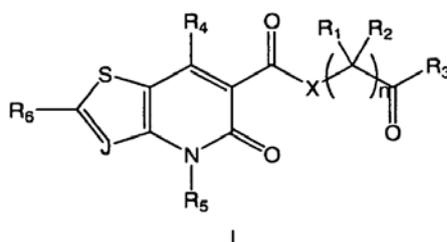
El factor de transcripción celular HIF (factor inducible por hipoxia) ocupa una posición central en la homeostasis del oxígeno en una amplia gama de organismos y es un regulador clave de las respuestas a la hipoxia. Los genes regulados por la actividad transcripcional de HIF pueden desempeñar papeles críticos en la angiogénesis, eritropoyesis, producción de hemoglobina F, metabolismo energético, inflamación, función vasomotora, apoptosis y proliferación celular. HIF también puede desempeñar un papel en el cáncer, en el que comúnmente está regulado por incremento, y en las respuestas fisiopatológicas a la isquemia e hipoxia.

15 El complejo transcripcional de HIF comprende un heterodímero $\alpha\beta$: HIF- β es una proteína nuclear constitutiva que se dimeriza con subunidades HIF- α reguladas por oxígeno. La regulación por oxígeno se produce a través de la hidroxilación de las subunidades HIF- α , que entonces se destruyen rápidamente por el proteasoma. En células oxigenadas, la proteína supresora de tumores von Hippel-Lindau (pVHL) se une a subunidades HIF- α hidroxiladas, promoviendo de ese modo su proteólisis dependiente de ubiquitina. Este proceso se suprime en condiciones hipóxicas, estabilizando HIF- α y promoviendo la activación transcripcional mediante el complejo HIF $\alpha\beta$. Véase, por ejemplo, la patente estadounidense 6.787.326. El documento WO2006/094292 describe inhibidores de HIF estructuralmente diferentes de la presente invención.

25 La hidroxilación de subunidades HIF- α puede producirse en residuos de prolina y asparagina y puede estar mediada por una familia de enzimas dependientes de 2-oxoglutarato. Esta familia incluye las isozimas HIF proil hidroxilasa (PHD), que hidroxilan Pro 402 y Pro 564 de HIF1 α humana, así como el factor que inhibe HIF (FIH), que hidroxila Asn 803 de HIF1 α humana. La inhibición de FIH o las PHD conduce a activación transcripcional y estabilización de HIF. Véase, por ejemplo, Schofield y Ratcliffe, Nature Rev. Mol. Cell Biol., vol. 5, páginas 343-354 (2004).

30 Sumario de la invención

En un aspecto, la invención proporciona una composición de materia que incluye al menos un compuesto de fórmula I:



35 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un tautómero del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero; o un solvato del mismo, un éster de alquilo (C₁-C₆) del mismo o una mezcla de cualquiera de los anteriores, en el que:

J se selecciona de CR₇ o N;

n es 1;

R₁ y R₂ se seleccionan independientemente en cada caso de H o de un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono;

40 X se selecciona de -NR_a- o -(CR_bR_c)-, en el que R_a se selecciona de H o un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, y R_b y R_c son H;

R₃ es OH;

R₄ es OH;

R₅ se selecciona de H, bencilo o un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono;

5 R₆ y R₇ se seleccionan independientemente de H, F, Cl, Br, I, alquilo, alquilo sustituido, haloalquilo, perhaloalquilo, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, NR_dR_e, C(O)R₈, C(O)OR₉, OR₉, SR₉, SO₂R₉, CN, NO₂, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo, heteroarilalquilo sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, heterocicilalquilo, heterocicilalquilo sustituido o -Y-R₁₀; o R₆ y R₇ pueden unirse para formar un anillo de 5 ó 6 miembros opcionalmente sustituido cuando J es CR₇, en el que:

Y se selecciona de -N(R₁₁)-Z- o -Z-N(R₁₁)-;

10 Z se selecciona de C(O), SO₂, alqueno, alqueno sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alquino o alquino sustituido;

R₈ se selecciona de H, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo o heteroarilo sustituido;

R₉ se selecciona de H, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino o alquino sustituido;

R₁₀ se selecciona de H, heterociclilo, heterociclilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo o heteroarilo sustituido;

15 R₁₁ se selecciona de H, un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono o un alquilo sustituido de 1 a 6 átomos de carbono; y

R_d y R_e se seleccionan independientemente de H, un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, un alquilo sustituido de 1 a 6 átomos de carbono, un haloalquilo de 1 a 6 átomos de carbono o un haloalquilo sustituido de 1 a 6 átomos de carbono, o R_d y R_e pueden unirse entre sí para formar un anillo de 3 a 6 miembros o un anillo sustituido de 3 a 6 miembros.

20 En algunas realizaciones, X es -(CR_bR_c)-.

En algunas realizaciones en las que X es -(CR_bR_c)-, el valor de Cl₅₀ de CPH1 dividido entre el valor de Cl₅₀ de PHD2 es mayor de 5, mayor de 10, mayor de 15, mayor de 20, mayor de 25 o mayor de 30. En algunas realizaciones de este tipo, el valor de Cl₅₀ de CPH1 dividido entre el valor de Cl₅₀ de PHD2 es mayor de 10.

En algunas realizaciones, R₁ y R₂ no son ambos H si X es -NR_a-; R_a es H.

25 En algunas realizaciones, n es 1, y R₁ y R₂ son ambos H.

En algunas realizaciones, al menos uno de R₁ y R₂ no es H. En algunas realizaciones de este tipo, al menos uno de R₁ y R₂ es un alquilo inferior tal como un alquilo (C₁-C₄). En algunas realizaciones de este tipo, uno de R₁ y R₂ es H y el otro de R₁ y R₂ es un alquilo inferior. En algunas realizaciones de este tipo, al menos uno de R₁ y R₂ es un grupo metilo y en algunas realizaciones de este tipo, el otro de R₁ y R₂ es un grupo metilo.

30 En algunas realizaciones, J es CR₇. En otras realizaciones, J es N.

En algunas realizaciones, R₃ es OH.

En algunas realizaciones, R₄ es OH.

En algunas realizaciones, X es -NR_a-. En algunas realizaciones de este tipo, X es -NH-.

35 En otras realizaciones, X es -(CR_bR_c)-. En algunas realizaciones, R_b y R_c se eligen independientemente de H y alquilo inferior. En algunas realizaciones de este tipo, R_b y R_c se seleccionan independientemente de H y metilo. En algunas realizaciones de este tipo, R_b y R_c son ambos H.

40 En algunas realizaciones, al menos uno de R₆ o R₇ es un grupo arilo sustituido o no sustituido, un heteroarilo sustituido o no sustituido, un cicloalquilo sustituido o no sustituido o un heterociclilo sustituido o no sustituido. En algunas realizaciones de este tipo, al menos uno de R₆ o R₇ es un grupo heterociclilo. En otras realizaciones de este tipo, al menos uno de R₆ o R₇ es un grupo heteroarilo. En otras realizaciones de este tipo, al menos uno de R₆ o R₇ es un grupo fenilo o fenilo sustituido.

45 En algunas realizaciones, al menos uno de R₆ o R₇ se selecciona independientemente de halógeno o un resto sustituido con al menos un halógeno. Por ejemplo, en algunas realizaciones, al menos uno de R₆ o R₇ es haloalquilo. En algunas realizaciones, al menos uno de R₆ o R₇ es un perhaloalquilo. En algunas realizaciones de este tipo, el perhaloalquilo es un grupo perfluoroalquilo tal como CF₃.

En todas las realizaciones, n es 1.

En algunas realizaciones, R₁ y R₂ se eligen independientemente de H y alquilo inferior. En algunas realizaciones de este tipo, R₁ y R₂ son ambos H. Todavía en otras realizaciones de este tipo, X es -(CR_bR_c)- y R_b y R_c se seleccionan

de H y alquilo inferior, y en algunas realizaciones de este tipo R_b y R_c son ambos H. Por tanto, en algunas realizaciones R_1 , R_2 , R_b y R_c son todos H y n es 1.

En algunas realizaciones, J es CR_7 , n es 1; R_1 es H o alquilo inferior; R_2 es H; R_3 es OH; R_4 es OH; X es $-NR_a-$ en el que R_a es H, o X es $-(CR_bR_c)-$ en el que R_b y R_c son ambos H.

5 En algunas realizaciones, J es N, n es 1; R_1 es H o alquilo inferior; R_2 es H; R_3 es OH; R_4 es OH; X es $-NR_a-$ en el que R_a es H, o X es $-(CR_bR_c)-$ en el que R_b y R_c son ambos H.

En algunas realizaciones, R_5 es H. En otras realizaciones, R_5 es un grupo alquilo inferior. En algunas realizaciones de este tipo, R_5 es un metilo.

10 En algunas realizaciones, J es CR_7 y R_6 y R_7 , junto con los átomos de carbono a los que están unidos, se unen para formar un anillo aromático carbocíclico de 6 miembros que puede estar opcionalmente sustituido con hasta tres sustituyentes.

En algunas realizaciones, la composición de materia es una sal. Tales sales pueden ser anhidras o estar asociadas con agua como un hidrato.

15 En algunas realizaciones, la composición de materia es un profármaco. En tales realizaciones, la composición de materia es un éster de alquilo (C_1-C_6) tal como un éster metílico, etílico, propílico, butílico, pentílico o hexílico.

20 Se proporcionan también en el presente documento formulaciones farmacéuticas que incluyen al menos un portador, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento. En tales realizaciones, la composición de materia está presente en una cantidad eficaz para el tratamiento de al menos una enfermedad seleccionada de isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer o un trastorno inflamatorio.

25 Se proporcionan además formulaciones farmacéuticas que incluyen al menos un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en combinación con al menos un compuesto adicional tal como un agente que estimula la eritropoyesis o un agente quimioterapéutico.

Se proporciona adicionalmente un método de aumento o estabilización de los niveles o actividad de HIF en un sujeto administrando al sujeto la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

30 Se ilustra además un método de tratamiento de un estado en el que se desea modular la actividad de HIF que comprende administrar a un sujeto la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento. En algunas realizaciones de este tipo, el estado se selecciona de al menos uno de isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer o un trastorno inflamatorio.

35 Se ilustra también un método de tratamiento de un trastorno relacionado con hipoxia o isquemia en un sujeto que comprende administrar a un sujeto la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

Se ilustra también un método de tratamiento de la anemia en un sujeto que comprende administrar a un sujeto la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

40 Se ilustra además un método de modulación de la cantidad de HIF en una célula que comprende poner en contacto la célula con la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

Se ilustra adicionalmente un método de aumento de la cantidad de hemoglobina F en un sujeto que comprende administrar al sujeto la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

45 Se ilustra también un método de modulación de la angiogénesis en un sujeto que comprende administrar al sujeto la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

50 Se ilustra adicionalmente un método de tratamiento de al menos una enfermedad en un paciente que necesita tal tratamiento que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento. En algunas realizaciones de este tipo, la al menos una enfermedad se selecciona de isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer o un trastorno inflamatorio.

Se ilustra también un método de inhibición de la hidroxilación de HIF en un sujeto que comprende administrar al sujeto la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

En algunas realizaciones, el valor de CI_{50} de la actividad inhibidora de HIF PHD de la composición de materia es de $40 \mu\text{M}$ o menos. En otras realizaciones, el valor de CI_{50} de la actividad inhibidora de HIF PHD de la composición de materia es de $10 \mu\text{M}$ o menos.

5 En algunas realizaciones, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en la preparación de un medicamento.

En algunas realizaciones de este tipo, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en la preparación de un medicamento para aumentar o estabilizar los niveles o actividad de HIF en un sujeto.

10 En algunas realizaciones de este tipo, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en la preparación de un medicamento para tratar un estado en el que se desea modular la actividad de HIF. En algunas realizaciones de este tipo, el estado se selecciona de al menos uno de isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer o un trastorno inflamatorio.

En algunas realizaciones, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en la preparación de un medicamento para tratar un trastorno relacionado con hipoxia o isquemia en un sujeto.

15 En algunas realizaciones, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en la preparación de un medicamento para modular la cantidad de HIF en una célula. En algunas realizaciones, la composición de materia según cualquiera de las realizaciones se usa para modular la cantidad de HIF en una célula.

En algunas realizaciones, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en la preparación de un medicamento para modular la angiogénesis en un sujeto.

20 En algunas realizaciones, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en la preparación de un medicamento para inhibir la hidroxilación de HIF en un sujeto.

En algunas realizaciones, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en la preparación de un medicamento para tratar la anemia.

25 En algunas realizaciones, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en un método para aumentar el nivel de eritropoyetina en la sangre de un sujeto.

Otros objetos, características y ventajas de la invención resultarán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la siguiente descripción y reivindicaciones.

Breve descripción de los dibujos

30 La figura 1 es un gráfico que ilustra la razón de señal de fluorescencia con respecto a fondo generada por la interacción de Eu-VCB con el péptido estreptavidina-APC-hidroxirolil HIF1 α .

Las figuras 2A y 2B son gráficos que ilustran la razón de señal de TR-FRET generada por la interacción de Eu-VCB con el péptido estreptavidina-APC-hidroxirolil HIF1 α con respecto a la señal de fondo generada por la interacción de Eu-VCB con el péptido estreptavidina-APC-HIF1 α (no hidroxilado). La figura 2A ilustra un intervalo de péptido de 0-125 nM y la figura 2B ilustra un intervalo de péptido de 0-10 nM.

35 Las figuras 3A y 3B son gráficos que ilustran la unión a VCB y la detección de TR-FRET para determinar la hidroxilación por HIF PHD2 de un péptido HIF α . La figura 3A ilustra un transcurso de tiempo para la hidroxilación del péptido HIF1 α con cantidades crecientes de enzima HIF PHD2. La figura 3B ilustra las velocidades iniciales con concentraciones de enzima crecientes.

Descripción detallada de la invención

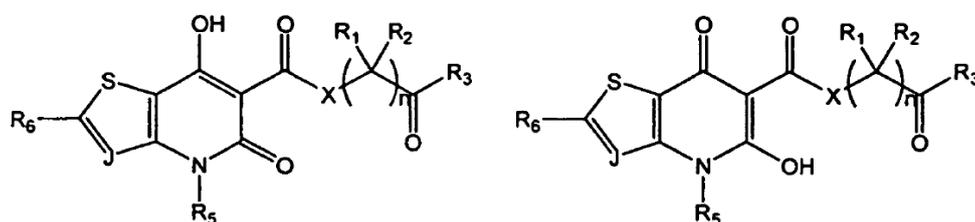
40 A menos que se indique lo contrario, todos los números que expresan cantidades de componentes, condiciones de reacción y así sucesivamente usados en la memoria descriptiva y reivindicaciones, debe entenderse que están modificados en todos los casos mediante el término "aproximadamente". Por consiguiente, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos expuestos en la siguiente memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones que pueden variar dependiendo de la desviación estándar encontrada en sus respectivas mediciones de prueba.

45 Tal como se usa en el presente documento, si cualquier variable aparece más de una vez en una fórmula química, su definición en cada aparición es independiente de su definición en cualquier otra aparición. Si la estructura química y el nombre químico entran en conflicto, la estructura química es determinante de la identidad del compuesto. Los compuestos de la presente descripción pueden contener uno o más centros quirales y/o dobles enlaces y, por tanto, pueden existir como estereoisómeros, tales como isómeros de doble enlace (es decir, isómeros geométricos), enantiómeros o diaestereómeros. Por consiguiente, cualquier estructura química dentro del alcance de la memoria descriptiva representada, en su totalidad o en parte, con una configuración relativa abarca todos los enantiómeros y

estereoisómeros posibles de los compuestos ilustrados incluyendo la forma estereoisoméricamente pura (por ejemplo, geoméricamente pura, enantioméricamente pura o diastereoméricamente pura) y mezclas enantioméricas y estereoisoméricas. Las mezclas enantioméricas y estereoisoméricas pueden resolverse para dar los enantiómeros o estereoisómeros del componente usando técnicas de separación o técnicas de síntesis quiral bien conocidas por el experto en la técnica.

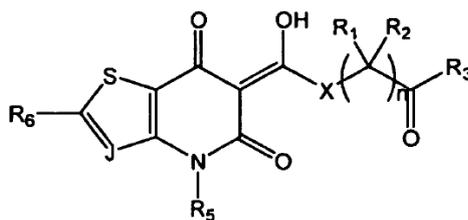
Los compuestos de fórmula I incluyen, pero no se limitan a, isómeros ópticos de compuestos de fórmula I, racematos y otras mezclas de los mismos. En esas situaciones, los enantiómeros o diaestereómeros individuales, es decir, las formas ópticamente activas, pueden obtenerse mediante síntesis asimétrica o mediante resolución de los racematos. La resolución de los racematos puede lograrse, por ejemplo, mediante métodos convencionales tales como cristalización en presencia de un agente de resolución, o cromatografía, usando, por ejemplo una columna de cromatografía de líquidos de alta resolución quiral (HPLC). Además, los compuestos de fórmula I incluyen formas Z y E (o formas cis y trans) de compuestos con dobles enlaces.

Los compuestos de la invención pueden existir en múltiples formas tautoméricas. Estas formas se ilustran a continuación como "Tautómero A", "Tautómero B" y "Tautómero C":



Tautómero A

Tautómero B



Tautómero C

Los compuestos de la invención se representan estructuralmente y se nombran como compuestos en la forma de "Tautómero A". Sin embargo, se contempla específicamente que los compuestos también pueden existir en forma de "Tautómero B" o "Tautómero C" y se considera expresamente que los compuestos en forma de "Tautómero B" o forma de "Tautómero C" u otra forma tautomérica son parte de la invención.

Los compuestos de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, compuestos de fórmula I y todas las formas farmacéuticamente aceptables de los mismos. Las formas farmacéuticamente aceptables de los compuestos mencionados en el presente documento incluyen sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, formas cristalinas (incluyendo polimorfos y clatratos), quelatos, complejos no covalentes, profármacos y mezclas de los mismos. En determinadas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento están en forma de sales farmacéuticamente aceptables. Tal como se usa en el presente documento, el término "compuesto" abarca no sólo el propio compuesto, sino también una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un solvato del mismo, un quelato del mismo, un complejo no covalente del mismo, un profármaco del mismo y mezclas de cualquiera de los anteriores. En algunas realizaciones, el término "compuesto" abarca el propio compuesto, sales farmacéuticamente aceptables del mismo, tautómeros del compuesto, sales farmacéuticamente aceptables de los tautómeros o profármacos de éster tales como ésteres de alquilo (C₁-C₄). En otras realizaciones, el término "compuesto" abarca el propio compuesto, sales farmacéuticamente aceptables del mismo, tautómeros del compuesto, sales farmacéuticamente aceptables de los tautómeros.

Tal como se indicó anteriormente, los profármacos también se encuentran dentro del alcance de entidades químicas, por ejemplo, derivados de éster o amida de los compuestos de fórmula I. El término "profármacos" incluye cualquier compuesto que se convierte en los compuestos de fórmula I cuando se administra a un paciente, por ejemplo, tras el procesamiento metabólico del profármaco. Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, acetato, formiato, benzoato, carbometoxilo, carboetoxilo y derivados similares de grupos funcionales (tales como alcohol, ácido carboxílico, éter, éster o grupos amina) en los compuestos de fórmula I. En algunas realizaciones, los profármacos de los compuestos de fórmula I son ésteres tales como ésteres metílicos, etílicos, propílicos, butílicos, pentílicos y hexílicos.

El término "solvato" se refiere al compuesto formado por la interacción de un disolvente y un compuesto. Solvatos adecuados son solvatos farmacéuticamente aceptables, tales como hidratos, incluyendo monohidratos y hemihidratos.

5 "Alquilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado monovalente saturado, ramificado, de cadena lineal o cíclico derivado de la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono individual de un alcano original. Los grupos alquilo típicos incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilos tales como propan-1-ilo, propan-2-ilo y ciclopropan-1-ilo, butilos tales como butan-1-ilo, butan-2-ilo, 2-metil-propan-1-ilo, 2-metil-propan-2-ilo, ciclobutan-1-ilo, terc-butilo y similares. En determinadas realizaciones, un grupo alquilo comprende desde 1 hasta 20 átomos de carbono. Tal como se usa en el presente documento, el término "alquilo inferior" se refiere a un grupo alquilo que
10 comprende desde 1 hasta 6 átomos de carbono.

"Alquenilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado insaturado ramificado, de cadena lineal o cíclico que tiene al menos un doble enlace carbono-carbono derivado de la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono individual de un alqueno original. El grupo puede estar en la forma o bien Z o bien E (cis o trans) con respecto al/los doble(s) enlace(s). Los grupos alquenilo típicos incluyen, pero no se limitan a, etenilo; propenilos tales como prop-1-en-1-ilo, prop-1-en-2-ilo, prop-2-en-1-ilo (alilo), prop-2-en-2-ilo, cicloprop-1-en-1-ilo; cicloprop-2-en-1-ilo; butenilos tales como but-1-en-1-ilo, but-1-en-2-ilo, 2-metil-prop-1-en-1-ilo, but-2-en-1-ilo, but-2-en-1-ilo, but-2-en-2-ilo, buta-1,3-dien-1-ilo, buta-1,3-dien-2-ilo, ciclobut-1-en-1-ilo, ciclobut-1-en-3-ilo, ciclobuta-1,3-dien-1-ilo; y similares. En determinadas realizaciones, un grupo alquenilo tiene desde 2 hasta 20 átomos de carbono y en otras realizaciones desde 2 hasta 6 átomos de carbono, es decir, "alquenilo inferior".

20 "Alquinilo" se refiere a un hidrocarburo insaturado ramificado o de cadena lineal que tiene al menos un triple enlace carbono-carbono derivado de la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono individual de un alquino original. Los grupos alquinilo típicos incluyen, pero no se limitan a, etinilo; propinilo; butinilo, 2-pentinilo, 3-pentinilo, 2-hexinilo, 3-hexinilo y similares. En determinadas realizaciones, un grupo alquinilo tiene desde 2 hasta 20 átomos de carbono y en otras realizaciones desde 2 hasta 6 átomos de carbono, es decir, "alquinilo inferior".

25 "Alcoxilo" se refiere a un radical -OR en el que R representa un grupo alquilo tal como se define en el presente documento. Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metoxilo, etoxilo, propoxilo, butoxilo, ciclohexiloxilo y similares. Los grupos alcoxilo típicos incluyen desde 1 hasta 10 átomos de carbono, desde 1 hasta 6 átomos de carbono o desde 1 hasta 4 átomos de carbono en el grupo R. Los grupos alcoxilo inferiores incluyen grupos alquilo (C_1 - C_6) y, en algunas realizaciones, pueden incluir grupos alquilo (C_1 - C_4).

30 "Alquilenilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado saturado divalente derivado de un alcano original mediante la eliminación de dos átomos de hidrógeno. Los ejemplos de grupo alquilenilo incluyen, pero no se limitan a, $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH(CH_3)-$, $-CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2C(CH_3)(H)-$ y similares.

35 "Alquenileno" se refiere a un grupo hidrocarbonado insaturado divalente que tiene al menos un doble enlace carbono-carbono derivado de la eliminación de dos átomos de hidrógeno de un alqueno original. El grupo puede estar en la forma o bien Z o bien E (cis o trans) alrededor del/de los doble(s) enlace(s). Los ejemplos de grupos alquenileno incluyen, pero no se limitan a, $-CH=CH-$, $-CH=C(H)CH_2-$, $-CH_2C(H)=C(H)CH_2-$ y similares.

"Alquinileno" se refiere a un grupo hidrocarbonado insaturado divalente que tiene al menos un triple enlace carbono-carbono derivado de la eliminación de dos átomos de hidrógeno de un alquino original. Los ejemplos de grupos alquinileno incluyen, pero no se limitan a, $-C\equiv C-$, $-CH_2C\equiv C-$, $-CH_2C\equiv CCH_2-$.

40 "Ariilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado aromático monovalente derivado de la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono individual de un sistema de anillos aromático original. Ariilo abarca anillos aromáticos carbocíclicos de 5 y 6 miembros, por ejemplo, benceno; sistemas de anillos bicíclicos en los que al menos un anillo es carbocíclico y aromático, por ejemplo, naftaleno, indano y tetralina; y sistemas de anillos tricíclicos en los que al menos un anillo es carbocíclico y aromático, por ejemplo, fluoreno. Por ejemplo, ariilo incluye
45 anillos aromáticos carbocíclicos de 5 y 6 miembros condensados con un anillo heterocíclico de 5 a 7 miembros que contiene 1 o más heteroátomos elegidos de N, O y S. En determinadas realizaciones, un grupo ariilo puede comprender desde 6 hasta 10 átomos de carbono. Ariilo, sin embargo, no abarca ni se solapa de ningún modo con heteroarilo, definido por separado a continuación. Por tanto, si uno o más anillos aromáticos carbocíclicos se condensan con un anillo aromático heterocíclico, el sistema de anillos resultante es heteroarilo, no ariilo, tal como se define en el presente documento.
50

"Ariilalquilo" o "aralquilo" se refiere a un grupo alquilo acíclico en el que uno de los átomos de hidrógeno unido a un átomo de carbono, normalmente, pero no necesariamente, un átomo de carbono terminal, se reemplaza por un grupo ariilo. Los grupos ariilalquilo típicos incluyen, pero no se limitan a, bencilo, 2-feniletan-1-ilo, naftilmetilo, 2-naftiletan-1-ilo, naftobencilo, 2-naftofeniletan-1-ilo y similares. En determinadas realizaciones, un grupo ariilalquilo puede ser ariilalquilo (C_{6-30}), por ejemplo, el grupo alquilo del grupo ariilalquilo puede ser (C_{1-10}) y el resto ariilo puede ser (C_{5-20}).
55

"Ariilalquenilo" se refiere a un grupo alquenilo en el que un enlace a uno de los átomos de hidrógeno del grupo alquenilo se reemplaza por un enlace a un grupo ariilo.

“Ariilalquinilo” se refiere a un grupo alquinilo en el que un enlace a uno de los átomos de hidrógeno del grupo alquinilo se reemplaza por un enlace a un grupo arilo.

“Carbonilo” se refiere al grupo de radical -C(O).

“Carboxilo” se refiere al radical -C(O)OH.

5 “Ciano” se refiere al radical -CN.

“Cicloalquilo” se refiere a un grupo alquilo cíclico saturado o insaturado. Cuando se pretende un nivel específico de saturación, se usa la nomenclatura “cicloalcanilo” o “cicloalquenilo”. Los grupos cicloalquilo típicos incluyen, pero no se limitan a, grupos derivados de ciclopropano, ciclobutano, ciclopentano, ciclohexano y similares. En determinadas realizaciones, el grupo cicloalquilo puede ser cicloalquilo C₃-C₁₀, tal como, por ejemplo, cicloalquilo C₃₋₆.

10 “Heterocíclico”, “heterociclo” o “heterociclilo” se refieren a un grupo hidrocarbonado cíclico saturado o insaturado, pero no aromático, en el que uno o más átomos de carbono (y cualquier átomo de hidrógeno asociado) se reemplazan independientemente por el mismo o diferente heteroátomo y sus átomos de hidrógeno asociados, cuando sea apropiado. Los heteroátomos típicos para reemplazar el/los átomo(s) de carbono incluyen, pero no se limitan a, N, O y S. Los grupos heterociclilo típicos incluyen, pero no se limitan a, grupos derivados de epóxidos, imidazolidina, morfolina, piperazina, piperidina, pirazolidina, pirrolidina, quinclidina, tetrahidrofurano, tetrahidropirano y similares. Heterociclilo sustituido también incluye sistemas de anillos sustituidos con uno o más sustituyentes de oxo (=O) u óxido (-O), tales como N-óxido de piperidinilo, N-óxido de morfolinilo, 1-oxo-1-tiomorfolinilo y 1,1-dioxo-1-tiomorfolinilo.

15 “Heterociclilalquilo” se refiere a un grupo alquilo en el que uno de los átomos de hidrógeno del alquilo se reemplaza por un enlace a un grupo heterociclilo. Los ejemplos de grupos heterociclilalquilo, incluyen, pero no se limitan a, morfolinilmetilo, morfoliniletilo, tetrahidrofuranimetilo, piperidinilmetilo y similares.

20 “Enfermedad” se refiere a cualquier enfermedad, trastorno, estado, síntoma o indicación.

“Halo” o “halógeno” se refiere a un grupo flúor, cloro, bromo o yodo.

25 “Haloalquilo” se refiere a un grupo alquilo en que al menos un hidrógeno se reemplaza por un halógeno. Por tanto, el término “haloalquilo” incluye monohaloalquilo (alquilo sustituido con un átomo de halógeno) y polihaloalquilo (alquilo sustituido con dos o más átomos de halógeno). El término “perhaloalquilo” significa, a menos que se indique lo contrario, un grupo alquilo en el que cada uno de los átomos de hidrógeno se reemplaza con un átomo de halógeno. Por ejemplo, el término “perhaloalquilo”, incluye, pero no se limita a, trifluorometilo, pentacloroetilo, 1,1,1-trifluoro-2-bromo-2-cloroetilo y similares.

30 “Heteroarilo” se refiere a un grupo heteroaromático monovalente derivado de la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo individual de un sistema de anillos heteroaromático original. Heteroarilo abarca anillos monocíclicos, aromáticos de 5 a 7 miembros que contienen uno o más, por ejemplo, desde 1 hasta 4, o en determinadas realizaciones, desde 1 hasta 3, heteroátomos elegidos de N, O y S, siendo los átomos de anillo restantes carbono; y sistemas de anillos policíclicos que contienen uno o más, por ejemplo, desde 1 hasta 4, o en determinadas realizaciones, desde 1 hasta 3, heteroátomos elegidos de N, O y S, siendo los átomos de anillo restantes carbono y en el que al menos un heteroátomo está presente en un anillo aromático. Por ejemplo, heteroarilo incluye un anillo heteroaromático de 5 a 7 miembros condensado con un anillo de cicloalquilo de 5 a 7 miembros o un anillo aromático carbocíclico y un anillo heteroaromático de 5 a 7 miembros condensado con un anillo heterocíclico de 5 a 7 miembros. Para sistemas de anillos de heteroarilo bicíclicos, condensados en los que sólo uno de los anillos contiene uno o más heteroátomos, el punto de unión puede estar en el anillo heteroaromático o el anillo carbocíclico. Cuando el número total de átomos de S y O en el grupo heteroarilo excede de 1, esos heteroátomos no son adyacentes entre sí. En determinadas realizaciones, el número total de átomos de S y O en el grupo heteroarilo no es más de 2. En determinadas realizaciones, el número total de átomos S y O en el heterociclo aromático no es más de 1. Heteroarilo no abarca ni se solapa con arilo tal como se definió anteriormente. Los grupos heteroarilo típicos incluyen, pero no se limitan a, grupos derivados de acridina, arsindol, carbazol, β-carbolina, cromano, cromeno, cinolina, furano, imidazol, indazol, indol, indolina, indolizina, isobenzofurano, isocromeno, isoindol, isoindolina, isoquinolina, isotiazol, isoxazol, naftiridina, oxadiazol, oxazol, perimidina, fenantridina, fenantrolina, fenazina, ftalazina, pteridina, purina, pirano, pirazina, pirazol, piridazina, piridina, pirimidina, pirrol, pirrolizina, quinazolina, quinolina, quinolizina, quinoxalina, tetrazol, tiadiazol, tiazol, tiofeno, triazol, xanteno y similares. En determinadas realizaciones, el grupo heteroarilo puede ser heteroarilo de entre 5 y 20 miembros, tal como, por ejemplo, un heteroarilo de 5 a 10 miembros. En determinadas realizaciones, grupos heteroarilo pueden ser los derivados de tiofeno, pirrol, benzotiofeno, benzofurano, indol, piridina, quinolina, imidazol, oxazol y pirazina.

35 “Heteroarilalquilo” o “heteroaralquilo” se refiere a un grupo alquilo acíclico en el que uno de los átomos de hidrógeno unido a un átomo de carbono, normalmente un átomo de carbono terminal o *sp*³, se reemplaza por un grupo heteroarilo. Cuando se pretenden restos de alquilo específicos, se usa la nomenclatura heteroarilalcanilo, heteroarilalquenilo y/o heteroarilalquinilo. En determinadas realizaciones, el grupo heteroarilalquilo puede ser un heteroarilalquilo de 6 a 30 miembros, por ejemplo, el resto de alquilo del heteroarilalquilo puede incluir de 1 a 10

miembros y el resto de heteroarilo del heteroarilalquilo puede incluir desde 5 hasta 20 miembros.

“Sulfonilo” se refiere a un radical $-S(O)_2R$ en el que R es un grupo alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo sustituido, heterociclilo sustituido, arilo sustituido o heteroarilo sustituido tal como se define en el presente documento. Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metilsulfonilo, etilsulfonilo, propilsulfonilo, butilsulfonilo y similares.

“Sulfanilo” se refiere a un radical $-SR$ en el que R es un grupo alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo sustituido, heterociclilo sustituido, arilo sustituido o heteroarilo sustituido tal como se define en el presente documento que puede sustituirse opcionalmente tal como se define en el presente documento. Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metiltio, etiltio, propiltio, butiltio y similares.

“Farmacéuticamente aceptable” se refiere a generalmente reconocido para su uso en animales, y más particularmente en seres humanos.

“Sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a una sal de un compuesto que es farmacéuticamente aceptable y que posee la actividad farmacológica deseada del compuesto original. Tales sales incluyen: (1) sales de adición de ácido, formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares; o formadas con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico y similares; o (2) sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto original o bien se reemplaza por un ión de metal, por ejemplo, un ión de metal alcalino, un ión alcalinotérreo o un ión de aluminio; o bien se coordina con una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, N-metilglucamina, dicitclohexilamina y similares.

“Excipiente farmacéuticamente aceptable”, “portador farmacéuticamente aceptable” o “adyuvante farmacéuticamente aceptable” se refieren, respectivamente, a un excipiente, portador o adyuvante con el que al menos un compuesto de la presente descripción se administra. “Vehículo farmacéuticamente aceptable” se refiere a cualquiera de un diluyente, adyuvante, excipiente o portador con el que al menos un compuesto de la presente descripción se administra.

“Estereoisómero” se refiere a un isómero que difiere en la disposición de los átomos constituyentes en el espacio. Los estereoisómeros que son imágenes especulares entre sí y ópticamente activos se denominan “enantiómeros”, y los estereoisómeros que no son imágenes especulares entre sí y son ópticamente activos se denominan “diaestereómeros”.

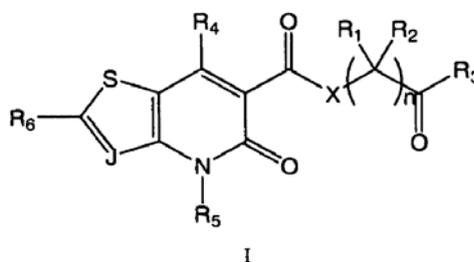
“Sujeto” incluye mamíferos y seres humanos. Los términos “ser humano” y “sujeto” se usan de manera intercambiable en el presente documento.

“Sustituido” se refiere a un grupo en el que uno o más átomos de hidrógeno se reemplazan independientemente cada uno por el(los) mismo(s) o diferente(s) sustituyente(s). Los sustituyentes típicos incluyen, pero no se limitan a, $-X$, $-R_{11}$, $-OH$, $=O$, $-OR_{11}$, $-SR_{11}$, $-SH$, $=S$, $-NR_{11}R_{12}$, $=NR_{11}$, $-CX_3$, $-CF_3$, $-CN$, $-NO_2$, $-S(O)_2R_{11}$, $-OS(O)_2OH$, $-OS(O)_2R_{11}$, $-OP(O)(OR_{11})(OR_{12})$, $-C(O)R_{11}$, $-C(S)R_{11}$, $-C(O)OR_{11}$, $-C(O)NR_{11}R_{12}$, $-C(O)OH$, $-C(S)OR_{11}$, $-NR_{13}C(O)NR_{11}R_{12}$, $-NR_{13}C(S)NR_{11}R_{12}$, $-NR_{13}C(NR_{11})NR_{11}R_{12}$, $-C(NR_{11})NR_{11}R_{12}$, $-S(O)_2NR_{11}R_{12}$, $-NR_{13}S(O)_2R_{11}$, $-NR_{13}C(O)R_{11}$ y $-S(O)R_{11}$ en el que cada X es independientemente un halógeno; cada R_{11} y R_{12} son independientemente hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquilo interrumpido por uno o más grupos $-O-$ o $-S-$, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo, heteroarilalquilo sustituido, $-NR_{13}R_{14}$, $-C(O)R_{13}$ o $-S(O)_2R_{13}$ u opcionalmente R_{11} y R_{12} junto con el átomo al que R_{11} y R_{12} están unidos forman uno o más anillos de heterociclilo, heterociclilo sustituido, heteroarilo o heteroarilo sustituido; y R_{13} y R_{14} son independientemente hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo o heteroarilalquilo sustituido, u opcionalmente R_{13} y R_{14} junto con el átomo de nitrógeno al que R_{13} y R_{14} están unidos forman uno o más anillos de heterociclilo, heterociclilo sustituido, heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, una amina terciaria o nitrógeno aromático pueden sustituirse por uno o más átomos de oxígeno para formar el óxido de nitrógeno correspondiente.

“Cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a la cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un sujeto para tratar una enfermedad, o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad o trastorno, es suficiente para efectuar tal tratamiento para la enfermedad, trastorno o síntoma. La “cantidad terapéuticamente eficaz” puede variar dependiendo del compuesto, la enfermedad, el trastorno y/o los síntomas de la enfermedad o trastorno, la gravedad de la enfermedad, el trastorno y/o los síntomas de la enfermedad o trastorno, la edad del sujeto que va a tratarse y/o el peso del sujeto que va a tratarse. Una cantidad apropiada en cualquier caso dado puede ser fácilmente evidente para los expertos en la técnica o puede determinarse mediante experimentación de rutina.

“Tratar” o “tratamiento” de cualquier enfermedad o trastorno se refiere a detener o mejorar una enfermedad, trastorno o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad o trastorno, reducir el riesgo de adquirir una

- enfermedad, trastorno o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad o trastorno, reducir el desarrollo de una enfermedad, trastorno o al menos uno de los síntomas clínicos de la enfermedad o trastorno, o reducir el riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad o trastorno. "Tratar" o "tratamiento" también se refiere a inhibir la enfermedad o trastorno, o bien físicamente, (por ejemplo, estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente, (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico) o bien ambos, o inhibir al menos un parámetro físico que puede no ser discernible para el sujeto. Además, "tratar" o "tratamiento" se refiere a retrasar la aparición de la enfermedad o trastorno o al menos los síntomas del mismo en un sujeto que puede estar expuesto a o predispuesto a una enfermedad o trastorno aún cuando ese sujeto no experimenta aún ni presenta síntomas de la enfermedad o trastorno.
- 5 Se hará ahora referencia en detalle a realizaciones de la presente descripción. Aunque se describirán determinadas realizaciones de la presente descripción, se entenderá que no se pretende limitar las realizaciones de la presente descripción a las realizaciones descritas. Por el contrario, la referencia a realizaciones de la presente descripción pretende cubrir alternativas, modificaciones y equivalentes tal como pueden incluirse dentro del espíritu y alcance de las realizaciones de la presente descripción tal como se define mediante las reivindicaciones adjuntas.
- 10 En un aspecto, la invención proporciona una composición de materia que incluye al menos un compuesto de fórmula I:



- una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un tautómero del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero; o un solvato del mismo, un éster de alquilo (C₁-C₆) del mismo o una mezcla de cualquiera de los anteriores, en el que:
- 20 J se selecciona de CR₇ o N;
- n es 1;
- R₁ y R₂ se seleccionan independientemente en cada caso de H o un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono;
- X se selecciona de -NR_a- o -(CR_bR_c)-, en el que R_a se selecciona de H o un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, y R_b y R_c son H;
- 25 R₃ es OH;
- R₄ es OH;
- R₅ se selecciona de H, bencilo o un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono;
- R₆ y R₇ se seleccionan independientemente de H, F, Cl, Br, I, alquilo, alquilo sustituido, haloalquilo, perhaloalquilo, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, NR_dR_e, C(O)R₈, C(O)OR₉, OR₉, SR₉, SO₂R₉, CN, NO₂, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo, heteroarilalquilo sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, heterociclilalquilo, heterociclilalquilo sustituido o -Y-R₁₀; o R₆ y R₇ pueden unirse para formar un anillo de 5 ó 6 miembros opcionalmente sustituido cuando J es CR₇, en el que:
- 35 Y se selecciona de -N(R₁₁)-Z- o -Z-N(R₁₁)-;
- Z se selecciona de C(O), SO₂, alqueno, alqueno sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino o alquino sustituido;
- R₈ se selecciona de H, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo o heteroarilo sustituido;
- 40 R₉ se selecciona de H, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino o alquino sustituido;
- R₁₀ se selecciona de H, heterociclilo, heterociclilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo o heteroarilo sustituido;
- R₁₁ se selecciona de H, un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono o un alquilo sustituido de 1 a 6 átomos de carbono; y

R_d y R_e se seleccionan independientemente de H, un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, un alquilo sustituido de 1 a 6 átomos de carbono, un haloalquilo de 1 a 6 átomos de carbono o un haloalquilo sustituido de 1 a 6 átomos de carbono, o R_d y R_e pueden unirse entre sí para formar un anillo de 3 a 6 miembros o un anillo sustituido de 3 a 6 miembros.

- 5 En algunas realizaciones, X es $-(CR_bR_c)-$ y R_b y R_c se seleccionan independientemente de H y alquilo inferior. Todavía en realizaciones de este tipo adicionales, R_b y R_c son ambos H. En todas las realizaciones de este tipo, n es 1. En algunas realizaciones de este tipo, R_1 y R_2 se seleccionan independientemente en cada caso de H o alquilo inferior. Todavía en otras realizaciones de este tipo, R_1 y R_2 se seleccionan independientemente en cada caso de H o alquilo inferior. Todavía en otras realizaciones de este tipo, R_1 y R_2 son ambos H. En algunas realizaciones, J es CR_7 , n es 1; R_1 es H o alquilo inferior; R_2 es H; R_3 es OH; R_4 es OH; y R_b y R_c son ambos H. En otras realizaciones, J es N, n es 1; R_1 es H o alquilo inferior; R_2 es H; R_3 es OH; R_4 es OH; y R_b y R_c son ambos H.

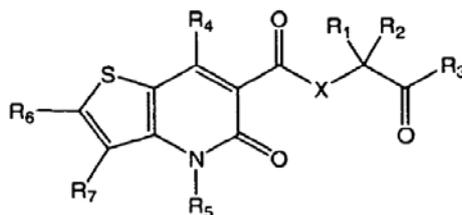
En algunas realizaciones en las que X es $-(CR_bR_c)-$, el valor de Cl_{50} de CPH1 dividido entre el valor de Cl_{50} de PHD2 es mayor de 5, mayor de 10, mayor de 15, mayor de 20, mayor de 25 o mayor de 30. En algunas realizaciones de este tipo, el valor de Cl_{50} de CPH1 dividido entre el valor de Cl_{50} de PHD2 es mayor de 10.

- 15 En algunas realizaciones, R_1 y R_2 no son ambos H si X es $-NR_a-$; R_a es H; y n es 1.

En algunas realizaciones, n es 1, R_1 y R_2 son ambos H.

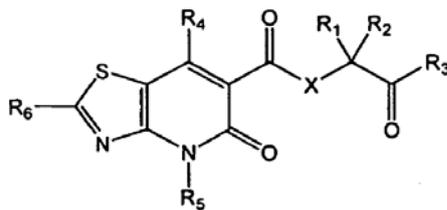
- 20 En algunas realizaciones, al menos uno de R_1 y R_2 no es H. En algunas realizaciones de este tipo, al menos uno de R_1 y R_2 es un alquilo inferior tal como un alquilo (C_1-C_4). En algunas realizaciones de este tipo, uno de R_1 y R_2 es H y el otro de R_1 y R_2 es un alquilo inferior. En algunas realizaciones de este tipo, al menos uno de R_1 y R_2 es un grupo metilo y en algunas realizaciones de este tipo, el otro de R_1 y R_2 es un grupo metilo.

En algunas realizaciones, J es CR_7 . En otras realizaciones, J es N. En algunas realizaciones de este tipo, el compuesto de fórmula I es un compuesto de fórmula IA en el que la variable tiene cualquiera de las definiciones proporcionadas en cualquiera de las realizaciones.



- 25 IA

En otras realizaciones de este tipo, el compuesto de fórmula I es un compuesto de fórmula IB en el que las variables tienen cualquier de las definiciones proporcionadas en cualquiera de las realizaciones



IB.

- En algunas realizaciones, R_3 es OH.

- 30 En algunas realizaciones, R_4 es OH.

En algunas realizaciones, X es $-NR_a-$. En algunas realizaciones de este tipo, X es $-NH-$.

En otras realizaciones, X es $-(CR_bR_c)-$. En algunas realizaciones, R_b y R_c se eligen independientemente de H y alquilo inferior. En algunas realizaciones de este tipo, R_b y R_c se seleccionan independientemente de H y metilo. En algunas realizaciones de este tipo, R_b y R_c son ambos H.

- 35 En algunas realizaciones, al menos uno de R_6 o R_7 es un grupo arilo sustituido o no sustituido, un heteroarilo sustituido o no sustituido, un cicloalquilo sustituido o no sustituido o un heterociclilo sustituido o no sustituido. En algunas realizaciones de este tipo, al menos uno de R_6 o R_7 es un grupo heterociclilo. En otras realizaciones de este tipo, al menos uno de R_6 o R_7 es un grupo heteroarilo. En otras realizaciones de este tipo, al menos uno de R_6 o R_7

es un grupo fenilo o fenilo sustituido.

En algunas realizaciones, R^6 se selecciona de un grupo arilo o un grupo arilo sustituido. En algunas realizaciones, los grupos arilo y arilo sustituido incluyen fenilo, o fenilo sustituido con desde uno hasta tres sustituyentes seleccionados independientemente de -F, -Cl, -Br, -CF₃, -CO₂H, -C(=O)O-alquilo (C₁-C₄), -CN, -OH, -O-alquilo (C₁-C₄), -alquilo (C₁-C₄), -C(=O)-NH₂, -C(=O)NH-alquilo (C₁-C₄), -C(=O)N-((alquilo (C₁-C₄))₂), -NH₂, -NH-alquilo (C₁-C₄) o -N((alquilo (C₁-C₄))₂). En algunas realizaciones, los grupo arilo incluyen fenilo, 2-clorofenilo, 3-clorofenilo, 4-clorofenilo, 2-fluorofenilo, 3-fluorofenilo, 4-fluorofenilo, 2-bromofenilo, 3-bromofenilo, 4-bromofenilo, 2-trifluorometilfenilo, 3-trifluorometilfenilo, 4-trifluorometilfenilo, fenilo sustituido en la posición 2, 3 ó 4 con un grupo CO₂H, 2-metilfenilo, 3-metilfenilo, 4-metilfenilo, 2-metoxifenilo, 3-metoxifenilo, 4-metoxifenilo, 2-hidroxifenilo, 3-hidroxifenilo o 4-hidroxifenilo.

En algunas realizaciones, R^6 se selecciona de -H, -Br, -CF₃, alquilo (C₁-C₄), arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo, cicloalquilo o -CO₂H. En algunas realizaciones en las que R^6 es un grupo heteroarilo o un grupo heteroarilo sustituido, el heteroarilo se selecciona de piridina, pirimidina, tiofeno, tiazol, quinolina, isoquinolina, oxazol, isoxazol o furano.

En algunas realizaciones, al menos uno de R_6 o R_7 se selecciona independientemente de halógeno o un resto sustituido con al menos un halógeno. Por ejemplo, en algunas realizaciones, al menos uno de R_6 o R_7 es haloalquilo. En algunas realizaciones, al menos uno de R_6 o R_7 es un perhaloalquilo. En algunas realizaciones de este tipo, el perhaloalquilo es un grupo perfluoroalquilo tal como CF₃.

En todas las realizaciones, n es 1.

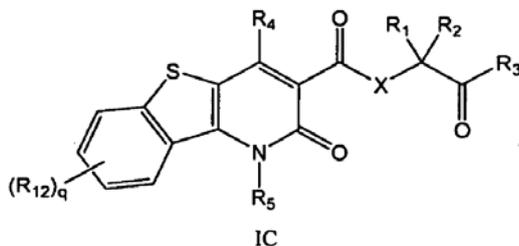
En algunas realizaciones, R_1 y R_2 se eligen independientemente de H y alquilo inferior. En algunas realizaciones de este tipo, R_1 y R_2 son ambos H. En algunas realizaciones de este tipo, n es 1. Todavía en otras realizaciones de este tipo, X es -(CR_bR_c)- y R_b y R_c se seleccionan de H y alquilo inferior, y en algunas realizaciones de este tipo, R_b y R_c son ambos H. Por tanto, en algunas realizaciones R_1 , R_2 , R_b y R_c son todos H y n es 1.

En algunas realizaciones, J es CR₇, n es 1; R_1 es H o alquilo inferior; R_2 es H; R_3 es OH; R_4 es OH; X es -NR_a- en el que R_a es H, o X es -(CR_bR_c)- en el que R_b y R_c son ambos H.

En algunas realizaciones, J es N, n es 1; R_1 es H o alquilo inferior; R_2 es H; R_3 es OH; R_4 es OH; X es -NR_a- en el que R_a es H, o X es -(CR_bR_c)- en el que R_b y R_c son ambos H.

En algunas realizaciones, R_5 es H. En otras realizaciones, R_5 es un grupo alquilo inferior. En algunas realizaciones de este tipo, R_5 es un metilo. Todavía en otras realizaciones, R_5 es un alquilo inferior sustituido seleccionado de un arilalquilo, un heteroarilalquilo, un heterociclilalquilo, un cicloalquilalquilo, un hidroxialquilo, un alcoxialquilo o un haloalquilo.

En algunas realizaciones, J es CR₇ y R_6 y R_7 , junto con los átomos de carbono a los que están unidos, se unen para formar un anillo aromático carbocíclico de 6 miembros que puede estar opcionalmente sustituido con hasta tres sustituyentes. En algunas realizaciones de este tipo, el compuesto tiene la fórmula IC



en la que R_1 - R_5 tienen cualquiera de los valores de cualquiera de las realizaciones, q es 0, 1 ó 2, y R_{12} se selecciona de H, F, Cl, Br, I, alquilo, alquilo sustituido, haloalquilo, perhaloalquilo, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, C(O) R_{13} , C(O)OR₁₄, OR₁₄, SR₁₄, SO₂R₁₄, CN, NO₂, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo, heteroarilalquilo sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, heterociclilalquilo o heterociclilalquilo sustituido; R_{13} se selecciona de H, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo o heteroarilo sustituido; y R_{14} se selecciona de H, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo o alquinilo sustituido.

En otras realizaciones, el compuesto se selecciona de uno cualquiera o todos los enumerados a continuación o es una sal del mismo, un tautómero del mismo o una sal del tautómero:

N-((2-(4-clorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidro[1,3]tiazolo[4,5-b]piridin-6-il)carbonil)glicina;

- N-((7-hidroxi-2,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidro[1,3]tiazolo[4,5-b]piridin-6-il)carbonil)glicina;
 ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 2-(7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 2-(2-(4-clorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 5 ácido 2-(2-bromo-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido (S)-2-(7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)propanoico;
 ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-3-fenil-2-(trifluorometil)-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 N-((4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro[1]benzotieno[3,2-b]piridin-3-il)carbonil)glicina;
 N-((4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro[1]benzotieno[3,2-b]piridin-3-il)carbonil)-1-alanina;
 10 ácido 2-(2-(4-fluorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-2-(pirimidin-5-il)-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-2-(2-metilpiridin-3-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-2-(3-metiltiofen-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-2-fenil-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 15 ácido 2-(2-bromo-7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético; o
 ácido 4-(2-bromo-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-il)-4-oxobutanoico.

En otras realizaciones, el compuesto se selecciona de uno cualquiera o todos los enumerados a continuación o es una sal del mismo, un tautómero del mismo, o una sal del tautómero:

- ácido 2-(2-(3,6-dihidro-2H-piran-4-il)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 20 ácido 4-(6-((carboximetil)carbamoil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-2-il)benzoico;
 ácido 2-(2-(2-clorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 2-(2-ciclopropil-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 4-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-2-fenil-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-il)-4-oxobutanoico;
 ácido 2-(2-(2-clorofenil)-7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 25 ácido 6-((carboximetil)carbamoil)-7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-2-carboxílico;
 ácido 2-(2-(2-clorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 2-(2-ciclopropil-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-2-(tiofen-2-il)-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-2-(piridin-3-il)-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxamido)acético.

- 30 Los compuestos de la presente descripción pueden contener uno o más centros quirales. Tales compuestos pueden prepararse o aislarse como estereoisómeros puros, es decir, como enantiómeros o diaestereómeros individuales o como mezclas enriquecidas de estereoisómeros. Todos los estereoisómeros de este tipo, y mezclas enriquecidas de los mismos, se incluyen dentro del alcance de la presente descripción. Pueden prepararse estereoisómeros puros y mezclas enriquecidas de los mismos usando, por ejemplo, materiales de partida ópticamente activos o reactivos
 35 estereoselectivos bien conocidos en la técnica. Alternativamente, pueden separarse mezclas racémicas de tales compuestos usando, por ejemplo, cromatografía en columna quiral, agentes de resolución quirales y similares.

En algunas realizaciones, la composición de materia es una sal. Tales sales pueden ser anhidras o estar asociadas con una o más moléculas de agua como un hidrato.

- 40 En algunas realizaciones, la composición de materia es un profármaco. En tales realizaciones, la composición de materia es un éster de alquilo (C₁-C₆) tal como un éster metílico, etílico, propílico, butílico, pentílico o hexílico.

Se proporcionan también en el presente documento formulaciones farmacéuticas que incluyen al menos un portador,

- excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable, y una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento. En tales realizaciones, la composición de materia está presente en una cantidad eficaz para el tratamiento de al menos una enfermedad seleccionada de isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer o un trastorno inflamatorio.
- 5 Se proporcionan además formulaciones farmacéuticas que incluyen al menos un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en combinación con al menos un compuesto adicional tal como un agente que estimula la eritropoyesis o un agente quimioterapéutico.
- 10 Se ilustra adicionalmente un método de aumento o estabilización de los niveles o actividad de HIF en un sujeto administrando al sujeto la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.
- Se ilustra además un método de tratamiento de un estado en el que se desea modular la actividad de HIF que comprende administrar a un sujeto la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento. En algunas realizaciones de este tipo, el estado se selecciona de al menos uno de isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer o un trastorno inflamatorio.
- 15 Se ilustra también un método de tratamiento de un trastorno relacionado con hipoxia o isquemia en un sujeto que comprende administrar a un sujeto la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.
- 20 Se ilustra también un método de tratamiento de la anemia en un sujeto que comprende administrar a un sujeto la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.
- Se ilustra además un método de modulación de la cantidad de HIF en una célula que comprende poner en contacto la célula con la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.
- 25 Los compuestos de la invención también pueden usarse para preparar medicamentos o en métodos para estimular la eritropoyesis en un sujeto. Tales métodos y medicamentos utilizan un compuesto de cualquiera de las realizaciones de la invención. En tales métodos, un compuesto de cualquiera de las realizaciones se administra normalmente a un sujeto tal como un sujeto humano en una cantidad terapéuticamente eficaz.
- 30 Se proporciona adicionalmente un método de aumento de la cantidad de hemoglobina F en un sujeto que comprende administrar al sujeto la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.
- Se ilustra también un método de modulación de la angiogénesis en un sujeto que comprende administrar al sujeto la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.
- 35 Se ilustra adicionalmente un método de tratamiento de al menos una enfermedad en un paciente que necesita tal tratamiento que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento. En algunas realizaciones de este tipo, la al menos una enfermedad se selecciona de isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer o un trastorno inflamatorio.
- 40 Se ilustra también un método de inhibición de la hidroxilación de HIF en un sujeto que comprende administrar al sujeto la composición de materia de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.
- En algunas realizaciones, el valor de CI_{50} de la actividad inhibidora de HIF PHD de la composición de materia es de 40 μ M o menos. En otras realizaciones, el valor de CI_{50} de la actividad inhibidora de HIF PHD de la composición de materia es de 10 μ M o menos. Todavía en otras realizaciones, el valor de CI_{50} de la actividad inhibidora de HIF PHD de la composición de materia es de 100 nM o menos, mientras que en otras es de 10 nM o menos.
- 45 En algunas realizaciones, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en la preparación de una formulación farmacéutica o medicamento.
- En algunas realizaciones de este tipo, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en la preparación de un medicamento para aumentar o estabilizar los niveles o actividad de HIF en un sujeto.
- 50 En algunas realizaciones de este tipo, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en la preparación de un medicamento para tratar un estado en el que se desea modular la actividad de HIF. En algunas realizaciones de este tipo, el estado se selecciona de al menos uno de isquemia, anemia, cicatrización de heridas, autotrasplante, alotrasplante, xenotrasplante, tensión arterial alta sistémica, talasemia, diabetes, cáncer o un trastorno inflamatorio.

En algunas realizaciones, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en la preparación de un medicamento para tratar un trastorno relacionado con hipoxia o isquemia en un sujeto.

5 En algunas realizaciones, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en la preparación de un medicamento para modular la cantidad de HIF en una célula. En algunas realizaciones, la composición de materia según cualquiera de las realizaciones se usa para modular la cantidad de HIF en una célula.

En algunas realizaciones, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en la preparación de un medicamento para modular la angiogénesis en un sujeto.

En algunas realizaciones, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en la preparación de un medicamento para inhibir la hidroxilación de HIF en un sujeto.

10 En algunas realizaciones, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en la preparación de un medicamento para tratar la anemia.

En algunas realizaciones, la composición de materia de cualquiera de las realizaciones se usa en un método para aumentar el nivel de eritropoyetina en la sangre de un sujeto.

15 La frase "composición de materia" tal como se usa en el presente documento pretende abarcar los compuestos de la invención, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, tautómeros de los mismos y sales farmacéuticamente aceptables del tautómero. También puede incluir solvatos, quelatos, complejos no covalentes, profármacos y mezclas de estos además de un producto que comprende los componentes especificados (y en las cantidades especificadas, si se indica), así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de la combinación de los componentes especificados en las cantidades especificadas. Por "farmacéuticamente aceptable"
20 quiere decirse que el portador, excipiente o diluyente es compatible con los otros componentes de la formulación y no es perjudicial para el receptor del mismo.

La formulación de la composición puede mejorar una o más propiedades farmacocinéticas (por ejemplo, biodisponibilidad oral, permeabilidad de la membrana) de un compuesto de la invención (denominado en el presente documento principio activo).

25 Las formulaciones o composiciones farmacéuticas para la administración de los compuestos de esta invención pueden presentarse convenientemente en forma farmacéutica unitaria y pueden prepararse mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica. Todos los métodos incluyen la etapa de poner en asociación el principio activo con el portador que constituye uno o más componentes auxiliares. En general, las composiciones farmacéuticas se preparan poniendo en asociación de manera uniforme e íntima el principio activo con un portador
30 líquido o un portador sólido finamente dividido o ambos y entonces, si es necesario, conformando el producto para dar la formulación deseada. En la composición farmacéutica, el compuesto objeto activo se incluye en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado sobre el proceso o estado de las enfermedades.

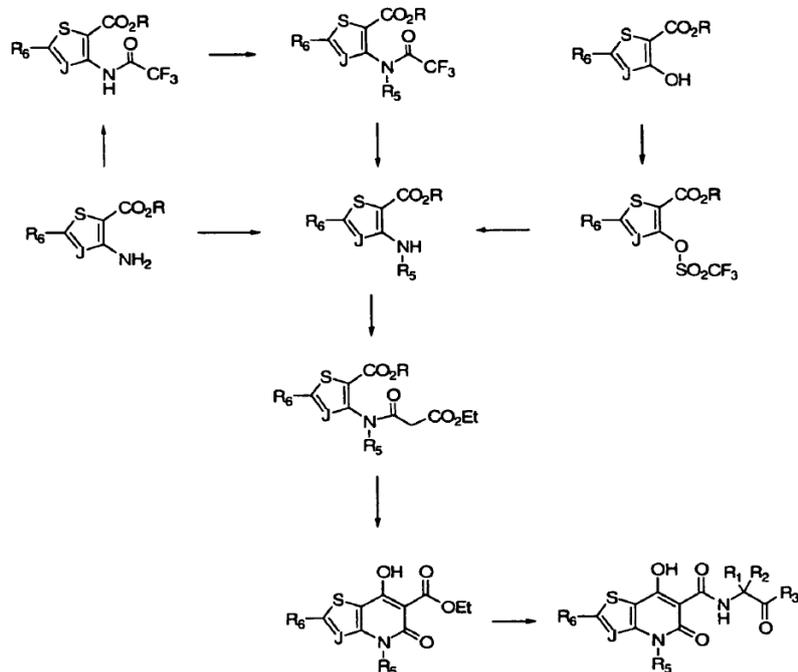
35 Las composiciones farmacéuticas que contienen el principio activo pueden estar en una forma adecuada para uso oral, por ejemplo, como comprimidos, trociscos, pastillas para chupar, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Pueden prepararse composiciones destinadas para uso oral según cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas. Tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados de agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes con el fin de proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y agradables. Los comprimidos contienen el principio activo en mezcla
40 con otros excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y disgregación, 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
45 recubiertos o pueden recubrirse mediante técnicas conocidas para retrasar la disgregación y absorción en el tubo digestivo y de ese modo proporcionar una acción sostenida durante un periodo más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retraso temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. También pueden recubrirse mediante las técnicas descritas en las patentes estadounidenses n^{os}. 4.256.108, 4.160.452 y 4.265.874 para formar comprimidos terapéuticos osmóticos para liberación control.

50 Las formulaciones para uso oral también pueden presentarse como cápsulas de gelatina dura en las que el principio activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el principio activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

55 Las suspensiones acuosas contienen los materiales activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma arábiga; agentes de dispersión o humectación pueden ser un fosfátido que se produce de

- manera natural, por ejemplo lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos, por ejemplo estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoxietanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato de polioxietilensorbitol o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de polietilensorbitano. Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes, por ejemplo etilo, o n-propilo, p-hidroxibenzoato, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.
- 5
- Pueden formularse suspensiones oleosas suspendiendo el principio activo 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, por ejemplo cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Pueden añadirse agentes edulcorantes tales como los expuestos anteriormente, y agentes aromatizantes para proporcionar una preparación oral agradable. Estas composiciones pueden conservarse mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.
- 10
- Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el principio activo en mezcla con un agente de dispersión o humectación, agente de suspensión y uno o más conservantes. Se muestran a modo de ejemplo agentes de dispersión o humectación y agentes de suspensión adecuados mediante los ya mencionados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo agentes edulcorantes, aromatizantes y colorantes.
- 15
- Las composiciones farmacéuticas de la invención 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, o un aceite mineral, por ejemplo parafina líquida o mezclas de estos. Agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas que se producen de manera natural, por ejemplo goma arábica o goma tragacanto, fosfátidos que se producen de manera natural, por ejemplo soja, lecitina y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de sorbitano, y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo monooleato de polioxietilensorbitano. Las emulsiones también pueden contener agentes edulcorantes y aromatizantes.
- 20
- 25
- Pueden formularse jarabes y elixires con agentes edulcorantes, por ejemplo glicerol, propilenglicol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones también pueden contener un emoliente, un conservante y agentes aromatizantes y colorantes.
- 30
- Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de una suspensión oleaginosa o acuosa inyectable estéril. Esta suspensión puede formularse según la técnica conocida usando los agentes de dispersión o humectación o los agentes de suspensión adecuados que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril también puede ser una disolución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente aceptable por vía parenteral no tóxico, por ejemplo como una disolución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están agua, disolución de Ringer y disolución de cloruro de sodio isotónica. Además, se emplean convencionalmente aceites estériles, fijos como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite fijo insípido incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, ácidos grasos tales como ácido oleico encuentran su uso en la preparación de inyectables.
- 35
- Las composiciones farmacéuticas también pueden administrarse en forma de supositorios para administración rectal del fármaco. Estas composiciones pueden prepararse mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas comunes pero líquido a la temperatura rectal y por tanto se derretirá en el recto para liberar el fármaco. Tales materiales incluyen, por ejemplo, manteca de cacao y polietilenglicoles.
- 40
- Para uso tópico, se emplean cremas, pomadas, gelatinas, disoluciones o suspensiones, etc., que contienen los compuestos de la invención. Tal como se usa en el presente documento, la aplicación tópica también pretende incluir el uso de enjuagues bucales y gargarismos.
- 45
- Los compuestos de la invención pueden prepararse usando la ruta sintética general mostrada a continuación en el esquema 1 y descrita de manera más completa en los ejemplos.

Esquema 1



La invención se describe además mediante referencia a los siguientes ejemplos, que pretenden ejemplificar y/o ilustrar la invención reivindicada pero no limitarla de ningún modo.

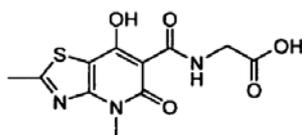
5 Ejemplos

A menos que se indique lo contrario, todos los compuestos se obtuvieron de fuentes comerciales o se prepararon usando los métodos y procedimientos experimentales descritos en el presente documento. Las siguientes abreviaturas se usan para referirse a diversos reactivos y disolventes:

- AcOH Ácido acético
- 10 DCM Diclorometano
- DIPEA Diisopropiletilamina
- DMF N,N-Dimetilformamida
- DMSO Dimetilsulfóxido
- EtOAc Acetato de etilo
- 15 EtOH Etanol
- MeOH Metanol
- TEA Trietilamina
- TFA Ácido trifluoroacético
- TFAA Anhídrido trifluoroacético
- 20 THF Tetrahidrofurano

TR-FRET Transferencia de energía por resonancia de fluorescencia de resolución temporal

Método 1. Preparación de N-((7-hidroxi-2,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidro[1,3]tiazolo[4,5-b]piridin-6-il)carbonil)glicina.



(a) 4-Hidroxi-2-metiltiazol-5-carboxilato de etilo. Se preparó este compuesto según el procedimiento de Baasner, B. *et al.* documento EP 0422470A2: Derivados de amida del ácido tiazolcarboxílico con un rendimiento del 23%. EM (ESI) m/z: Calculado; 187,0: Observado; 188,1.

5 (b) 2-Metil-4-(trifluorometilsulfonilo)tiazol-5-carboxilato de etilo. Se añadió anhídrido triflico (2,26 g, 8,01 mmol) a una disolución de TEA (1,12 ml, 8,01 mmol) y 4-hidroxi-2-metiltiazol-5-carboxilato de etilo (1,00 g, 5,34 mmol) en DCM (20 ml) a 0°C y se agitó la mezcla durante 1 hora a 0°C. Se añadió agua y se separaron las fases resultantes. Se secó la fase orgánica sobre MgSO₄ y se evaporó. La purificación mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexano) dio el compuesto del título. EM (ESI) m/z: Calculado; 319,0: Observado; 320,0. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 4,39 (2 H, q, J=7,0 Hz), 2,71 (3 H, s), 1,39 (3 H, t, J=7,1 Hz).

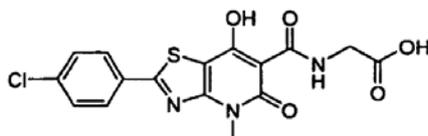
10 (c) 2-Metil-4-(metilamino)tiazol-5-carboxilato de etilo. Se añadió metilamina (0,75 g, 24,0 mmol) a una disolución de 2-metil-4-(trifluorometilsulfonilo)tiazol-5-carboxilato de etilo (2,55 g, 8,0 mmol) en 1,4-dioxano (20 ml). Se calentó la mezcla en un tubo sellado hasta 90°C durante 6 horas, luego se enfrió hasta temperatura ambiente. Se separó por filtración el sólido que se formó, se lavó el filtrado con agua una vez, se secó sobre MgSO₄ y se evaporó. La purificación mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexano) dio el compuesto del título. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,65 (1 H, s), 4,25 (2 H, q, J=7,0 Hz), 3,14 (3 H, d, J=5,1 Hz), 2,61 (3 H, s), 1,31 (3 H, t, J=7,0 Hz).

15 (d) 7-Hidroxi-2,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxilato de etilo. Se añadió lentamente 3-cloro-3-oxopropanoato de etilo (1,28 g, 8,50 mmol) a una disolución de N,N-diisopropiletilamina (1,10 g, 8,50 mmol) y 2-metil-4-(metilamino)tiazol-5-carboxilato de etilo (0,85 g, 4,25 mmol), y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 3 horas. Se añadió agua, y se extrajo la mezcla con EtOAc tres veces. Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre MgSO₄ y se evaporaron dando un aceite (0,75 g). Se disolvió el aceite en EtOH (10 ml) y se añadió metóxido de sodio (8,50 mmol, 1 M en EtOH, 8,5 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas, y se filtró la suspensión resultante y se lavó con Et₂O una vez, MeOH una vez y agua dando el compuesto del título. EM (ESI) m/z: Calculado; 268,1: Observado; 269,1.

20 (e) 2-(7-Hidroxi-2,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxamido)acetato de terc-butilo. Se calentaron N,N-diisopropiletilamina (0,25 g, 2,0 mmol), clorhidrato de éster de terc-butilglicina (0,33 g, 2,0 mmol) y 7-hidroxi-2,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxilato de etilo (0,35 g, 1,31 mmol) a 90°C durante 5 horas en 1,4-dioxano (5 ml). Se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente y se concentró hasta aproximadamente 1/4 del volumen original. Se añadió Et₂O (5 ml), y se filtró la suspensión resultante y se lavó con Et₂O dando un sólido. Se lavó este material con MeOH frío (0,5 ml) dando el compuesto del título. EM (ESI) m/z: Calculado; 353,1: Observado; 298,1 (M-terc-butilo+H⁺). ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 10,52 - 10,83 (1 H, m), 4,11 (2 H, d, J=5,3 Hz), 3,81 (3 H, s), 2,83 (3 H, s), 1,52 (9 H, s).

25 (f) N-((7-Hidroxi-2,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidro[1,3]tiazolo[4,5-b]piridin-6-il)carbonil)glicina. Se agitó 2-(7-hidroxi-2,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxamido)acetato de terc-butilo (0,035 g, 0,10 mmol) en TFA (1 ml) durante 30 minutos y entonces se añadió agua (5 ml). Se filtró la suspensión resultante y se lavó con agua varias veces dando el compuesto del título con un rendimiento del 71%. EM (ESI) m/z: Calculado; 297,0: Observado; 298,1. ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10,35 - 10,59 (1 H, m), 4,11 (2 H, d, J=5,5 Hz), 3,69 (3 H, s), 2,85 (3 H, s).

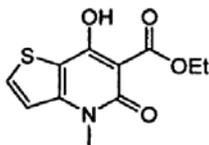
30 Método 2. Preparación de N-((2-(4-clorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidro[1,3]tiazolo[4,5-b]piridin-6-il)carbonil)glicina.



35 (a) 2-(Metiltio)-4-(2,2,2-trifluoroacetamido)tiazol-5-carboxilato de metilo. Se añadió anhídrido trifluoroacético (7,35 g, 35,0 mmol) a una disolución de éster metílico del ácido 4-amino-2-metiltio-5-tiazolcarboxílico (6,50 g, 31,8 mmol, disponible comercialmente de Fluorochem Products, West Columbia, SC) y N,N-diisopropiletilamina (4,52 g, 35,0 mmol) a 0°C y se retiró el baño de hielo. Entonces se agitó la mezcla durante 1 hora, se diluyó con agua y se separaron las fases. Se secó la fase orgánica sobre MgSO₄, se concentró a vacío y se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexano) dando el compuesto del título con un rendimiento del 94%. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 10,78 (1 H, s), 3,91 (3 H, s), 2,76 (3 H, s).

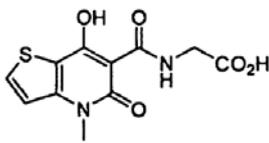
40 (b) 4-(Metilamino)-2-(metiltio)tiazol-5-carboxilato de metilo. Se añadió yodometano (4,61 g, 32,5 mmol) a una

- 5 suspensión de carbonato de potasio (6,90 g, 50,0 mmol) y 2-(metiltio)-4-(2,2,2-trifluoroacetamido)tiazol-5-carboxilato de metilo (7,50 g, 25,0 mmol) en DMF (60 ml) en un recipiente de reacción de pared gruesa. Se selló el tubo y se calentó la reacción a 60°C durante 2 horas. Se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc (150 ml) y se lavó con agua tres veces y salmuera una vez. Se secó la fase orgánica sobre MgSO₄ y se concentró a vacío. Se disolvió el sólido resultante en MeOH (20 ml) y se trató con NaOMe (1,0 M en MeOH, 35 ml, 35,0 mmol) y se agitó la mezcla durante 1 hora. Se añadió agua (100 ml), y se extrajo la mezcla con DCM tres veces. Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre MgSO₄ y se concentraron a vacío dando el compuesto del título con un rendimiento del 99%. EM (ESI) m/z: Calculado; 218,0: Observado; 219,0. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,68 (1 H, s a), 3,77 (3 H, s), 3,14 (3 H, d, J=5,1 Hz), 2,66 (3 H, s).
- 10 (c) 7-Hidroxi-4-metil-2-(metiltio)-5-oxo-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxilato de etilo. Se preparó este compuesto como en el método 1, etapa c con un rendimiento del 73%. EM (ESI) m/z: Calculado; 300,0: Observado; 301,1. ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 13,24 (1 H, s), 4,31 (2 H, q, J=7,0 Hz), 3,56 (3 H, s), 2,82 (3 H, s), 1,29 (3 H, t, J=7,1 Hz).
- 15 (d) 2-(7-Hidroxi-4-metil-2-(metiltio)-5-oxo-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxamido)acetato de terc-butilo. Se preparó este compuesto tal como se describe en el método 1, etapa d con un rendimiento del 82%. EM (ESI) m/z: Calculado; 385,1: Observado; 330,0 (M-terc-butilo + H⁺). ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10,41 (1 H, s a), 4,08 (2 H, d, J=5,7 Hz), 3,65 (3 H, s), 2,83 (3 H, s), 1,44 (9 H, s).
- 20 (e) N-((2-(4-Clorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidro[1,3]tiazolo[4,5-b]piridin-6-il)carbonil)glicina. Se mezclaron tiofen-2-carboxilato de cobre (I) (55 mg, 0,3 mmol), ácido 4-clorofenilborónico (75 mg, 0,5 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (9 mg, 0,010 mmol), tri(2-furil)fosfina (18 mg, 0,08 mmol) y 2-(7-hidroxi-4-metil-2-(metiltio)-5-oxo-3a,4,5,7a-tetrahidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxamido)acetato de terc-butilo (94 mg, 0,24 mmol) en THF (1 ml), y entonces se colocaron bajo una atmósfera de argón. Se calentó la mezcla a 65°C durante la noche, se añadió gel de sílice y se eliminó el disolvente a vacío. La purificación del gel de sílice fundido mediante cromatografía en columna proporcionó un sólido impuro, que se llevó directamente a la siguiente etapa. EM (ESI) m/z: Calculado; 449,1: Observado; 394,0 (M-terc-butilo + H⁺). Se disolvió este material en TFA (1 ml) y se agitó durante 15 minutos. Se añadió agua (5 ml) y se filtró la suspensión resultante y se lavó con agua varias veces, luego una vez con MeOH dando el compuesto del título. EM (ESI) m/z: Calculado; 393,0: Observado; 394,0. ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 10,41 – 10,54 (1 H, m), 8,17 (2 H, d, J=8,4 Hz), 7,68 (2 H, d, J=8,6 Hz), 4,15 (2 H, d, J=5,9 Hz), 3,78 (3 H, s).
- 25
- 30 Método 3. Preparación de 7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno [3,2-b] piridin-6-carboxilato de etilo.



- 35 (a) 3-(3-Etoxi-N-metil-3-oxopropanamido)tiofen-2-carboxilato de metilo. A temperatura ambiente bajo argón, se trató una disolución de 3-aminotiofen-2-carboxilato de metilo (11,79 g, 75,0 mmol, disponible comercialmente de Aldrich, Milwaukee, WI) en 70 ml de DMF con K₂CO₃ (3,87 g). Se trató gota a gota la suspensión resultante con yodometano (4,90 ml, 78,8 mmol), se agitó durante 1 hora, se calentó hasta 60°C durante 12 horas, se trató con yodometano adicional (4,90 ml, 78,8 mmol) y se agitó durante 5 horas a 60°C. Se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc, se lavó con agua (1x), HCl acuoso 0,1 M (1x) y salmuera (1x), se secó sobre MgSO₄ y se evaporó dando un sólido de color beis (7,10 g). Se trató gota a gota una disolución de este material bruto (6,73 g, 39,3 mmol) en 30 ml de DMF y 3 ml de DIEA a 24°C con cloruro de etilmalonilo (5,20 ml, 41,3 mmol) y se agitó (fuertemente exotérmica) durante 30 minutos. Se diluyó la mezcla con EtOAc y se lavó con agua (1x), salmuera (1x), se secó sobre MgSO₄ y se evaporó. Resultó un aceite marrón (10,78 g), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. EM (ESI) m/z: Calculado; 285,3: Observado; 286,1.
- 40
- 45 (b) 7-Hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxilato de etilo. Se disolvió 3-(3-etoxi-N-metil-3-oxopropanamido)tiofen-2-carboxilato de metilo bruto (1,00 g, 3505 μmol) en THF (6 ml), se trató con 6 ml de una disolución de NaOEt en EtOH (recién preparada a partir de 161 mg de Na en 6 ml de EtOH). Durante la adición, se formó un precipitado amarillo. Se agitó la mezcla durante 30 minutos, y se recogió el precipitado resultante mediante filtración, se lavó con Et₂O y se secó a vacío. Se trituró el sólido ligeramente amarillo en MeOH, se recogió mediante filtración y se secó a vacío, lo que proporcionó el compuesto del título como un sólido blanco (450 mg). EM (ESI) m/z: Calculado; 253,3: Observado; 254,1. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7,56 (1 H, s a), 7,05 (1 H, d a, J ~ 5,3 Hz), 4,01 (2 H, q, J = 7,1 Hz), 3,34 (3 H, s), 1,18 (3 H, t, J= 7,0 Hz).
- 50

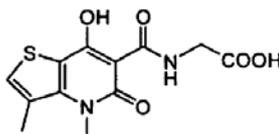
Método 4. Preparación de ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético.



(a) 2-(7-Hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acetato de metilo. Se calentó una mezcla de clorhidrato de 2-aminoacetato de metilo (291 mg, 2317 μmol) y 7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxilato de etilo (489 mg, 1931 μmol) en 15 ml de dioxano hasta 100°C en un tubo sellado y se agitó durante 15 horas. Se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente y se añadió gota a gota la suspensión resultante a 100 ml de agua con hielo. Se recogió el precipitado mediante filtración, se lavó con H₂O y se secó a vacío. Se trituraron los sólidos con Et₂O, se recogieron mediante filtración y se secaron dando un sólido beis. La purificación del producto bruto mediante cromatografía ultrarrápida (gradiente desde hexanos hasta hexanos/EtOAc = 1:1) dio el compuesto del título como un sólido blanco (301 mg). EM (ESI) m/z: Calculado; 296,3: Observado; 297,1. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 10,73 (1 H, s a), 7,78 (1 H, d, J= 5,3 Hz), 7,08 (1 H, d, J= 5,3 Hz), 4,24 (2 H, s a), 3,79 (3 H, s), 3,69 (3 H, s).

(b) Ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético. Se trató una suspensión de 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acetato de metilo (241 mg, 813 μmol) en MeOH (2 ml) y THF (6 ml) a 24°C con 1 ml de NaOH acuoso 1 M y se agitó durante 4 horas. Se acidificó la mezcla hasta pH 1 usando HCl acuoso 1 M, y se recogió el material precipitado mediante filtración y se secó a vacío dando el compuesto del título como un sólido blanco.

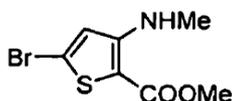
Método 5. Preparación de ácido 2-(7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético.



(a) 2-(7-Hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acetato de terc-butilo. Se agitó una mezcla de 7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxilato de etilo (0,477 g, 1,78 mmol, preparado de manera análoga al método 3 utilizando 3-amino-4-metiltiofen-2-carboxilato de metilo (Aldrich, Milwaukee, WI)) disponible comercialmente y clorhidrato de 2-aminoacetato de terc-butilo (0,598 g, 3,57 mmol) en dioxano y DIEA a 90°C durante 12 horas. Se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente, se diluyó con CHCl₃, se lavó con agua (1x) y salmuera (1x), se secó sobre MgSO₄ y se evaporó. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida (de hexanos a hexanos/EtOAc = 1:1) UV dio el compuesto del título como un sólido blanco (27 mg). EM (ESI) m/z: Calculado; 352,4: Observado; 353,1. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 10,73 (1 H, s a), 7,36 (1 H, s), 4,12 (2 H, d, J= 5,4 Hz), 3,88 (3 H, s), 2,62 (3 H, s), 1,50 (9 H, s).

(b) Ácido 2-(7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético. Se agitó una disolución de 2-(7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acetato de terc-butilo (20 mg, 57 μmol) en 1 ml de TFA a 24°C durante 2 horas. Se evaporó el disolvente y se suspendió el residuo en H₂O, se recogió mediante filtración y se secó a vacío dando el compuesto del título como un sólido blanco.

Método 6. Preparación de 5-bromo-3-(metilamino)tiofen-2-carboxilato de metilo.

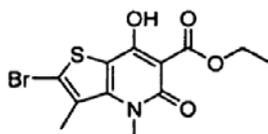


(a) 5-Bromo-3-(2,2,2-trifluoroacetamido)tiofen-2-carboxilato de metilo. Se trató una mezcla de 3-aminotiofen-2-carboxilato de metilo (13,9 g, disponible comercialmente de Aldrich, Milwaukee, WI) en DCM (140 ml) y MeOH (140 ml) a 24°C con tribromuro de trimetilfenilamonio (100 g) seguido por carbonato de calcio (35,6 g). Se dejó agitar la mezcla a 24°C durante 16 horas y se filtró. Se lavó la torta con ~ 100 ml de EtOAc. Se concentró el filtrado a presión reducida y se diluyó el residuo con 300 ml de H₂O y 1 l de EtOAc. Se separaron las fases y se lavó la fase orgánica con H₂O, Na₂S₂O₃ acuoso saturado, NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera (cada uno ~100 ml). Se secó la fase orgánica (MgSO₄) y se evaporó dando un aceite oscuro. Se disolvió este material en DCM (200 ml), se enfrió hasta 0°C y se trató con DIEA (20 ml) seguido por adición gota a gota de TFAA (15 ml, 106 mmol). Se agitó la mezcla a de 0°C a 24°C durante 3 horas y se diluyó con H₂O (~150 ml). Se extrajo la mezcla dos veces con CHCl₃ (cada una ~200 ml), y se secaron las fases orgánicas combinadas sobre MgSO₄ y se evaporaron dando un aceite marrón. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida (de hexanos a hexanos/EtOAc = 9:1) dio como resultado sólidos de color amarillo claro (7,10 g). EM (ESI) m/z: Calculado; 332,1: Observado; 331,9, 333,9. ¹H-RMN

(300 MHz, CDCl₃) δ ppm 8,75 (1 H, s a), 7,56 (1 H, s), 3,91 (3 H, s).

(b) 5-Bromo-3-(metilamino)tiofen-2-carboxilato de metilo. Se trató una mezcla de 5-bromo-3-(2,2,2-trifluoroacetamido)tiofen-2-carboxilato de metilo (7,01 g, 21,1 mmol) y K₂CO₃ (5,83 g, 42,2 mmol) en DMF (50 ml) con yodometano (1,58 ml, 25,3 mmol) en argón y se calentó a 65°C durante 3 horas. Se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc, se lavó con agua y salmuera (cada uno 1x, 50 ml), se secó (MgSO₄) y se evaporó dando un aceite oscuro. Se disolvió este residuo en MeOH (70 ml) y se trató a 24°C con NaOMe en MeOH (preparado a partir de 0,48 g de Na en 20 ml de MeOH). Se agitó la mezcla durante 15 horas, se diluyó con H₂O y se extrajo con CHCl₃ (2x). Se evaporaron las fases orgánicas combinadas, se coevaporaron con tolueno y se secaron a vacío. Se usó el material bruto en la siguiente etapa sin purificación adicional.

10 Método 7. Preparación de 2-bromo-7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxilato de etilo.



(a) 3-Amino-5-bromo-4-metiltiofen-2-carboxilato de metilo. Se trató gota a gota una disolución de 3-amino-4-metiltiofen-2-carboxilato de metilo (10,8 g, 63 mmol, disponible comercialmente de Aldrich, Milwaukee, WI) en AcOH (11 ml) y DCM (100 ml) con una disolución de Br₂ (6,50 ml, 126 mmol) en DCM (10 ml), se agitó durante 1 hora, se calentó hasta 50°C y se agitó durante 18 horas. Se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente, se diluyó con CHCl₃, se lavó con agua, se secó sobre MgSO₄ y se evaporó. Se purificó el producto bruto mediante cromatografía ultrarrápida usando EtOAc/hexanos dando el compuesto del título. EM (ESI) m/z: Calculado; 250,11; Observado; 249,9. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 3,81 (3 H, s), 2,03 (3 H, s).

(b) 5-Bromo-4-metil-3-(2,2,2-trifluoroacetamido)tiofen-2-carboxilato de metilo. A 0°C, se añadió gota a gota DIEA (4,32 ml, 24,8 mmol) a una disolución de 3-amino-5-bromo-4-metiltiofen-2-carboxilato de metilo (6,20 g, 24,8 mmol) en DCM (100 ml), seguido por la adición gota a gota de TFAA (3,45 ml, 24,8 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 18 horas, se diluyó con CHCl₃, se lavó con agua, se secó sobre MgSO₄ y se evaporó. Se purificó el producto bruto mediante cromatografía ultrarrápida usando EtOAc/hexanos dando el compuesto del título. EM (ESI) m/z: Calculado; 346,1; Observado; 345,9. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 9,62 (1 H, s a), 3,89 (3 H, s), 2,15 (3 H, m).

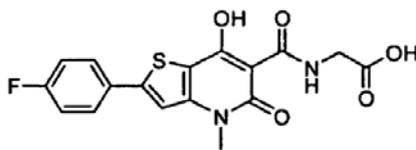
(c) 5-Bromo-4-metil-3-(2,2,2-trifluoro-N-metilacetamido)tiofen-2-carboxilato de metilo. Se trató una suspensión de 5-bromo-4-metil-3-(2,2,2-trifluoroacetamido)tiofen-2-carboxilato de metilo (0,750 g, 2,17 mmol), K₂CO₃ (4,33 mmol) en DMF (10 ml) con yodometano (0,162 ml, 2,60 mmol), se calentó hasta 65°C durante 1 hora y entonces se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. Se diluyó la mezcla con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, y se evaporó. Se usó el producto bruto en la siguiente etapa sin purificación adicional. EM (ESI) m/z: Calculado; m/z 360,1; Observado; 361,9. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 3,86 (3 H, s), 3,24 (3 H, s), 2,09 (3 H, s).

(d) 5-Bromo-4-metil-3-(metilamino)tiofen-2-carboxilato de metilo. Se añadió metanolato de sodio (3,9 ml, 1,9 mmol) a una suspensión de 5-bromo-4-metil-3-(2,2,2-trifluoro-N-metilacetamido)tiofen-2-carboxilato de metilo (0,70 g, 1,9 mmol) en MeOH (5 ml) y se agitó durante 1 hora. Se eliminó el disolvente y se disolvió el residuo en CHCl₃, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se evaporó. Se purificó el residuo mediante cromatografía ultrarrápida usando EtOAc/hexanos dando el compuesto del título. EM (ESI) m/z: Calculado 264,1; Observado; 265,9. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,85 (1 H, s a), 3,79 (3 H, s), 3,06 (3 H, s), 2,28 (3 H, s).

(e) 5-Bromo-3-(3-etoxi-N-metil-3-oxopropanamido)-4-metiltiofen-2-carboxilato de metilo. Se trató una disolución de 5-bromo-4-metil-3-(metilamino)tiofen-2-carboxilato de metilo (0,28 g, 1,1 mmol), DIEA (0,22 ml, 1,3 mmol), N,N-dimetilpiridin-4-amina (0,020 g, 0,16 mmol) en DMF (4 ml) a temperatura ambiente con 3-cloro-3-oxopropanoato de etilo (0,16 ml, 1,3 mmol) y se agitó durante 18 horas. Se diluyó la mezcla con EtOAc, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se evaporó. Se purificó el residuo mediante cromatografía ultrarrápida usando EtOAc/hexanos dando el compuesto del título. EM (ESI) m/z: Calculado 378,2; Observado; 379,0. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 4,12-4,11 (2 H, m), 3,86 (3 H, s), 3,16 (3 H, s), 3,12 (2 H, s), 2,10 (3 H, s), 1,23 (3 H, t, J= 7,1 Hz).

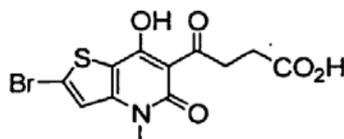
(f) 2-Bromo-7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxilato de etilo. Se añadió etanolato de sodio (0,65 ml, 0,65 mmol) a una disolución de 5-bromo-3-(3-etoxi-N-metil-3-oxopropanamido)-4-metiltiofen-2-carboxilato de metilo (0,12 g, 0,33 mmol) en EtOH (1 ml). Durante la adición, se formó un precipitado. Se agitó la mezcla durante 30 minutos, y se recogió el precipitado resultante mediante filtración y se lavó con Et₂O dando el compuesto del título. EM (ESI) m/z: Calculado 346,2; Observado; 347,0. ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 4,03-4,02 (2 H, m), 3,56 (3 H, s a), 2,51 (3 H, s a), 1,20-1,18 (3 H, m).

Método 8. Preparación de ácido 2-(2-(4-fluorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético.



- 5 (a) 2-(2-(4-Fluorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acetato de terc-butilo. Se calentó una mezcla de 2-(2-bromo-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acetato de etilo (0,20 g, 0,48 mmol, método 7), ácido 4-fluorofenilborónico (0,134 g, 0,959 mmol, disponible comercialmente de Aldrich), Pd(Ph₃)₄ (0,055 g, 0,048 mmol) en 1,2-dimetoxietano (4 ml) y Na₂CO₃ acuoso (2 M, 0,72 ml) bajo N₂ a 100°C durante 2 horas. Se enfrió la suspensión hasta temperatura ambiente, se vertió en agua, se extrajo con CHCl₃, se secó sobre MgSO₄ y se evaporó. Se enjuagó el residuo con Et₂O y se secó a vacío dando el compuesto del título. EM (ESI) m/z: Calculado 432,4; Observado; 431,1. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 10,72-10,672 (1 H, m), 7,53 (1 H, s), 7,35-7,30 (2 H, m), 7,14 (2 H, t, J= 8,5 Hz), 4,12 (2 H, d, J= 5,3 Hz), 3,23 (3 H, s), 1,50 (9 H, s).
- 10 (b) Ácido 2-(2-(4-fluorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético. Se preparó este compuesto según el método 5(b). ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 12,68 (1 H, s a), 10,28 (1 H, s a), 7,85 (1 H, s), 7,31 (2 H, s a), 7,06 – 7,12 (2 H, m), 3,89-3,92 (2 H, m), 2,92 (3 H, s).

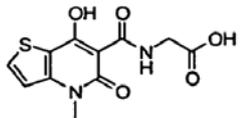
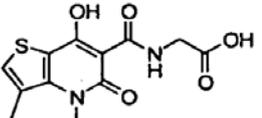
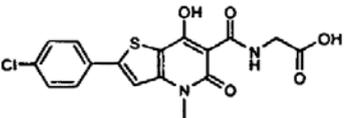
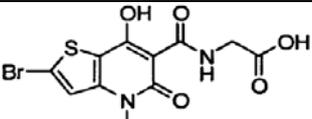
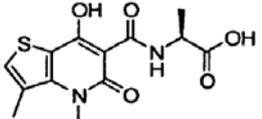
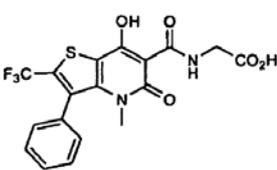
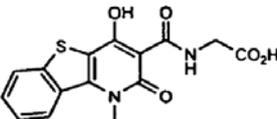
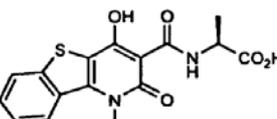
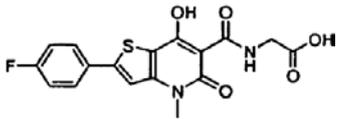
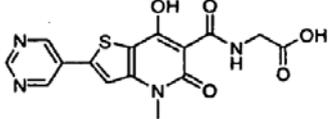
Método 9. Preparación de ácido 4-(2-bromo-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-il)-4-oxobutanoico.



- 15 (a) 6-(3-(1,3-Dioxan-2-il)propanoil)-2-bromo-7-hidroxi-4-metiltieno[3,2-b]piridin-5(4H)-ona. A 2-bromo-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxilato de etilo (800 mg, 2408 μmol, preparado de manera similar a la descrita en el método 7 usando 5-bromo-3-(metilamino)tiopen-2-carboxilato de metilo (método 6(b))), se le añadió THF (24 ml) e hidruro de sodio (al 60% en aceite; 963 mg, 24084 μmol). Se agitó la mezcla resultante durante 1 hora a temperatura ambiente. Entonces se añadió gota a gota bromuro de 2-[2-(1,3-dioxanil)etil]magnesio en THF (4,81 ml, 2408 μmol) a temperatura ambiente, y se agitó la mezcla resultante durante 3 horas antes de que se extinguiera con agua, se acidificó con HCl 5 N, se filtró, se lavó con agua y se secó en un horno de vacío. Se purificó el producto bruto mediante HPLC dando el compuesto del título.
- 20 (b) 4-(2-Bromo-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-il)-4-oxobutanal. A 6-(3-(1,3-dioxan-2-il)propanoil)-2-bromo-7-hidroxi-4-metiltieno[3,2-b]piridin-5(4H)-ona (155 mg, 385 μmol) se le añadió ácido acético acuoso al 80% (7,7 ml) y se agitó la mezcla resultante durante 2 horas a 100°C. El producto de reacción precipitó con la adición de agua, y se filtró y luego se secó en un horno de vacío dando el compuesto del título.
- 25 (c) Ácido 4-(2-bromo-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-il)-4-oxobutanoico. A 4-(2-bromo-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-il)-4-oxobutanal (215 mg, 625 μmol) se le añadió DMF (3123 μl, 625 μmol) y Oxone (384 mg, 625 μmol). Entonces se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 2 horas. El producto de reacción precipitó con la adición de agua, y se filtró, se lavó con agua y se secó en un horno de vacío dando el compuesto del título como un sólido de color amarillo claro. EM (m/z) = 360, 362 (M+H)⁺. Calculado para el compuesto del título: 360.
- 30

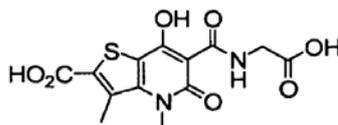
Tabla 1. La siguiente tabla enumera compuestos que se prepararon mediante los métodos descritos anteriormente.

Ej.	Estructura	Nombre	¹ H-RMN (δ ppm) o datos de EM	Método
1		N-((2-(4-Clorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidro[1,3]tiazolo[4,5-b]piridin-6-il)carbonil)glicina	10,41 – 10,54 (1 H, m), 8,17 (2 H, d, J=8,4 Hz), 7,68 (2 H, d, J=8,6 Hz), 4,15 (2 H, d, J=5,9 Hz), 3,78 (3 H, s).	2
2		N-((7-Hidroxi-2,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidro[1,3]tiazolo[4,5-b]piridin-6-il)carbonil)glicina	10,35 – 10,59 (1 H, m), 4,11 (2 H, d, J=5,5 Hz), 3,69 (3 H, s), 2,85 (3 H, s).	1

3		Ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético	12,89 (1 H, s), 10,54 (1 H, s a), 8,26 (1 H, d, J=5,3 Hz), 7,47 (1 H, d, J=5,5 Hz), 4,12 (2 H, s a), 3,64 (3 H, s).	3, 4
4		Ácido 2-(7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético	10,54 (1 H, s), 7,86 (1 H, s), 4,12 (2 H, d, J=5,5 Hz), 3,83 (3 H, s), 2,61 (3 H, s).	3, 5
5		Ácido 2-(2-(4-clorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético	12,90 (1 H, s), 10,51 (1 H, t a, J=5,5 Hz), 8,01 (1 H, s), 7,92 (2 H, d, J=8,6 Hz), 7,60 (2 H, d, J=8,6 Hz), 4,12 (2 H, d, J=5,7 Hz), 3,68 (3H, s).	6, 7, 4, 8
6		Ácido 2-(2-bromo-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético	12,93 (1 H, s a), 10,44 (1 H, s a), 8,37 (1 H, s), 4,12 (2H, d, J=5,5 Hz), 3,96 (3 H, s).	6, 7, 5
7		Ácido (S)-2-(7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)propanoico	13,03 (1 H, s a), 10,70 (1 H, s a), 7,86 (1 H, s), 4,51-4,48 (1 H, m), 3,82 (3 H, s), 2,61 (3 H, s), 1,44 (3H, d, J=7,0 Hz).	3, 5
8		Ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-3-fenil-2-(trifluorometil)-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético	12,93 (1 H, s a), 10,44 (1 H, s a), 7,55-7,53 (5 H, m), 4,15 (2 H, s a), 3,38 (2 H, q, J=7,4 Hz), 2,99 (3 H, s), 1,09 (3H, t, J=7,4 Hz). Contiene 0,5 de equivalentes de Et ₂ O.	3, 5
9		N-((4-Hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro[1]benzotieno[3,2-b]piridin-3-il)carbonil)glicina	12,91 (1 H, s), 10,56 (1 H, s a), 8,61 (1 H, d, J=8,3 Hz), 8,20 (1 H, d, J=8,0 Hz), 7,68 (1 H, t a, J=aprox. 8,0 Hz), 7,60 (1 H, t a, J=aprox. 8,0 Hz), 4,15 (2H, d, J=5,5 Hz), 4,10 (3 H, s).	6, 7, 4, 8
10		N-((4-Hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro[1]benzotieno[3,2-b]piridin-3-il)carbonil)-L-alanina	13,08 (1 H, s a), 10,73 (1 H, d, J=7,0 Hz), 8,62 (1 H, d, J=8,8 Hz), 8,20 (1 H, d, J=7,8 Hz), 7,68 (t a, 1 H, J=aprox. 8,0 Hz), 7,62 (1 H, t a, J=aprox. 8,0 Hz), 4,56-4,53 (1 H, m), 4,10 (3 H, s), 1,47 (3H, d, J=7,2 Hz).	6, 7, 4, 8
11		Ácido 2-(2-(4-fluorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético	12,68 (1 H, s a), 10,28 (1 H, s a), 7,85 (1 H, s), 7,31 (2 H, s a), 7,06 - 7,12 (2 H, m), 3,89-3,92 (2 H, m), 2,92 (3H, s).	6, 7, 4, 8
12		Ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-2-(pirimidin-5-il)-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético	12,92 (1 H, s a), 10,49 (1 H, s a), 9,28 (1 H, s), 9,00 (2 H, s), 8,28 (1 H, s), 4,10-4,17 (2 H, m), 3,20 (3H, s).	6, 7, 4, 8

13		Ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-2-(2-metilpiridin-3-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético	10,46 (1 H, s a), 8,69 (1 H, s a), 8,16 (1 H, s a), 8,02 (1 H, s a), 7,56 (1 H, s a), 4,14 (2 H, s a), 3,07 (3 H, s a), 2,51 (3 H, s a).	6, 7, 4, 8
14		Ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-2-(3-metiltiofen-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético	12,92 (1 H, s a), 10,49 (1 H, s), 8,22 (1 H, s), 7,64-7,63 (1 H, m), 7,02-7,06 (1 H, m), 4,10-4,14 (2 H, m), 3,22 (3 H, s), 2,04 (3 H, s).	6, 7, 4, 8
15		Ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-2-fenil-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético	12,91 (1 H, s a), 10,51 (1 H, s a), 8,06 (1 H, s a), 7,49-7,47 (5 H, m), 4,13 (2 H, s a), 3,14 (3 H, s).	6, 7, 4, 8
16		Ácido 2-(2-bromo-7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético	12,90 (1 H, s a), 10,46 (1 H, s a), 4,12 (2 H, s a), 3,83 (3 H, s a), 2,60 (3 H, s a).	6, 7, 4
17		Ácido 4-(2-bromo-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-il)-4-oxobutanoico	EM (m/z) = 360, 362 (M+H) ⁺ .	9
18		Ácido 4-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-il)-4-oxobutanoico	7,83 (d, J=5,48 Hz, 1 H), 7,03 (d, J=5,48 Hz, 1 H), 3,65 (s, 3H), 3,61 (t, J=6,36 Hz, 2 H), 2,76 (t, J=6,36 Hz, 2 H). EM (m/z) = 282(M+H) ⁺ .	9

Método 10. Preparación de ácido 6-((carboximetil)carbamoil)-7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-2-carboxílico.

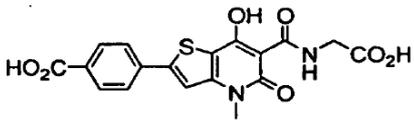
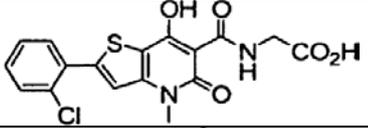
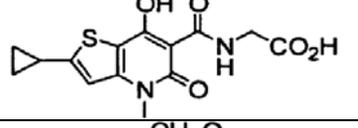
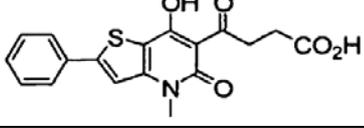
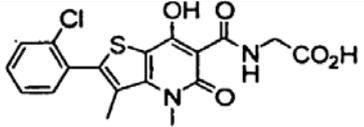
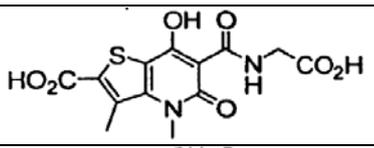
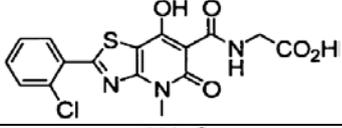
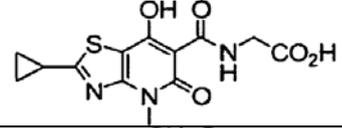
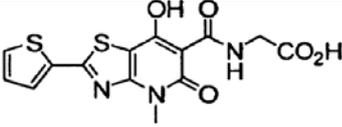
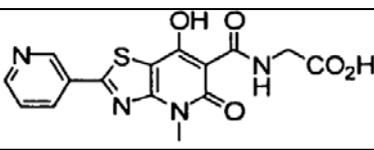
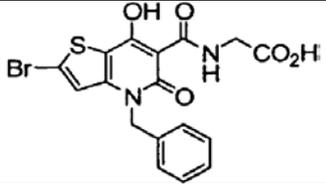
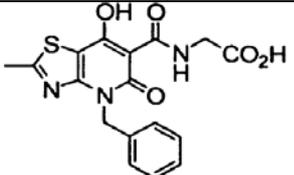


5 (a) Ácido 6-((2-terc-butoxi-2-oxoetil)carbamoil)-7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-2-carboxílico. El compuesto del título se prepara mediante carbonilación catalizada por paladio de 2-(2-bromo-7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acetato de terc-butilo con monóxido de carbono en MeOH según el procedimiento expuesto en Tsuji, J. Palladium Reagents and catalysts: Innovations in Organic Synthesis Publisher: (Wiley, Chichester, R.U.), 340-5 (1995).

10 (b) Ácido 6-((carboximetil)carbamoil)-7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-2-carboxílico. Se prepara el compuesto del título mediante hidrólisis ácida de ácido 6-((2-terc-butoxi-2-oxoetil)carbamoil)-7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-2-carboxílico para eliminar el éster terc-butílico según un procedimiento análogo al método 5(b) seguido por saponificación para eliminar el éster metílico según un procedimiento análogo al descrito en el método 4(b).

Tabla 2. La siguiente tabla enumera compuestos que se preparan mediante los métodos descritos anteriormente.

Ej.	Estructura	Nombre	PM	Método
19		Ácido 2-(2-(3,6-dihidro-2H-piran-4-il)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético	364	6, 7, 4, 8

20		Ácido 4-(6-((carboximetil)carbamoil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-2-il)benzoico	402	6, 7, 4, 8
21		Ácido 2-(2-(2-clorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético	392	6, 7, 4, 8
22		Ácido 2-(2-ciclopropil-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético	322	6, 7, 4, 8
23		Ácido 4-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-2-fenil-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-il)-4-oxobutanoico	357	6, 7, 8, 9
24		Ácido 2-(2-(2-clorofenil)-7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético	406	3, 5, 6, 7, 8
25		Ácido 6-((carboximetil)carbamoil)-7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-2-carboxílico	340	6, 7, 4, 10
26		Ácido 2-(2-(2-clorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxamido)acético	393	2
27		Ácido 2-(2-ciclopropil-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxamido)acético	323	2
28		Ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-2-(tiofen-2-il)-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxamido)acético	365	2
29		Ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-2-(piridin-3-il)-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxamido)acético	360	2
30		Ácido 2-(4-bencil-4-bromo-7-hidroxi-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético	437	6, 7, 4
31		Ácido 2-(4-bencil-7-hidroxi-2-metil-5-oxo-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxamido)acético	373	1

Los siguientes son ejemplos de métodos que pueden usarse para cuantificar la actividad de HIF PHD y la inhibición de la actividad de HIF PHD mediante compuestos de la presente invención.

Expresión, purificación y marcaje con europio de VCB y diseño de un ensayo de TR-FRET basado en Eu-VCB para la detección de péptidos hidroxiprolil HIF1 α

El complejo VCB se define como la proteína Von Hippel-Lindau (pVHL), complejo heterotrimérico de elongina B y elongina C. VCB se une específicamente a residuos de hidroxiprolina de HIF1 α , iniciando la poliubiquitinilación de HIF1 α y su posterior destrucción proteolítica. En ausencia de actividad prolil hidroxilasa, VCB no se une a HIF1 α no modificado. El complejo VCB se expresó en *E. coli* y se purificó a partir de la fracción soluble. Las secuencias de aminoácidos de los tres componentes de la proteína son las siguientes:

VHL (aminoácidos 54-213)

MHHHHHHEAGRPRVLRVNSREPSQVIFCNRSRVLVLPVWLNFDGEPQPYPTLPPGTGRRHSYRGHLWLFRDAG
 THDGLLVNQTELVPSLNVVDGQPIFANITLPHYTLKERCLQVVRSLVKPENYRRLDIVRSLYEDLEDHPNVQKDLERLT
 QERIAHQRMGD (SEQ ID NO: 1)

Elongina B

MDVFLMIRRHKTIFTDAKESSTVFELKRIVEGILKRPPDEQRLYKDDQLLDDGKTLGECGFTSQTARPQAPATVGLAF
 RADDTFEALCIEPFSSPPELPDVMKPDQSGSSANEQAVQ* (SEQ ID NO: 2)

15 Elongina C (aminoácidos 17-112)

MYVKLISSDGHEFIVKREHALTSGLIKAMLSGPGQFAENETNEVNFREIPSHVLSKVCMYFTYKVRYSNSTEIPFPIA
 PEIALELLMAANFLDC (SEQ ID NO: 3)

El extremo N-terminal de VHL contiene una etiqueta de afinidad de 6 histidinas para fines de purificación.

Un ensayo basado en VCB permite una medición altamente sensible y directa de la formación de producto enzimático (proteína HIF1 α o fragmentos de la misma que contienen un residuo de prolina hidroxilada) y es adecuado para una selección de alto rendimiento.

Para la expresión en *E. coli*, se clonó VHL 54-213 en pAMG21 (promotor Plux) entre el sitio NdeI-XhoI. Inmediatamente en el sentido de 3' de esto está el gen de elongina C clonado en el sitio XhoI a SacII. Hay un espaciador de 13 pb entre el codón de terminación de VHL y el codón de iniciación de elongina C. El plásmido de expresión pAMG21 es un plásmido de 6118 pares de bases que se derivó del vector de expresión pCFM1656 (ATCC n.º 69576), que a su vez puede derivarse del sistema de vector de expresión descrito en la patente estadounidense n.º 4.710.473. Este diseño permite la inducción química más que la térmica de la expresión de proteínas mediante la sustitución de la región promotora, reemplazando un promotor pl de bacteriófago lambda sintético con un segmento de ADN que contiene el gen LuxR y el promotor de LuxPR, y permite la regulación de la expresión mediante la proteína LuxR codificada por plásmido, permitiendo de ese modo que cualquier cepa de *E. coli* sirva como huésped.

Se clonó elongina B en pTA2 (vector basado en pACYC 184.1) bajo el control de un promotor Lac. Se transformaron células de *E. coli* competentes con el constructo pAMG21-VHL-elongina C. Estas células de *E. coli* se volvieron competentes de nuevo antes de la transformación con el constructo pTA2-elongina B para producir la cepa de *E. coli* final que contiene ambos constructos de plásmido. La inducción de la expresión de proteínas se inició mediante la adición de IPTG y N-(3-oxo-hexanoil)-homoserina lactona (HSL) a 30°C.

Se lisaron células bacterianas mediante un microfluidizador en tampón acuoso de pH 8,0 y se separó la fracción soluble mediante centrifugación. Se sometió la fracción de *E. coli* soluble a cromatografía de quelación de níquel-NTA para utilizar la etiqueta de afinidad de seis histidinas localizada en el constructo pVHL. Se aplicaron las fracciones combinadas de la columna de níquel a una columna de cromatografía de exclusión molecular (SEC) Superdex 200. La proteína eluyó como un monómero en SEC, indicando que los tres componentes de la proteína formaban un complejo en disolución. Se combinaron las fracciones de la columna de SEC y se aplicaron a una columna de intercambio aniónico de Q Sepharose para la purificación final. Se visualizó el complejo purificado mediante SDS-PAGE y se confirmaron las identidades de los tres componentes de la proteína mediante secuenciación de los aminoácidos N-terminales.

Se intercambió VCB purificada en tampón de carbonato de sodio 50 mM pH 9,2 y se marcó con un quelato de europio durante la noche. Se usó el quelato de europio LANCE™ (PerkinElmer, Inc; Eu-W 1024 ITC quelato; el número de catálogo es AD0013) para marcar los residuos de lisina del complejo VCB. El quelato contiene un grupo reactivo con isotiocianato que marca específicamente proteínas en residuos de lisina (hay quince residuos de lisina en el complejo de proteína VCB). Se purificó la VCB europilada resultante mediante columnas de desalinización y se cuantificó por medios convencionales. Se determinó que el rendimiento de marcaje era 6,6 grupos europio por un complejo VCB.

Se produjeron dos péptidos por SynPep, Inc.: un péptido modificado en hidroxiprolina y un péptido control no modificado. Se esperaba que VCB se uniese específicamente al péptido modificado en hidroxiprolina (una imitación

de la hidroxilación enzimática mediante prolil hidroxilasa). No se esperaba que VCB se uniese al péptido no modificado. Ambos péptidos se produjeron con un grupo biotina en el extremo N-terminal para permitir la unión mediante el aceptor fluorescente marcado con estreptavidina alofococianina (estreptavidina APC; Prozyme, Inc.).

5 La secuencia de los péptidos HIF1 α sintetizados a medida (aminoácidos 556-575, con residuos de metionina reemplazados por residuos de alanina para impedir la oxidación) era la siguiente:

(no modificado) Biotina-DLDLEALAPYIPADDDFQLR-CONH₂ (SEQ ID NO: 4)

(modificado) Biotina-DLDLEALA[hyP]YIPADDDFQLR-CONH₂ (SEQ ID NO: 5)

Los péptidos se adquirieron de SynPep como sólidos liofilizados y se suspendieron en DMSO para uso experimental. Los péptidos se cuantificaron según su absorbancia a 280 nm.

10 Los experimentos se llevaron a cabo en placas de poliestireno Costar de 96 pocillos. Se suspendieron péptidos biotinilados y VCB europilada en el siguiente tampón: HEPES 100 mM 7,5, NaCl 0,1 M, BSA al 0,1% y Tween 20 al 0,05%. Se dejó que los reactivos alcanzaran el equilibrio mediante agitación durante 1 hora antes de que las placas se leyeran en el instrumento Discovery (Packard). La salida de datos es la razón de la señal de emisión a 665 nm y 620 nm que resulta de la excitación a 320 nm.

15 Tal como se muestra en la figura 1, la interacción específica de VCB europilada con el péptido HIF1 α modificado en hidroxiprolina acoplado a estreptavidina APC generó una señal de fluorescencia detectable con respecto a la señal de fondo. Estos resultados demuestran una señal de fluorescencia generada por la interacción específica de Eu-VCB con el péptido hyp-HIF1 α . Cada barra representa los datos de un único pocillo de una placa de ensayo de 96 pocillos. Se calculó la razón de señal con respecto a fondo a partir de datos de una placa control (péptido no modificado). La concentración de Eu-VCB se tituló a lo largo de las filas (nM) y las concentraciones de estreptavidina APC se titularon a lo largo de las columnas. La concentración de péptido se fijó a 100 nM.

20 Detección de hidroxiprolil HIF-1 α convertido enzimáticamente mediante HIF PHD2 e inhibición de la actividad de HIF PHD2

25 Se validó la unión del péptido P564-HIF1 α a VCB utilizando la tecnología FRET de resolución temporal (TR-FRET) homogénea. Se sintetizó internamente un péptido de 17 aminoácidos (17aa) con una molécula de biotina marcada en el extremo N-terminal que corresponde a las secuencias de aminoácidos 558 a 574 de la proteína HIF1 α (DLEMLAPYIPMDDDFQL (SEQ ID NO: 6)). Se generó químicamente un segundo péptido de 17aa que contenía una prolina hidroxilada en la posición 564 para imitar la forma de producto convertido por la enzima PHD de la proteína que se reconoce por VCB. Se realizó el ensayo en un volumen final de 100 μ l en tampón que contenía Tris-HCl 50 mM (pH 8), NaCl 100 mM, FBS inactivado por calor al 0,05%, Tween-20 al 0,05% y NaN₃ al 0,5%. Se determinó la señal óptima con respecto al fondo y el intervalo lineal de detección mediante titulación del péptido hidroxilado o no hidroxilado a concentraciones variables entre 0 y 1 μ M con una titulación de VCB-Eu a concentraciones variables entre 0 y 50 nM con 50 nM de estreptavidina APC. Se dejó que los reactivos de unión alcanzaran el equilibrio mediante agitación durante 1 hora antes de que se leyera en el instrumento Discovery (Packard). La salida de datos es la razón de la señal de emisión a 665 nm y 620 nm que resulta de la excitación a 320 nm.

30 Se detectó la actividad de HIF PHD2 mediante el péptido P564-HIF1 α y la unión a VCB en el formato TR-FRET. Se sometió a ensayo HIF PHD2 a diversas concentraciones entre 0 y 400 nM con péptido HIF1 α 3 μ M en tampón que contiene Tris-HCl 50 mM (pH 7,5), NaCl 100 mM, Tween 20 al 0,05%, 2-oxoglutarato 2 mM (2-OG), ácido ascórbico 2 mM y FeCl₂ 100 μ M en un volumen final de 100 μ l. Se determinó el transcurso de tiempo transfiriendo de manera periódica 2,5 μ l de la reacción a 250 μ l de tampón de TR-FRET 10x que contiene HEPES 500 mM (pH 7,5), NaCl 1 M, BSA al 1% y Tween-20 al 0,5% para poner fin a la reacción enzimática. Se añadió péptido HIF-1 α 15 nM a partir de la reacción finalizada a estreptavidina-APC 35 nM y VCB-Eu 10 nM a un volumen final de 100 μ l en tampón de TR-FRET 10X. Los reactivos de TR-FRET se colocaron en un agitador durante 1 hora antes de la detección en la plataforma Discovery.

35 Tal como se demuestra en las figuras 2A y 2B, hubo un aumento dependiente de la dosis en la señal de TR-FRET que resultaba de la unión del péptido P564-HIF1 α hidroxilado a VCB-Eu en comparación con la forma hidroxilada del péptido que daba como resultado una razón de señal con respecto a ruido de 14 veces a péptido HIF1 α 125 nM. La unión de VCB al péptido unido a APC permite una transferencia FRET entre el Eu y APC. La señal fue lineal hasta péptido 2 nM con VCB 3,125 nM, pero aumenta hasta péptido 62,5 nM con VCB 50 nM dando como resultado un intervalo lineal más grande.

40 La detección de TR-FRET utilizando VCB marcado con Eu es un sistema práctico para determinar la actividad catalítica de HIF PHD2. La hidroxilación mediante HIF PHD2 del péptido HIF1 α da como resultado un aumento de la afinidad de VCB por el péptido y por tanto un aumento de la señal de FRET. Tal como se muestra en las figuras 3A y 3B, se verificó la actividad con una señal de TR-FRET bastante lineal y creciente a lo largo del tiempo. Hubo un aumento dependiente de la dosis en las velocidades iniciales con concentración de enzima HIF PHD2 creciente hasta 400 nM. Las velocidades iniciales fueron lineales hasta enzima 100 nM.

45

Se cuantificó la inhibición de la actividad de HIF PHD2 utilizando la tecnología TR-FRET. HIF PHD2 cataliza una modificación de hidroxilo en el residuo de prolina del sustrato de péptido P564-HIF1 α (Biotina-DLEMLAPYIPMDDDFQL (SEQ ID NO: 7)) que da como resultado el reconocimiento y la unión del complejo heterotrimérico proteína Von Hippel-Lindau euopilada (pVHL), elongina B y elongina C (VCB-Eu).

5 Se ejecutó el ensayo de inhibición de PHD2 mediante la adición de FeCl₂ recién disuelto a 178,57 μ M (concentración final de 100 μ M) en tampón de reacción de PHD2 que contiene MES 30 mM, pH 6, NaCl 10 mM, Brij-35 al 0,25%, BSA al 0,01% y DMSO al 1%. Se añadieron 28 μ l de la disolución de hierro y 2 μ l de compuestos inhibidores diluidos en serie en DMSO al 100% (DMSO al 5% final) a placas de microtitulación de 96 pocillos de polipropileno negras. A eso, se añadieron 10 μ l de PHD2 10 nM (2 nM final) a todos los pocillos de la placa excepto los 8 pocillos de columna 12 (control LO), y se dejó incubar a temperatura ambiente en el agitador durante una hora. La columna 6 era el control HI que contenía la enzima PHD2 y vehículo de DMSO al 5%, pero sin compuesto inhibidor. Para iniciar la reacción enzimática de PHD2, se añadieron 10 μ l de una disolución que contenía péptido P564-HIF1 α 500 nM (100 nM final), ácido ascórbico 10 mM (2 mM final) y 2-oxoglutarato 1,25 μ M (α -cetoglutarato; 0,25 μ M final) en tampón de reacción de PHD2 a todos los pocillos de la placa y se dejó incubar en el agitador a temperatura ambiente durante una hora.

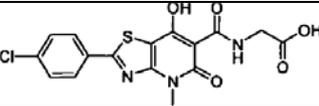
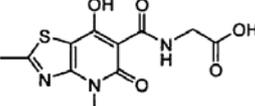
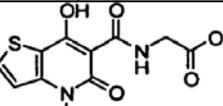
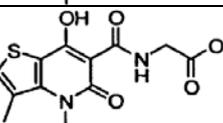
La reacción finalizó mediante la adición de 25 μ l de tampón de TR-FRET (TRIS-HCl 50 mM, pH 9, NaCl 100 mM, BSA al 0,05% y Tween-20 al 0,5%) que contenía succinato 150 mM (inhibidor de producto; 50 mM final), estreptavidina-APC 75 nM (25 nM final) y VCB-Eu 7,5 nM (2,5 nM final). Se colocaron los reactivos de detección de TR-FRET en un agitador durante 1 hora para alcanzar el equilibrio de unión antes de leer en la plataforma Discovery (PerkinElmer). El europio se excita a 315 nm y emite fosforescencia a 615 nm con un gran desplazamiento de Stoke. APC, a su vez, emite a 655 nm tras la excitación a 615 nm. La señal de TR-FRET se mide como la razón de la señal a 655 nm de APC dividida entre la señal de emisión a 615 nm de referencia de europio interna.

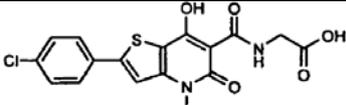
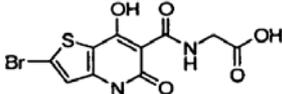
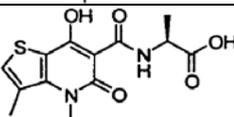
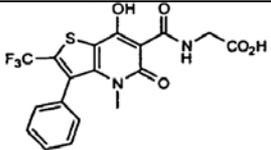
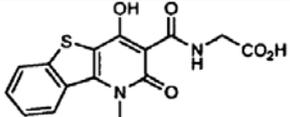
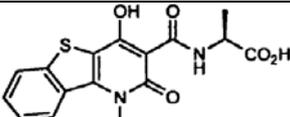
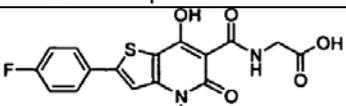
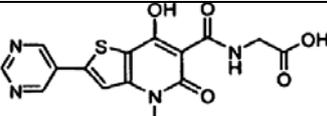
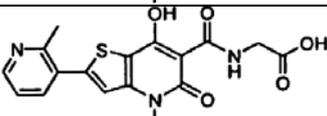
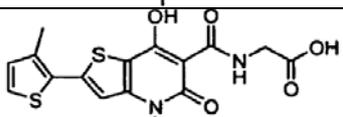
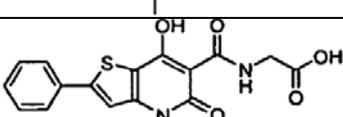
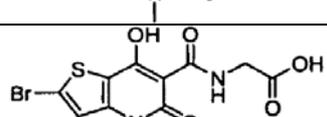
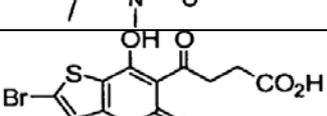
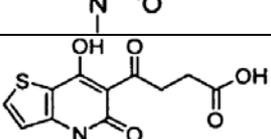
Se determinó el POC (porcentaje del control) comparando la señal del sustrato de péptido hidroxilado en la reacción enzimática que contenía compuesto inhibidor con la de la enzima PHD2 con vehículo de DMSO solo (control HI) y sin enzima (control LO). Se calculó POC usando la fórmula: % del control (POC) = (cpd - LO promedio) / (HI promedio - LO promedio) * 100. Se ajustaron los datos (que consistían en POC y concentración de inhibidor en μ M) a una ecuación de 4 parámetros ($y = A + ((B-A) / (1 + ((x/C)^D))$), en la que A es el valor y mínimo (POC), B es la y máxima (POC), C es la x (concentración de cpd) en el punto de inflexión y D es el factor de pendiente) usando un algoritmo de regresión no lineal de Levenburg-Marquardt.

30 En determinadas realizaciones, los compuestos de la presente invención presentan un valor de CI₅₀ de la actividad inhibidora de HIF PHD de 40 μ M o menos. En realizaciones adicionales, los compuestos de la presente invención presentan un valor de CI₅₀ de actividad inhibidora de HIF PHD de 10 μ M o menos y en realizaciones adicionales, los compuestos de la presente invención presentan un valor de CI₅₀ de la actividad inhibidora de HIP PHD de 5 μ M o menos.

35 La siguiente tabla 3 incluye valores de CI₅₀ de PHD2 obtenidos usando los procedimientos expuestos en el presente documento para diversos compuestos de los ejemplos descritos en el presente documento.

Tabla 3 de valores CI₅₀ de PHD2 de compuestos de los ejemplos

Ejemplo	Estructura	CI ₅₀ de PHD2 (μ M)
1		0,047
2		0,020
3		0,075
4		0,024

5		0,097
6		0,073
7		0,122
8		0,018
9		0,015
10		0,109
11		0,015
12		0,0083
13		0,016
14		0,078
15		0,021
16		0,020
17		0,064
18		0,003

Actividad colágeno prolil hidroxilasa I y II determinada por la medición de HPLC radiométrica de la conversión de 2-oxoglutarato en ácido succínico

Se obtuvieron valores de CI_{50} para los compuestos del ejemplo con respecto a colágeno prolil hidroxilasa I (CPH1) y colágeno prolil hidroxilasa II (CPH2) usando los métodos de ensayo descritos a continuación. Sorprendentemente, el reemplazo de un N de amida en la cadena lateral de la molécula por un átomo de C potenció enormemente la selectividad de los compuestos de los ejemplos para PHD2 con respecto a CPH1 y CPH2.

Se establecieron las condiciones de ensayo en estudios separados para definir la dependencia de ditioneitol (DTT), ascorbato y catalasa, y para definir la linealidad de la reacción y los valores de K_m para 2-oxoglutarato (2-OG; PerkinElmer LAS, Shelton, CT o Moravek Biochemicals, Brea, CA), $FeSO_4$ y péptido (Pro-Pro-Gly)₁₀ (PPG₁₀; Peptides International, Louisville, KY). Era evidente linealidad hasta al menos el 40% de conversión pero las reacciones no excedieron normalmente el 30% de conversión de 2-OG en ácido succínico (SA). No era evidente inhibición por producto. Se disolvieron los compuestos y se diluyeron en serie en DMSO al 100% para la determinación de la potencia. El tampón de ensayo consistía en Tris-HCl, pH 7,5, DTT 0,2 mM y catalasa 0,5 mg/ml. Se disolvió el péptido PPG₁₀ en ácido acético al 0,25% y se desnaturizó mediante ebullición durante 5 minutos, luego se colocó sobre hielo durante 5 minutos. Entonces, se mezcló previamente el PPG₁₀ desnaturizado con ascorbato 1 M, preparado en agua, y se diluyó la mezcla con tampón de ensayo para producir una disolución de trabajo de 5X péptido y ascorbato. Se disolvió $FeSO_4$ de manera reciente en agua y se diluyó hasta una concentración 2,8X en tampón de ensayo. Se diluyeron disoluciones madre de enzima hasta una concentración 5X en tampón de ensayo. Se mezclaron los compuestos de los ejemplos más la disolución de $FeSO_4$, seguido por la adición de disoluciones de enzima 5X. Tras 10 minutos de mezclado suave a temperatura ambiente, se añadió la disolución de péptido 5X. Tras otros 10 minutos de mezclado suave a temperatura ambiente, se añadió una disolución madre 5X de 2-OG para iniciar la reacción. Las concentraciones finales en el ensayo fueron: Tris-HCl 50 mM, pH 7,5, DTT 0,2 mM, catalasa 0,5 mg/ml, $FeSO_4$ 10 μ M, PPG₁₀ 100 μ M, 5-[¹⁴C]-2-oxoglutarato 50 μ M (23-37 cpm/pmol), ascorbato 1 mM y DMSO al 4%. Las reacciones se mezclaron suavemente a temperatura ambiente durante 1 hora y se finalizaron mediante la adición de un volumen igual de H_2SO_4 0,02 N. A menos que se indique lo contrario, todos los reactivos se obtuvieron de Sigma y eran de la calidad más alta disponible.

Se autoinyectó una parte de cada reacción finalizada en una columna Polypore H (PerkinElmer, Waltham, MA) a una velocidad de 0,3 ml/min con H_2SO_4 0,01 N como fase móvil. El método de HPLC empleado aprovecha la diferencia en pKa los carboxilatos de SA y 2-OG para separar cromatográficamente el sustrato del producto a un pH bajo en la resina de intercambio iónico, tal como se describe por Cunliffe, *et al.* (Biochem J., 240, 617-619 (1986)) y Kaule y Gunzler (Anal. Biochem., 184, 291-297 (1990)). Se usó un sistema de HPLC Agilent 1100 con bombas cuaternarias dobles, una válvula de cambio de columna y columnas dobles para resolver el producto del sustrato. El detector de longitud de onda múltiple Agilent 1100 indicó la absorción UV de los picos de sustrato y producto a 210 nm y un detector de radiación Beta-RAM modelo 2 con cóctel de centelleo en flujo 2:1 (IN/US Systems Inc.) permitió la cuantificación de los 2 picos radiactivos. Se usó el software Laura Lite (IN/US, Tampa, FL) para recoger y analizar datos radiométricos. Las mediciones de AUC se convirtieron en porcentaje de recambio de 2-OG. Para estandarizar a lo largo de los estudios, se normalizó la conversión de 2-OG a valores de porcentaje del control (POC) usando reacciones que carecían de enzima o inhibidor como controles bajo y alto, respectivamente. Se ajustaron los datos de POC a un modelo logístico de 4 parámetros ($A + ((B-A)/(1 + ((x/C)^D)))$) usando ActivityBase (IDBS, Alameda CA) en el que A es el valor de POC mínimo, B es el valor de POC máximo, D es el factor de pendiente y C es la concentración de compuesto en el punto de inflexión (CI_{50} , micromolar).

Clonación y expresión de enzimas CPH1 y CPH2

Se usó el sistema de vector de expresión de baculovirus (BEVS) de Invitrogen para expresar colágeno prolil 4-hidroxilasa (CPH) en células de insecto *Trichoplusia ni*. La colágeno prolil 4-hidroxilasa activa es una proteína oligomérica que existe como un tetrámero $\alpha_2\beta_2$. Las subunidades alfa incorporadas en el tetrámero pueden ser o bien colágeno prolil 4-hidroxilasa α_1 (secuencia de referencia de GenBank NM_000917) o bien colágeno prolil 4-hidroxilasa α_2 (secuencia de referencia de GenBank NM_004199). La subunidad beta, colágeno prolil 4-hidroxilasa β (secuencia de referencia de GenBank NM_000918), es común para ambas formas del tetrámero. Los genes que codifican para las tres subunidades, α_1 , α_2 y β , se clonaron individualmente en vectores lanzadera pFastBacI separados (Invitrogen) en sus formas precursoras, que incluyen las secuencias señal de secreción humanas nativas. Con el fin de identificar la proteína expresada, los genes de la subunidad α incluían una secuencia de afinidad de metal de seis histidinas escindible por caspasa 3 en el extremo 5' del gen. En la proteína expresada, se situó la etiqueta de afinidad de metal (MAHHHHHHDEVD) (SEQ ID NO: 8) en el sentido de 5' del extremo N-terminal de la subunidad α de la secuencia señal de secreción. Para fines de identificación y purificación, se diseñó el gen de la subunidad β para que codificase para una etiqueta de afinidad de metal de seis histidinas situada en el sentido de 3' del péptido señal de secreción de modo que la etiqueta de afinidad de metal permanecería tras la escisión y secreción en el retículo endoplasmático. Estos vectores lanzadera pFastBacI recombinantes se usaron cada uno para generar baculovirus que podían expresar sus polipéptidos de subunidades respectivas. La forma tetramérica, activa de la enzima se generó mediante la coexpresión en baculovirus de o bien CPH- α_1 y CPH- β o bien CPH- α_2 y CPH- β a 27°C. Se recogieron las células 48 horas tras la infección mediante centrifugación.

Secuencias de proteína

Las secuencias antes del símbolo de barra diagonal (/) se eliminaron *in vivo* tras la secreción en el retículo endoplasmático. En los siguientes párrafos, SS significa secuencia señal de secreción.

CPH- α 1 (MAH₆DEVD)-SS-CPH α 1)

5 MAHHHHHHDEVDIWIYIIGILLPQSLA/HPGFFTSIGQMTDLIHTKDLVTSKDYIKAEEDKLEQIKKWA EKLDRLTSTA
TKDPEGFVGHVPVNAFKLMKRLNTEWSELENLVLKDMSDGFISNLTIQRQYFPNDEDQVGA AKALLRLQDTYNLDTDTI
SKGNLPGVKHKSFLTAEDCFELGKVAYTEADYYHTELWMEQALRQLDEGEISTIDKVSVDYLSYAVYQQGDLDKALL
10 LTKKLELDPEHQRANGNLKYFEYIMAKEKDVNKSASDDQSDQKTPKKGVAVDYLP ERQKYEMLCRGEGIKMTPR
RQKKLFCRYHDGNNRPKFI LAPAKQEDEWDKPRIIRFHDIISDAEIEIVKDLAKPRLSRATVHDPETGKLT TAQYRVSKS
AWLSGYENPVVSRINMRIQDLTGLDVSTAEELQVANYGVGGQYEPHDF FARKDEPD AFKELGTGNRIATWLFYMSDV
SAGGATVFPEVGASVWPKKGTAVFWYNLFASGEGDYSTRHAACPVLVGNK WWSNKWLHERGQEFRRPCTLSELE
(SEQ ID NO: 9)

CPH- α 2 (MAH₆DEVD-SS-CPH- α 2)

15 MAHHHHHHDEVDKLVWSALLMAWFGVLSCVQA/EFFTSIGHMTDLIYAEKELVQSLKEYILVEEAKLSKIKSWANKME
ALTSKSAADAEGYL AHPVNAYKLVKRLNTDWPAL EDLVLQDSAAGFIANLSVQRQFFPTDEDEIGA AKALMRLQDTYR
LDPGTISR GELPGTKYQAMLSVDDCFGMGRSAYNEG DYHTVLWMEQVLKQLDAGEEATTTKSQVLDYLSYAVFQL
GDLHRALELTRRLSLDPSHERAGGNLRYFEQELLEEREKLT LNQTEAELATPEGIYERPV DYLPERDVYESLCRGE G
VKLTPRRQKRLFCRYHHGNRAPQLLIAPFKEEDEWDSPHIVRYDDVMSDEEIERIKEIAKPKLARATVRDPKTGVLTV A
20 SYRVSKSSWLEEDDPVVARVNRRMQHITGLTVKTAELLQVANYGVGGQYEPHDFSRPFDSGLKTEGNRLATFL
NYMSDVEAGGATVFPDLGAAIWPKKGTAVFWYNLLRS GEGDYRTRHAACPVLV GCKWWSNKW FHERGQEFRLPCG
STEVD (SEQ ID NO: 10)

CPH- β (SS-H₆-CPH β)

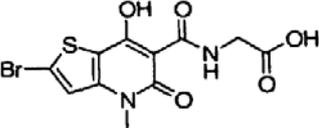
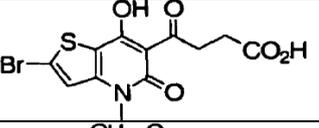
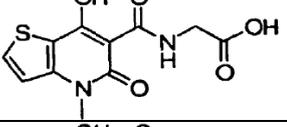
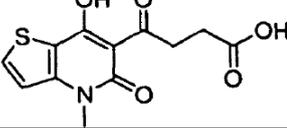
25 MLRRALLCLAVAALVRA/HHHHHHD APEEEDHVLVLRKSNFAEALAAHKYLLVEFYAPWCGHCKALAPEYAKAAGK LK
AEGSEIRLAKVDATEESDLAQQYGVRYPTIKFFRNGDTASPKEYTAGREADDIVNWLK KRTGPAATTL PDGAAAESL
VESSEVAVIGFFKDVESDSAKQFLQAAEAIDDPFGITSNSDVF SKYQLDKDGVVLFK KFDEGRNNFEGEVTKENLLDFI
KHNQLPLVIEFTEQTAPKIFGGEIKTHILLFLPKSVSDYDGKLSNFKTA AESFKGILFIFIDSDHTDNQRILEFFGLKKEE
CPAVRLITLEEEMTKYKPESEELTAERITEFCHRFLEGGIKPHLMSQELPEDWDKQPVKVLV GKNFEDVAFDEKKNV
FVEFYAPWCGHCKQLAPIWDKLGETYKDHENIVIAKMDSTANEVEAVKVHSFPTLKFPPASADRTVIDYNGERTLDGF
30 KKFLESGGQDGAGDDDDLELEEAEEDDMEEDDDQAVKDEL (SEQ ID NO: 11)

Purificación y caracterización de enzimas CPH

Se resuspendieron células *T. ni* en Tris 25 mM (pH 7,8), NaCl 0,15 M, glicerol al 10%, Triton X-100 al 0,1% y cóctel de inhibidores de proteasas "libre" completo (Roche) y se lisaron mediante un microfluidizador. Se aclaró el lisado mediante centrifugación y se filtró a través de una membrana de acetato de celulosa de 0,45 μ m antes de la aplicación a una columna de Ni-NTA a 2 ml/min. Se lavó la columna con imidazol 25 mM y se eluyó la proteína con un tampón que contenía; Tris 20 mM 7,8, NaCl 0,15 M, glicerol al 10%, CHAPS al 0,1% e imidazol 250 mM. Se combinaron las fracciones pico y se aplicaron a una columna Superdex 200 XK 26/60 (GE Biosciences) equilibrada con Tris 20 mM (pH 7,8), NaCl 0,15 M, glicerol al 10% y CHAPS al 0,1%. Se confirmó la identidad de las proteínas mediante secuenciación de Edman y se detectó la formación de heterodímero α 2 β 2 mediante dispersión de luz. Se determinó la concentración de proteína según el coeficiente de extinción molar calculado a 280 nm, y normalmente se congeló la enzima instantáneamente en nitrógeno líquido y se almacenó a -80°C.

La siguiente tabla 4 incluye valores de Cl_{50} de PHD2, CPH1 y CPH2 obtenidos usando los procedimientos expuestos en el presente documento para cuatro de los compuestos de los ejemplos descritos en el presente documento. Tal como se muestra en la siguiente tabla, el reemplazo del átomo de N por un átomo de C en la cadena lateral da como resultado un aumento significativo y sorprendente en la selectividad de un compuesto por PHD2 con respecto a tanto CPH1 como CPH2 en los compuestos de la invención mientras que se conserva una actividad de PHD2 significativa. Por ejemplo, la selectividad PHD2/CPH1 con respecto al ejemplo 6 aumenta desde 9,6:1 hasta más de 625:1 y la selectividad PHD2/CPH2 aumenta desde 4,1:1 hasta 59,1:1 reemplazando el átomo de N de la amida por un átomo de C para producir el ejemplo 17. Por ejemplo, la selectividad PHD2/CPH1 con respecto al ejemplo 3 aumenta desde 13,2:1 hasta más de 13.333:1 y la selectividad PHD2/CPH2 aumenta desde 4,6:1 hasta 11.433:1 reemplazando el átomo de N de la amida por un átomo de C para producir el ejemplo 18. Por tanto, en algunas realizaciones, la invención proporciona un compuesto de cualquiera de las realizaciones en el que X es -(CR_bR_c)- en el que la selectividad del compuesto por PHD2 con respecto a CPH1 es mayor de 5, mayor de 8, mayor de 10, mayor de 15, mayor de 20, mayor de 100, mayor de 500 o es incluso superior. La selectividad para estos fines puede determinarse dividiendo el valor de Cl_{50} de CPH1 del compuesto entre el valor de Cl_{50} de PHD2 del compuesto en el que los valores de Cl_{50} se determinan usando los métodos presentados en el presente documento.

Tabla 4 de valores de Cl_{50} de PHD2, CPH1 y CPH2 de ejemplo

Estructura	Compuesto	Cl_{50} de PHD2 (μM)	Cl_{50} de CPH1 (μM)	Cl_{50} de CPH2 (μM)
	Ejemplo 6	0,0073	0,070	0,030
	Ejemplo 17	0,064	>40	3,78
	Ejemplo 3	0,075	0,992	0,345
	Ejemplo 18	0,003	>40	34,3

Aunque la invención anterior se ha descrito en cierto detalle a modo de ilustración y ejemplo para fines de claridad de entendimiento, resultará fácilmente evidente para los expertos habituales en la técnica en vista de las enseñanzas de esta invención que pueden hacerse determinados cambios y modificaciones a la misma sin apartarse del espíritu o alcance de las reivindicaciones adjuntas.

5

Lista de secuencias

<110> Amgen Inc.

5 <120> DERIVADOS DE QUINOLINA HETEROCÍCLICOS QUE INHIBEN LA ACTIVIDAD PROLIL HIDROXILASA

<130> A-1280-WO-PCT

10 <140> No asignado aún
<141> 25/04/2008

<150> 60/927.772
<151> 04/05/2007

15 <160> 11

<170> PatentIn versión 3.3

20 <210> 1
<211> 166
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

25 <400> 1

```

Met His His His His His His Glu Ala Gly Arg Pro Arg Pro Val Leu
 1          5          10          15

Arg Ser Val Asn Ser Arg Glu Pro Ser Gln Val Ile Phe Cys Asn Arg
 20          25          30

Ser Pro Arg Val Val Leu Pro Val Trp Leu Asn Phe Asp Gly Glu Pro
 35          40          45

Gln Pro Tyr Pro Thr Leu Pro Pro Gly Thr Gly Arg Arg Ile His Ser
 50          55          60

Tyr Arg Gly His Leu Trp Leu Phe Arg Asp Ala Gly Thr His Asp Gly
 65          70          75          80

Leu Leu Val Asn Gln Thr Glu Leu Phe Val Pro Ser Leu Asn Val Asp
 85          90          95

Gly Gln Pro Ile Phe Ala Asn Ile Thr Leu Pro Val Tyr Thr Leu Lys
 100          105          110

Glu Arg Cys Leu Gln Val Val Arg Ser Leu Val Lys Pro Glu Asn Tyr
 115          120          125

Arg Arg Leu Asp Ile Val Arg Ser Leu Tyr Glu Asp Leu Glu Asp His
 130          135          140

Pro Asn Val Gln Lys Asp Leu Glu Arg Leu Thr Gln Glu Arg Ile Ala
 145          150          155          160

His Gln Arg Met Gly Asp
 165
    
```

30 <210> 2
<211> 118
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 2

Met Asp Val Phe Leu Met Ile Arg Arg His Lys Thr Thr Ile Phe Thr
 1 5 10 15
 Asp Ala Lys Glu Ser Ser Thr Val Phe Glu Leu Lys Arg Ile Val Glu
 20 25 30
 Gly Ile Leu Lys Arg Pro Pro Asp Glu Gln Arg Leu Tyr Lys Asp Asp
 35 40 45
 Gln Leu Leu Asp Asp Gly Lys Thr Leu Gly Glu Cys Gly Phe Thr Ser
 50 55 60
 Gln Thr Ala Arg Pro Gln Ala Pro Ala Thr Val Gly Leu Ala Phe Arg
 65 70 75 80
 Ala Asp Asp Thr Phe Glu Ala Leu Cys Ile Glu Pro Phe Ser Ser Pro
 85 90 95
 Pro Glu Leu Pro Asp Val Met Lys Pro Gln Asp Ser Gly Ser Ser Ala
 100 105 110
 Asn Glu Gln Ala Val Gln
 115

<210> 3

5 <211> 96

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 3

10

Met Tyr Val Lys Leu Ile Ser Ser Asp Gly His Glu Phe Ile Val Lys
 1 5 10 15
 Arg Glu His Ala Leu Thr Ser Gly Thr Ile Lys Ala Met Leu Ser Gly
 20 25 30
 Pro Gly Gln Phe Ala Glu Asn Glu Thr Asn Glu Val Asn Phe Arg Glu
 35 40 45
 Ile Pro Ser His Val Leu Ser Lys Val Cys Met Tyr Phe Thr Tyr Lys
 50 55 60
 Val Arg Tyr Thr Asn Ser Ser Thr Glu Ile Pro Glu Phe Pro Ile Ala
 65 70 75 80
 Pro Glu Ile Ala Leu Glu Leu Leu Met Ala Ala Asn Phe Leu Asp Cys
 85 90 95

<210> 4

15 <211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Péptido sintético

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (1)
 <223> Biotinilación
 5
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (20) .. (20)
 <223> Carboxilación
 10
 <400> 4

Asp Leu Asp Leu Glu Ala Leu Ala Pro Tyr Ile Pro Ala Asp Asp Asp
1 5 10 15

Phe Gln Leu Arg
20

15 <210> 5
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Péptido sintético

25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (1)
 <223> Biotinilación

30 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9) .. (9)
 <223> Xa en la posición 9 es hidroxiprolina

35 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (20) .. (20)
 <223> Carboxiamidado

<400> 5

Asp Leu Asp Leu Glu Ala Leu Ala Xaa Tyr Ile Pro Ala Asp Asp Asp
1 5 10 15

Phe Gln Leu Arg
20

40 <210> 6
 <211> 17
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

50 <400> 6

Asp Leu Glu Met Leu Ala Pro Tyr Ile Pro Met Asp Asp Asp Phe Gln
1 5 10 15

Leu

<210> 7
 <211> 17
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (1)
 <223> Biotinilación

15 <400> 7

Asp Leu Glu Met Leu Ala Pro Tyr Ile Pro Met Asp Asp Asp Phe Gln
1 5 10 15

Leu

<210> 8
 <211> 12
 20 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 25 <222> (1) .. (12)
 <223> Etiqueta de afinidad de metal que incluye histidinas en las posiciones 3 hasta 8

<400> 8

Met Ala His His His His His Asp Glu Val Asp
1 5 10

30 <210> 9
 <211> 545
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

35 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (12)
 <223> Etiqueta de afinidad de metal que incluye histidinas en las posiciones 3 hasta 8

40 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (13) .. (28)
 <223> Secuencia señal de secreción

45 <400> 9

ES 2 389 063 T3

Met Ala His His His His His His Asp Glu Val Asp Ile Trp Tyr Ile
1 5 10 15
Leu Ile Ile Gly Ile Leu Leu Pro Gln Ser Leu Ala His Pro Gly Phe
20 25 30
Phe Thr Ser Ile Gly Gln Met Thr Asp Leu Ile His Thr Glu Lys Asp
35 40 45
Leu Val Thr Ser Leu Lys Asp Tyr Ile Lys Ala Glu Glu Asp Lys Leu
50 55 60
Glu Gln Ile Lys Lys Trp Ala Glu Lys Leu Asp Arg Leu Thr Ser Thr
65 70 75 80
Ala Thr Lys Asp Pro Glu Gly Phe Val Gly His Pro Val Asn Ala Phe
85 90 95
Lys Leu Met Lys Arg Leu Asn Thr Glu Trp Ser Glu Leu Glu Asn Leu
100 105 110
Val Leu Lys Asp Met Ser Asp Gly Phe Ile Ser Asn Leu Thr Ile Gln
115 120 125
Arg Gln Tyr Phe Pro Asn Asp Glu Asp Gln Val Gly Ala Ala Lys Ala
130 135 140
Leu Leu Arg Leu Gln Asp Thr Tyr Asn Leu Asp Thr Asp Thr Ile Ser
145 150 155 160
Lys Gly Asn Leu Pro Gly Val Lys His Lys Ser Phe Leu Thr Ala Glu
165 170 175
Asp Cys Phe Glu Leu Gly Lys Val Ala Tyr Thr Glu Ala Asp Tyr Tyr
180 185 190
His Thr Glu Leu Trp Met Glu Gln Ala Leu Arg Gln Leu Asp Glu Gly
195 200 205
Glu Ile Ser Thr Ile Asp Lys Val Ser Val Leu Asp Tyr Leu Ser Tyr
210 215 220
Ala Val Tyr Gln Gln Gly Asp Leu Asp Lys Ala Leu Leu Leu Thr Lys
225 230 235 240

Lys Leu Leu Glu Leu Asp Pro Glu His Gln Arg Ala Asn Gly Asn Leu
 245 250 255
 Lys Tyr Phe Glu Tyr Ile Met Ala Lys Glu Lys Asp Val Asn Lys Ser
 260 265 270
 Ala Ser Asp Asp Gln Ser Asp Gln Lys Thr Thr Pro Lys Lys Lys Gly
 275 280 285
 Val Ala Val Asp Tyr Leu Pro Glu Arg Gln Lys Tyr Glu Met Leu Cys
 290 295 300
 Arg Gly Glu Gly Ile Lys Met Thr Pro Arg Arg Gln Lys Lys Leu Phe
 305 310 315 320
 Cys Arg Tyr His Asp Gly Asn Arg Asn Pro Lys Phe Ile Leu Ala Pro
 325 330 335
 Ala Lys Gln Glu Asp Glu Trp Asp Lys Pro Arg Ile Ile Arg Phe His
 340 345 350
 Asp Ile Ile Ser Asp Ala Glu Ile Glu Ile Val Lys Asp Leu Ala Lys
 355 360 365
 Pro Arg Leu Ser Arg Ala Thr Val His Asp Pro Glu Thr Gly Lys Leu
 370 375 380
 Thr Thr Ala Gln Tyr Arg Val Ser Lys Ser Ala Trp Leu Ser Gly Tyr
 385 390 395 400
 Glu Asn Pro Val Val Ser Arg Ile Asn Met Arg Ile Gln Asp Leu Thr
 405 410 415
 Gly Leu Asp Val Ser Thr Ala Glu Glu Leu Gln Val Ala Asn Tyr Gly
 420 425 430
 Val Gly Gly Gln Tyr Glu Pro His Phe Asp Phe Ala Arg Lys Asp Glu
 435 440 445
 Pro Asp Ala Phe Lys Glu Leu Gly Thr Gly Asn Arg Ile Ala Thr Trp
 450 455 460
 Leu Phe Tyr Met Ser Asp Val Ser Ala Gly Gly Ala Thr Val Phe Pro
 465 470 475 480
 Glu Val Gly Ala Ser Val Trp Pro Lys Lys Gly Thr Ala Val Phe Trp
 485 490 495
 Tyr Asn Leu Phe Ala Ser Gly Glu Gly Asp Tyr Ser Thr Arg His Ala
 500 505 510
 Ala Cys Pro Val Leu Val Gly Asn Lys Trp Val Ser Asn Lys Trp Leu
 515 520 525
 His Glu Arg Gly Gln Glu Phe Arg Arg Pro Cys Thr Leu Ser Glu Leu
 530 535 540
 Glu
 545

5 <210> 10
 <211> 544

<212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 5 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1) .. (12)
 <223> Etiqueta de afinidad de metal que incluye histidinas en las posiciones 3 hasta 8

<220>
 10 <221> MISC_FEATURE
 <222> (13) .. (32)
 <223> Secuencia señal de secreción

<400> 10
 15

```

Met Ala His His His His His Asp Glu Val Asp Lys Leu Trp Val
 1          5          10          15
Ser Ala Leu Leu Met Ala Trp Phe Gly Val Leu Ser Cys Val Gln Ala
 20          25          30
Glu Phe Phe Thr Ser Ile Gly His Met Thr Asp Leu Ile Tyr Ala Glu
 35          40          45
Lys Glu Leu Val Gln Ser Leu Lys Glu Tyr Ile Leu Val Glu Glu Ala
 50          55          60
Lys Leu Ser Lys Ile Lys Ser Trp Ala Asn Lys Met Glu Ala Leu Thr
 65          70          75          80
Ser Lys Ser Ala Ala Asp Ala Glu Gly Tyr Leu Ala His Pro Val Asn
 85          90          95
Ala Tyr Lys Leu Val Lys Arg Leu Asn Thr Asp Trp Pro Ala Leu Glu
 100         105
Asp Leu Val Leu Gln Asp Ser Ala Ala Gly Phe Ile Ala Asn Leu Ser
 115         120         125
Val Gln Arg Gln Phe Phe Pro Thr Asp Glu Asp Glu Ile Gly Ala Ala
 130         135         140
    
```

Lys Ala Leu Met Arg Leu Gln Asp Thr Tyr Arg Leu Asp Pro Gly Thr
 145 150 155 160
 Ile Ser Arg Gly Glu Leu Pro Gly Thr Lys Tyr Gln Ala Met Leu Ser
 165 170 175
 Val Asp Asp Cys Phe Gly Met Gly Arg Ser Ala Tyr Asn Glu Gly Asp
 180 185 190
 Tyr Tyr His Thr Val Leu Trp Met Glu Gln Val Leu Lys Gln Leu Asp
 195 200 205
 Ala Gly Glu Glu Ala Thr Thr Thr Lys Ser Gln Val Leu Asp Tyr Leu
 210 215 220
 Ser Tyr Ala Val Phe Gln Leu Gly Asp Leu His Arg Ala Leu Glu Leu
 225 230 235 240
 Thr Arg Arg Leu Leu Ser Leu Asp Pro Ser His Glu Arg Ala Gly Gly
 245 250 255
 Asn Leu Arg Tyr Phe Glu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Arg Glu Lys Thr
 260 265 270
 Leu Thr Asn Gln Thr Glu Ala Glu Leu Ala Thr Pro Glu Gly Ile Tyr
 275 280 285
 Glu Arg Pro Val Asp Tyr Leu Pro Glu Arg Asp Val Tyr Glu Ser Leu
 290 295 300
 Cys Arg Gly Glu Gly Val Lys Leu Thr Pro Arg Arg Gln Lys Arg Leu
 305 310 315 320
 Phe Cys Arg Tyr His His Gly Asn Arg Ala Pro Gln Leu Leu Ile Ala
 325 330 335
 Pro Phe Lys Glu Glu Asp Glu Trp Asp Ser Pro His Ile Val Arg Tyr
 340 345 350
 Tyr Asp Val Met Ser Asp Glu Glu Ile Glu Arg Ile Lys Glu Ile Ala
 355 360 365
 Lys Pro Lys Leu Ala Arg Ala Thr Val Arg Asp Pro Lys Thr Gly Val
 370 375 380
 Leu Thr Val Ala Ser Tyr Arg Val Ser Lys Ser Ser Trp Leu Glu Glu
 385 390 395 400
 Asp Asp Asp Pro Val Val Ala Arg Val Asn Arg Arg Met Gln His Ile
 405 410 415

Thr Gly Leu Thr Val Lys Thr Ala Glu Leu Leu Gln Val Ala Asn Tyr
 420 425 430
 Gly Val Gly Gly Gln Tyr Glu Pro His Phe Asp Phe Ser Arg Arg Pro
 435 440 445
 Phe Asp Ser Gly Leu Lys Thr Glu Gly Asn Arg Leu Ala Thr Phe Leu
 450 455 460
 Asn Tyr Met Ser Asp Val Glu Ala Gly Gly Ala Thr Val Phe Pro Asp
 465 470 475 480
 Leu Gly Ala Ala Ile Trp Pro Lys Lys Gly Thr Ala Val Phe Trp Tyr
 485 490 495
 Asn Leu Leu Arg Ser Gly Glu Gly Asp Tyr Arg Thr Arg His Ala Ala
 500 505 510
 Cys Pro Val Leu Val Gly Cys Lys Trp Val Ser Asn Lys Trp Phe His
 515 520 525
 Glu Arg Gly Gln Glu Phe Leu Arg Pro Cys Gly Ser Thr Glu Val Asp
 530 535 540

<210> 11
 <211> 514
 5 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 10 <222> (1) .. (17)
 <223> Secuencia señal de secreción

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 15 <222> (18) .. (23)
 <223> Etiqueta de afinidad de metal de seis histidinas

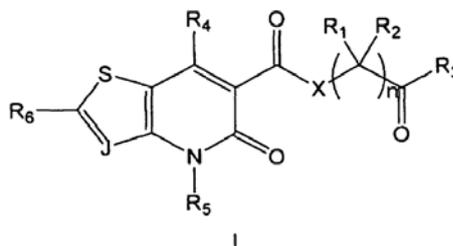
<400> 11
 Met Leu Arg Arg Ala Leu Leu Cys Leu Ala Val Ala Ala Leu Val Arg
 1 5 10 15
 Ala His His His His His His Asp Ala Pro Glu Glu Glu Asp His Val
 20 25 30
 Leu Val Leu Arg Lys Ser Asn Phe Ala Glu Ala Leu Ala Ala His Lys
 35 40 45
 Tyr Leu Leu Val Glu Phe Tyr Ala Pro Trp Cys Gly His Cys Lys Ala
 50 55 60
 Leu Ala Pro Glu Tyr Ala Lys Ala Ala Gly Lys Leu Lys Ala Glu Gly

ES 2 389 063 T3

340					345					350					
Leu	Glu	Gly	Lys	Ile	Lys	Pro	His	Leu	Met	Ser	Gln	Glu	Leu	Pro	Glu
		355					360					365			
Asp	Trp	Asp	Lys	Gln	Pro	Val	Lys	Val	Leu	Val	Gly	Lys	Asn	Phe	Glu
	370					375					380				
Asp	Val	Ala	Phe	Asp	Glu	Lys	Lys	Asn	Val	Phe	Val	Glu	Phe	Tyr	Ala
	385				390					395					400
Pro	Trp	Cys	Gly	His	Cys	Lys	Gln	Leu	Ala	Pro	Ile	Trp	Asp	Lys	Leu
				405					410					415	
Gly	Glu	Thr	Tyr	Lys	Asp	His	Glu	Asn	Ile	Val	Ile	Ala	Lys	Met	Asp
			420					425					430		
Ser	Thr	Ala	Asn	Glu	Val	Glu	Ala	Val	Lys	Val	His	Ser	Phe	Pro	Thr
		435					440					445			
Leu	Lys	Phe	Phe	Pro	Ala	Ser	Ala	Asp	Arg	Thr	Val	Ile	Asp	Tyr	Asn
	450					455					460				
Gly	Glu	Arg	Thr	Leu	Asp	Gly	Phe	Lys	Lys	Phe	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly
	465				470					475					480
Gln	Asp	Gly	Ala	Gly	Asp	Asp	Asp	Asp	Leu	Glu	Asp	Leu	Glu	Glu	Ala
				485					490					495	
Glu	Glu	Pro	Asp	Met	Glu	Glu	Asp	Asp	Asp	Gln	Lys	Ala	Val	Lys	Asp
			500					505					510		
Glu	Leu														

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula I:



- 5 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un tautómero del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del tautómero; o un solvato del mismo, un éster de alquilo (C₁-C₆) del mismo o una mezcla de cualquiera de los anteriores, en el que:

J se selecciona de CR₇ o N;

n es 1;

R₁ y R₂ se seleccionan independientemente en cada caso de H o un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono;

- 10 X se selecciona de -NR_a- o -(CR_bR_c)-, en el que R_a se selecciona de H o un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, y R_b y R_c son H;

R₃ es OH;

R₄ es OH;

R₅ se selecciona de H, o un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono o bencilo;

- 15 R₆ y R₇ se seleccionan independientemente de H, F, Cl, Br, I, alquilo, alquilo sustituido, haloalquilo, perhaloalquilo, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, NR_dR_e, C(O)R₈, C(O)OR₉, OR₉, SR₉, SO₂R₉, CN, NO₂, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo, heteroarilalquilo sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, heterociclilalquilo, heterociclilalquilo sustituido o -Y-R₁₀; o R₆ y R₇ pueden unirse para formar un anillo de 5 ó 6 miembros opcionalmente sustituido cuando J es CR₇, en el que:

Y se selecciona de -N(R₁₁)-Z- o -Z-N(R₁₁)-;

Z se selecciona de C(O), SO₂, alqueno, alqueno sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alquino o alquino sustituido;

- 25 R₈ se selecciona de H, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo o heteroarilo sustituido;

R₉ se selecciona de H, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino o alquino sustituido;

R₁₀ se selecciona de H, heterociclilo, heterociclilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo o heteroarilo sustituido;

- 30 R₁₁ se selecciona de H, un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono o un alquilo sustituido de 1 a 6 átomos de carbono; y

- 35 R_d y R_e se seleccionan independientemente de H, un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, un alquilo sustituido de 1 a 6 átomos de carbono, un haloalquilo de 1 a 6 átomos de carbono o un haloalquilo sustituido de 1 a 6 átomos de carbono, o R_d y R_e pueden unirse entre sí para formar un anillo de 3 a 6 miembros o un anillo sustituido de 3 a 6 miembros.

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que X es -(CR_bR_c)-.
3. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R₁ y R₂ no son ambos H si X es -NR_a-; y R_a es H.
4. Compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 3, en el que X es -NR_a-.
5. Compuesto según la reivindicación 4, en el que X es -NH-.

6. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que J es CR₇.
7. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que J es N.
8. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que al menos uno de R₆ o R₇ es un grupo arilo sustituido o no sustituido de 6 a 10 átomos de carbono, un heteroarilo sustituido o no sustituido de 5 a 10 miembros que comprende desde 1 hasta 3 heteroátomos seleccionados de N, O o S, un cicloalquilo sustituido o no sustituido de 3 a 6 átomos de carbono o un heterociclilo sustituido o no sustituido de 3 a 10 miembros que comprende uno o más heteroátomos seleccionados de N, O o S.
9. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que al menos uno de R₆ o R₇ se elige de un halógeno o un resto sustituido con al menos un halógeno.
10. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R₁ y R₂ se eligen independientemente de H y metilo.
11. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R₁ y R₂ son ambos H.
12. Compuesto según la reivindicación 1, en el que J es CR₇, R₁ es H; y R₂ es H.
13. Compuesto según la reivindicación 1, en el que J es N, R₁ es H; y R₂ es H.
14. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en el que R₅ es H.
15. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en el que R₅ es un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono.
16. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en el que R₅ es metilo.
17. Compuesto según la reivindicación 1, en el que J es CR₇ y R₆ y R₇, junto con los átomos de carbono a los que están unidos, se unen para formar un anillo aromático carbocíclico de 6 miembros que puede estar opcionalmente sustituido con hasta tres sustituyentes.
18. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto es ácido 4-(2-bromo-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-il)-4-oxobutanoico o es una sal del mismo, un tautómero del mismo o una sal del tautómero.
19. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto es ácido 4-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-2-fenil-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-il)-4-oxobutanoico o es una sal del mismo, un tautómero del mismo o una sal del tautómero.
20. Compuesto según la reivindicación 1, en el que J es CR₇; R₁ es H; R₂ es H; y X es -NR_a- en el que R_a es H.
21. Compuesto según la reivindicación 1, en el que J es CR₇; R₁ es H; R₂ es H; y X es -(CR_bR_c)_n.
22. Compuesto según la reivindicación 1, en el que J es N; R₁ es H; R₂ es H; y X es -NR_a- en el que R_a es H.
23. Compuesto según la reivindicación 1, en el que J es N; R₁ es H; R₂ es H; y X es -(CR_bR_c)_n.
24. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto se selecciona de entre uno de los siguientes compuestos o siendo una sal del mismo, un tautómero del mismo o una sal del tautómero:
- N-((2-(4-clorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidro[1,3]tiazolo[4,5-b]piridin-6-il)carbonil)glicina;
- N-((7-hidroxi-2,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidro[1,3]tiazolo[4,5-b]piridin-6-il)carbonil)glicina;
- ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
- ácido 2-(7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
- ácido 2-(2-(4-clorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
- ácido 2-(2-bromo-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
- ácido (S)-2-(7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)propanoico;
- ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-3-fenil-2-(trifluorometil)-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
- N-((4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro[1]benzotieno[3,2-b]piridin-3-il)carbonil)glicina;
- N-((4-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro[1]benzotieno[3,2-b]piridin-3-il)carbonil)-L-alanina;

- ácido 2-(2-(4-fluorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-2-(pirimidin-5-il)-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-2-(2-metilpiridin-3-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-2-(3-metiltiofen-2-il)-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 5 ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-2-fenil-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 2-(2-bromo-7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético; o
 ácido 4-(2-bromo-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-il)-4-oxobutanoico.
25. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto se selecciona de entre uno de los siguientes compuestos o siendo una sal del mismo, un tautómero del mismo o una sal del tautómero:
- 10 ácido 2-(2-(3,6-dihidro-2H-piran-4-il)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético
 ácido 4-(6-((carboximetil)carbamoil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-2-il)benzoico;
 ácido 2-(2-(2-clorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 2-(2-(2-ciclopropil-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 15 ácido 2-(2-(2-clorofenil)-7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 6-((carboximetil)carbamoil)-7-hidroxi-3,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-2-carboxílico;
 ácido 2-(2-(2-clorofenil)-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 2-(2-(2-ciclopropil-7-hidroxi-4-metil-5-oxo-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-2-(tiofen-2-il)-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 20 ácido 2-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-2-(piridin-3-il)-4,5-dihidrotiazolo[4,5-b]piridin-6-carboxamido)acético;
 o
 ácido 4-(7-hidroxi-4-metil-5-oxo-2-fenil-4,5-dihidrotieno[3,2-b]piridin-6-il)-4-oxobutanoico.
26. Formulación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-25 y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 25 27. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-25, para su uso en el tratamiento de un trastorno relacionado con hipoxia o isquemia en un sujeto.
28. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-25, para su uso en el tratamiento de la anemia.

FIG.1

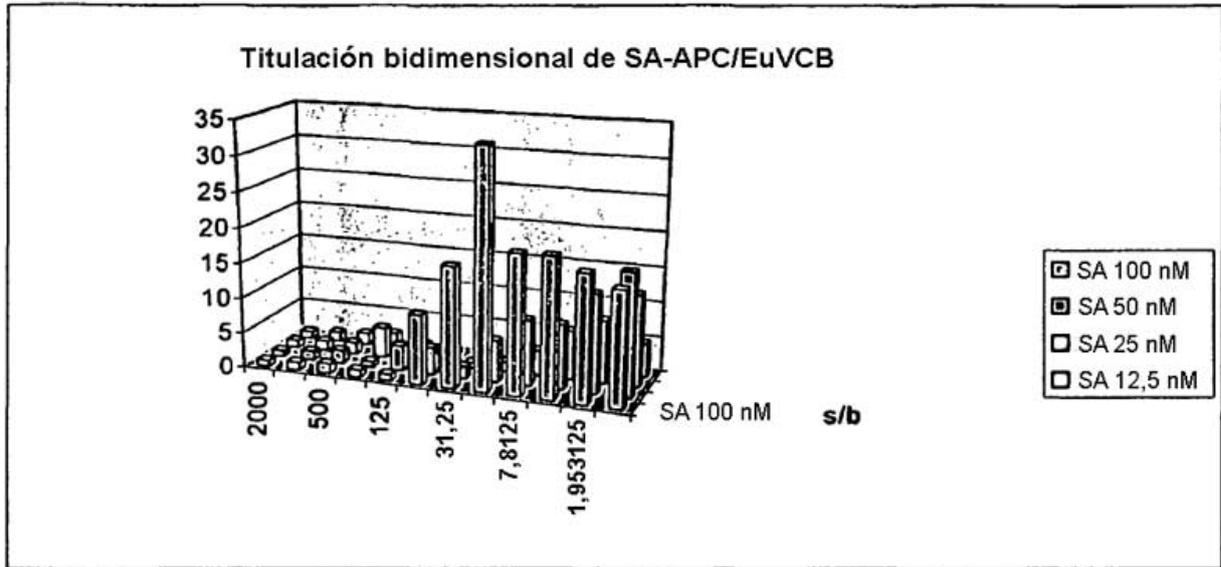


FIG. 2A

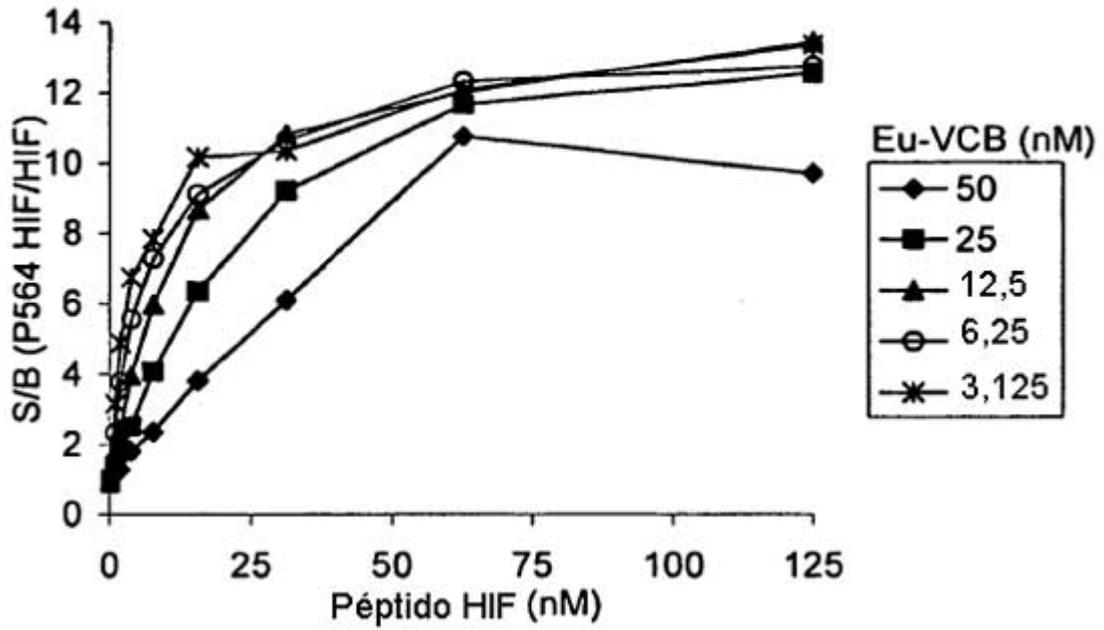


FIG. 2B

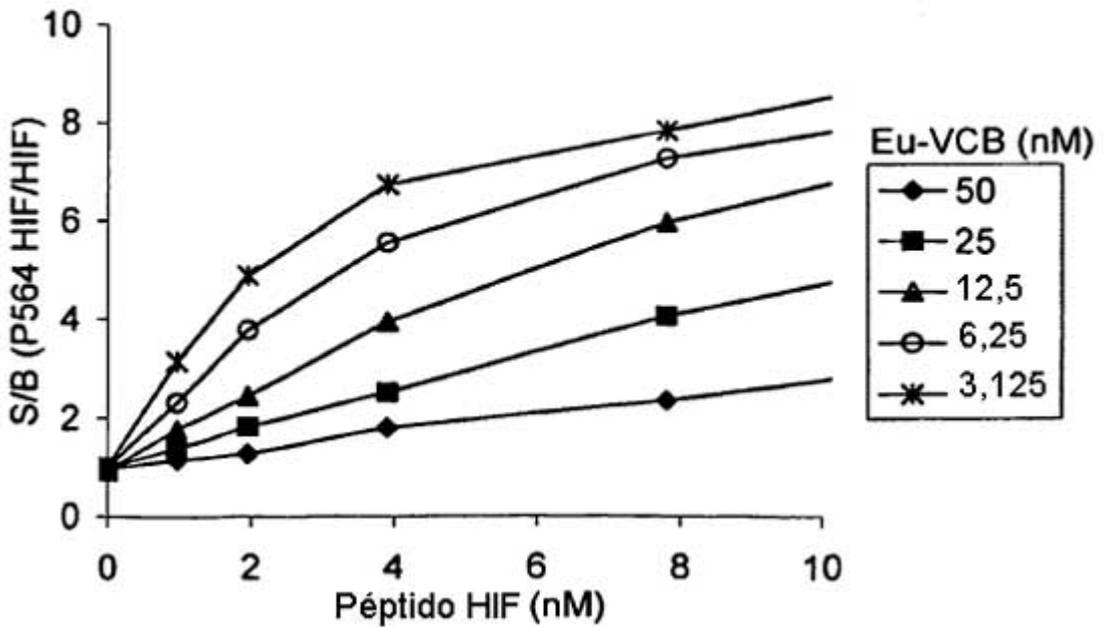


FIG. 3A

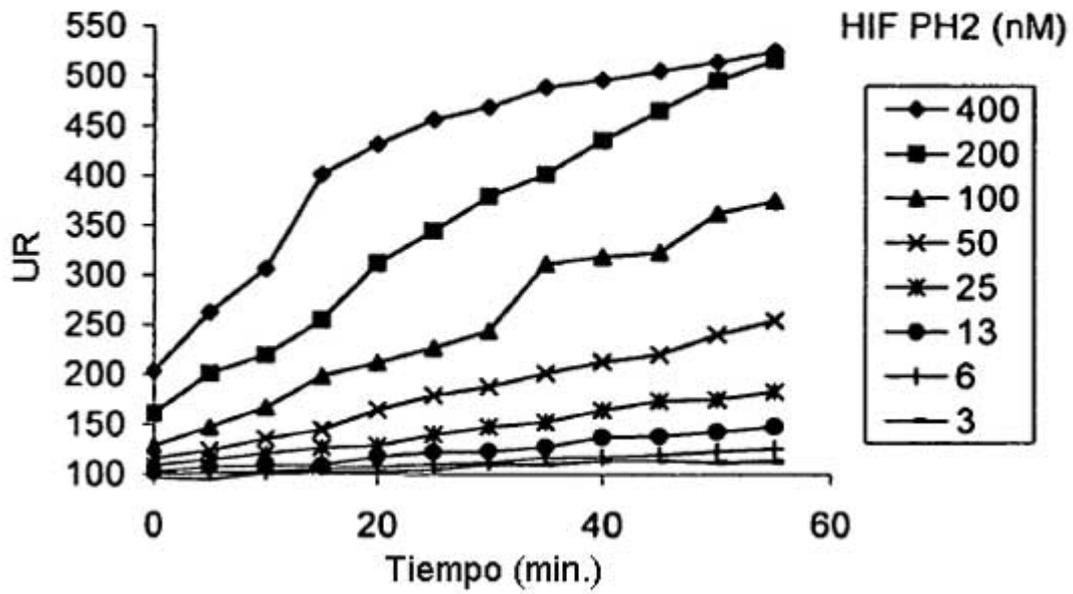


FIG. 3B

