

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 415 632**

51 Int. Cl.:

<b>C07K 5/068</b>	(2006.01) <b>A61K 31/404</b>	(2006.01)
<b>C07K 5/072</b>	(2006.01) <b>A61P 35/00</b>	(2006.01)
<b>C07K 5/078</b>	(2006.01) <b>A61P 37/00</b>	(2006.01)
<b>C07K 5/062</b>	(2006.01)	
<b>C07K 5/065</b>	(2006.01)	
<b>C07D 303/32</b>	(2006.01)	
<b>C07D 405/12</b>	(2006.01)	
<b>C07D 409/12</b>	(2006.01)	
<b>A61K 38/05</b>	(2006.01)	
<b>A61K 31/336</b>	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.06.2007 E 07809745 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2013 EP 2041158**

54 Título: **Epoxicetonas peptídicas para la inhibición del proteosoma**

30 Prioridad:

**19.06.2006 US 815218 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**26.07.2013**

73 Titular/es:

**ONYX THERAPEUTICS, INC. (100.0%)  
249 East Grand Avenue  
South San Francisco, CA 94080 , US**

72 Inventor/es:

**SHENK, KEVIN, D.;  
PARLATI, FRANCESCO;  
ZHOU, HAN-JIE;  
SYLVAIN, CATHERINE;  
SMYTH, MARK, S.;  
BENNETT, MARK, K. y  
LAIDIG, GUY, J.**

74 Agente/Representante:

**PONTI SALES, Adelaida**

**ES 2 415 632 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

Epoxicetonas peptídicas para la inhibición del proteosoma.

5 **Antecedentes de la invención**

10 [0001] En los eucariotas, la degradación de las proteínas está predominantemente mediada a través de la ruta de la ubiquitina en la que las proteínas destinadas a la destrucción están unidas a la ubiquitina polipeptídica de 76 aminoácidos. Una vez dirigidas, las proteínas ubiquitinadas sirven a su vez como sustrato para el proteosoma 26S, una proteasa multicatalítica, que escinde las proteínas en péptidos cortos mediante la acción de sus tres actividades proteolíticas principales. A pesar de que existe una función general para la renovación de la proteína intracelular, la degradación mediada por el proteosoma juega también un papel clave en muchos procesos tales como la presentación del complejo de histocompatibilidad mayor (MHC) de tipo I, apoptosis y viabilidad celular, procesamiento del antígeno, activación de NF- $\kappa$ B y transducción de las señales proinflamatorias.

15 [0002] El proteosoma 20S es un complejo de proteasas multicatalítico con forma cilíndrica de 700 kDa comprendido por 28 subunidades, clasificadas como de tipo  $\alpha$  y tipo  $\beta$ , que están dispuestos en 4 anillos heptaméricos apilados. En levaduras y otros eucariotas, 7 diferentes subunidades  $\alpha$  forman los anillos externos y 7 diferentes subunidades  $\beta$  comprenden los anillos internos. Las subunidades  $\alpha$  sirven como sitios de unión para los complejos reguladores 19S (PA700) y 11S (PA28), así como de barrera física para la cámara proteolítica interna formada por los dos anillos de la subunidad  $\beta$ . De esta manera, in vivo, se cree que el proteosoma existe como una partícula 26S ("el proteosoma 26S"). Los experimentos in vivo han mostrado que la inhibición de la forma 20S del proteosoma puede correlacionarse fácilmente con la inhibición del proteosoma 26S.

25 [0003] La escisión de las prosequencias del extremo amino de las subunidades  $\beta$  durante la formación de la partícula expone los restos de treonina del extremo amino, que sirven como nucleófilos catalíticos. Las subunidades responsables de la actividad catalítica en el proteosoma poseen de esta manera un resto nucleofílico del extremo amino, y estas subunidades pertenecen a la familia de hidrolasas de nucleófilos del extremo N (Ntn) (en la que el resto nucleofílico del extremo N es, por ejemplo, Cys, Ser, Thr, y otros restos nucleofílicos). Esta familia incluye, por ejemplo, penicilina G acilasa (PGA), penicilina V acilasa (PVA), glutamina PRPP amidotransferasa (GAT), y glicosilasparaginasa bacteriana. Además de las subunidades  $\beta$  expresadas de forma ubicua, los vertebrados superiores poseen tres subunidades  $\beta$  inducibles por el interferón  $\gamma$  (LMP7, LMP2 y MECL1), que sustituyen sus contrapartes normales,  $\beta 5$ ,  $\beta 1$  y  $\beta 2$ , respectivamente. Cuando están presentes las tres subunidades inducibles por IFN- $\gamma$ , el proteosoma se denomina un "inmunoproteosoma". De esta manera, las células eucariotas pueden poseer dos formas de proteosomas en relaciones variables.

35 [0004] A través del uso de diferentes sustratos peptídicos, se han definido tres diferentes actividades proteolíticas principales de los proteosomas 20S eucariotas: la actividad de tipo quimotripsina (CT-L), que produce la escisión a continuación de restos hidrófobos de tamaño grande; la actividad de tipo tripsina (T-L), que produce la escisión después de restos básicos; y la actividad hidrolizante del péptido de peptidilglutamilo (PGPH), que produce la escisión después de restos ácidos. Se han adscrito también al proteosoma dos actividades adicionales menos caracterizadas. La actividad BrAAP, que produce la escisión después de aminoácidos de cadenas ramificadas, y la actividad SNAAP, que produce la escisión después de aminoácidos pequeños neutros. Aunque ambas formas del proteosoma poseen las cinco actividades enzimáticas, se han descrito diferencias en la extensión de las actividades entre las formas basándose en los sustratos específicos. Para ambas formas del proteosoma. Las principales actividades catalíticas del proteosoma parecen recibir la contribución de diferentes sitios catalíticos dentro del núcleo de 20S.

40 [0005] El documento WO 94/15956 A1 se refiere a un tipo de complejos basados en péptidos que se dan a conocer como inhibidores de la enzima que convierte la endotelina (ECE) y por tanto, son útiles en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares tales como el ictus.

45 [0006] El documento WO 2006/099261 A2 describe compuestos y procedimientos para inhibir un inmunoproteosoma, que son útiles en el tratamiento del cáncer, inflamación y enfermedad autoinmune así como en la supresión de la generación endógena de péptidos antigénicos.

50 [0007] El documento WO 2007/056464 A1 se refiere a compuestos basados en péptidos que incluyen anillos de tres miembros que contienen heteroátomos dados a conocer como inhibidores de las actividades de las hidrolasas de nucleófilos del extremo N (Ntn) asociadas con el proteosoma. Los compuestos basados en péptidos incluyen un epóxido o aziridina y una funcionalización en el extremo N. El documento WO 2005/111008 A2 y el documento WO 2005/105827 A2 describe la inhibición diferencial de Ntn que tiene múltiples actividades, similares a la actividad de tipo quimotripsina del proteosoma 20S, mediante compuestos basados en péptidos.

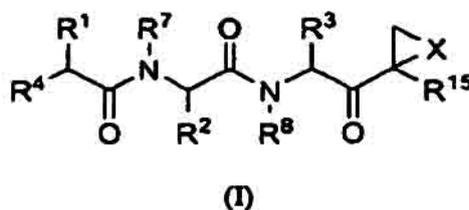
55 [0008] Elofsson y col. (Chemistry and Biology, Current Biology, 6: 811-822 (1999) dan a conocer  $\alpha'$ , $\beta'$ -epoxicetonas peptídicas acetiladas en el extremo amino como agentes inhibidores del proteosoma, antiproliferativos y antiinflamatorios.

**[0009]** Existen algunos ejemplos de moléculas pequeñas que se han utilizado para inhibir la actividad del proteosoma; sin embargo, estos compuestos carecen generalmente de especificidad para delimitarse entre las dos formas del proteosoma. De esta manera, no ha sido posible la capacidad de explorar y explicar los papeles de cada forma específica del proteosoma al nivel celular y molecular. Por tanto, resulta necesaria la creación de pequeñas moléculas inhibitorias que inhiben preferiblemente una única forma del proteosoma para permitir la exploración de los papeles de cada forma del proteosoma al nivel celular y molecular.

### Resumen de la invención

**[0010]** Un aspecto de la invención se refiere a inhibidores que inhiben preferentemente la actividad inmunoproteosómica durante la actividad constitutiva del proteosoma. En determinadas realizaciones, la invención se refiere a los compuestos de la invención para uso en el tratamiento de las enfermedades inmunes relacionadas, que comprenden administrar un compuesto de la invención. En determinadas realizaciones, la invención se refiere a los compuestos de la invención para uso en el tratamiento del cáncer, que comprenden administrar un compuesto de la invención.

**[0011]** Un aspecto de la invención se refiere a los compuestos que tienen una estructura de fórmula (I) o a una de sus sales farmacéuticamente aceptables,



en la que

cada A se selecciona de forma independiente entre C=O, C=S, y SO<sub>2</sub>, preferiblemente C=O, o

A es opcionalmente un enlace covalente cuando es adyacente a una ocurrencia de Z;

B está ausente o es N(R<sup>9</sup>)R<sup>10</sup>, preferiblemente ausente;

L está ausente o se selecciona entre C=O, C=S, y SO<sub>2</sub>, preferiblemente SO<sub>2</sub> o C=O;

M está ausente o es alquilo C<sub>1-12</sub>, preferiblemente alquilo C<sub>1-8</sub>;

Q está ausente o se selecciona entre O, NH y N-alquilo C<sub>1-6</sub>;

X se selecciona entre O, S, NH, u N-alquilo C<sub>1-6</sub>, preferiblemente O;

cada Z se selecciona de forma independiente entre O, S, NH, y N-alquilo C<sub>1-6</sub>, preferiblemente O; o

Z es opcionalmente un enlace covalente cuando es adyacente a una ocurrencia de A;

R<sup>1</sup> se selecciona entre H, alquilo C<sub>1-6</sub>-B, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxialquilo C<sub>1-6</sub>, arilo, y aralquilo C<sub>1-6</sub>;

R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> se seleccionan cada uno de forma independiente entre arilo, aralquilo C<sub>1-6</sub>, heteroarilo, y heteroalquilo C<sub>1-6</sub>;

R<sup>4</sup> es N(R<sup>5</sup>)L-Q-R<sup>6</sup>;

R<sup>5</sup> se selecciona entre hidrógeno, OH, aralquilo C<sub>1-6</sub>, y alquilo C<sub>1-6</sub>, preferiblemente hidrógeno;

R<sup>6</sup> se selecciona entre carbociclilo, heterociclilo, un grupo protector del extremo N, heterocicliMZAZ-alquilo C<sub>1-8</sub>-, heterocicliIM-, carbocicliIM-, preferiblemente, un grupo protegido terminalmente con N; o

R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> se seleccionan de forma independiente entre hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, y aralquilo C<sub>1-6</sub>, preferiblemente hidrógeno;

R<sup>9</sup> se selecciona entre hidrógeno, OH, y alquilo C<sub>1-6</sub>, preferiblemente alquilo C<sub>1-6</sub>; y

R<sup>10</sup> es un grupo protector del extremo N;

R<sup>15</sup> se selecciona entre hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>;

con la condición de que en cualquier ocurrencia de la secuencia ZAZ, al menos un miembro de la secuencia debe ser diferente de un enlace covalente.

### **Breve descripción de las Figuras**

#### **[0012]**

La Figura 1 muestra el nivel de expresión inmunoproteosómica de determinadas líneas celulares y muestras del paciente, incluyendo el mieloma múltiple, leucemias, linfomas, y tumores sólidos.

La Figura 2A muestra el efecto del Compuesto 14 sobre la progresión de la enfermedad en modelos de ratón de artritis reumatoide (RA) donde la dosificación comenzó cuando los animales mostraron en primer lugar los signos de la enfermedad (indicados por flechas) y los datos muestran una puntuación promedio de la enfermedad ( $\pm$  SEM; N = 7/grupo) y es representativa de tres experimentos independientes.

La Figura 2B muestra el efecto del compuesto 14 sobre la progresión de la enfermedad en modelos de ratón de RA donde se indujo RA en el día 0 en un ratón hembra DBA/1 mediante la inmunización con colágeno de tipo II de bovino en CFA donde la dosificación comenzó cuando los animales mostraron en primer lugar signos de la enfermedad (indicados por flechas) y los datos muestran una puntuación promedio de la enfermedad ( $\pm$  SEM; N = 10/grupo).

### **Descripción detallada de la invención**

**[0013]** La invención implica compuestos útiles como inhibidores de enzimas. Estos compuestos son generalmente útiles para inhibir enzimas que tengan un grupo nucleofílico en el extremo N. Por ejemplo, se pueden inhibir de forma satisfactoria actividades de las enzimas o subunidades de enzimas que tienen aminoácidos en el extremo N con nucleófilos en sus cadenas secundarias, tales como treonina, serina, o cisteína mediante los inhibidores de enzimas descritos en el presente documento.

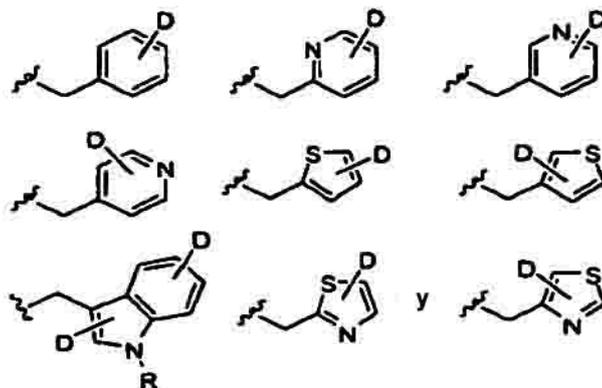
**[0014]** Sin pretender quedar vinculado por teoría alguna acerca del funcionamiento, se piensa que dichos nucleófilos N-terminales de Ntn forman aductos covalentes con el epóxido, la aziridina, el aldehído, o el grupo funcional de borato de los inhibidores de enzimas descritos en el presente documento. Por ejemplo, en la subunidad  $\beta$ 5/Pre2 del proteosoma 20S, se cree que la treonina del extremo N forma de manera irreversible un aducto de morfolino o piperazino tras la reacción con un epóxido o una aziridina de péptido tal como los descritos a continuación. Dicha formación del aducto implicaría la escisión de la apertura del anillo del epóxido o la aziridina.

**[0015]** Con respecto a la estereoquímica, se siguen las reglas Cahn-Ingold-Prelog para determinar la estereoquímica absoluta. Se describen estas reglas, por ejemplo, en Organic Chemistry, Fox y Whitesell; Jones y Bartlett Publishers, Boston, MA (1994); Sección 5-6, pp 177-178, cuya sección se incorpora por tanto por referencia.

**[0016]** Un aspecto de la invención se refiere a los compuestos que tienen una estructura de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, tal como se ha definido anteriormente.

**[0017]** En determinadas realizaciones, R<sup>1</sup> se selecciona entre -alquilo C<sub>1-6</sub>-B y aralquilo C<sub>1-6</sub>. En determinadas de dichas realizaciones, R<sup>1</sup> está sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre hidroxilo, halógeno, amida, amina, ácido carboxílico (o una de sus sales), éster (que incluye alquil C<sub>1-6</sub> éster, alquil C<sub>1-5</sub> éster, y aril éster), tiol, o tioéter. En determinadas de dichas realizaciones preferidas, R<sup>1</sup> está sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre ácido carboxílico y éster. En determinadas realizaciones, R<sup>1</sup> se selecciona entre metilo, etilo, isopropilo, carboximetilo, y bencilo. En determinadas realizaciones R<sup>1</sup> es -alquilo C<sub>1-6</sub>-B y aralquilo C<sub>1-6</sub>. En determinadas de dichas realizaciones preferidas, B está ausente.

**[0018]** En determinada realización, R<sup>2</sup> se selecciona entre aralquilo C<sub>1-6</sub> y heteroalquilo C<sub>1-6</sub>. En determinadas de las mencionadas realizaciones, R<sup>2</sup> se selecciona entre alquil C<sub>1-6</sub>-fenilo, alquil C<sub>1-6</sub>-indolilo, alquil C<sub>1-6</sub>-tienilo, y alquil C<sub>1-6</sub>-isotiazolilo, donde el resto alquilo puede contener seis, cinco, cuatro, tres, dos, o un átomo de carbono, preferiblemente uno o dos. En determinadas de las mencionadas realizaciones, R<sup>2</sup> está sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre hidroxilo, halógeno, amida, amina, ácido carboxílico (o una de sus sales), éster (que incluye alquil C<sub>1-6</sub> éster, alquil C<sub>1-5</sub> éster, y aril éster), tiol, o tioéter. En determinadas de las mencionadas realizaciones, R<sup>2</sup> está sustituido con un sustituyente seleccionado entre alquilo, trihaloalquilo, alcoxi, hidroxilo, o ciano. En determinadas de las mencionadas realizaciones, R<sup>2</sup> se selecciona entre alquil C<sub>1-6</sub> fenilo y alquil C<sub>1-6</sub>-indolilo. En determinadas de las mencionadas realizaciones, R<sup>2</sup> se selecciona entre



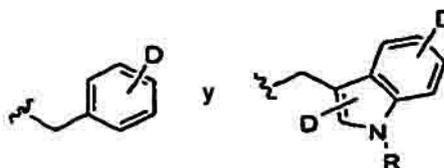
**R = H o cualquier grupo protector adecuado**

donde D se selecciona entre H, OMe, OBU<sup>†</sup>, OH, CN, CF<sub>3</sub> y CH<sub>3</sub>. En determinadas realizaciones, D se selecciona entre H, Ome, OH, CN, CF<sub>3</sub> y CH<sub>3</sub>.

5 **[0019]** En determinadas de dichas realizaciones preferidas, donde D se une a un anillo de seis miembros, D se une a la posición 4 con respecto al punto de unión, preferiblemente excluyendo realizaciones donde la posición 4 del anillo está ocupada por el nitrógeno del anillo de la piridina.

10 **[0020]** En determinadas realizaciones, R<sup>3</sup> se selecciona entre aralquilo C<sub>1-6</sub> y heteroalquilo C<sub>1-6</sub>, donde el resto de alquilo puede contener seis, cinco, cuatro, tres, dos, o un átomo de carbono, preferiblemente uno o dos. En determinadas de dichas realizaciones, R<sup>3</sup> está sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre hidroxilo, halógeno, amida, amina, ácido carboxílico (o una de sus sales), éster (incluyendo alquilo C<sub>1-6</sub>-fenilo y alquilo C<sub>1-6</sub>-indolilo. En determinadas de dichas realizaciones preferidas, R<sup>3</sup> se selecciona entre

15



**R = H, cualquier grupo protector adecuado**

donde D se selecciona entre H, Ome, OBU<sup>†</sup>, OH, CN, CF<sub>3</sub> o CH. En determinadas realizaciones, D se selecciona entre H, Ome, OH, CN, CF<sub>3</sub> o CH<sub>3</sub>.

20 **[0021]** En determinadas realizaciones, R<sup>5</sup> es hidrógeno, Q está ausente, L es C=O o SO<sub>2</sub>, y R<sup>6</sup> es heterociclilo. En determinadas de dichas realizaciones preferidas, heterociclilo se selecciona entre cromonilo, cromanilo, morfolino, y piperidinilo.

25 **[0022]** En determinadas realizaciones, L es C=O y R<sup>6</sup> se selecciona entre heterocicliiMZAZ-alquilo C<sub>1-8</sub>, heterocicliiM-, carbocicliiM-, donde cada ocurrencia de Z y A es diferente de forma independiente de un enlace covalente.

30 **[0023]** En determinadas realizaciones, L es C=O, Q está ausente u O, y R<sup>6</sup> es carbocicliiM-, donde M es alquilo C<sub>0-1</sub>. En determinadas de las mencionadas realizaciones, R<sup>6</sup> es ciclopropilo o ciclohexilo.

35 **[0024]** En determinadas realizaciones, L y A son C=O, Q está ausente, Z es O, M es alquilo C<sub>1-8</sub>, preferiblemente metileno, y R<sup>6</sup> es heterocicliiMZAZ-alquilo C<sub>1-8</sub>, en la que cada ocurrencia de A es diferente de forma independiente de un enlace covalente. En determinadas de las mencionadas realizaciones, R<sup>6</sup> es heterocicliiMZAZ-alquilo C<sub>1-8</sub> donde heterociclilo es oxodioxolenilo sustituido o no sustituido o N (R<sup>16</sup>)(R<sup>17</sup>), donde R<sup>16</sup> y R<sup>17</sup>, juntos, son alquilo C<sub>1-6</sub>-alquilo C<sub>1-6</sub>, preferiblemente alquilo C<sub>1-3</sub>-Y-alquilo C<sub>1-3</sub>, formando por tanto un anillo.

40 **[0025]** En determinadas realizaciones preferidas, L es C=O, Q está ausente, M es alquilo C<sub>1-8</sub>, y R<sup>6</sup> es heterocicliiM-. En determinadas de las mencionadas realizaciones diferentes, R<sup>6</sup> es heterocicliiM-, donde heterociclilo se selecciona entre morfolino, piperidino, piperazino, y pirrolidino.

**[0026]** En determinadas realizaciones, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> se seleccionan de forma independiente entre hidrógeno y alquilo

C<sub>1-6</sub>. En determinadas de las mencionadas realizaciones preferidas, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> se seleccionan de forma independiente entre hidrógeno y metilo. En la mayor parte de las mencionadas realizaciones preferidas, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> son ambos hidrógeno.

5 **[0027]** En determinadas realizaciones, S es O, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son cada uno de forma independiente aralquilo C<sub>1-6</sub>, y R' se selecciona entre alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxialquilo C<sub>1-6</sub>, arilo, y aralquilo C<sub>1-6</sub>, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más de amida, amina, ácido carboxílico (o una de sus sales), éster (que incluye alquil C<sub>1-6</sub>, alquil C<sub>1-5</sub> éster, y aril éster) tiol, o sustituyentes de tioéter.

10 **[0028]** Los grupos protectores del extremo N adecuados conocidos en la técnica de las sintasas peptídicas, incluyen t-butoxi carbonilo (Boc), benzilo (Bz), fluoren-9-ilmetoxicarbonilo (Fmoc), trifenilmetilo (trilito) y tricloroetoxicarbonilo (Troc) y similares. El uso de diversos grupos protectores de N, por ejemplo, el grupo benciloxi carbonilo, o el grupo t-butoxicarbonilo (Boc), diversos reactivos de acoplamiento, por ejemplo, dicianohexilcarbodiimida (DCC), 1,3-diisopropilcarbodiimida (DIC), 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC),  
15 N-hidroxiazabenzotriazol (HATU), carbonildiimidazol, o monohidrato de 1-hidroxibenzotriazol (HOBT), y diversas condiciones de escisión: por ejemplo, el ácido trifluoroacético (TFA), HCl en dioxano, la hidrogenación sobre Pd-C en disolventes orgánicos (tal como metanol o acetato de etilo), tris (trifluoroacetato) de boro, y bromuro de cianógeno, y la reacción en disolución con aislamiento y purificación de los intermedios son bien conocidas en la técnica de la síntesis peptídica, y son igualmente aplicables a la preparación de los compuestos sujeto. Se pueden encontrar también grupos protectores del extremo N adecuados, por ejemplo, en Greene, T.W.; Wuts, P.G.M. "Protective Groups in Organic Synthesis", 3<sup>a</sup> ed.; Wiley: Nueva York, 1999 o Kocienski, P. J., "Protecting Groups", Georg Thieme Verlag, 1994.

25 **[0029]** En determinadas realizaciones, la configuración estereoquímica de los carbonos que soportan R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, o R<sup>3</sup> son de forma independiente D o L. En determinadas realizaciones preferidas, la configuración estereoquímica de al menos uno de los carbonos que soportan R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, y R<sup>3</sup> es, respectivamente, D. En determinadas de las mencionadas realizaciones preferidas, la configuración estereoquímica del carbono que soporta R<sup>1</sup> es D. En determinadas de las mencionadas realizaciones, la configuración estereoquímica del carbono que soporta R<sup>2</sup> es D. En determinadas de las mencionadas realizaciones, la configuración estereoquímica del carbono que soporta R<sup>3</sup> es D. En determinadas  
30 realizaciones, la configuración estereoquímica de al menos dos de los carbonos que soportan R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, y R<sup>3</sup> es, respectivamente, D:

**[0030]** Un aspecto de la invención se refiere a inhibidores que inhiben preferentemente la actividad inmunoproteosómica durante la actividad proteosómica constitutiva. En determinadas realizaciones, la relación de la CE<sub>50</sub> de un compuesto de una cualquiera de las fórmulas I a IV en un ensayo de la actividad proteosómica constitutiva en comparación con la CE<sub>50</sub> del mismo compuesto en un ensayo de la actividad inmunoproteosómica es mayor de 1. En determinadas de las mencionadas realizaciones, la CE<sub>50</sub> es mayor de 2, 3, 4 o incluso 5. En el presente documento se describen los ensayos adecuados para la determinación de la actividad proteosómica constitutiva y la actividad inmunoproteosómica (véase el Ejemplo 18).  
40

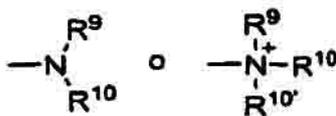
**[0031]** El término "alquilo C<sub>x-y</sub>" se refiere a grupos de hidrocarburos saturados sustituidos o no sustituidos, que incluyen grupos alquilo de cadena lineal y grupos alquilo de cadena ramificada que contienen de x a y carbonos en la cadena, que incluyen grupos haloalquilo tales como trifluorometilo y 2,2,2-trifluoroetilo, etc. Alquilo C<sub>0</sub> indica un hidrógeno donde el grupo está en una posición terminal, un enlace si es interno. Los términos "alqueno C<sub>2-y</sub>" y "alquino C<sub>2-y</sub>" se refieren a grupos alifáticos insaturados, sustituidos o no sustituidos análogos en longitud y sustitución posibles a los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un doble o triple enlace respectivamente.  
45

**[0032]** El término "alcoxi" se refiere a un grupo alquilo que tiene un oxígeno unido al anterior. Los grupos alcoxi representativos incluyen metoxi, etoxi, propoxi, terc-butoxi y similares. Un éter son dos hidrocarburos unidos de manera covalente mediante un oxígeno. De acuerdo con esto, el sustituyente de un alquilo que vuelve este alquilo un éter es o se asemeja a un alcoxi.  
50

**[0033]** El término "alcoxialquilo C<sub>1-6</sub>" se refiere a un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con un grupo alcoxi, formando por tanto un éter.  
55

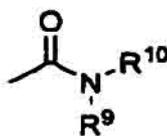
**[0034]** El término "aralquilo C<sub>1-6</sub>", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con un grupo arilo.

60 **[0035]** Los términos "amina" y "amino" son reconocidos por la técnica y se refiere a aminas sustituidas y no sustituidas y a sus sales, por ejemplo, un resto que se puede representar mediante las fórmulas generales



5 en las que  $R^9$ ,  $R^{10}$  y  $R^{10'}$  representan cada uno de forma independiente un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo, -  
 (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sup>8</sup>, o R<sup>9</sup> y R<sup>10</sup> tomados juntos con el átomo N al cual se unen completan un heterociclo que tiene de 4 a 8  
 átomos en la estructura del anillo; R<sup>8</sup> representa un arilo, un cicloalquilo, un cicloalquenilo, un heterociclilo o un  
 policiclilo, y m es cero o un entero de 1 a 8. En las realizaciones preferidas, solo uno de R<sup>9</sup> o R<sup>10</sup> puede ser un  
 10 carbonilo, por ejemplo, R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup>, y el nitrógeno juntos no forman una imida. En realizaciones incluso más preferidas,  
 R<sup>9</sup> y R<sup>10</sup> (y opcionalmente R<sup>10'</sup>) representan cada uno de forma independiente un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo,  
 o -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sup>8</sup>. En determinadas realizaciones, un grupo amino es básico, lo que significa que tiene una pK<sub>a</sub> > 7,00.  
 Las formas protonadas de estos grupos funcionales tienen una pK<sub>a</sub>s por encima de 7,00.

**[0036]** Los términos “amida” y “amido” son reconocidos en la técnica como un carbonilo aminosustituido e incluyen  
 un resto que se puede representar mediante la fórmula general:



15 en la que R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup> son tal como se ha definido anteriormente. Las realizaciones preferidas de la amida no incluirán  
 imidas que pueden ser inestables.

20 **[0037]** El término “arilo” tal como se usa en el presente documento incluye grupos de anillos aromáticos  
 individuales de 5, 6, y 7 miembros, sustituidos o no sustituidos en los que cada átomo del anillo es carbono. El  
 término “arilo” incluye también sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que son  
 comunes dos o más carbonos en los dos anillos adyacentes, donde al menos uno de los anillos es aromático, por  
 ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilo, arilos, heteroarilos, y/o  
 25 heterociclilos. Los grupos arilo incluyen benceno, naftaleno, fenantreno, fenol, anilina, y similares.

**[0038]** Los términos “carbociclo” y “carbociclilo”, tal como se usa en el presente documento, se refieren a un anillo  
 no aromático, sustituido o no sustituido en el que cada átomo del anillo es carbono.

30 **[0039]** El término “carbonilo” es reconocido por la técnica e incluye dichos restos que se pueden representar  
 mediante la fórmula general:



35 en la que X es un enlace o representa un oxígeno o un azufre, y R<sup>11</sup> representa un hidrógeno, un alquilo, un  
 alquenilo, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sup>8</sup> o una sal farmacéuticamente aceptable, R<sup>11</sup> representa un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo o  
 -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sup>8</sup>, donde m y R<sup>8</sup> son tal como se ha definido anteriormente. Donde X es un oxígeno y R<sup>11</sup> o R<sup>11'</sup> no es  
 hidrógeno, la fórmula representa un “éster”. Donde X es un oxígeno, y R<sup>11</sup> es un hidrógeno, la fórmula representa un  
 “ácido carboxílico”

40 **[0040]** Tal como se usa en el presente documento, “enzima” puede ser cualquier molécula proteínica parcial o  
 completa que lleva a cabo una reacción química de una manera catalítica. Dichas enzimas pueden ser enzimas  
 naturales, enzimas de fusión, proenzimas, apoenzimas, enzimas desnaturalizadas, enzimas farnesiladas, enzimas  
 ubiquitinadas, enzimas grasas aciladas, enzimas gerangeraniladas, enzimas unidas a GPI, enzimas unidas a lípidos,  
 45 enzimas preñiladas, enzimas mutantes que se producen naturalmente o generadas de forma artificial, enzimas con  
 cadenas secundarias o modificaciones estructurales, enzimas que tienen secuencias líder, y enzimas complejadas  
 sin material proteínico, tales como proteoglicanos, proteoliposomas. Enzimas que se pueden preparar por  
 cualquier medio, incluyendo la expresión natural, expresión promovida, clonación, diversas síntesis peptídicas  
 basadas en disolución y basadas en sólidos, y procedimientos similares conocidos por las personas expertas en la  
 50 técnica.

**[0041]** El término “heteroalquilo C<sub>1-6</sub>”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C<sub>1-6</sub>  
 sustituido con un grupo heteroarilo.

55 **[0042]** Los términos “heteroarilo” incluyen estructuras de anillos aromáticos de 5 a 7 miembros sustituidos o no

sustituídos, de forma más preferible, anillos de 5 a 6 miembros, cuyas estructuras de anillo incluyen de uno a cuatro heteroátomos. El término “heteroarilo” incluye también sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes donde al menos uno de los anillos es heteroaromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos, y/o heterociclicos. Los grupos heteroarilo incluyen, por ejemplo, pirrol, furano, tiofeno, imidazol, isoxazol, oxazol, oxadiazol, tiazol, tiadiazol, triazol, pirazol, piridina, pirazina, piridazina y pirimidina, y similares.

**[0043]** El término “heteroátomo”, tal como se usa en el presente documento significa un átomo de cualquier elemento diferente que el carbono o el hidrógeno. Los heteroátomos preferidos son nitrógeno, oxígeno, fósforo, y azufre.

**[0044]** Los términos “heterociclico” o “grupo heterocíclico” se refieren a estructuras de anillos no aromáticos de 3 a 10 miembros, sustituidos o no sustituidos, de forma más preferible, anillos de 3 a 7 miembros, cuyas estructuras de anillo incluyen uno a cuatro heteroátomos. Los grupos heterociclico incluyen, por ejemplo, tetrahidropirano, piperidina, piperazina, pirrolidina, morfolina, lactonas, lactamas, y similares.

**[0045]** El término “hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>” se refiere a un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con un grupo hidroxilo.

**[0046]** Tal como se usa en el presente documento, se entiende que el término “inhibidor” describe un compuesto que bloquea o reduce una actividad de una enzima (por ejemplo, la inhibición de la escisión proteolítica de los sustratos peptídicos fluorógenos normalizados tales como suc-LLVY-AMC, Box-LLR-AMC y Z-LLE-AMC, la inhibición de diversas actividades catabólicas del proteosoma 20S). Un inhibidor puede actuar con inhibición competitiva, incompetitiva, o no competitiva. Un inhibidor puede unirse de forma reversible o irreversible, y por tanto el término incluye los compuestos que son sustratos suicidas de una enzima. Un inhibidor puede modificar uno o más sitios en o próximos al sitio activo de la enzima, o puede producir un cambio conformacional en alguna parte de la enzima.

**[0047]** Tal como se usa en el presente documento, el término “péptido” incluye no solo la unión de la amida normalizada con los  $\alpha$ -sustituyentes normalizados, sino también los peptidomiméticos comúnmente utilizados, otros enlaces modificados, cadenas secundarias que no se producen naturalmente, y modificaciones de cadenas secundarias, tal como se detalla a continuación.

**[0048]** Los términos “policiclico” o “policíclico” se refieren a dos o más anillos (por ejemplo, cicloalquilo, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos, y/o heterociclicos) en los que dos o más átomos de carbono son comunes a los dos anillos adyacentes, por ejemplo, los anillos son “anillos fusionados”. Cada uno de los anillos del policiclo puede estar sustituido o no sustituido.

**[0049]** El término “evitar” está reconocido por la técnica, y cuando se usa en relación con una dolencia, tal como una recurrencia local (por ejemplo, dolor), una enfermedad tal como cáncer, un síndrome complejo tal como una insuficiencia cardíaca o cualquier otra dolencia médica, es bien comprendido en la técnica, e incluye la administración de una composición que reduce la frecuencia de, o retrasa el comienzo de, los síntomas de una dolencia médica en un sujeto, comparado con el sujeto que no recibe la composición. De esta manera, la prevención del cáncer incluye, por ejemplo, reducir el número de crecimientos cancerosos detectables en una población de pacientes que reciben un tratamiento profiláctico relativo a la población del control sin tratar, y/o retrasar la aparición de crecimientos cancerosos detectables en una población tratada frente a una población del control sin tratar, por ejemplo, en una cantidad estadística y/o clínicamente significativa. La prevención de una infección incluye, por ejemplo, reducir el número de diagnósticos de la infección en una población tratada frente a una población del control sin tratar, y/o retrasar el comienzo de los síntomas de la infección en una población tratada frente a una población sin tratar. La prevención del dolor incluye, por ejemplo, reducir la magnitud de, o retrasar de forma alternativa, las sensaciones de dolor experimentadas por los sujetos en una población tratada frente a una población del control sin tratar.

**[0050]** El término “profármaco” abarca compuestos que, en condiciones fisiológicas, se convierten en agentes terapéuticamente activos. Un procedimiento común para preparar un profármaco es incluir restos seleccionados que se hidrolizan en condiciones fisiológicas para desvelar la molécula deseada. En otras realizaciones, el profármaco se convierte en una actividad enzimática del animal hospedador.

**[0051]** El término tratamiento “profiláctico o terapéutico” está reconocido por la técnica e incluye la administración al hospedador de una o más de las composiciones sujeto. Si se administra antes de la manifestación clínica, de la dolencia no deseada (por ejemplo, la enfermedad u otro estado no deseado del animal hospedador), entonces, el tratamiento es profiláctico, (es decir, protege al hospedador frente al desarrollo de la dolencia no deseada), mientras que si se administra después de la manifestación de la dolencia no deseada, el tratamiento es terapéutico, (es decir, se pretende que disminuya, mejore, o estabilice la dolencia no deseada existente o sus efectos secundarios):

**[0052]** El término “sustituido” se refiere a restos que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno en uno o más carbonos de la estructura. Se entenderá que “sustitución” o “sustituido con” incluye la condición implícita de que

dicha sustitución esté de acuerdo con la valencia permitida del átomo y el sustituyente sustituido, y que la sustitución de como resultado un compuesto estable, por ejemplo, que no experimente de forma espontánea una transformación tal como una redistribución, ciclación, eliminación, etc. Tal como se usa en el presente documento, se contempla que el término “sustituido” incluya todos los sustituyentes permisibles de los compuestos orgánicos. En un amplio aspecto, los sustituyentes permisibles incluyen sustituyentes aromáticos y no aromáticos, carbocíclicos y heterocíclicos, ramificados y no ramificados, acíclicos y cíclicos de los compuestos orgánicos. Los sustituyentes permisibles pueden ser uno o más e iguales o diferentes de los compuestos orgánicos adecuados. Para los fines de esta invención, los heteroátomos tales como nitrógeno pueden tener sustituyentes de hidrógeno y/o cualquier sustituyente permisible de los compuestos orgánicos descritos en el presente documento que satisfacen las valencias de los heteroátomos. Los sustituyentes pueden incluir, por ejemplo, un halógeno, un hidroxilo, un carbonilo (tal como un carboxilo, un alcoxicarbonilo, un formilo, o un acilo), un tiocarbonilo (tal como un tioéster, un tioacetato, o un tioformiato), un alcoxilo, un fosforilo, un fosfato, un fosfonato, un fosfinato, un amino, un amido, una amidina, una imina, un ciano, un nitro, un azido, un sulfidrilo, un alquiltio, un sulfato, un sulfonato, un sulfamoilo, un sulfonamido, un sulfonilo, un heterociclilo, un aralquilo, o un resto aromático o heteroaromático. Los expertos en la técnica entenderán que los restos sustituidos en la cadena de hidrocarburo pueden, si es adecuado, estar sustituidos por sí mismos.

**[0053]** Una “cantidad terapéuticamente eficaz” de un compuesto con respecto al procedimiento de tratamiento sujeto, se refiere a una cantidad del(de los) compuesto(s) en una preparación que, cuando se administra como parte de un régimen de dosificación deseado (a un mamífero, preferiblemente un ser humano) alivia un síntoma, mejora una dolencia, o ralentiza el comienzo de las condiciones de la enfermedad de acuerdo con los patrones químicamente aceptables para el trastorno o dolencia que se va a tratar o el fin cosmético, por ejemplo, en una relación de beneficio/riesgo razonable para cualquier tratamiento médico.

**[0054]** El término “tioéter” se refiere a un grupo alquilo, tal como se ha definido anteriormente, que tiene un resto azufre unido al anterior. En las realizaciones preferidas, el “tioéter” está representado por –S–alquilo. Los grupos tioéter representativos incluyen metiltio, etiltio, y similares.

**[0055]** Tal como se usa en el presente documento, el término “que trata” o “tratamiento” incluye invertir, reducir, o detener los síntomas, signos clínicos, y la patología subyacente de una dolencia de manera que mejore o establezca la dolencia de un sujeto.

#### Usos de inhibidores de enzimas

**[0056]** Las consecuencias biológicas de la inhibición del proteosoma son numerosas. Se ha sugerido la inhibición del proteosoma como una prevención y/o tratamiento de una gran cantidad de enfermedades que incluyen, pero no se limitan a, enfermedades proliferativas, enfermedades neurotóxicas/degenerativas, dolencias isquémicas, inflamación, enfermedades inmunorelacionadas, VIH, cánceres, rechazo al injerto de órganos, choque séptico, infecciones víricas y parasíticas, dolencias asociadas con acidosis, degeneración macular, dolencias pulmonares, enfermedades de debilidad muscular, enfermedades fibróticas, enfermedades del crecimiento óseo y del cabello.

**[0057]** Se pueden utilizar inhibidores del proteosoma para tratar dolencias mediadas directamente por la función proteolítica del proteosoma tales como debilidad muscular, o mediadas indirectamente mediante proteínas que se procesan por el proteosoma tales como NF-κB. El proteosoma participa en la rápida eliminación y en el procesamiento posterior a la traducción de las proteínas (por ejemplo, enzimas) implicadas en la regulación celular (por ejemplo, ciclo celular, transcripción génica, y rutas metabólicas), comunicación intercelular y respuesta inmune (por ejemplo, presentación del antígeno).

**[0058]** Al nivel celular, se ha notificado la acumulación de proteínas poliubiquitinadas, cambios morfológicos celulares, y apoptosis tras el tratamiento de las células con diversos inhibidores del proteosoma. Además, debe señalarse que los inhibidores del proteosoma comercialmente disponibles inhiben tanto la forma constitutiva como las inmunofomas del proteosoma. Incluso bortezomib, el único inhibidor del proteosoma aprobado por la FDA para el tratamiento de los pacientes de mieloma múltiple recidivado, no distinguen entre las dos formas (Altun y col, Cancer Res 65: 7896, 2005). De esta manera, lo que se conoce acerca de la inhibición terapéutica del proteosoma se basa en el trabajo con moléculas que inhiben ambas formas del proteosoma. De acuerdo con esto, los compuestos de la invención pueden ser beneficiosos para reducir la gravedad de los efectos secundarios asociados con moléculas que inhiben ambas formas del proteosoma.

**[0059]** La expresión inmunoproteosómica se produce de forma predominante en células y órganos que preparan el sistema linfático, tales como glóbulos blancos de la sangre (leucocitos), médula ósea, y el timo, bazo y ganglios linfáticos. Aunque algunos órganos expresan con preferencia los proteosomas constitutivos (por ejemplo, corazón), otros, tales como las glándulas adrenales, el hígado, pulmón e intestino, parecen expresar ambas formas.

**[0060]** El sistema inmune, en el que los leucocitos y el tejido linfático juegan un papel principal, es responsable de proteger un organismo de las influencias biológicas externas. Cuando funciona de manera adecuada, protege el cuerpo frente a las infecciones bacterianas y víricas. El sistema inmune es también una criba para las células

autólogas que experimentan transformación oncogénica. La proteólisis intracelular genera pequeños péptidos para la presentación a los linfocitos T para inducir respuestas inmunes mediadas por MHC de tipo 1. El proteosoma es el principal suministrador de estos péptidos precursores, sin embargo, se han observado diferencias entre péptidos antigénicos entre células con cantidades variables de cada forma de proteosoma (Cascio y col, EMBO J 20:2357-2366, 2001). En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un procedimiento para inhibir la presentación del antígeno en una célula, que incluye exponer la célula a un compuesto descrito en el presente documento. En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un procedimiento para alterar el repertorio de péptidos antigénicos producidos por el proteosoma u otro Ntn con actividad multicatalítica. Por ejemplo, si la actividad inmunoproteosómica del proteosoma se inhibe selectivamente, el proteosoma constitutivo restante puede producir un conjunto diferente de péptidos antigénicos y presentarse en moléculas MHC sobre las superficies de las células que podrían producirse y presentarse sin ninguna inhibición enzimática.

**[0061]** Se han asociado algunos trastornos y estados de enfermedad con un funcionamiento anómalo del sistema inmune, que se han denominado en el presente documento como dolencias inmunorrelacionadas. Quizás, la dolencia inmunorrelacionada más común sean los trastornos alérgicos tales como alergias, asma y dermatitis atópica de tipo eczema. Esto se produce cuando el sistema inmune reacciona en exceso a la exposición a antígenos en el ambiente. De esta manera, una realización adicional es un procedimiento para suprimir el sistema inmune de un sujeto que incluye administrar al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor del proteosoma de una manera descrita en el presente documento.

**[0062]** Se producen trastornos de inmunodeficiencia cuando una parte del sistema inmune no está trabajando adecuadamente o no está presente. Pueden afectar a los linfocitos B, los linfocitos T, o a los fagocitos y pueden tanto heredarse (por ejemplo, deficiencia de IgA, inmunodeficiencia combinada grave (SCID), disfasia tímica y granulomatosa crónica) como adquirirse (por ejemplo, síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), virus de inmunodeficiencia adquirida (VIH) e inmunodeficiencias inducidas por fármacos). Se puede utilizar una estrategia de dosificación que utilice inhibidores selectivos del proteosoma para tratar las dolencias inmunorrelacionadas tales como los trastornos de inmunodeficiencia.

**[0063]** EN los trastornos autoinmunes, el sistema inmune ataca de forma inadecuada los órganos y tejidos sanos, como si fueran invasores extraños. Un ejemplo de una enfermedad autoinmune es el síndrome de Sjogren, que está caracterizado por la infiltración y acumulación focal de linfocitos en las glándulas exocrinas. Un estudio que examina el nivel de expresión del proteosoma desveló una regulación en exceso de significativa beta5i (LMP7) exclusivamente en las glándulas salivales de pacientes de SS (Egerer y col, Arthritis Rheum 54: 1501-8, 2006). Otros ejemplos de dichas dolencias inmunorrelacionadas incluyen lupus, artritis reumatoide, escleroderma, espondilitis anquilosante, dermatomiositis, psoriasis, esclerosis múltiple y enfermedad inflamatoria del intestino (tal como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn). El rechazo al trasplante de tejido/órgano se produce cuando el sistema inmune ataca por equivocación las células que se están introduciendo en el cuerpo del hospedador. La enfermedad del hospedador frente al injerto (GVHD), es el resultado de un trasplante alogénico, se produce cuando los linfocitos T del tejido donante inician la ofensiva y atacan los tejidos del hospedador. En las tres circunstancias, la enfermedad autoinmune, el rechazo del trasplante y la GVHD, podría ser beneficiosa la modulación del sistema inmune tratando al sujeto con una composición de la invención.

**[0064]** La inflamación es la primera respuesta del sistema inmune a la infección o a la irritación. Un componente celular de la inflamación implica el movimiento de leucocitos, que expresa el inmunoproteosoma, procedente de los vasos sanguíneos hasta el tejido inflamado. Estas células tienen un importante papel para eliminar los desechos irritantes, de bacterias, parásitos o celulares. Ya se sabía que los inhibidores del proteosoma tenían actividad antiinflamatoria (Meng y col, PNAS 96: 10403-10408, 1999). En los casos de inflamación crónica, que está caracterizada por una presencia dominante de macrófagos; las células que originalmente sirvieron como agentes defensivos comienzan a liberar toxinas y citosinas, incluyendo TNF- $\alpha$ , se convierten ahora en perjudiciales para el cuerpo, dando como resultado daño y pérdida del tejido. En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un procedimiento para tratar la inflamación y las enfermedades inflamatorias que comprende administrar al sujeto en necesidad de dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor del proteosoma descrito en el presente documento. Las enfermedades inflamatorias incluyen dolencias agudas (por ejemplo, bronquitis, conjuntivitis, pancreatitis) y crónicas (por ejemplo, colecistitis crónica, bronquiectasis, estenosis de la válvula aórtica, restenosis, psoriasis y artritis), junto con dolencias asociadas con la inflamación tales como fibrosis, infección e isquemia.

**[0065]** Tras el daño del tejido, que incluye el daño debido al proceso de inflamación, se inicia la progresión de la regeneración y de la reparación. Durante la etapa de regeneración, la pérdida de tejido se sustituye por la proliferación de células del mismo tipo, que reconstruye la arquitectura normal. Sin embargo, la regeneración inadecuada de la arquitectura del tejido puede tener graves consecuencias. En algunos casos de enfermedad hepática inflamatoria crónica, el tejido regenerado forma una arquitectura nodular anómala que conduce a cirrosis y a hipertensión portal. El proceso de reparación es la forma en que la pérdida de tejido se sustituye por una cicatriz fibrosa que se produce a partir del tejido de granulación. La fibrosis es la formación excesiva y persistente de tejido de cicatrización resultante del crecimiento hiperproliferativo de fibroblastos y está asociada con la activación de la ruta de señalización de TGF- $\beta$ . La fibrosis implica una extensa deposición de la matriz extracelular y puede

producirse en virtualmente cualquier tejido a través de algunos tejidos diferentes. Normalmente, el nivel de proteína de señalización intracelular (Smad) que activa la transcripción de los genes diana tras la estimulación de TGF- $\beta$  está regulada por la actividad del proteosoma (Xu y col., 2000). Sin embargo, se ha observado una acelerada degradación de los componentes de señalización de TGF- $\beta$  en cánceres y otras dolencias hiperproliferativas tales como retinopatía diabética, degeneración macular, nefropatía diabética, glomeruloesclerosis, nefropatía de IgA, cirrosis, atresia biliar, insuficiencia cardíaca congestiva, escleroderma, fibrosis inducida por radiación, y fibrosis pulmonar (fibrosis pulmonar idiopática, enfermedad vascular producida por colágeno, sarcoidosis, enfermedades pulmonares intersticiales y enfermedades pulmonares extrínsecas). El tratamiento de las víctimas de quemaduras está a menudo impedido por la fibrosis, de esta manera, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a la administración tópica o sistémica de inhibidores para tratar las quemaduras. La cicatrización de la herida tras la cirugía está a menudo asociada con cicatrices desfiguradoras, que se pueden evitar mediante la inhibición de la fibrosis. De esta manera, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a un compuesto para uso en la prevención o la reducción de la cicatrización.

**[0066]** Todas las infecciones por bacterias, parásitos o virus dan como resultado el inicio del proceso inflamatorio. Cuando la inflamación resultante afecta el organismo completo, se produce el síndrome sistémico de la respuesta inflamatoria (SIRS). El término sepsis se aplica cuando esta es debida a la infección. Se considera que la producción en exceso de citosinas inducidas por lipopolisacáridos (LPS) tales como TNF $\alpha$  es fundamental para el proceso asociado con el choque séptico. No de forma sorprendente, LPS induce también un aumento en todos los componentes de la ruta de MHC-1 que incluye las subunidades LMP2 y LMP7 del inmunoproteosoma (MacAry y col, PNAS 98: 3982-3987, 2001). Además, es generalmente aceptado que la primera etapa en la activación de las células por los LPS es la unión de LPS a los receptores específicos de membrana. Se han identificado las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  del complejo del proteosoma 20S como proteínas de unión a LPS, lo que sugiere que la transducción de la señal inducida por LPS puede ser una importante diana terapéutica en el tratamiento o la prevención de la sepsis (Qureshi, N. y col., J. Immun. (2003) 171: 1515-1525). Por tanto, en determinadas realizaciones, los inhibidores del proteosoma dados a conocer en el presente documento se pueden utilizar para la inhibición de TNF $\alpha$  para evitar y/o tratar el choque séptico.

**[0067]** En otra realización, las composiciones dadas a conocer son útiles para el tratamiento de una infección parasítica, tal como las infecciones producidas por parásitos protozoarios. Se considera que el proteosoma de estos parásitos está implicado principalmente en las actividades de diferenciación celular y de replicación (Paugam y col., Trends Parasitol. 2003, 19(2): 55-59). Además, las especies de entamoeba han mostrado la pérdida de la capacidad de formar quistes cuando se exponen a inhibidores del proteosoma (Gonzales, y col., Arch. Med. Res. 1997, 28, Spec No: 139-140). En determinadas de las mencionadas realizaciones, las composiciones inhibidoras del proteosoma en el presente documento son útiles para el tratamiento de infecciones parasíticas en seres humanos producidas por un parásito protozoario seleccionado entre Plasmodium sps. (que incluye P. falciparum, P. vivax, P. malariae, y P. ovale, que producen la malaria), tripanosoma sps. (que incluye T. cruzi, que produce la enfermedad de Chagas, y T. brucei, que produce la enfermedad del sueño africana), Leishmania sps. (que incluye L. amazonensis, L. donovani, L. infantum, L. mexicana, etc), Pneumocystis carinii (un protozoo conocido por producir la neumonía en el SIDA y en otros pacientes inmunosuprimidos), Toxoplasma gondii, Entamoeba histolytica, Entamoeba invadens, y Giardia lamblia. En determinadas realizaciones, las composiciones dadas a conocer son útiles para el tratamiento de las infecciones parasíticas en animales y ganado de granja producidas por parásitos protozoarios seleccionados entre Plasmodium hermani, Cryptosporidium sps., Echinococcus granulosus, Eimeria tenella, Sarcocystis neurona, y Neurospora crassa. Se describen otros compuestos útiles como inhibidores del proteosoma en el tratamiento de las enfermedades parasíticas en el documento WO 98/10779, que se incorpora en el presente documento en su totalidad.

**[0068]** En determinadas realizaciones, las composiciones inhibidoras del proteosoma inhiben la actividad del proteosoma en un parásito sin la recuperación en los glóbulos blancos. En determinadas de las mencionadas realizaciones, la prolongada semivida de las células de la sangre puede proporcionar una protección prolongada con respecto a la terapia frente a las exposiciones recurrentes a los parásitos. En determinadas realizaciones, los inhibidores del proteosoma descritos en el presente documento pueden proporcionar protección prolongada con respecto a la quimioprolifaxis frente a una futura infección.

**[0069]** Las infecciones víricas contribuyen a la patología de muchas enfermedades, Las dolencias cardíacas tales como el inicio de la miocarditis y la cardiopatía dilatada se han vinculado con el virus coxsackie b3. En unos análisis comparativos de la matriz del genoma completo de corazones de ratón infectados, se regularon en exceso de manera uniforme las tres subunidades del inmunoproteosoma en corazones de ratones que desarrollaron miocarditis crónica (Szalay y col, Am J Pathol 168: 1542-52, 2006). Algunos virus utilizan el sistema ubiquitina-proteosoma en la etapa de entrada vírica donde se libera el virus procedente del endosoma en el citosol. El virus de la hepatitis del ratón (MHV) pertenece a la familia *Coronaviridae*, que incluye también los coronavirus que producen el síndrome respiratorio agudo grave (SARS). Yu y Lai (J Virol 79: 644-648, 2005) han demostrado que el tratamiento de las células infectadas con MHV con un inhibidor del proteosoma da como resultado una disminución en la replicación vírica, que está correlacionada con un título vírico reducido en comparación con el de las células no tratadas. El virus de la hepatitis B humana (VHB), un miembro de la familia vírica *Hepadnaviridae*, requiere que se propaguen proteínas de la envoltura codificadas víricamente. La inhibición de la ruta de degradación del proteosoma produce

una significativa reducción en la cantidad de proteínas de envoltura secretadas (Simsek y col, J Virol 79: 12914-12920, 2005). Además del VHB, otros virus de la hepatitis (A, C, D y E) pueden utilizar también la ruta de degradación de la ubiquitina-proteosoma para la secreción, morfogénesis y patogénesis.

5 **[0070]** La bacteria *Listeria monocytogenes* produce una dolencia conocida como listeriosis, cuyas manifestaciones varían desde leves (náuseas, vómitos y diarrea) a graves (septicemia, meningitis, encefalitis). Un análisis cuantitativo de los cambios en la composición de la subunidad del proteosoma desvelaron que la infección de ratones con el virus de la coriomeningitis linfocítica o *Listeria monocytogenes* condujeron a una sustitución casi completa en siete días de los proteosomas constitutivos por inmunoproteosomas en el hígado (Khan y col, J Immunol 167: 6859-6868, 10 2001). Los procariotas tienen algo que es equivalente a la partícula del proteosoma 20S en eucariotas. Aunque la composición de la subunidad de la partícula 20S procariota es más simple que la de los eucariotas, esta no tiene la capacidad de hidrolizar los enlaces peptídicos de una manera similar. Por ejemplo, el ataque nucleofílico sobre el enlace peptídico se produce a través del resto de treonina en el extremo N de las subunidades  $\beta$ . De esta manera, una realización de esta invención se refiere a una composición para el uso en el tratamiento de infecciones procariotas, que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de una composición inhibitoria del proteosoma dada a conocer en el presente documento. Las infecciones procariotas pueden incluir enfermedades producidas tanto por micobacterias (tales como tuberculosis, lepra o úlcera de Buruli) como arqueobacterias.

20 **[0071]** Por consiguiente, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a un compuesto para el uso en el tratamiento de la infección (por ejemplo, bacteriana, parasítica o vírica), que incluye poner en contacto una célula con (o administrar a un sujeto) una cantidad eficaz de un compuesto dado a conocer en el presente documento.

25 **[0072]** La lesión de isquemia y reperusión da como resultado hipoxia, una dolencia en la que existe una deficiencia en el oxígeno que llega a tejidos del cuerpo. Esta dolencia produce un aumento de la degradación de I $\kappa$ -B $\alpha$ , dando como resultado de esta forma la activación de NF- $\kappa$ B (Koong y col., 1994). De manera interesante, los factores que se han identificado como capaces de potenciar la expresión del inmunoproteosoma, TNF- $\alpha$  y los liposacáridos, estimulan también la activación de NF- $\kappa$ B. Se ha demostrado que la gravedad de la lesión resultante de la hipoxia se puede reducir con la administración de un inhibidor del proteosoma (Gao y col., 2000; Bao y col., 2001; Pye y col., 2003). Por tanto, determinadas realizaciones de la invención se refieren a un compuesto para el uso en el tratamiento de una dolencia isquémica o lesión por reperusión que comprende administrar a un sujeto que necesita de dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor del proteosoma dado a conocer en el presente documento. Los ejemplos de dichas dolencias o lesiones incluyen, pero no se limitan a, síndrome coronario agudo (placas vulnerables), enfermedad oclusiva arterial (oclusiones cardíacas, cerebrales, arteriales periféricas y vasculares), aterosclerosis (esclerosis coronaria, enfermedad de las arterias coronarias), infartos, insuficiencia cardíaca, pancreatitis, hipertrofia de miocardio, estenosis, y restenosis.

35 **[0073]** La caquexia es un síndrome caracterizado por debilidad del músculo esquelético asociada con proteólisis potenciada debida a la ruta ubiquitina-proteosoma. La inhibición del proteosoma reduce la proteólisis, reduciendo de esta forma tanto la pérdida de la proteína muscular como la carga de nitrógeno en los riñones o el hígado (Tawa y col., JCI 100: 197-203, 1997). En la caquexia se ha notificado una elevada expresión de las citosinas proinflamatorias, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , ambas de las cuales estimulan la expresión de las subunidades del inmunoproteosoma (Acharyya y col., JCI 114: 370-378, 2004). De hecho, la mayoría de tipos de atrofia muscular presentan elevadas tasas de degradación de las proteínas (Lecker y col., FASEB J 18: 39-51, 2004). La propia debilidad muscular se manifiesta en algunas enfermedades que suponen una amenaza para la vida, incluyendo, 45 cáncer, sepsia, insuficiencia renal, SIDA, ayuno, atrofia debida a denervación, acidosis, diabetes, atrofia por falta de uso e insuficiencia cardíaca congestiva. Una realización de la invención se refiere al tratamiento de la caquexia y de las enfermedades debilitantes musculares. Los compuestos de la invención son útiles para tratar dolencias tales como cáncer, enfermedades infecciosas crónicas, fiebre, falta de uso del músculo (atrofia) y denervación, lesión del nervio, ayuno, insuficiencia renal asociada con acidosis, e insuficiencia hepática. Véase, por ejemplo, Goldberg, patente de los Estados Unidos N° 5.340.736.

50 **[0074]** La degradación de determinadas proteínas por el proteosoma tiene efecto sobre los mecanismos de señalización que, a su vez, tienen efecto sobre la transcripción génica, el ciclo celular y las rutas metabólicas. Tal como se ha señalado anteriormente, los inhibidores del proteosoma bloquean la degradación y el procesamiento de NF- $\kappa$ B ubiquitinada *in vitro* e *in vivo*. Los inhibidores del proteosoma bloquean también la degradación de I $\kappa$ B-A y la activación de NF- $\kappa$ B (Palombella, y col. Cell (1994) 78:773-785; y Traenckner, y col., EMBO J. (1994) 13: 5433-5441). Una realización de la invención es un compuesto para uso en la inhibición de

60 **[0075]** la degradación de I $\kappa$ B- $\alpha$ , que incluye poner en contacto la célula con un compuesto descrito en el presente documento.

65 **[0076]** En determinadas realizaciones, la invención se refiere a compuestos para el uso en la afectación de los ciclos celulares eucariotas dependientes de ciclina, que incluyen exponer una célula (*in vitro* o *in vivo*) a un inhibidor del proteosoma dado a conocer en el presente documento. Las ciclinas son proteínas implicadas en el control del ciclo celular. El proteosoma participa en la degradación de las ciclinas. Los ejemplos de ciclinas incluyen ciclinas mitóticas, ciclinas G1, y ciclina B. La degradación de las ciclinas permite a una célula salir de una etapa del ciclo

celular (por ejemplo, mitosis) y entrar en otra (por ejemplo, división). Se cree que todas las ciclinas están asociadas con la proteína cinasa p34<sup>cdc2</sup> o las cinasas relacionadas. La señal directora de la proteólisis se localiza en los aminoácidos 42-RAALGNISEN-50 (secuencia de destrucción). Existen evidencias de que la ciclina se convierte en una forma vulnerable a la ubiquitina ligasa o que la ligasa específica de ciclina se activa durante la mitosis (Ciechanover, A., Cell, (1994) 79: 13-21). La inhibición del proteosoma inhibe la degradación de la ciclina, e inhibe de esta forma la proliferación celular en, por ejemplo, los cánceres relacionados con ciclina (Kumatori y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990) 87: 7071-7075). En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un procedimiento para tratar una enfermedad proliferativa en un sujeto (por ejemplo, cáncer, psoriasis, o restenosis), que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una composición inhibidora del proteosoma de una manera dada a conocer en el presente documento. La invención se refiere también a composiciones para uso en el tratamiento de la inflamación relacionada con ciclina en un sujeto, que comprende administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición inhibidora del proteosoma de una manera descrita en el presente documento.

**[0077]** En la maduración de los reticulocitos y el crecimiento de fibroblastos, células privadas de insulina o suero, la velocidad de la proteólisis casi se duplica, sugiriendo un papel del proteosoma en el metabolismo celular. En determinadas realizaciones, la invención se refiere a composiciones para el uso en la reducción de la velocidad de degradación de la proteína intracelular en una célula, que comprende poner en contacto una célula (in vivo o in vitro, por ejemplo, un músculo en un sujeto) con una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende un inhibidor del proteosoma dado a conocer en el presente documento.

**[0078]** La enfermedad de Alzheimer (AD) es un trastorno patológico neurodegenerativo progresivo asociado con una pérdida de la función cognitiva superior. Los hitos patológicos de la enfermedad incluyen placas amiloides seniles, ovillos neurofibrilares, neuritis distrófica y pérdida neuronal significativa en las regiones seleccionadas del cerebro. La microglía, los macrófagos residentes en el cerebro, liberan numerosas citosinas proinflamatorias, que incluyen TNF- $\alpha$ , cuando se activan por A $\beta$ 42, un péptido asociado con las placas amiloides neuríticas y vasculares. Esta respuesta inflamatoria mediada por la microglía contribuye a una pérdida neuronal significativa. Los estudios en cultivos celulares han demostrado que las neuronas corticales primarias tratadas con medio acondicionado procedente de células BV2 microgliales estimuladas tanto con LPS/INF- $\gamma$  como con péptidos A $\beta$ 42 sonicados han dado como resultado aproximadamente una disminución del 60% en la viabilidad celular (Gan y col., J. Biol. Chem. 279: 5565-5572, 2004). Se encuentra una expresión superior del inmunoproteosoma en el tejido cerebral procedente de pacientes de ADN que en el de adultos mayores sin demencia (Mishto y col., Neurobiol Aging 27: 54-66, 2006).

**[0079]** Los pacientes que padecen enfermedad de Huntington (HD), otro trastorno neurodegenerativo, presentan una disfunción motora y un declive cognitivo durante un periodo de años hasta la muerte. Tras la autopsia, se puede detectar la presencia de inclusiones o de agregados intraneuronales, producida por una mutación de expansión poliQ (denominada también expansión de repetición del triplete CAG), acompañada por una atrofia significativa en el cuerpo estriado y en partes de la corteza del cerebro. La inmunohistoquímica ha desvelado que se produjo una potenciación significativa en la expresión del inmunoproteosoma en el cuerpo estriado y en la corteza frontal de cerebros de pacientes de HD en comparación con la de adultos normales con edad similar (Diaz-Hernandez y col, J Neurosci 23: 11653-1161, 2003). Tras un análisis adicional, se ha descubierto que la potenciación se produjo de forma predominante en las neuronas en degeneración. Utilizando un modelo de ratón de la HD, los investigadores han señalado un aumento selectivo en las actividades del tipo quimotripsina y tripsina en las regiones afectadas y que contienen agregados del cerebro, principalmente la corteza y el cuerpo estriado (Diaz-Hernandez y col, J Neurosci 23: 11653-1161, 2003).

**[0080]** Por consiguiente, determinadas realizaciones de la invención se refieren al uso de una composición inhibidora del proteosoma dado a conocer en el presente documento para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas. Las enfermedades y dolencias neurodegenerativas incluyen, pero no se limitan a, ictus, lesión isquémica en el sistema nervioso, trauma neural (por ejemplo, lesión cerebral percusiva, lesión en la médula espinal, y lesión traumática en el sistema nervioso), esclerosis múltiple, y otras neuropatías inmunomediadas (por ejemplo, síndrome de Guillain-Barre y sus variantes, neuropatía axonal motora aguda, polineuropatía desmielinante inflamatoria aguda, y síndrome de Fisher), complejo de demencia por VIH/SIDA, axonomía, neuropatía diabética, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, meningitis bacteriana, parasítica, fúngica, y vírica, encefalitis, demencias subcorticales, demencia multiinfarto, demencia por cuerpo de Lewy, demencia del lóbulo frontal tal como enfermedad de Pick, demencias subcorticales (tales como Huntington o parálisis supranuclear progresiva), síndromes de atrofia cortical focal (tales como afasia primaria), demencias metabólicas-tóxicas (tales como hipotiroidismo crónico o deficiencia de vitamina B12), y demencias producidas por infecciones (tales como sífilis o meningitis crónica)

**[0081]** Se ha demostrado también que los inhibidores que se unen al proteosoma 20S estimulan la formación del hueso en los cultivos orgánicos de huesos. Además, cuando dichos inhibidores se han administrado de manera sistemática a ratones, determinados inhibidores del proteosoma han aumentado el volumen óseo y las tasas de formación de hueso más de un 70% (Garrett, I. R. y col., J. Clin. Invest. (2003) 111: 1771-1782), sugiriendo por tanto que la maquinaria ubiquitina-proteosoma regula la diferenciación de los osteoblastos y la formación del hueso. Por tanto, las composiciones inhibidoras de proteosomas dadas a conocer pueden ser útiles en el tratamiento y/o la

prevención de enfermedades asociadas con la pérdida de hueso, tales como la osteoporosis.

**[0082]** El cáncer es un término general para la enfermedad caracterizada por un crecimiento anómalo, incontrolado de células. Muchos cánceres surgen mediante rutas multietapas que implican la inactivación de proteínas supresoras tumorales y la activación de péptidos oncogénicos. Las células cancerosas pueden diseminarse a otras partes del cuerpo a través del sistema linfático o del torrente sanguíneo. Usualmente, el cáncer se clasifica de acuerdo con el tipo de tejido o de célula más prominentemente implicado. Tal como se ha señalado anteriormente, ya se ha validado la inhibición del proteosoma como una estrategia terapéutica para el tratamiento del cáncer, aunque la relación puede variar algo. El mieloma múltiple es una enfermedad hematológica caracterizada por un excesivo número de células plasmáticas anómalas en la médula ósea. Las células plasmáticas se desarrollan a partir de linfocitos B, de esta manera, no es sorprendente que otras neoplasias de linfocitos B expresen también el inmunoproteosoma en alguna extensión. Excepto para dos líneas celulares de leucemia mielógena crónica, los cánceres hemorrelacionados (por ejemplo, mieloma múltiple, leucemias y linfomas) parecen expresar generalmente el inmunoproteosoma (Figura 1). Las células cancerosas que se originan a partir de células linfoides expresan un 30% o más del inmunoproteosoma. En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un compuesto para uso en el tratamiento del cáncer, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos descritos en el presente documento. En determinadas realizaciones preferidas, el cáncer es un trastorno hemorrelacionado.

**[0083]** De manera intrigante, algunos cánceres (por ejemplo, tumores sólidos, carcinoma espinocelular de cabeza y cuello, carcinoma de cuello de útero, y carcinoma de pulmón microcítico) parecen tener una expresión del inmunoproteosoma regulada por defecto (Evans y col, J Immunol 167: 5420, 2001; Meissner y col, Clin Cancer Res 11: 2552, 2005; Restifo y col, J Exp Med 177: 265-272, 1993). Esto parece estar correlacionado con un procesamiento deficiente del antígeno y puede ser una estrategia usada por las células tumorales para escapar de la vigilancia del sistema inmune. El tratamiento de las células con INF- $\gamma$  podría inducir la expresión del inmunoproteosoma. Por tanto, determinadas realizaciones de la invención se refieren a un compuesto útil en el tratamiento de los cánceres que comprende administrar a un sujeto que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de INF- $\gamma$  o TNF- $\alpha$  y un compuesto inhibidor del proteosoma dado a conocer en el presente documento.

### Administración

**[0084]** Los compuestos preparados tal como se describe en el presente documento se pueden administrar en diversas formas, dependiendo del trastorno que se va a tratar y de la edad, dolencia, y peso corporal del paciente, como se conoce en la técnica. Por ejemplo, cuando los compuestos se van a administrar por vía oral, se pueden formular como comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos, o jarabes; o para la administración parenteral, se pueden formular como inyecciones (intravenosas, intramusculares, o subcutánea), preparaciones para infusión por goteo, o supositorios. Para la aplicación por la ruta de la membrana mucosa oftálmica, se pueden formular como colirios o pomadas para los ojos. Estas formulaciones, se pueden preparar por medios convencionales, y, si se desea, el principio activo puede mezclarse con cualquier aditivo o excipiente convencional, tal como un aglutinante, un agente desintegrante, un lubricante, un corrector, un agente solubilizante, un auxiliar de la suspensión, un agente emulsificante, un agente de revestimiento, una ciclodextrina, y/o un tampón. Aunque la dosificación variará dependiendo de los síntomas, la edad y el peso corporal del paciente, la naturaleza y la gravedad del trastorno que se va a tratar o evitar, la ruta de administración y la forma del fármaco. En general, se recomienda una dosificación diaria de entre 0,01 a 2000 mg del compuesto para un paciente humano adulto, y esta se puede administrar en una única dosis o en dosis divididas. La cantidad de principio activo que se puede combinar con un material portador para producir una única forma de dosificación será generalmente la cantidad del compuesto que produce un efecto terapéutico.

**[0085]** El tiempo preciso de administración y/o la cantidad de la composición que dará lugar a los resultados más efectivos en términos de la eficacia del tratamiento en un paciente dado dependerá de la actividad, la farmacocinética, y la biodisponibilidad de un compuesto concreto, la dolencia fisiológica del paciente (que incluye la edad, el sexo, el tipo y la etapa de la enfermedad, la dolencia física general, la sensibilidad a una dosificación dada, y el tipo de medicación), la ruta de administración, etc. Sin embargo, se puede usar la anterior directriz como la base para la puesta a punto del tratamiento, por ejemplo, la determinación del tiempo óptimo y/o la cantidad de administración, que requerirá no más que la experimentación rutinaria que consiste en la vigilancia del sujeto y en el ajuste de la dosificación y/o el cómputo del tiempo.

**[0086]** La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse a aquellos ligandos, materiales, composiciones, y/o formas de dosificación que están comprendidos en el alcance de un criterio médico razonable adecuado para el uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, proporcional a un relación beneficio/riesgo razonable.

**[0087]** La frase "vehículo farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en el presente documento significa un material, composición, o vehículo farmacéuticamente aceptable tal como un líquido o una carga sólida, diluyente, excipiente, disolvente o material encapsulante. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible

con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa, y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz, almidón de patata, y  $\beta$ -ciclodextrina sustituida o no sustituida; (3) celulosa, y sus derivados, tales como carboximetil celulosa de sodio, etil celulosa, y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) maltosa; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, o aceite de semillas de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz, y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol, y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes tamponantes, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio, (15) ácido algínico, (16) agua exenta de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) disoluciones tamponadas con fosfato; y (21) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en las formulaciones farmacéuticas. En determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención no son pirógenas, es decir, no inducen elevaciones significativas de la temperatura cuando se administran a un paciente.

**[0088]** El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales de adición de ácido inorgánicas y orgánicas, relativamente no tóxicas del(de los) inhibidor(es). Se pueden preparar estas sales in situ durante el aislamiento y la purificación final del(de los) inhibidor(es) o haciendo reaccionar por separado un(os) inhibidor(es) purificado(s) en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado, y aislando las sales formadas de esta manera. Las sales representativas incluyen las sales de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato, laurilsulfonato, y las sales de aminoácidos y similares. (Véase, por ejemplo Berge y col. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66: 1-19.)

**[0089]** En otros casos, los inhibidores de la presente invención pueden contener uno o más grupos funcionales ácidos y, de esta manera, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con bases farmacéuticamente aceptables. El término "sales farmacéuticamente aceptables" en estos casos se refiere a sales de adición de base inorgánicas y orgánicas relativamente no tóxicas de un(os) inhibidor(es). Estas sales pueden igualmente prepararse in situ durante el aislamiento y la purificación final del(de los) inhibidor(es), o por separado haciendo reaccionar el(los) inhibidor(es) en su forma de ácido libre a partir de una base adecuada, tal como el hidróxido, carbonato, o bicarbonato de un catión metálico farmacéuticamente aceptable, con amoníaco o con una amina primaria, secundaria, o terciaria farmacéuticamente aceptable. Las sales alcalinas o alcalinotérricas representativas incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio, y aluminio, y similares. Las aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de base incluyen etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, y similares (véase, por ejemplo, Berge y col., *más arriba*)

**[0090]** Pueden estar presentes también en las composiciones agentes humectantes, emulsionantes, y lubricantes, tales como lauril sulfato de sodio, y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de revestimiento, agentes edulcorantes, aromatizantes, y perfumantes, conservantes y antioxidantes.

**[0091]** Los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen. (1) antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio, y similares; (2) antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa tocoferol, y similares, y (3) agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiamina tetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares.

**[0092]** Las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden estar en la forma de cápsulas, sellos, píldoras, comprimidos, comprimidos gruesos (que utilizan una base aromatizada, normalmente sacarosa y acacia o tragacanto), polvos, gránulos, o como una disolución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida de agua en aceite o de aceite en agua, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (utilizando una matriz inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia) y/o como enjuagues bucales, y similares, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada de un(os) inhibidor(es) como un ingrediente activo. Puede administrarse también una composición como un bolo, eluctuario, o pasta.

**[0093]** En las formas de dosificación sólida para la administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos, y similares), el principio activo se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico, y/o cualquiera de los anteriores, (1) cargas o extensores, tales como almidones, ciclodextrinas, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, y/o ácido salicílico, (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa, y/o acacia; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes desintegrantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos, y carbonato de sodio, (5) agentes retardantes de la disolución, tales como parafina; (6) aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario, (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol acetílico y monoestearato de glicerol, (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla bentonita, (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio, y sus mezclas, y (10) agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos, y píldoras, las

composiciones farmacéuticas pueden comprender también agentes tamponantes. Se pueden emplear también composiciones sólidas de tipo similar como cargas en cápsulas rellenas de gelatina blanda y dura utilizando los mencionados excipientes tales como lactosa o azúcares lácteos, así como polietilenglicoles de elevado peso molecular, y similares.

5 **[0094]** Se puede preparar un comprimido mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Se pueden preparar comprimidos prensados utilizando aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricantes, diluyentes inertes, conservantes, desintegrantes (por ejemplo, almidón glicolato de sodio o carboximetilcelulosa de sodio reticulada). Agentes tensioactivos o dispersantes. Se pueden preparar comprimidos moldeados moldeando en una máquina adecuada una mezcla del(de los) inhibidor(es) en polvo humedecidos en un diluyente líquido inerte.

15 **[0095]** Los comprimidos, y otras formas de dosificación sólida, tales como grageas, cápsulas, píldoras, y gránulos, pueden opcionalmente puntuarse o prepararse con revestimientos y láminas, tales como revestimientos entéricos y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Se pueden formular también con el fin de proporcionar una liberación lenta o controlada del principio activo de la anterior utilizando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, diferente de las matrices poliméricas, liposomas, y/o microesferas. Se pueden esterilizar mediante, por ejemplo, filtración a través de un filtro que retiene las bacterias, o incorporando agentes de esterilización en la forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes del uso. Estas composiciones pueden contener también opcionalmente agentes opacificantes y pueden ser composiciones que liberan el(los) principio(s) activo(s) solo, o de forma preferente, en una determinada porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de una manera retrasada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El principio activo puede estar también en forma microencapsulada, si resulta adecuado, con uno o más de los excipientes anteriormente descritos.

25 **[0096]** Las formas de dosificación líquida para la administración oral incluyen emulsiones, microemulsiones, disoluciones, suspensiones, jarabes, y elixires. Además del principio activo, las formas de dosificación líquida pueden contener diluyentes inertes utilizados comúnmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes, y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semillas de algodón, de araquís, de germen de maíz, de oliva, de ricino, y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfílico, polietilenglicoles, y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y sus mezclas.

35 **[0097]** Junto con los diluyentes inertes, las composiciones orales pueden incluir también adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y suspensores, agentes endulzantes, aromatizantes, colorantes, perfumantes, y conservantes.

40 **[0098]** Las suspensiones, además del(de los) inhibidor(es) activo(s) pueden contener agentes suspensores tales como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, ésteres de polioxietilensorbitol y sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y sus mezclas.

45 **[0099]** Las formulaciones para la administración rectal o vaginal pueden presentarse como un supositorio, que se puede preparar mezclando uno o más inhibidor(es) con uno o más excipientes o vehículos no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera o un salicilato de supositorio, que es sólida a temperatura ambiente, pero líquida a temperatura corporal y, por tanto, se fundirá en el recto o en la cavidad vaginal y liberará el agente activo.

50 **[0100]** Las formulaciones apropiadas conocidas en la técnica que son adecuadas para la administración vaginal incluyen también formulaciones para pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas, o pulverizaciones que contienen dichos vehículos.

55 **[0101]** Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un(os) inhibidor(es) incluye polvos, pulverizaciones, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, disoluciones, parches, e inhaladores. El componente activo puede mezclarse en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y con cualquier conservante, tampón o propelente que se pueda requerir.

60 **[0102]** Las pomadas, pastas, cremas, y geles pueden contener, además del inhibidor(es), excipientes tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, bentonitas, ácido silícico, talco, y óxido de cinc, o sus mezclas.

65 **[0103]** Los polvos y pulverizaciones pueden contener, además de un(os) inhibidor(es), excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio, y polvo de poliamida, o las mezclas de estas sustancias. Las pulverizaciones pueden contener de forma adicional propelentes personalizados, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

5 **[0104]** El(los) inhibidor(es) pueden administrarse de forma alternativa mediante aerosol. Esto se lleva a cabo preparando un aerosol acuoso, preparación liposómica, o partículas sólidas que contienen la composición. Podría utilizarse una solución no acuosa (propelente de fluorocarbono). Se prefieren los nebulizadores sónicos debido a que minimizan la exposición del agente a cizallar, los que puede dar como resultado la degradación del compuesto.

10 **[0105]** De forma ordinaria, se prepara un aerosol acuoso formulando una disolución o suspensión acuosa del agente junto con los vehículos y estabilizantes farmacéuticamente aceptables convencionales. Los vehículos y estabilizantes variarán con los requerimientos de la composición concreta, pero incluyen normalmente tensioactivos no iónicos (Tweens, Pluronic, ésteres de sorbitán, lecitina, cromóforos), cosolventes farmacéuticamente aceptables tales como polietilenglicol, proteína inocuas del tipo albúmina de suero, ácido oleico, aminoácidos tales como glicina, tampones, sales, azúcares, o alcoholes azucarados. Los aerosoles se preparan generalmente a partir de disoluciones isotónicas.

15 **[0106]** Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar la liberación controlada de un(os) inhibidor(es) en el cuerpo. Dichas formas de dosificación se pueden preparar disolviendo o dispersando el agente en el medio adecuado. Se pueden usar también potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del(de los) inhibidor(es) a través de la piel. Se puede controlar la velocidad de dicho flujo tanto proporcionando una membrana controladora de la velocidad como dispersando el(los) inhibidor(es) en una matriz o gel polimérico

20 **[0107]** Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para la administración parenteral comprenden uno o más inhibidor(es) en combinación con una o más disoluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que se pueden reconstituir en disoluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes del uso, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos, solutos que vuelven la formulación isotónica con la sangre del receptor previsto o agentes suspensores o espesantes.

25 **[0108]** Los ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que se pueden emplear en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y sus mezclas adecuadas, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Se puede mantener la fluidez adecuada, por ejemplo, mediante el uso de materiales de revestimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partículas requerido en el caso de dispersiones, y mediante el uso de tensioactivos.

30 **[0109]** Estas composiciones pueden contener también adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, y agentes dispersantes. Puede asegurarse la prevención de la acción de los microorganismos mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, ácido fenol sórbico, y similares. Puede ser deseable también incluir agentes ajustadores de la tonicidad, tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares, en las composiciones. Además, se puede llevar a cabo la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable mediante la inclusión de agentes que retrasan la absorción tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

35 **[0110]** En algunos casos, con el fin de prolongar el efecto de un fármaco, es deseable ralentizar la absorción del fármaco procedente de la inyección subcutánea o intramuscular. Por ejemplo, se llevó a cabo la absorción retrasada de una forma del fármaco administrado por vía parenteral disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso.

40 **[0111]** Las formas de depósito inyectable se preparan formando matrices microencapsuladas de inhibidor(es) en polímeros biodegradables tales como poliláctido-poliglicólido. Dependiendo de la relación de fármaco a polímero, y de la naturaleza del polímero concreto empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del fármaco. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Se preparan también formulaciones de depósito inyectable atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con el tejido corporal.

45 **[0112]** Se pueden administrar las preparaciones de los agentes por vía oral, parenteral, tópica o rectal. Se proporcionan, por supuesto, formas adecuadas para cada ruta de administración. Por ejemplo, se administran en forma de comprimidos o de cápsulas, mediante inyección, inhalación, loción ocular, pomada, supositorio, infusión; por vía tópica mediante loción o pomada, y por vía rectal mediante supositorios. Se prefiere la administración oral.

50 **[0113]** Las frases "administración parenteral" y "administrado parenteralmente", tal como se usan en el presente documento significan modos de administración diferentes a la administración entérica y tópica, usualmente mediante inyección, e incluyen, sin limitación, la inyección intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoide, intraespinal e intraesternal, y la infusión.

55 **[0114]** Las frases "administración sistémica", "administrado sistémicamente", "administración periférica" y "administrado periféricamente", tal como se usan en el presente documento significan la administración de un

ligando, fármaco, u otro material de una forma que no sea directamente en el sistema nervioso central, de tal manera que entra en el sistema del paciente y de esta manera, está sujeto al metabolismo y a otros procesos del mismo tipo, por ejemplo, la administración por vía subcutánea.

5 **[0115]** Este(estos) inhibidor(es) se pueden administrar a seres humanos y otros animales para terapia mediante cualquier ruta de administración adecuada, que incluye la oral, nasal, como mediante, por ejemplo, un pulverizador, la administración rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal y tópica, como mediante polvos, pomadas o gotas, incluyendo por vía bucal y sublingual.

10 **[0116]** Independientemente de la ruta de administración seleccionada, el(los) inhibidor(es) que se pueden usar en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables mediante procedimientos convencionales conocidos por los expertos en la técnica.

15 **[0117]** Los niveles de dosificación reales de los principios activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden variar con el fin de obtener una cantidad del principio activo que sea eficaz para conseguir la respuesta terapéutica deseada para un paciente concreto, sin que la composición, y el modo de administración sean tóxicos para el paciente.

20 **[0118]** La concentración de un compuesto dado a conocer en una mezcla farmacéuticamente aceptable variará dependiendo de diversos factores, que incluyen la dosificación del compuesto que se va a administrar, las características farmacocinéticas del(de los) compuesto(s) empleado(s), y la ruta de administración. En general, las composiciones de la presente invención se pueden proporcionar en una disolución acuosa que contiene aproximadamente 0,1-10% p/v de un compuesto dado a conocer en el presente documento, entre otras sustancias, para la administración parenteral. Los intervalos de dosificación típicos están entre aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal por día, proporcionados en 1-4 dosis divididas. Cada dosis dividida puede contener el mismo o diferentes compuestos de la invención. La dosificación será una cantidad eficaz dependiendo de diversos factores que incluyen la salud global de un paciente, y la formulación y ruta de administración del(de los) compuesto(s) seleccionado(s).

25 **[0119]** Otro aspecto de la invención proporciona un tratamiento conjunto en el que se administran uno o más de diferentes agentes terapéuticos junto con el inhibidor del proteosoma. Dicho tratamiento de conjunto se puede conseguir por medio de la dosificación simultánea, secuencial, o separada de los componentes individuales del tratamiento.

30 **[0120]** En determinadas realizaciones, un compuesto de la invención se administra conjuntamente con uno o más inhibidor(es) del proteosoma.

35 **[0121]** En determinadas realizaciones, un compuesto de la invención se administra conjuntamente con un agente quimioterapéutico. Los agentes quimioterapéuticos adecuados pueden incluir, productos naturales tales como alcaloides de la vinca (es decir, vinblastina, vincristina, y vinorelbina), paclitaxel, epididodofilotoxinas (es decir, etopósido, tenipósido), antibióticos (dactinomicina (actinomicina D) daunorubicina, doxorubicina e idarubicina), antraciclina, mitoxantrona, bleomicinas, plicamicina (mitramicina) y mitomicina, enzimas (L-asparaginasa que metaboliza de manera sistemática la L-asparagina y elimina el suministro de las células que no tienen la capacidad de sintetizar su propia asparagina); agentes antiplaquetarios; agentes alquilantes antiproliferativos/antimitóticos tales como mostazas de nitrógeno (mecloretamina, ciclofosfamida y sus análogos, melfalan, clorambucilo), etileniminas y metilmelaminas (hexametilmelamina y tiotepa), alquil sulfonatos (busulfan), nitrosoureas (carmustina (BCNU) y sus análogos, estreptozocina), trazenos - dacarbazina (DTIC); antimetabolitos antiproliferativos/antimitóticos tales como los análogos del ácido fólico (metotrexato), los análogos de pirimidina (fluorouracilo, floxuridina, y citarabina), los análogos de purina y los inhibidores relacionados (mercaptapurina, tioguanina, pentostatina y 2-clorodesoxiadenosina); los inhibidores de la aromataza (anastrozol, exemestano, y letrozol); y los complejos de coordinación del platino (cisplatino, carboplatino), procarbazona, hidroxiaurea, mitotano, aminoglutethimida; hormonas (es decir, estrógeno) y los agonistas de hormonas tales como los agonistas de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) (goserelina, leuprolido y triptorelina). Otros agentes quimioterapéuticos pueden incluir mecloretamina, camptotecina, ifosfamida, tamoxifeno, raloxifeno, gemcitabina, navelbina, o cualquier análogo o variante derivada del anterior.

40 **[0122]** En determinadas realizaciones, un compuesto de la invención se administra conjuntamente con un esteroide, los esteroides adecuados pueden incluir, pero no se limitan a, 21-acetoxipregnenolona, alclometasona, algestona, amcinonida, beclometasona, betametasona, budesonida, cloroprednisona, clobetasol, clocortolona, cloprednol, corticosterona, cortisona, cortivazol, deflazacort, desonide, desoximetasona, dexametasona, diflorasona, difluocortolona, difuprednato, enoxolona, fluzacort, fluciclonida, flumetasona, flunisolida, fluocinolona acetona, fluocinonida, butil fluocortina, fluocortolona, fluorometolona, acetato de fluperolona, acetato de fluprednido, fluprednisolona, flurandrenolida, propionato de fluticasona, formocortol, halcinonida, propionato de halobetasol, halometasona, hidrocortisona, etabonato de loteprednol, mazipredona, medrisona, meprednisona, metil prednisolona, furoato de mometasona, parametasona, prednicarbato, prednisolona, 2.5-dietilaminoacetato de

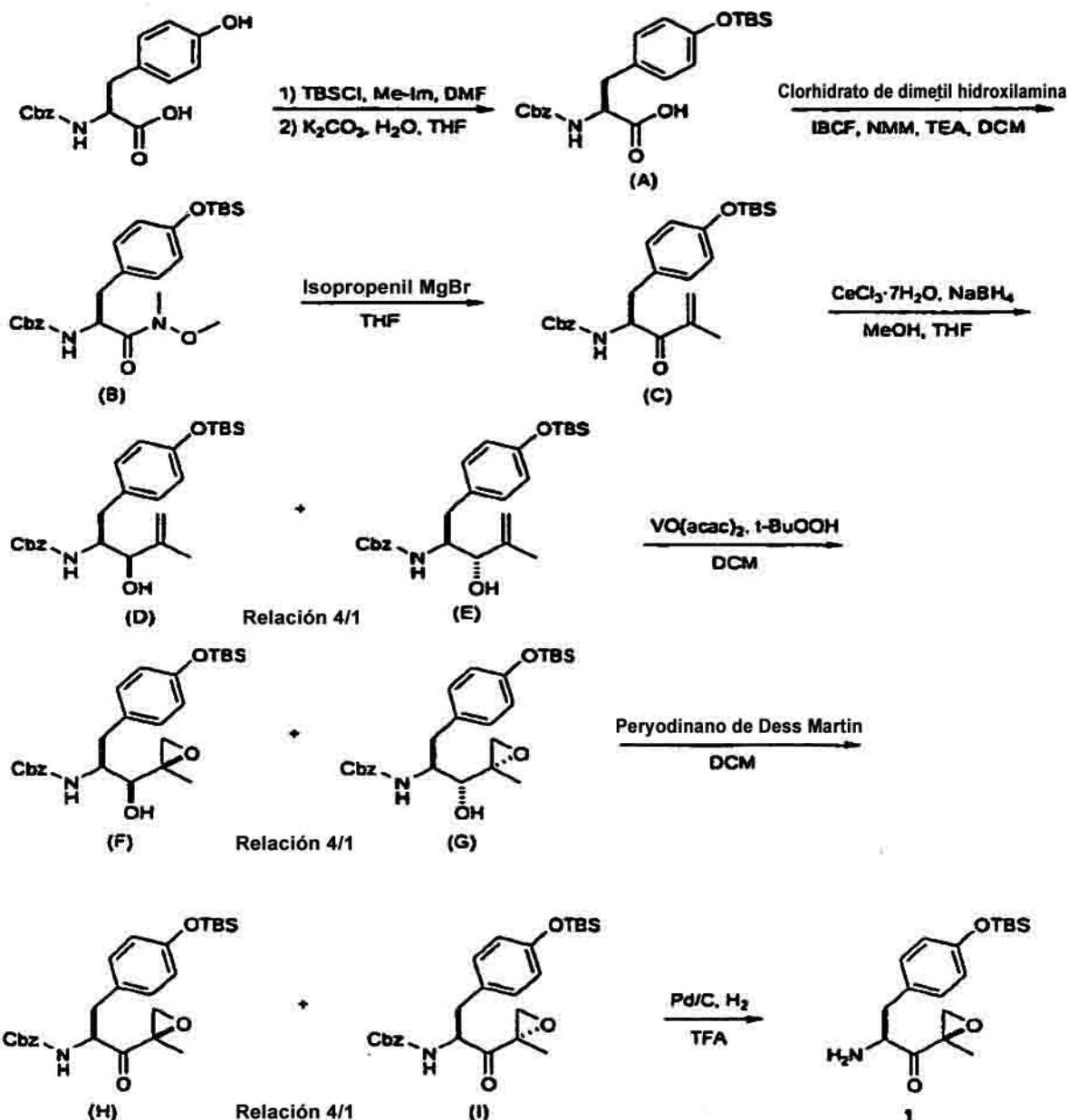
prednisolona, prednisolona fosfato de sodio, prednisona, prednival, prednilideno, rimexolona, tixocortol, triamcinolona, triamcinolona acetona, triamcinolona benetonida, triamcinolona hexacetonida, y sus sales y/o derivados.

- 5 **[0123]** En determinadas realizaciones, un compuesto de la invención se administra conjuntamente con un agente inmunoterapéutico. Los agentes inmunoterapéuticos adecuados pueden incluir, pero no se limitan a, ciclosporina, talidomida, y anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos monoclonales pueden ser puros o conjugados, tales como rituximab, tositumomab, alemtuzumab, epratuzumab, ibritumomab tiuxetan, gentuzumab ozogamicina, bevacizumab, cetuximab, erlotinib y trastuzumab.

10

### Ilustración

Esquema 1: Síntesis del Compuesto 1

15 **[0124]**

Síntesis de (A)

20

**[0125]** A una disolución de Cbz-Trp-OH (10 g, 29 mmol) en DMF (150 ml) se añadió Me-Im (25,2 ml, 458 mmol)

gota a gota. La disolución se dejó agitar durante 10 minutos seguido por la adición de TBSCI (23,9 g, 158 mmol). La disolución resultante se dejó agitar durante la noche. A continuación se añadió agua (100 ml) y se extrajo la mezcla con EtOAc (3 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 x 50 ml) y salmuera (50 ml), se secaron con MgSO<sub>4</sub>, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para dar como resultado un aceite que se disolvió en agua/THF 1:1 (200 ml) y se añadió K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (440 mg, 0,031 mmol) a la disolución. La disolución resultante se dejó agitar durante la noche. A continuación se eliminó el disolvente orgánico a presión reducida y se ajustó el pH a 2 con HCl 1 N. la disolución resultante se extrajo con EtOAc 83 x 75 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron con Mg SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar como resultado (A).

10 *Síntesis de (B)*

**[0126]** A una disolución de clorhidrato de dimetil hidroxilamina (3,6 g, 36,9 mmol) en DCM (20 ml) a 0° C se añadió diisopropiletilamina (DIEA) (5 ml, 57,4 mmol) gota a gota. Se dejó agitar la disolución resultante durante 20 minutos.

15 **[0127]** A una disolución de (A) en DCM (20 ml) a 0 °C se añadió cloroformiato de isobutilo (IBCF) (5 ml, 51,5 mmol) gota a gota, seguido por la adición gota a gota de n-metilmorfolina (NMM) (4,0 ml, 56,7 mmol). Se dejó agitar la disolución resultante durante 10 minutos antes de añadir ésta a la disolución del clorhidrato de dimetil hidroxilamina/DIEA anteriormente preparada y se dejó agitar la mezcla durante 3 h a 0 °C, seguido por la adición de agua (50 ml). Las capas se separaron y la capa de agua se lavó con DCM (3 x 15 ml). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con HCl 1N (3 x 20 ml) y salmuera (20 ml), se secaron con MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar como resultado un aceite que se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando 20 a 40% de EtOAc/hexanos como el eluyente para dar como resultado (B):

25 *Síntesis de (C)*

25 **[0128]** A una disolución de (B) (6,82 g, 14,4 mmol) en una disolución de THF (40 ml) a -20 °C se añadió una disolución de bromuro de isopropenil magnesio (90 ml, 0,5 M en THF), manteniendo a la vez la temperatura interna por debajo de -5 °C. Se dejó agitar la disolución durante 3 h a 0 °C seguido por la adición de HCl 1 N (20 ml). Se filtró la disolución a través de Celite 521 y la torta del filtro se lavó con EtOAc. A continuación se eliminó el disolvente orgánico a presión reducida y se extrajo el resto de la disolución acuosa con EtOAc (3 x 20 ml). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3x, 15 ml) y salmuera (15 ml), se secaron con MgSO<sub>4</sub>, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para proporcionar un aceite que se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando 10 a 20% de EtOAc/hexanos como el eluyente para dar como resultado (C).

35 *Síntesis de (D) y (E)*

35 **[0129]** A una disolución de C (3,06 g, 6,75 mmol) en MeON (40 ml) y THF (40 ml) se añadió CeCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O (3,64 g, 9,77 mmol). La mezcla resultante se dejó agitar hasta que se convirtió en homogénea. A continuación se enfrió la disolución a 0°C y se añadió NaBH<sub>4</sub> (369 mg, 9,75 mmol) durante 10 minutos. La disolución se dejó agitar durante 1 h seguida por la adición de AcOH (5 ml) con agitación continuada durante 20 minutos. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo resultante se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 x 10 ml) y salmuera (10 ml), se secaron con MgSO<sub>4</sub>, se filtró, y se concentró a presión reducida para dar como resultado una mezcla 4/1 de (D) y (E).

45 *Síntesis de (F) y (G)*

45 **[0130]** A una disolución de (D) y (E) en DCM (90 ml) a 0 °C, se añadió VO (acac)<sub>2</sub> (63 mg, 0,23 mmol), tras agitación durante 5 minutos se añadió t-BuOOH (2,25 ml, 6,0 M en decano) gota a gota. La disolución resultante se dejó agitar durante 2 h y a continuación se filtró a través de Celite 521, y la torta del filtro se lavó con DCM (20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 x 20 ml) y salmuera (20 ml), se secó con MgSO<sub>4</sub>, se filtró, y se concentró a presión reducida para proporcionar una mezcla de (H) y (1) (4/1) que se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando 15 a 40% de EtOAc/hexanos como eluyente para dar como resultado (H).

55 *Síntesis de (H)*

55 **[0131]** A una disolución de peryodinano de Dess-Martin (6,75 g, 15,9 mmol) en DCM (75 ml) a 0 °C se añadió una disolución de (F) y (G) en DCM (35 ml) gota a gota. La disolución se dejó calentar a temperatura ambiente y agitar durante la noche. A continuación se concentró el disolvente a presión reducida y se diluyó el residuo con EtOAc (20 ml) y disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (20 ml). La mezcla resultante se filtró a través de Celite 521 y la torta del filtro se lavó con EtOAc (20 ml). Se separaron las capas y la capa orgánica se lavó con agua (3 x 10 ml) y salmuera (10 ml), se secó con MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar una mezcla de (H) y (1) (4/1) que se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando 15 a 40% de EtOAc/hexanos como el eluyente para dar como resultado (H):

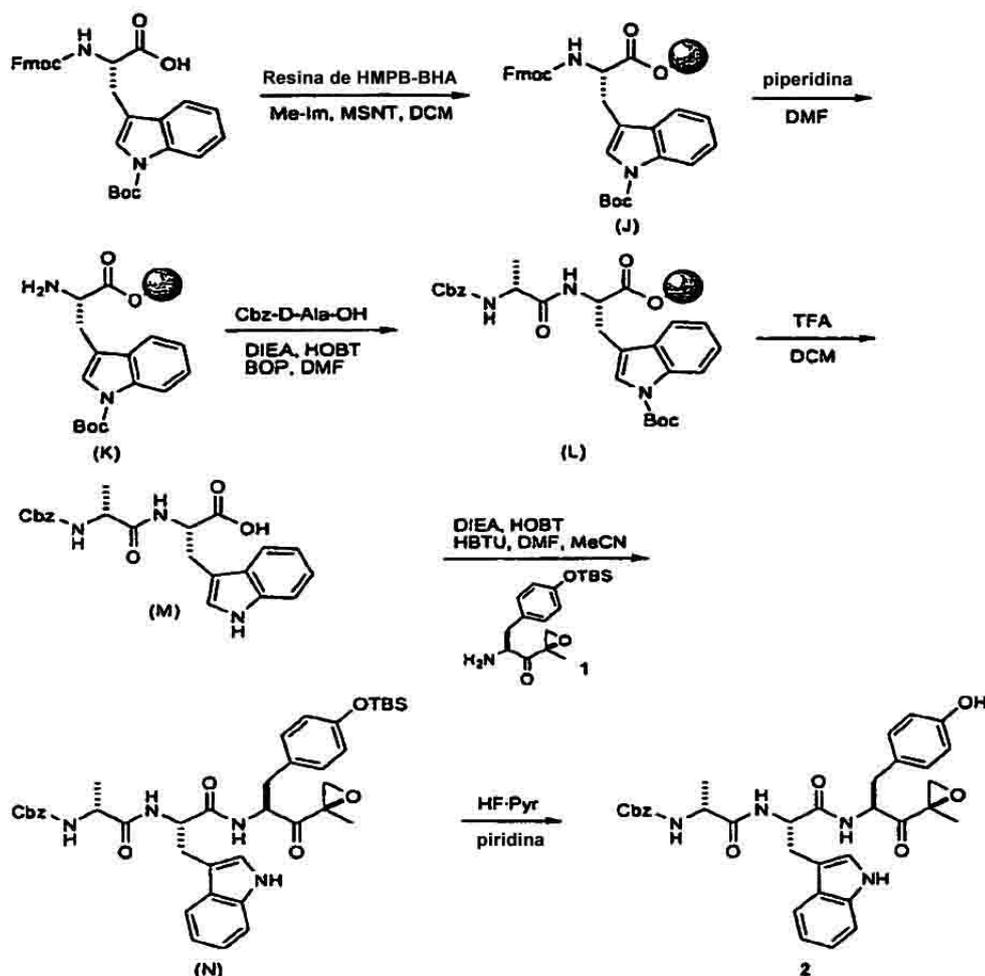
[0132]

Síntesis de 1

5 [0133] A una disolución de (H) (50 mg, 1,06 mmol) en TFA (5 ml) se añadió Pd/C (14 mg, 10%). La mezcla resultante se dejó agitar en 1 atmósfera (98,07 kPa) de H<sub>2</sub> durante 2 h seguido por dilución con DCM (10 ml). La mezcla se filtró a través de Celite 521 y la torta del filtro se lavó con DCM (10 ml). El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo resultante se diluyó con DCM (10 ml) y se concentró a presión reducida una segunda vez. El residuo se colocó a vacío elevado durante 2 h para proporcionar 1.

10 Esquema 2: Síntesis del Ejemplo 2

[0134]



15 Síntesis de (J)

20 [0135] A una disolución de Fmoc-Trp(Boc)-OH (2,4 mmol, 1,0 g) en DCM (20 ml) se añadió Me-Im (6,7 mmol, 0,370 ml) y la mezcla se agitó hasta que la disolución fue homogénea, en cuyo momento se añadió 1-(mesitileno-2-sulfonil)-3-nitro-1,2,4-triazol (MSNT) (2,9 mmol, 0,870 g). Una vez que el MSNT se hubo disuelto, se añadió la mezcla de reacción a la resina de HMPB-BHA (0,8 mmol, 1,25 g) y se dejó agitar la disolución resultante durante 45 minutos. La resina se filtró con DMF (50 ml), MeOH (50 ml), y DCM (50 ml). A continuación la resina se dejó secar al aire para proporcionar (J).

Síntesis de (K)

25 [0136] A (J) (0,40 mmol, 0,62 g) se añadió piperidina/DMF al 20% (10 ml) y la disolución heterogénea resultante se dejó agitar durante 20 minutos. La mezcla se filtró y la resina se lavó con DMF (20 ml), MeOH (20 ml), y DCM (20 ml) y se dejó secar al aire antes de someter ésta a la anterior condición de reacción una segunda vez para dar como resultado (K):

*Síntesis de (L)*

5 **[0137]** A (K) (0,40 mmol) se añadió DMF (20 ml), Cbz-d-Ala-OH (0,40 mmol, 0,090 g), DIEA (1,6 mmol, 0,12 ml), HOBT (0,64 mmol, 0,062 mg), y BOP (0,64 mmol, 0,178 g) y la mezcla de reacción se dejó agitar durante 45 minutos. Se filtró la mezcla de reacción y se lavó la resina con DMF (40 ml), MeOH (40 ml), y DCM (40 ml), y se dejó secar al aire, para dar como resultado (L).

*Síntesis de (M)*

10 **[0138]** A (L) (0,08 mmol) se añadió TFA/DCM al 5% (2 ml) y se dejó agitar la mezcla durante 20 minutos. Se filtró la reacción y se lavó la resina con DCM (10 ml). Se eliminaron los compuestos volátiles a presión reducida y el aceite resultante se diluyó con DCM (10 ml) y se evaporó un total de tres veces para dar como resultado (M).

*Síntesis de (N)*

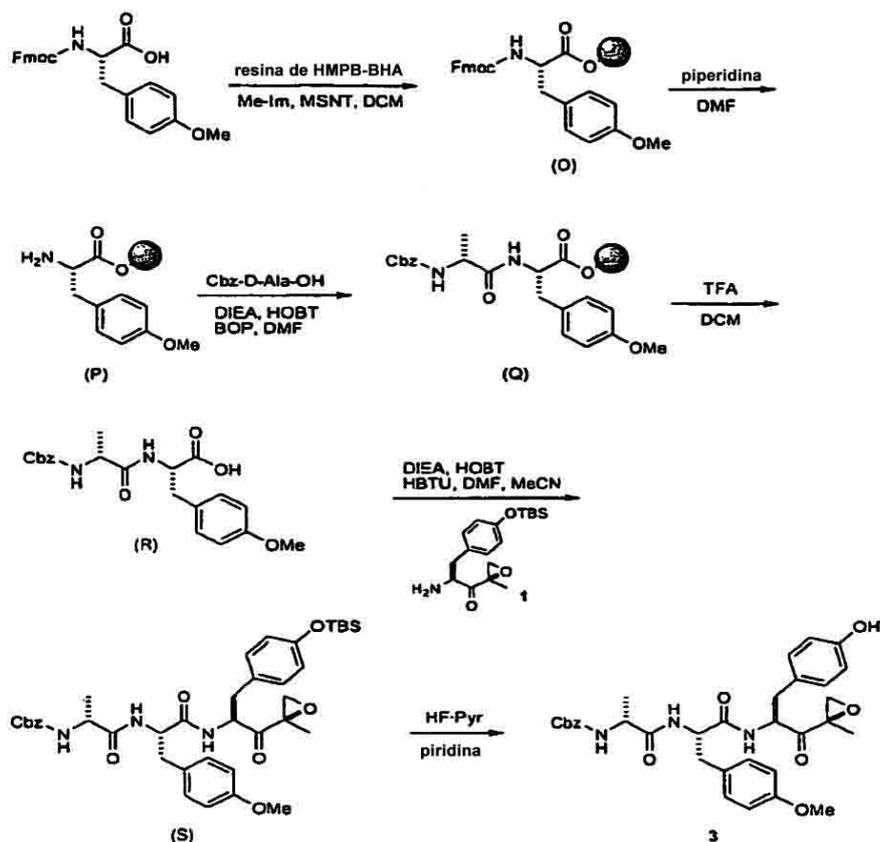
15 **[0139]** A una disolución agitada de (M) (0,11 mmol, 0,019 g) en MeCN (4 ml) y DMF (1 ml) se añadió (M) (0,1 mmol), DIEA (2,9 mmol, 0,5 ml), HOBT (0,2 mmol, 0,032 g), y HBTU (0,23 mmol, 0,087 g) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se diluyó con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (15 ml) y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y salmuera, se secó con MgSO<sub>4</sub>, y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía instantánea. El material bruto se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando 20 a 40% de EtOAc/hexanos como eluyente para dar como resultado (N).

*Síntesis de 2*

25 **[0140]** A una disolución agitada de (N) (0,1 mmol) en piridina (1,5 ml) y THF (3,0 ml) a 0 °C se añadió una disolución de HF/piridina gota a gota. Se dejó agitar la disolución durante 2 horas a 0 °C antes de la adición de agua (5,0 ml) y la extracción con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y salmuera, se secó con MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se eliminaron los compuestos volátiles a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando 30 a 60% de EtOAc/hexanos como eluyente, para dar como resultado 2 (4,2 mg).

**Esquema 3: Síntesis del ejemplo 3**

35 **[0141]**



*Síntesis de (O)*

5 **[0142]** A una disolución de Fmoc-Tyr(Me)-OH (1,9 mmol, 0,80 g) en DCM (20 ml) se añadió Me-IM (6,7 mmol, 0,370 ml). Cuando la disolución fue homogénea, se añadió MSNT (2,9 mmol, 0,870 g) y se agitó la mezcla hasta que disolvió el MSNT, en cuyo momento la resina de HMPB-BHA (0,64 mmol, 1,00 g) y la disolución resultante se dejaron agitar durante 45 minutos. La resina se filtró y se lavó con DMF (50 ml), MeOH (50 ml), y DCM (50 ml) y a continuación, la resina se dejó secar al aire, para dar como resultado (O).

10 *Síntesis de (P)*

15 **[0143]** A (O) (0,40 mmol, 0,62 g) se añadió piperidina/DMF al 20% (10 ml) y se dejó agitar la disolución heterogénea resultante durante 20 minutos. Se filtró la mezcla y se lavó la resina con DMF (20 ml), MeOH (20 ml), y DCM (20 ml) y se dejó secar al aire. A continuación se sometió la resina a las anteriores condiciones de reacción una segunda vez para dar como resultado (P).

*Síntesis de (Q)*

20 **[0144]** A (P) (0,40 mmol) se añadió DMF (20 ml), Cbz-D-Ala-OH (0,40 mmol, 0,090 g), DIEA (1,6 mmol, 0,12 ml), HOBT (0,64 mmol, 0,062 mg), y BOP (0,64 mmol, 0,178 g) y se dejó agitar la mezcla de reacción durante 45 minutos. La mezcla de reacción se filtró y la resina se lavó con DMF (40 ml), MeOH (40 ml), y DCM (40 ml) y se dejó secar al aire, para dar como resultado (Q):

*Síntesis de (R)*

25 **[0145]** A (Q) (0,88 mmol) se añadió TFA/DCM al 5% (82 ml) y se dejó agitar la mezcla durante 20 minutos. Se filtró la reacción y se lavó la resina con DCM (810 ml). A continuación se eliminaron los compuestos volátiles a presión reducida y el aceite resultante se diluyó con DCM (10 ml) y se evaporó un total de tres veces para dar como resultado (R).

30 *Síntesis de (S)*

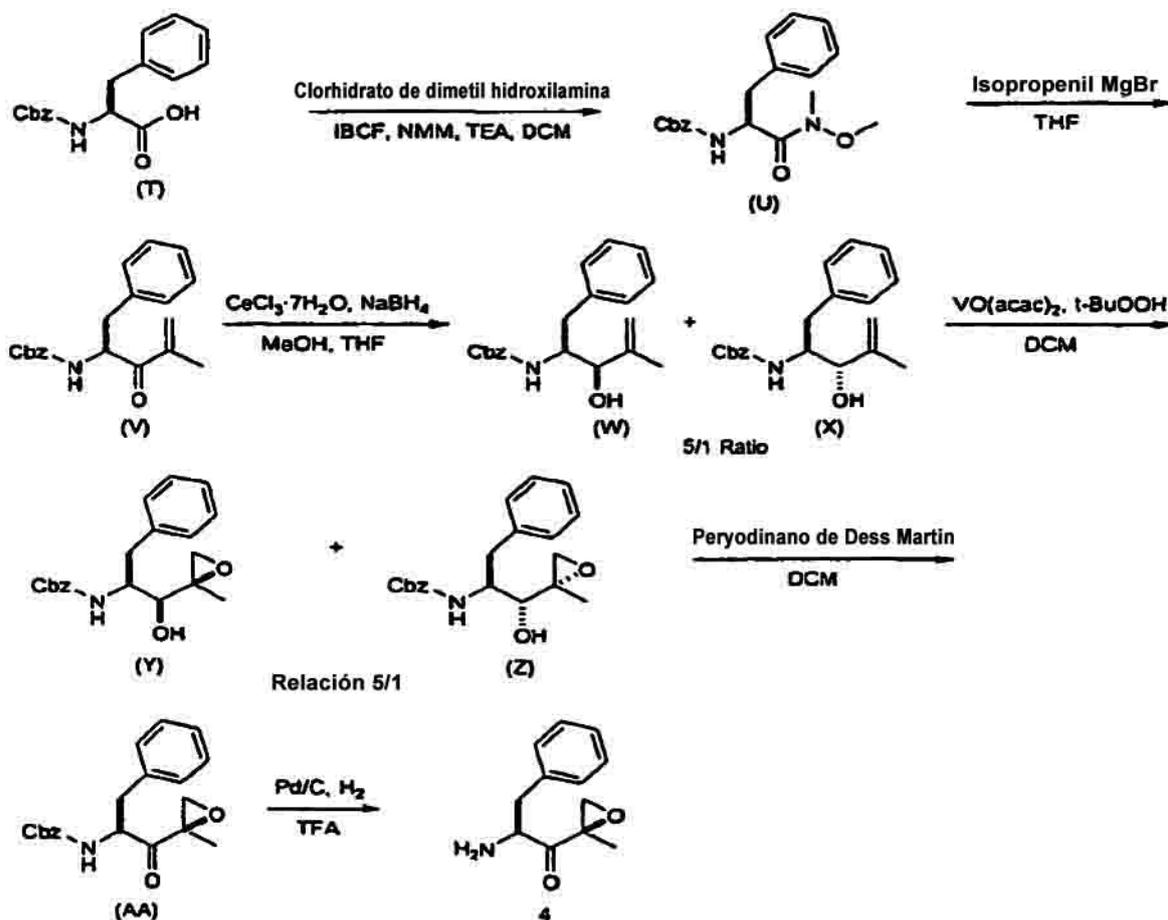
35 **[0146]** A una disolución agitada de 1 (0,11 mmol, 0,019 g) en MeCN (4 ml) y DMF (1 ml) se añadió R (0,1 mmol), DIEA (2,9 mmol, 0,5 ml), HOBT (0,2 mmol, 0,032 g), y HBTU (0,23 mmol, 0,087 g) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se diluyó con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (15 ml) y se extrajo con EtOAc. Se lavó la capa orgánica con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub>, y salmuera, se secó con MgSO<sub>4</sub>, se filtró, y se concentró a presión reducida. El material resultante se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando 20 a 40% de EtOAc/hexanos como el eluyente para dar como resultado (S).

40 *Síntesis de 3*

45 **[0147]** A una disolución agitada de (S) (0,1 mmol), en piridina (81,5 ml) y THF (3,0 ml) a 0 °C, se añadió una disolución de HF/Piridina gota a gota. La disolución se dejó agitar durante 2 h a 0° C seguido por la adición de agua (5,0 ml) y la extracción con EtOAc. A continuación se lavó la capa orgánica con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub>, y salmuera, se secó con MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a presión reducida. El material resultante se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando 30 a 60% de EtOAc/hexanos como el eluyente, para dar como resultado 3 (6,7 mg).

## Esquema 4: Síntesis del compuesto 4

[0148]



5

## Síntesis de (U)

[0149] A una disolución de clorhidrato de dimetil hidroxilamina (18,4 g, 226,3 mmol) en DCM (400 ml) a 0 °C, se añadió DIEA (25,8 ml, 282 mmol) gota a gota. Se dejó agitar la disolución resultante durante 20 minutos.

[0150] A una disolución de Cbz-Phe-OH (50 g, 169 mmol) en DCM (400 ml) a 0 °C se añadió IBCF (24,4 ml, 266 mmol) gota a gota, seguido por la adición gota a gota de NMM (20,7 ml; 293 mmol). Se dejó agitar la disolución resultante durante 10 minutos y a continuación se añadió a la disolución de clorhidrato de dimetil hidroxilamina/DIEA anteriormente preparada. Se dejó agitar la mezcla durante 3 h a 0 °C seguido por la adición de agua (250 ml). A continuación se separaron las capas y se lavó la capa de agua con DCM (3 x 100 ml). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con HCl 1 N (3 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secaron con  $\text{MgSO}_4$ , se filtraron, y se concentraron a presión reducida para dar como resultado un aceite que se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando 20 a 40% de EtOAc/hexanos como el eluyente, para dar como resultado (U).

20

## Síntesis de (V)

[0151] A una disolución de (U) (47 g, 145 mmol) en una disolución de THF (400 ml) a -20 °C se añadió una disolución de bromuro de isopropenil magnesio (800 ml, 0,5 M en THF) manteniendo a la vez la temperatura interna por debajo de -5 °C. Se dejó agitar la disolución durante 3 h a 0 °C seguido por la adición de HCl 1 N (200 ml). La disolución se filtró a través de Celite 521 y la torta del filtro se lavó con EtOAc. A continuación se eliminó el disolvente orgánico a presión reducida y se extrajo el resto de la disolución acuosa con EtOAc (3 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (3 x 150 ml) y salmuera (150 ml), se secaron con  $\text{MgSO}_4$ , se filtraron, y se concentraron a presión reducida para dar como resultado un aceite que se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando 20 a 40% de ETOAc/hexanos como el eluyente para dar como resultado (V).

30

*Síntesis de (W) y (X)*

[0152] A una disolución de (V) (30,03 g, 92,0 mmol) en MeOH (500 ml) y THF (500 ml) se añadió  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (48,04 g, 130 mmol). La disolución resultante se dejó agitar hasta que se convirtió en homogénea. A continuación se enfrió la disolución a 0 °C y se añadió  $\text{NaBH}_4$  (4,90 mg, 129 mmol) durante un periodo de 10 minutos. Se dejó agitar la disolución durante 1 h seguido por la adición de AcOH (70 ml) con agitación continuada durante 20 minutos. A continuación se concentró la mezcla a presión reducida y el residuo resultante se diluyó con agua (400 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 130 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (3x, 130 ml) y salmuera (130 ml), se secaron con  $\text{MgSO}_4$ , se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar como resultado una mezcla 5/1 de (W) y (X).

*Síntesis de (Y) y (Z)*

[0153] A una disolución de (W) y (X) en DCM (500 ml) a 0 °C se añadió  $\text{VO}(\text{acac})_2$  (900 mg, 3,26 mmol), tras agitar durante 5 minutos, se añadió gota a gota t-BuOOH (30 ml, 6,0 M en decano): La disolución resultante se dejó agitar durante 2 h y a continuación se filtró a través de Celite 521 y se lavó la torta del filtro con DCM (200 ml). A continuación se lavó el filtrado con disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (3 x 200 ml) y salmuera (200 ml), se secó con  $\text{MgSO}_4$ , se filtró, y se concentró a presión reducida para dar como resultado una mezcla 5/1 de (Y) y (Z).

*Síntesis de (AA)*

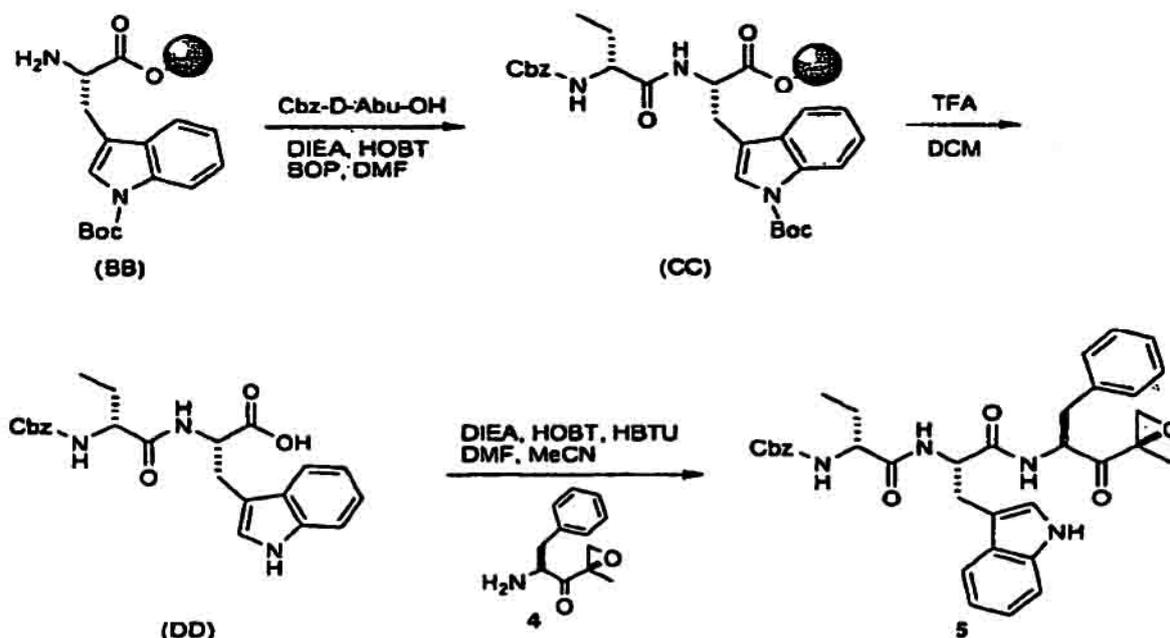
[0154] A una disolución de peryodinano de Dess-Martin (40 g, 94,2 mmol) en DCM (300 ml) a 0 °C se añadió una disolución de (Y) y (Z) en DCM (100 ml) gota a gota. A continuación se dejó calentar la disolución a temperatura ambiente y agitar durante la noche. A continuación se concentró la mezcla de reacción a presión reducida y el residuo se diluyó con EtOAc (120 ml) y disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (120 ml). La mezcla resultante se filtró a través de Celite 521 y la torta del filtro se lavó con EtOAc (120 ml). Se separaron las capas y se lavó la capa orgánica con agua (3 x 60 ml) y salmuera (60 ml), se secó con  $\text{MgSO}_4$ , se filtró, y se concentró a presión reducida para dar un aceite que se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando 15 a 40% de EtOAc/hexanos como eluyente para dar como resultado (AA).

*Síntesis de 4*

[0155] A una disolución de (AA) (50 mg, 1,06 mmol) en TFA (5 ml) se añadió Pd/C (14 mg, 10%). Se dejó agitar la mezcla resultante con 1 atmósfera (98,07 kPa) de  $\text{H}_2$  durante 2 h, y a continuación se diluyó con DCM (10 ml). La mezcla se filtró a través de Celite 521 y la torta del filtro se lavó con DCM (10 ml). A continuación se concentró el filtrado a presión reducida y se diluyó el residuo con DCM (10 ml) y se concentró a presión reducida una segunda vez. El residuo se colocó en un vacío elevado durante 2 h para dar como resultado 4.

**Esquema 5:** síntesis del Ejemplo 5

## [0156]



*Síntesis de (CC)*

5 **[0157]** A (BB) (0,06 mmol) se añadió DMF (2 ml), Cbz-D-Abu-OH (0,12 mmol, 0,032 g), DIEA (0,256 mmol, 0,075 ml), HOBT (0,102 mmol, 0,010 mg), y BOP (0,102 mmol, 0,075 g) y se dejó agitar la mezcla de reacción durante 45 minutos. A continuación se filtró la mezcla de reacción y se lavó la resina con DMF (4 ml), MeOH (4 ml), y DCM (4 ml), y se dejó secar al aire, para dar como resultado (CC).

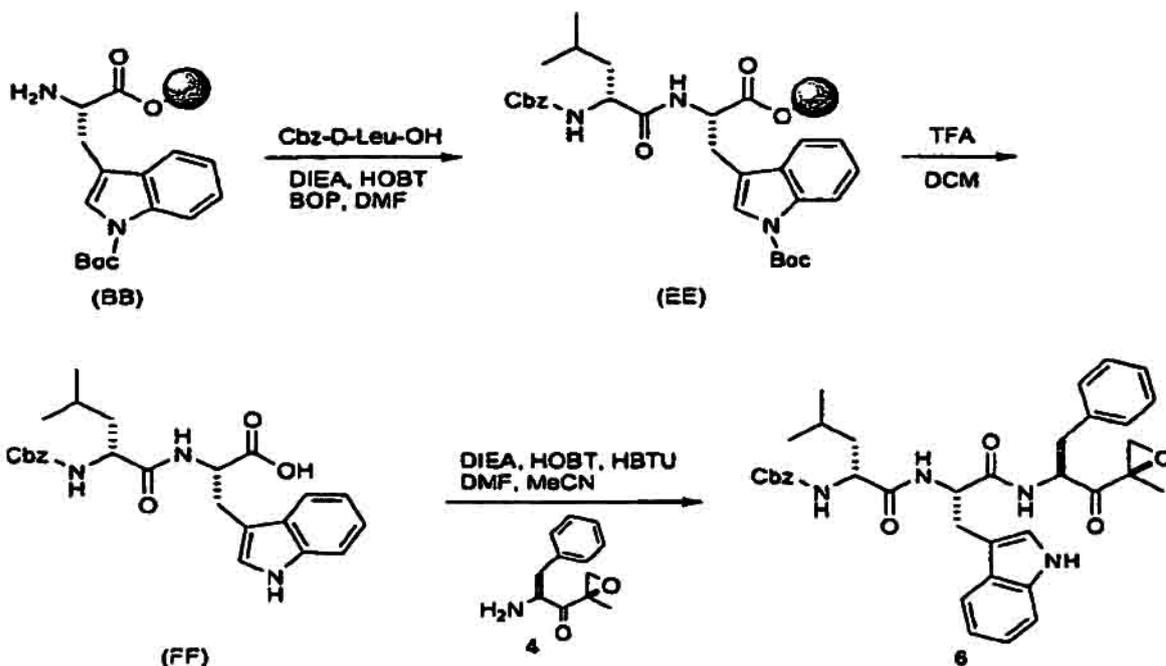
*Síntesis de (DD)*

10 **[0158]** A (CC) (0,08 mmol) se añadió TFA/DCM al 50% (2 ml) y se dejó agitar la mezcla de reacción durante 20 minutos. Se filtró la reacción y se lavó la resina con DCM (10 ml). A continuación se concentró la disolución a presión reducida y el aceite resultante se diluyó con DCM (10 ml) y se evaporó un total de tres veces para dar como resultado (DD).

*Síntesis de 5*

15 **[0159]** A una disolución agitada de 4 (0,11 mmol, 0,019 g) en MeCN (4 ml) y DMF (1 ml) se añadió (DD) (0,1 mmol), DIEA (2,9 mmol, 0,5 ml), HOBT (0,2 mmol, 0,032 g), y HBTU (0,23 mmol, 0,087 g) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. A continuación se diluyó la reacción con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (15 ml) y se extrajo con EtOAc. Se lavó la capa orgánica con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y salmuera, se secó con MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a presión reducida. El material resultante se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando 25 a 55% de EtOAc/hexanos como el eluyente para dar como resultado 5 (12,0 mg).

25 **Esquema 6:** Síntesis del Ejemplo 6

**[0160]**

30 *Síntesis de (EE)*

35 **[0161]** A (BB) (0,6 mmol) se añadió DMF (2 ml), Cbz-D-Leu-OH (0,12 mmol, 0,032 g), DIEA (0,256 mmol, 0,075 ml), HOBT (0,102 mmol, 0,010 mg), y BOP (0,102 mmol, 0,075 g) y se dejó agitar la mezcla de reacción durante 45 minutos. A continuación se filtró la mezcla de reacción y se lavó la resina con DMF (4 ml), MeOH (4 ml), y DCM (4 ml), y se dejó secar al aire, para dar como resultado (EE).

*Síntesis de (FF)*

40 **[0162]** Se añadió a (FF) (0,08 mmol) TFA/DCM al 50% (2 ml) y se dejó agitar la mezcla durante 20 minutos. La mezcla de reacción se filtró y se lavó la resina con DCM (10 ml). Los compuestos volátiles se eliminaron a presión

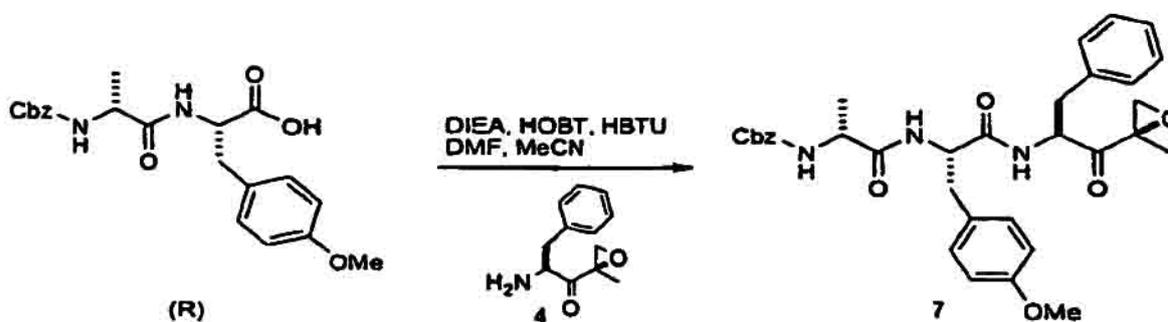
reducida y el aceite resultante se diluyó con DCM (10 ml) y se evaporó un total de tres veces para dar como resultado (FF).

*Síntesis de 6*

5 **[0163]** A una disolución agitada de 4 (0,11 mmol, 0,019 g) en MeCN (4 ml) y DMF (1 ml) se añadió (FF) (0,1 mmol), DIEA (2,9 mmol, 0,5 ml), HOBt (0,2 mmol, 0,032 g), y HBTU (0,23 mmol, 0,087 g) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. A continuación se diluyó la reacción con NaHCO<sub>3</sub> (15 ml) y se extrajo con EtOAc, se lavó la capa orgánica con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y salmuera, se secó con MgSO<sub>4</sub>, se filtró, y se concentró a presión reducida. A continuación se purificó el material resultante mediante cromatografía instantánea utilizando 25 a 55% de EtOAc/hexanos como el eluyente para dar como resultado 20 (14,0 mg).

**Esquema 7: Síntesis del Ejemplo 7**

15 **[0164]**



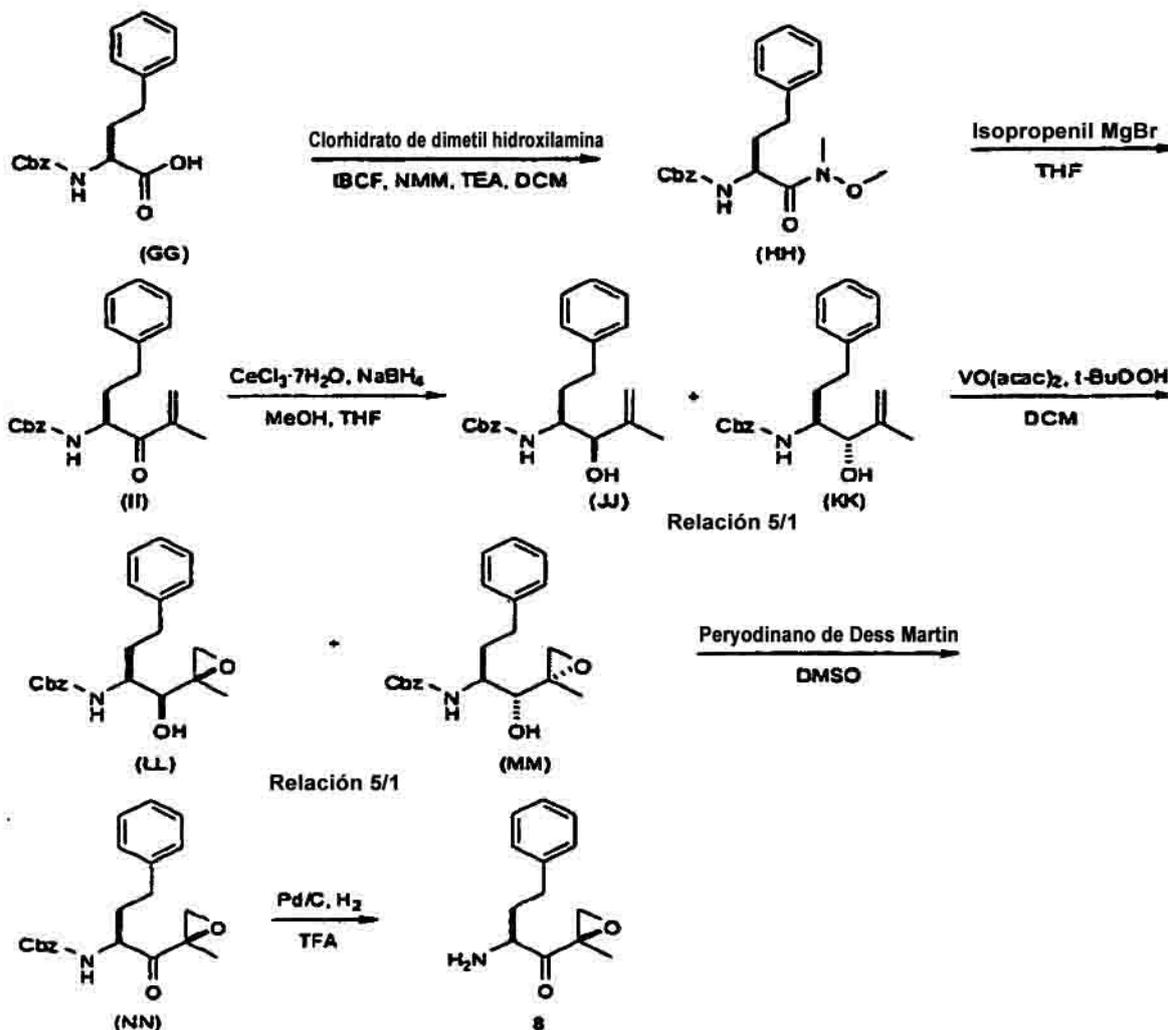
*Síntesis de 7*

20 **[0165]** A una disolución agitada de 4 (0,11 mmol, 0,019 g) en MeCN (4 ml) y DMF (1 ml) se añadió (R) (0,1 mmol), DIEA (2,9 mmol, 0,5 ml), HOBt (0,2 mmol, 0,032 g), y HBTU (0,23 mmol, 0,087 g) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. A continuación se diluyó la reacción con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (15 ml) y se extrajo con EtOAc. Se lavó la capa orgánica con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y salmuera, se secó con MgSO<sub>4</sub>, se filtró, y se concentró a presión reducida. El material resultante se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando 25 a 55% de EtOAc/hexanos como el eluyente para dar como resultado 7 (10,5 mg).

25

## Esquema 8: Síntesis del compuesto 8

[0166]



5

## Síntesis de (HH)

[0167] A una disolución del clorhidrato de dimetil hidroxilamina (331 mg, 3,4 mmol) en DCM (20 ml) a 0 °C se añadió trietilamina (343 mg, 3,4 mmol) gota a gota. Se dejó agitar la disolución resultante durante 20 minutos.

[0168] A una disolución de Cbz-HomoPhe-OH (1,0 g, 3,2 mmol) en DCM (100 ml) a 0 °C se añadió IBCF (460 mg, 3,35 mmol) gota a gota, seguido por la adición gota a gota de NMM (343 mg, 3,4 mmol). Se dejó agitar la disolución resultante durante 10 minutos y a continuación se añadió a la disolución de clorhidrato de dimetil hidroxilamina/TEA anteriormente preparada. La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 3 h seguido por la adición de agua (50 ml). Se separaron las capas y se extrajo la capa acuosa con DCM (3 x 100 ml). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con HCl 1 N (30 ml) y salmuera (30 ml), se secaron con MgSO<sub>4</sub>, se filtraron, y se concentraron a presión reducida. A continuación se purificó el material resultante mediante cromatografía instantánea utilizando EtOAc/hexanos (1:3) como el eluyente para dar como resultado el intermedio (HH) (0,92 g).

15

## Síntesis de (II)

[0169] A una disolución de (HH) (920 mg, 2,6 mmol) en THF (50 ml) a -20 °C, se añadió una disolución de bromuro de isopropenil magnesio (26 ml, 12,9 mmol, 0,5 M en THF). Se dejó agitar la disolución resultante a 0 °C durante 6 horas seguido por la adición de HCl 1 N (10 ml). La mezcla resultante se filtró a través de Celite 521 y la torta del filtro se lavó con acetato de etilo. Se separaron las capas y se extrajo la fase acuosa con acetato de etilo (3 x 20 ml). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (30 ml) y salmuera (30 ml), se secaron con MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El material resultante se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando EtOAc/hexanos (1.3) como el eluyente para dar como resultado (II) (700 mg).

25

## Síntesis de (JJ) y (KK)

5 [0170] A una disolución de (II) (700 mg, 2,1 mmol) en DCM (50 ml) a 0 °C se añadió  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (942 mg, 2,52 mmol) y  $\text{NaBH}_4$  (98 mg, 2,52 mmol) sucesivamente. La disolución se agitó a temperatura ambiente durante la noche seguido por la adición de  $\text{AcOH}$  (5 ml). La mezcla se concentró a presión reducida y a continuación se diluyó con  $\text{EtOAc}$  (100 ml) y disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (50 ml). A continuación se extrajo la capa acuosa con  $\text{EtOAc}$  (2 x 50 ml) y se secaron las capas orgánicas combinadas con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron, y se concentraron a presión reducida hasta un aceite de color amarillo que se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando  $\text{EtOAc}$ /hexanos (1:3) como el eluyente para dar como resultado (JJ) y (KK) en una relación 5/1.

## Síntesis de (LL) y (MM)

15 [0171] A una disolución de (JJ) y (KK) en THF (50 ml) a 0 °C, se añadió  $\text{VO}(\text{acac})_2$  (18 mg, 0,066 mmol) y  $t\text{-BuOOH}$  (0,9 ml, 6,0 M en decano) sucesivamente. La disolución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 10 horas, a continuación se filtró a través de Celite 521 y la torta del filtro se lavó con  $\text{EtOAc}$  (100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (10 ml) y salmuera (10 ml), se secaron con  $\text{MgSO}_4$ , se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar (LL) y (MM) 585 mg en una relación 5/1.

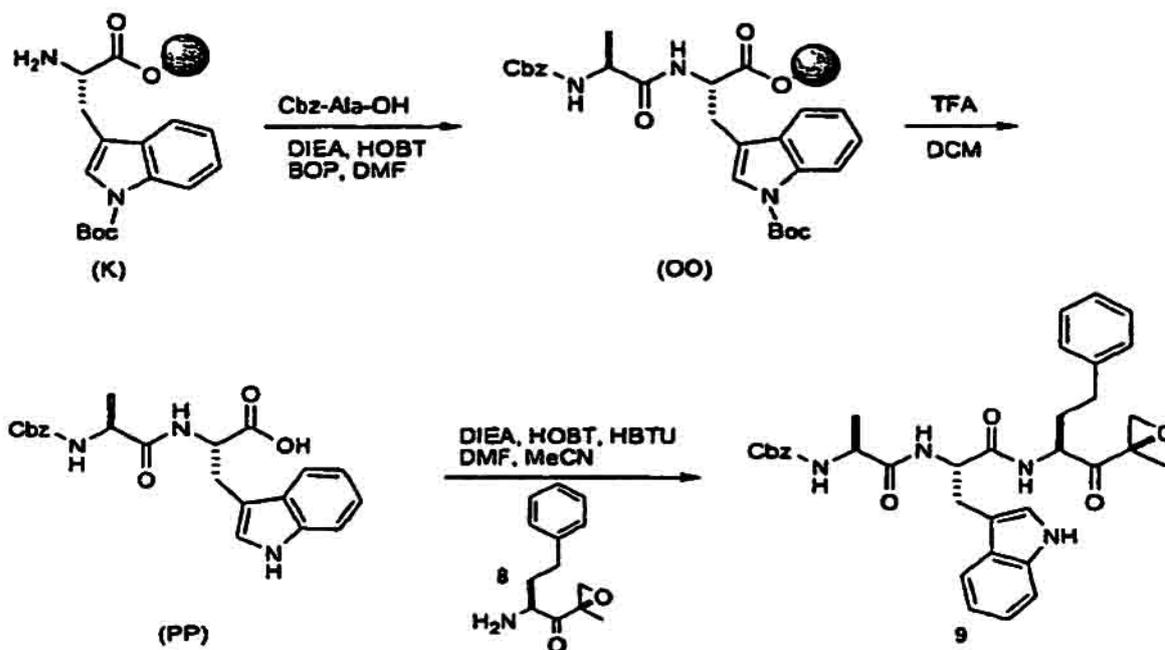
## Síntesis de (NN)

20 [0172] A una disolución de peryodinano de Dess-Martin (1,40 g, 3,3 mmol) en DMSO (20 ml) a 0 °C, se añadió (LL) y (MM) (585 mg) en DMSO (10 ml). La disolución se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas, y a continuación se diluyó con  $\text{EtOAc}$  (100 ml) y disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (50 ml), a continuación se extrajo la fase acuosa con  $\text{EtOAc}$  (2 x 50 ml), y las capas orgánicas combinadas se secaron con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron, y se concentraron a presión reducida para dar un aceite de color amarillo que se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando  $\text{EtOAc}$ /hexanos (2:3) como el eluyente para dar como resultado (NN) (465 mg).

## Síntesis de 8

30 [0173] A una disolución de (NN) (290 mg, 0,82 mmol) en TFA (5 ml) se añadió Pd/C (14 mg, 10%). La mezcla resultante se dejó agitar en una atmósfera de  $\text{H}_2$  durante 2 h, y a continuación se diluyó con DCM (10 ml). La mezcla se filtró a través de Celite 521 y la torta del filtro se lavó con DCM (10 ml). Se concentró a presión reducida y el residuo se diluyó con DCM (10 ml) y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se colocó a vacío elevado durante 2 horas, para dar como resultado 8.

## Esquema 9: Síntesis del Ejemplo 9



*Síntesis de (OO)*

[0174] A (K) (0,06 mmol) se añadió DMF (2 ml), Cbz-Ala-OH (0,12 mmol, 0,032 g), DIEA (0,256 mmol, 0,075 ml), HOBT (0,102 mmol, 0,010 mg), y BOP (0,102 mmol, 0,075 g) y se dejó agitar la mezcla de reacción durante 45 minutos. A continuación se filtró la mezcla de reacción y se lavó la resina con DMF (4 ml), MeOH (4 ml), y DCM (4 ml), y se dejó secar al aire, para dar como resultado (OO).

*Síntesis de (PP)*

[0175] A (K) (0,06 mmol) se añadió DMF (2 ml), Cbz-Ala-OH (0,12 mmol, 0,032 g), DIEA (0,256 mmol, 0,075 ml), HOBT (0,102 mmol, 0,010 mg), y BOP (0,102 mmol, 0,075 g) y se dejó agitar la mezcla de reacción durante 45 minutos. A continuación se filtró la mezcla de reacción y se lavó la resina con DMF (4 ml), MeOH (4 ml), y DCM (4 ml), y se dejó secar al aire, para dar como resultado (OO).

*Síntesis de (PP)*

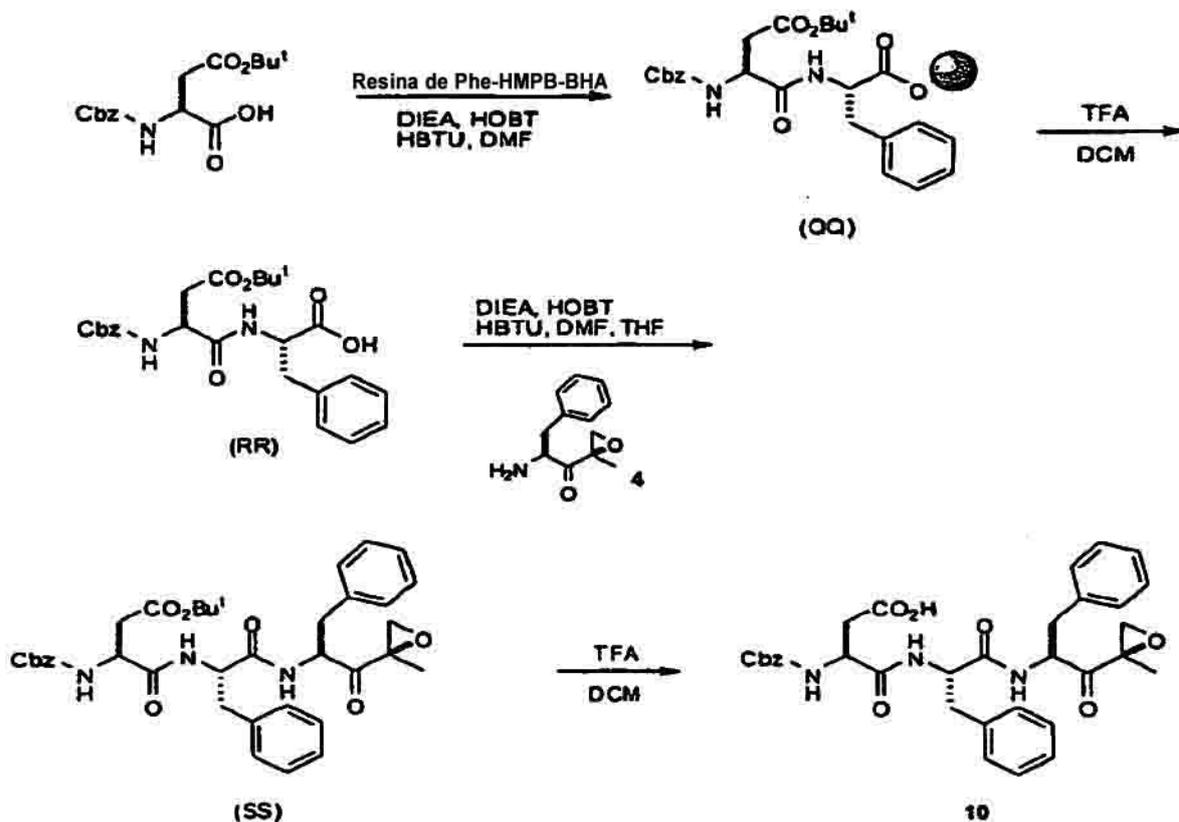
[0176] A (OO) (0,08 mmol) se añadió TFA/DCM al 50% (2 ml) y se dejó agitar la mezcla durante 20 minutos. A continuación se filtró la reacción y se lavó la resina con DCM (10 ml). Se eliminaron los compuestos volátiles a presión reducida y se diluyó el aceite resultante con DCM (10 ml) y se evaporó un total de tres veces para dar como resultado (PP).

*Síntesis de 9*

[0177] A una disolución agitada de **8** (0,11 mmol, 0,019 g) en MeCN (4 ml) y DMF (1 ml) se añadió (PP) (0,1 mmol), DIEA (2,9 mmol, 0,5 ml), HOBT (0,2 mmol, 0,032 g), y HBTU (0,23 mmol, 0,087 g) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. A continuación se diluyó la reacción con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (15 ml) y se extrajo con EtOAc. A continuación se lavó la capa orgánica con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y salmuera, se secó con MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a presión reducida. El material resultante se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando 25 a 55% de EtOAc/hexanos como el eluyente, para dar como resultado **9** (7,8 mg).

**Esquema 10:** síntesis del ejemplo 10 (Ejemplo de Referencia)

[0178]



*Síntesis de (QQ)*

5 **[0179]** A una disolución de Cbz-Asp (t-Bu)-OH (0,32 mmol, 108 mg) en DMF (2 ml) a 0° C se añadió HOBT (0,51 mmol, 78 mg), HBTU (0,51 mmol, 194 mg), y DIEA (1,2 mmol, 0,2 ml). Una vez que la mezcla resultante se convirtió en una disolución homogénea, se añadió la resina de Phe-HMPB-BHA (0,13 mmol, 200 mg) y se dejó agitar la mezcla de reacción resultante a 0-4° C durante la noche. La resina se eliminó mediante filtración y se lavó con DMF (3 x 5 ml) y DCM (3 x 5 ml). La resina se dejó secar al aire para dar como resultado (QQ).

10 *Síntesis de (RR)*

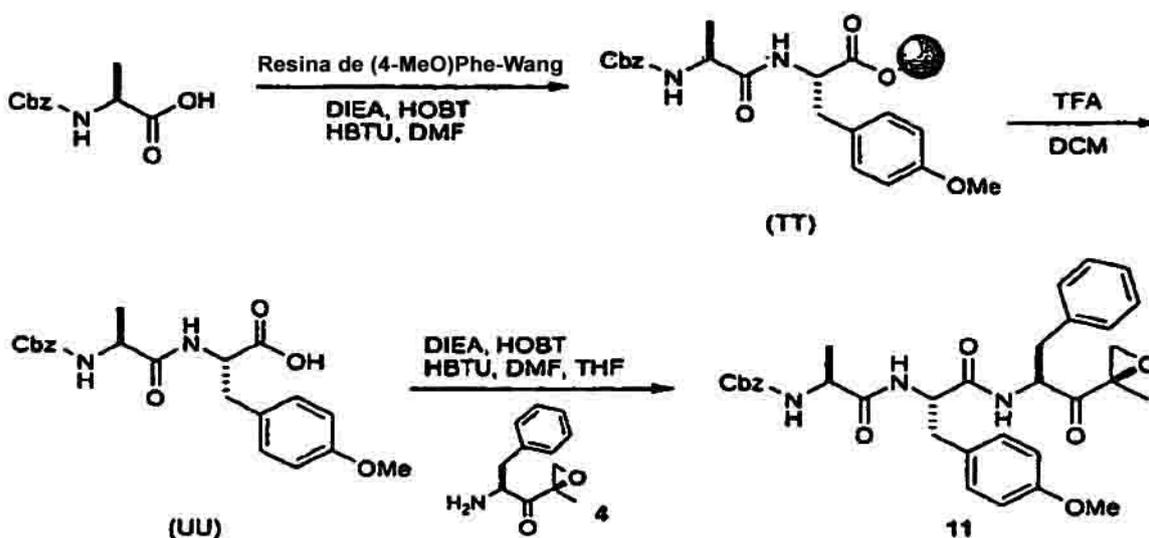
**[0180]** A (QQ) (0,13 mmol) se añadió TFA/DCM (5 ml, 5:95) y se dejó agitar la mezcla a 0-4 °C durante 30 minutos. A continuación la reacción se filtró y se lavó la resina con DCM (3 x 10 ml). Los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida a 0 °C para dar como resultado (RR).

15 *Síntesis de (SS)*

20 **[0181]** A una disolución a 0 °C de (RR) (0,13 mmol) y 4 (0,12 mmol) en THF (5 ml) se añadió HOBT (0,18 mmol, 31 mg), HBTU (0,18 mmol, 76 mg) y DIEA (0,6 mmol, 0,1 ml), y la mezcla de reacción resultante a 0-4 °C durante la noche. A continuación se diluyó la mezcla de reacción con EtOAc (100 ml) y disolución saturada de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró, y se concentró a presión reducida para dar un aceite de color amarillo que se purificó mediante HPLC, eluyendo con una disolución acuosa de MeCN/NH<sub>4</sub>OAc, para dar (SS).

25 *Síntesis de 10*

**[0182]** A una disolución a 0 °C de (SS) en DCM (5 ml) se añadió TFA ácido (5 ml) gota a gota y la disolución resultante se agitó durante 3 h. A continuación se concentró la mezcla de reacción a presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante HPLC, eluyendo con una disolución acuosa de MeCN/NH<sub>4</sub>OAc, para dar **10**.

30 **Esquema 11: Síntesis del Ejemplo 11****[0183]**35 *Síntesis de (TT)*

40 **[0184]** A una disolución a 0 °C de Z-Ala-OH (0,32 mmol, 71 mg) en DMF (2 ml), se añadió HOBT (0,51 mmol, 78 mg), HBTU (0,51 mmol, 194 mg) y diisopropiletilamina (1,2 mmol, 0,2 ml). Una vez que la mezcla resultante se convirtió en homogénea, se añadió resina de Phe(4-MeO)-Wang (0,13 mmol), 200 mg) y se dejó agitar durante la noche la mezcla de reacción resultante. A continuación la resina se eliminó mediante filtración y se lavó con DMF (3 x 5 ml) y DCM (3 x 5 ml). Se dejó secar al aire la resina resultante para dar como resultado (TT).

45 *Síntesis de (UU)*

**[0185]** A (TT) (0,13 mmol) se añadió TFA/DCM al 50% (5 ml) y se dejó agitar la mezcla durante 30 minutos. A continuación se filtró la reacción y la resina con DCM (3 x 10 ml). Los compuestos volátiles se eliminaron a presión

reducida para dar como resultado (UU).

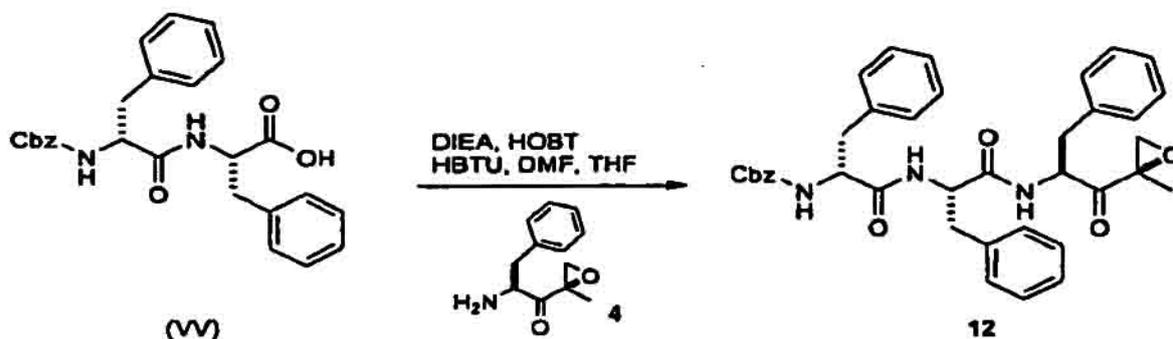
*Síntesis de 11*

- 5 **[0186]** A una disolución a 0 °C de (UU) (0,13 mmol) y 4 (0,12 mmol) en THF (5 ml) se añadió HOBT (0,18 mmol, 31 mg), HBTU (0,18 mmol, 76 mg) y DIEA (0,6 mmol, 0,1 ml). La mezcla de reacción resultante se agitó a 0-4° C durante la noche seguido por dilución con EtOAc (100 ml) y disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub>. A continuación se extrajo la fase acuosa con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron, y se concentraron a presión reducida hasta un aceite de color amarillo que se purificó mediante HPLC, eluyendo con disolución acuosa de MeCN/NH<sub>4</sub>OAc, para dar **11**.

**Esquema 12:** Síntesis del Ejemplo 12

**[0187]**

15

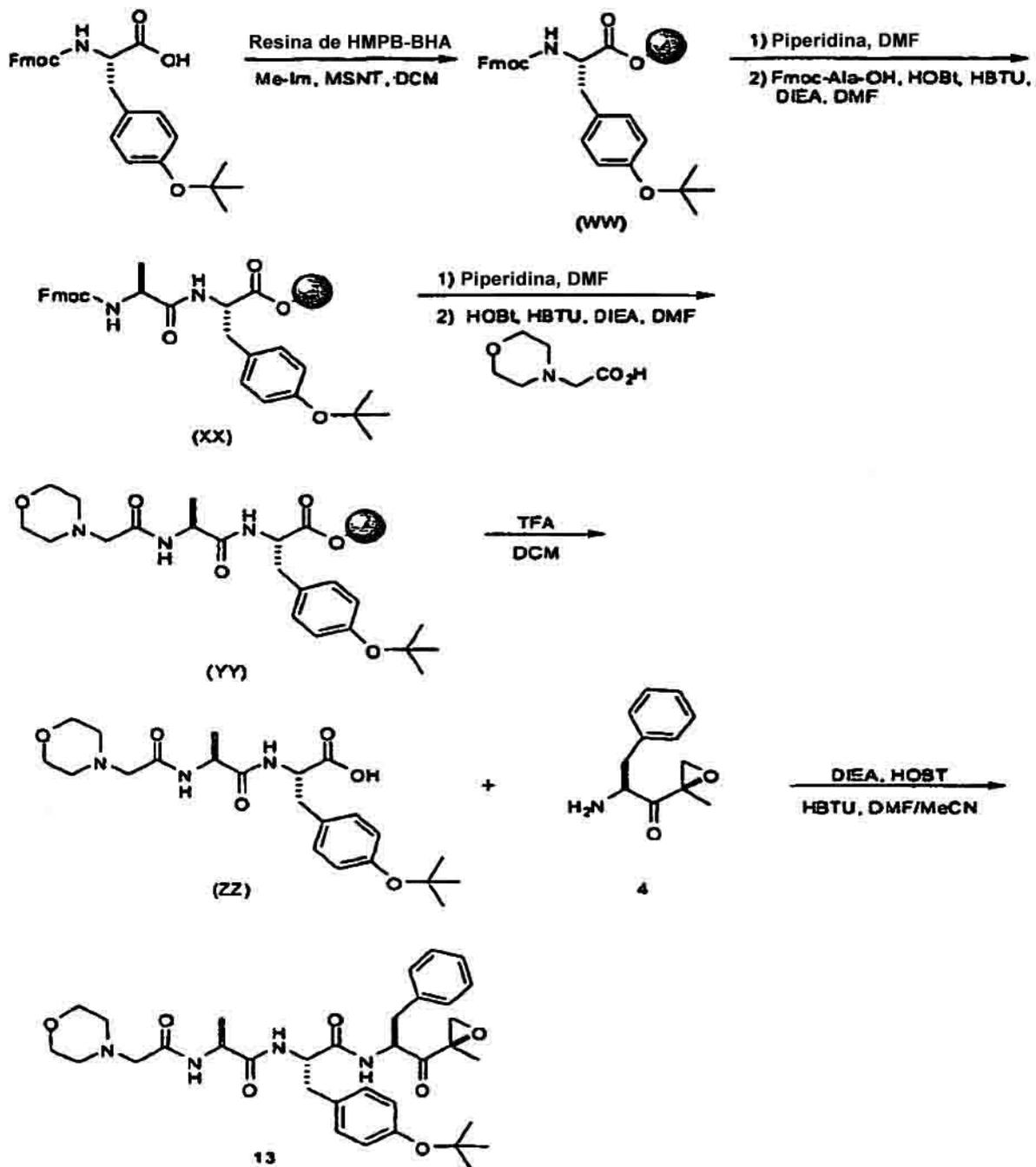


*Síntesis de 12*

- 20 **[0188]** A una disolución a 0 °C de (VV) (0,18 mmol, 50 mg) y 4 (0,12 mmol) en THF (5 ml) se añadió HOBT (0,18 mmol, 31 mg), HBTU (0,18 mmol, 76 mg) y DIEA (0,6 mmol, 0,1 ml). La mezcla de reacción resultante se agitó a 0-4° C durante la noche seguido por dilución con EtOAc (100 ml) y disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub>. A continuación se extrajo la capa acuosa con EtOAc, y se secaron las capas orgánicas combinadas con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron, y se concentraron a presión reducida hasta un aceite de color amarillo que se purificó mediante HPLC, eluyendo con una disolución acuosa de MeCN/NH<sub>4</sub>OAc, para proporcionar **12**.
- 25

Esquema 13: Síntesis del ejemplo 13

[0189]



5

Síntesis de (WW)

[0190] A una disolución de Fmoc-O-t-butyl-L-tirosina (6,4 mmol, 2,94 g) en DCM (22 ml) se añadió 1-metilimidazol (4,8 mmol, 0,380 ml) y la mezcla se agitó hasta que la disolución fue homogénea, en cuyo momento se añadió 1-(mesitileno-2-sulfonil)-3-nitro-1,2,4-triazol (MSTN) (6,4 mmol, 1,9 g). Una vez que se hubo disuelto el MSNT, se añadió la mezcla de reacción a una resina HMPB-BHA (1,20 mmol, 2 g) y se dejó agitar la mezcla resultante durante 45 minutos. Se filtró la resina y se lavó con DMF (50 ml), MeOH (50 ml), y DCM (50 ml). La resina se dejó secar al aire para proporcionar (WW).

10

**[0191]***Síntesis de (XX)*

5 **[0192]** A (WW) (0,40 mmol, 0,62 g) se añadió piperidina/DMF al 20% (50 ml) y se dejó agitar la mezcla resultante durante 20 minutos. Se filtró la mezcla y se lavó la resina con DMF (20 ml), MeOH (20 ml), y DCM (20 ml) y se dejó secar al aire antes de someter ésta a la anterior condición de reacción una segunda vez.

10 **[0193]** A la resina resultante se añadió DMF (64 ml), Fmoc-Ala-OH (32 mmol, 1,05 g), DIEA (12,8 mmol, 2,2 ml), HOBT (5,12 mmol, 692 mg), y HBTU (5,12 mmol, 1,94 g) y se dejó agitar la mezcla de reacción durante 45 minutos. La mezcla de reacción se filtró y la resina se lavó con DMF (40 ml), DCM (40 ml), MeOH (40 ml), H<sub>2</sub>O (40 ml), MeOH (40 ml), H<sub>2</sub>O (40 ml), MeOH (40 ml), y DCM (40 ml), y se dejó secar al aire, para dar como resultado (XX).

*Síntesis de (YY)*

15 **[0194]** A (XX) (0,192 mmol, 0,3 g) se añadió piperidina/DMF al 20% (10 ml) y se dejó agitar la mezcla resultante durante 20 minutos. La mezcla se filtró y la resina se lavó con DMF (20 ml), MeOH (20 ml), y DCM (20 ml) y se dejó secar al aire antes de someterla a la anterior condición de reacción una segunda vez.

20 **[0195]** A la resina resultante se añadió DMF (12 ml) ácido morfolino acético (0,48 mmol, 70 mg), DIEA (1,92 mmol, 334 µl), HOBT (0,768 mmol, 104 mg), y HBTU (0,768 mmol, 291 mg) y se dejó agitar la mezcla de reacción durante 45 minutos. La mezcla de reacción se filtró y se lavó la resina con DMF (40 ml), DCM (40 ml), MeOH (40 ml), H<sub>2</sub>O (40 ml), MeOH (40 ml), H<sub>2</sub>O (40 ml), MeOH (40 ml), y DCM (40 ml), y se dejó secar al aire para dar como resultado (YY).

25 *Síntesis de (ZZ)*

30 **[0196]** A (YY) (0,192 mmol) se añadió TFA/DCM al 5% (10 ml) y se dejó agitar la mezcla durante 10 minutos a 0 °C. Se filtró la mezcla de reacción y se lavó la resina con DCM (10 ml). Los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida y el aceite resultante se diluyó con DCM 810 ml) y se evaporó un total de tres veces para dar como resultado (ZZ).

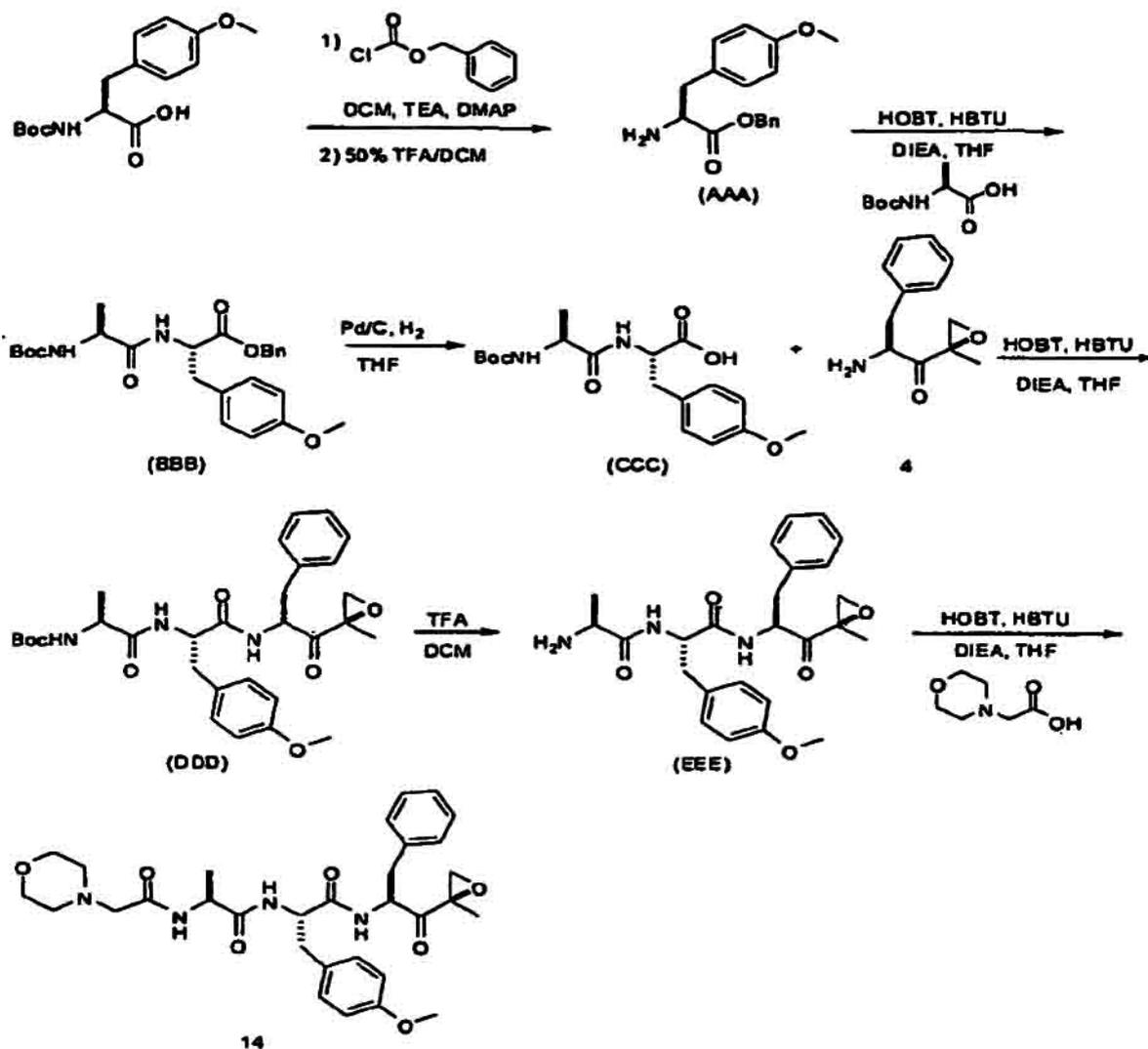
*Síntesis de 13*

35 **[0197]** A una disolución agitada de (ZZ) (0,192 mmol, 83 mg) en MeCN (6 ml) y DMF (2 ml) se añadió 4 (0,384 mmol, 79 mg), DIEA (0,768 mmol, 133 µl), HOBT (0,3 mmol, 41 mg), y HBTU (0,3 mmol, 116 mg) y se agitó la mezcla a 0 °C durante 2 horas. La reacción se diluyó con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (15 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x). la capa orgánica se lavó con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y salmuera, se secó con MgSO<sub>4</sub> se filtró y se concentró a presión reducida. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía instantánea utilizando EtOAc, y a continuación EtOAc/MeOH/TEA (98/1/1) como el eluyente para dar como resultado 13 como un  
40 sólido de color blanco que se caracterizó mediante LC/MS (LCRS (MH) m/z: 623,80).

[0198]

Esquema 14: Síntesis del Ejemplo 14

5 [0199]

*Síntesis de (AAA)*

10 [0200] Una suspensión de Boc-Tyr(me)-OH (10 g) en diclorometano anhidro (450 ml) se enfrió a -5 °C en un baño de hielo/acetona. A esta suspensión se añadió trietilamina (9,4 ml, 67,8 mmol) y DMAP (600 mg). A continuación se añadió gota a gota una disolución de cloroformiato de bencilo (5,7 ml, 40,6 mmol) en diclorometano (50 ml). A continuación se añadió una disolución saturada acuosa de bicarbonato de sodio (200 ml). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se lavó con diclorometano (200 ml). Las capas orgánicas se lavaron con una disolución saturada acuosa de bicarbonato de sodio, se secó con sulfato de sodio, se filtró, y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice utilizando 80% de hexanos/20% de acetato de etilo para proporcionar 11,43 g de un sólido de color blanco (rendimiento del 88%) que se caracterizó mediante LC/MS (LCRS (MH) m/z: 386,42).

15 [0201] Boc-Tyr(Me)-OBn (2 g, 5,2 mmol) se disolvió en diclorometano (15 ml) y se enfrió a 0 °C seguido por la adición gota a gota de TFA (15 ml). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas. Se eliminaron los disolventes a presión reducida para dar como resultado (AAA) como un aceite transparente (1,4 g, rendimiento del 95%) que se caracterizó mediante LC/MS (LCRS (MH) m/z: 286,42) y se utilizó sin purificación adicional.

25

**[0202]***Síntesis de (BBB)*

5 **[0203]** A una disolución a 0 °C de Boc-Ala-OH (750 mg, 3,9 mmol), H-Tyr(me)-OBn (950 mg, 3,3 mmol), HOBT (712 mg, 5,3 mmol) y HBTU (2,0 g, 5,3 mmol) en acetonitrilo (60 ml) y DMF (6 ml) se añadió N,N-diisopropiletilamina (2,3 ml) gota a gota. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 horas y a continuación se diluyó con acetato de etilo (300 ml) y se lavó con disolución saturada acuosa de bicarbonato de sodio (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml). Las capas orgánicas se secaron con sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un aceite opaco que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice utilizando 50% de hexanos/50% de acetato de etilo para dar como resultado 600 mg de (BBB9) como una espuma de color blanco (rendimiento del 40%) que se caracterizó mediante LC/MS (LCRS (MH) m/z: 457,52).

*Síntesis de (CCC)*

15 **[0204]** A una disolución a 0 °C de (BBB) (5,9 g, 12,9 mmol) en tetrahidrofurano (120 ml) se añadió Pd al 10%/C (1,2 g) y la mezcla resultante se dejó agitar a 1 atmósfera (98,07 kPa) de hidrógeno durante 2 horas. A continuación se filtró la mezcla mediante Celite-545 y se lavó la torta del filtro con tetrahidrofurano. A continuación se concentró el filtrado orgánico a presión reducida y se colocó a vacío elevado para proporcionar 4,53 g (rendimiento del 95%) de (CCC) que se utilizó sin purificación adicional.

*Síntesis de (DDD)*

25 **[0205]** A una disolución a 0 °C de (CCC) (4 g, 10,9 mmol), 4 (2,23 g, 10,9 mmol), HOBT (2,36 g, 17,4 mmol) y HBTU (6,6 g, 17,4 mmol) en acetonitrilo (200 ml) y DMF (5 ml) se añadió N,N-diisopropiletilamina (7,6 ml) y la mezcla se agitó a 0 °C durante 2 horas. A continuación se diluyó con acetato de etilo (400 ml) y se lavó con disolución saturada acuosa de bicarbonato de sodio (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml). Las capas orgánicas se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante HPLC (disolución acuosa de acetato de amonio (0,02 M) y acetonitrilo) para proporcionar (DDD) (4,47 g, rendimiento del 74%) tal como se caracterizó mediante LC/MS (LCRS (MH) m/z: 554,79).

*Síntesis de (EEE)*

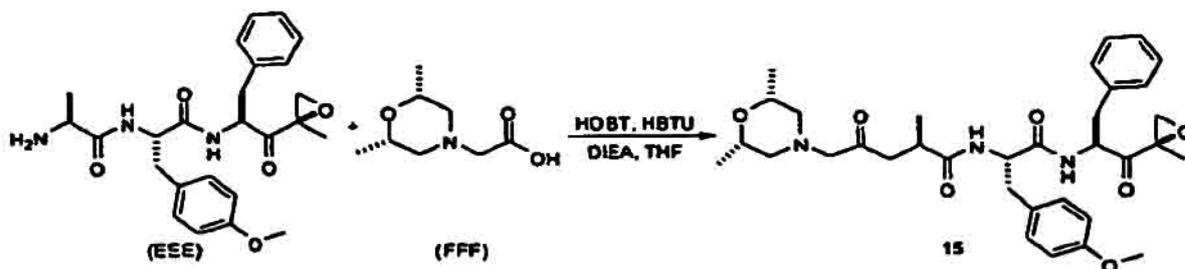
35 **[0206]** A una disolución a 0 °C de (DDD) (2 g, 3,6 mmol) en diclorometano (32 ml) se añadió ácido trifluoroacético (8 ml), y la disolución resultante se agitó a esta temperatura durante otra hora. A continuación se concentró la disolución a presión reducida y se colocó a vacío elevado para proporcionar (EEE) tal como se confirmó mediante LC/MS (LCRS (MH) m/z: 454,72), que se utilizó sin purificación adicional.

*Síntesis de 14*

40 **[0207]** A una disolución a 0 °C de (EEE), ácido morfolin-4-il-acético (1,048 g, 7,22 mmol), HOBT (780 mg, 5,76 mmol) y HBTU (2,2 g, 5,76 mmol) en acetonitrilo (60 ml) y DMF (3 ml) se añadió N,N-diisopropiletilamina (2,5 ml) gota a gota. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 horas y a continuación se diluyó con acetato de etilo (300 ml) y se lavó con disolución saturada acuosa de bicarbonato de sodio (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml). Las capas orgánicas se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante HPLC (disolución acuosa de acetato de amonio (0,02 M) y acetonitrilo) para proporcionar 14 (620 mg, rendimiento del 29%) que se caracterizó mediante LC/MS (LCRS (MH) m/z: 581,83).

**Esquema 15.** Síntesis del Ejemplo 15 (Ejemplo de referencia)

50 **[0208]**

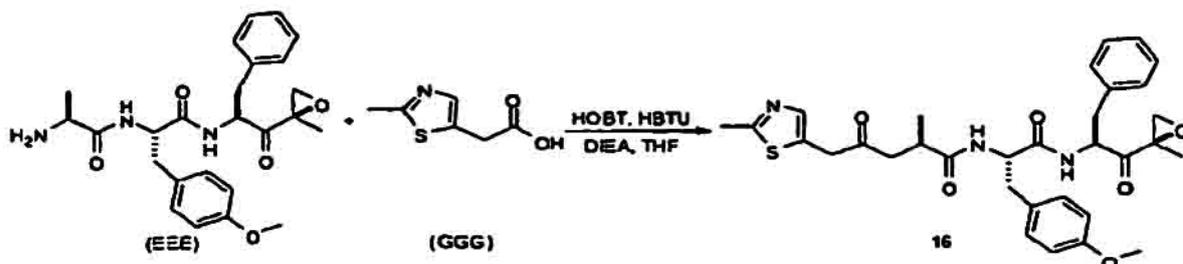


55 **[0209]** A una disolución a 0 °C de (EEE) (65 mg, 0,144 mmol), clorhidrato del ácido (2R,6S)-2,6-dimetilmorfolin-4-il) acético (FFF) (50 mg, 0,288 mmol), HOBT (32 mg, 0,23 mmol) y HBTU (88 mg, 0,23 mmol) en acetonitrilo (15 ml) y

DMF (1 ml), se añadió N,N-diisopropiletilamina (100 µl) gota a gota, y la mezcla se agitó a 0 °C durante 2 horas y a continuación se diluyó con acetato de etilo (300 ml) y se lavó con disolución saturada acuosa de bicarbonato de sodio (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml). Las capas orgánicas se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron a presión reducida. Para dar un residuo que se purificó mediante HPLC (disolución acuosa de acetato de amonio (0,02 M) y acetonitrilo) para proporcionar 15 (32 mg, rendimiento del 36%) que se caracterizó mediante LC/MS (LCRS (MH) m/z: 609,83).

**Esquema 16.** Síntesis del Ejemplo 16 (Ejemplo de referencia)

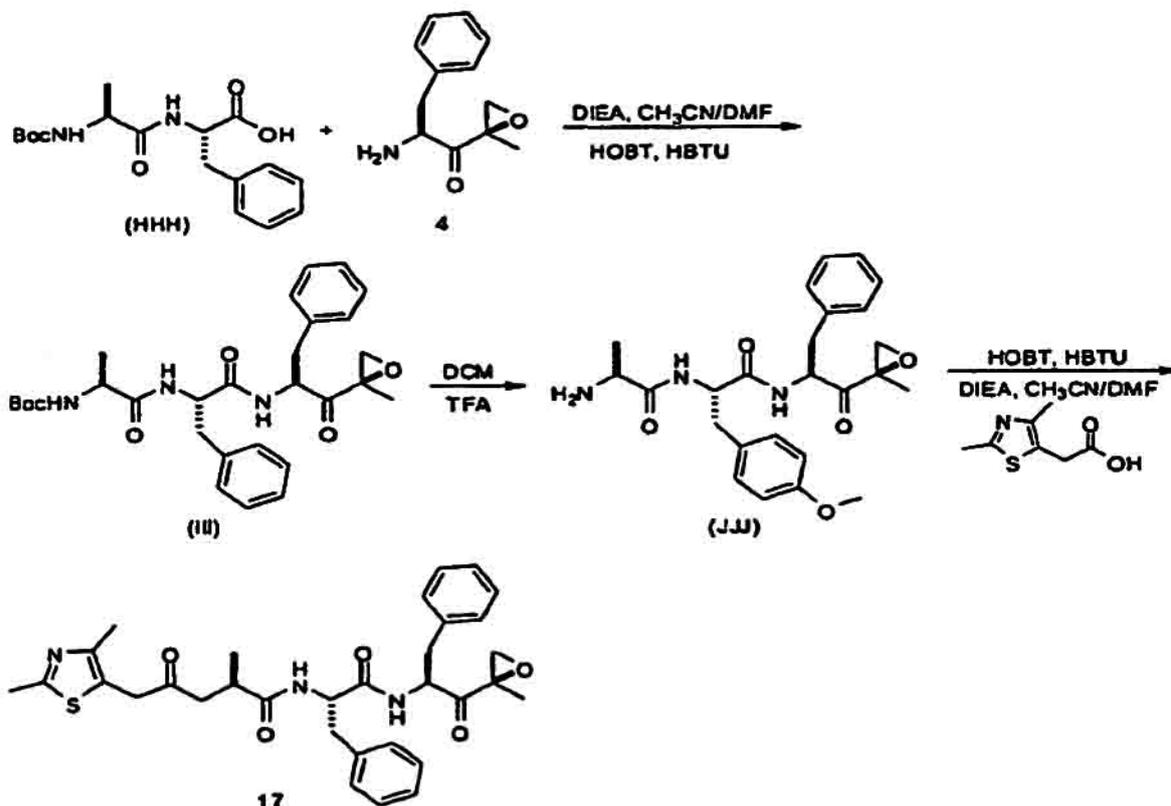
10 [0210]



15 [0211] A una disolución a 0 °C de (EEE) (62 mg, 0,14 mmol), ácido (2-metil-1,3-tiazol-5-il) acético (GGG) (25 mg, 0,15 mmol), HOBt (30 mg, 0,22 mmol) y HBTU (84 mg, 0,22 mmol) en acetonitrilo (15 ml) y DMF (1 ml) se añadió N,N-diisopropiletilamina (143 µl) gota a gota y la mezcla resultante se agitó a 0° C durante 2 horas. A continuación se diluyó con acetato de etilo (30 ml) y se lavó con disolución saturada acuosa de bicarbonato de sodio (2 x 15 ml) y salmuera (15 ml). Las capas orgánicas se secan con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para dar un residuo que se purificó mediante HPLC (disolución acuosa de acetato de amonio (0,02 M) y acetonitrilo) para proporcionar 16, que se caracterizó mediante LC/MS (LCRS) (MH) m/z: 593,72).

20 **Esquema 17:** Síntesis del ejemplo 17 (Ejemplo de referencia)

25 [0212]



*Síntesis de (III)*

**[0213]** A una disolución a 0 °C de (HHH) (2 g, 5,9 mmol), 4 (2,44 g, 11,89 mmol), HOBT (1,28 g, 9,5 mmol) y HBTU (3,6 g, 9,5 mmol) en acetonitrilo (180 ml) y DMF (10 ml) se añadió N,N-diisopropiletilamina (4,14 ml) gota a gota y la mezcla se agitó a 0° C durante 2 horas. A continuación se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con una disolución saturada acuosa de bicarbonato de sodio (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para dar un residuo que se purificó mediante HPLC (disolución acuosa de acetato de amonio) (0,02 M) y acetonitrilo) para proporcionar (III) (1,5 g, rendimiento del 50%) tal como se caracterizó mediante LC/MS (LCRS (MH) m/z. 524,71).

*Síntesis de (JJJ)*

**[0214]** A una disolución a 0 °C de (III) (60 mg, 0,1 mmol) en diclorometano (2 ml) se añadió ácido trifluoroacético (0,5 ml), y la disolución resultante se agitó a esta temperatura durante otra hora. A continuación, la disolución se concentró a presión reducida y se colocó a vacío elevado para proporcionar (JJJ) tal como se confirmó mediante LC/MS (LCRS (MH) m/z: 424,51) que se utilizó sin purificación adicional.

*Síntesis de 17*

**[0215]** A una disolución a 0 °C de (JJJ), (ácido 2,4-dimetil-1,3-tiazol-5-il-acético (40 mg, 0,23 mmol), HOBT (25 mg, 0,183 mmol) y HBTU (70 mg, 0,183 mmol) en acetonitrilo (6 ml) y DMF (1 ml) se añadió N,N-diisopropiletilamina (80 µl) gota a gota. A continuación se agitó la mezcla a 0 °C durante 2 horas. A continuación se diluyó con acetato de etilo (50 ml) y se lavó con disolución saturada acuosa de bicarbonato de sodio (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para dar un residuo que se purificó mediante HPLC (disolución acuosa de acetato de amonio (0,02 M) y acetonitrilo) para proporcionar 17 (29 mg, rendimiento del 44%) que se caracterizó mediante LC/MS (LCRS (MH) m/z. 577,86).

## Ejemplo 18: Ensayos para determinar la preferencia inhibitoria

**[0216]** Existen tres tipos de ensayos que se pueden utilizar cuando se determina si una molécula inhibe de forma preferente o no la actividad CT-L del proteosoma constitutivo o del inmunoproteosoma. Los ensayos de cinética enzimática tales como los dados a conocer en la solicitud de los Estados Unidos con número de serie 09/569748, Ejemplo 2 y Stein y col., *Biochem.* (1996), 35, 3899-3908 utilizan preparaciones de proteosomas 20S aislados con más del 90% de subunidades del proteosoma constitutivo o subunidades del inmunoproteosoma. La preferencia inhibitoria de la molécula se basa a continuación en la relación  $CE_{50}$  de la actividad de tipo quimiotróptico del proteosoma constitutivo a la del inmunoproteosoma (relación 20S)

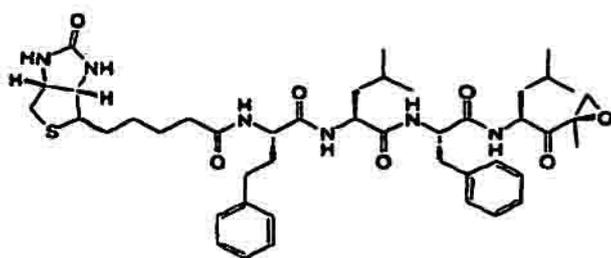
**[0217]** De forma alternativa la  $CE_{50}$  CT-L de un compuesto se puede determinar utilizando el proteosoma 26S en el contexto de un lisado celular. El compuesto se añade al lisado generado a partir de células que expresan de forma de forma predominante bien el proteosoma constitutivo (por ejemplo, HT29) o el inmunoproteosoma (por ejemplo, THP1). De nuevo, la preferencia inhibitoria se basa a continuación en la relación de la  $CE_{50}$  (relación del lisado)

**[0218]** En última instancia, se puede utilizar una solución más basada en cultivos celulares. Las células que expresaban de forma aproximada cantidades equivalentes del inmunoproteosoma y del proteosoma constitutivo (por ejemplo, RPMI-8226) se trataron con el compuesto de ensayo, seguido por el procedimiento para determinar la actividad de un inhibidor del proteosoma que se describe en la solicitud con número de serie 11/254541. La relación de la  $CE_{50}$  generada en el ensayo basado en ELISA que utiliza el anticuerpo  $\beta 5$  y los anticuerpos LMP7 (relación ELISA) proporciona la base para determinar la preferencia inhibitoria del compuesto de ensayo. En todos los casos, una relación de uno indica que la molécula trabaja igualmente bien inhibiendo la actividad CT-L de ambas formas del proteosoma. En los tres ensayos, una relación de menos de uno denota que la molécula inhibe la actividad de CT-L del proteosoma constitutivo mejor que la del inmunoproteosoma. Relaciones mayores de uno significan que la molécula inhibe la actividad de tipo quimiotripsina del inmunoproteosoma mejor que la del inmunoproteosoma constitutivo.

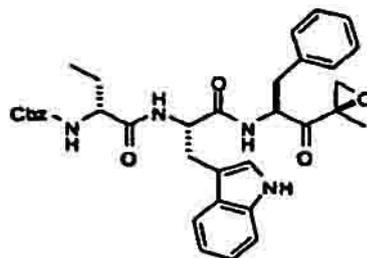
## Ejemplo 19. Ensayo ELISA

**[0219]** Se puede encontrar un ensayo ELISA adecuado en el documento U.S: 2006/0088471 A1, incorporado en el presente documento en su totalidad. De forma breve, se trataron células RPMI-8226 con 0,1 nM a 1 µM del inhibidor B del proteosoma. A continuación se lavaron las muestras con solución salina tamponada con fosfato (PBS) y se lisaron en tampón hipotónico (Tris 20 mM pH, EDTA 5 mM) (Tris-HCl y EDTA están disponibles de Teknova, Inc., Hollister, CA). Los desechos celulares se eliminaron mediante centrifugación a 14.000 rpm en una micrófuga (4° C) durante 2 min. Se transfirió el sobrenadante a un tubo nuevo, se congeló instantáneamente en nitrógeno líquido y se almacenó a -80 °C. Tras congelar en hielo, se trataron las muestras (30 µl para los ensayos analizados por triplicado) con 500 nM de inhibidor A durante 1 h a temperatura ambiente. Tras el tratamiento con el Inhibidor A, el lisado se desnaturalizó mediante la adición de siete volúmenes de SDS al 1% (210 µl) (disponible de Bio-Rad, Hercules, CA) y calentando a 99 °C con agitación vigorosa durante 5 min. Se dejó enfriar la muestra y se añadieron

dos volúmenes (60 µl) de Triton X-100 al 10% (disponible de Bio-rad, Hercules, CA).



**Inhibidor A**



**Inhibidor B**

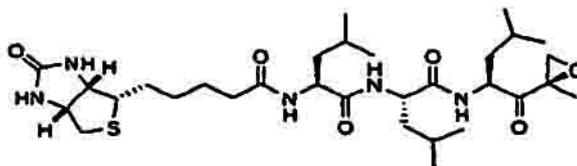
5 **[0220]** Perlas de estreptavidina sefarosa (6,5 µl/pocillo) (disponibles de Amersham Biosciences, Piscataway, NJ), se lavaron tres veces con 1 ml de PBS (disponible de Mediatech, Inc, Herndon, VA) en un tubo de microcentrífuga. Las perlas se volvieron a suspender en un tampón ELISA de lavado/bloqueo (PBS + Tween 20 al 0,1 % + albúmina de suero bovino al 1%; 20 µl/pocillo) y se transfirió a los pocillos de una placa de filtro de 96 pocillos (BSA está disponible de Calbiochem, San Diego, CA). Sangre completa desnaturalizada o lisados de PBMC que se trataron con el inhibidor 3 se añadieron a los pocillos de la placa de filtro que contenían las perlas de estreptavidina sefarosa (se evaluó cada muestra por triplicado) y se incubaron 1 h a temperatura ambiente con agitación (placas MultiScreen-DV Opaque con membrana durapore de baja unión a proteína; disponible de Millipore, Billerica, MA). El material no unido se retiró mediante filtración suave y las perlas se lavaron seis veces con tampón de lavado/bloqueo ELISA (de 200 µl cada uno).

10  
15 **[0221]** El anticuerpo primario dirigido a la subunidad β5 del proteosoma 20S humano (anticuerpo policlonal de conejo; disponible de Plymouth Meeting, PA) o la subunidad LMP7 del inmunoproteosoma 20S humano (anticuerpo policlonal de conejo; disponible de Affinity BioReagents, Golden, CO) se diluyeron 1:1000 en el tampón ELISA de lavado/bloqueo, y añadieron a las perlas (100 µl/pocillo) y se incubaron durante 1 h a temperatura ambiente en un agitador orbital. Las perlas se lavaron seis veces con tampón ELISA de lavado/bloqueo con filtración suave. El tratamiento del anticuerpo secundario (1:5000) y el lavado, son como se describen para el anticuerpo primario (anticuerpo de cabra dirigido contra IgG de conejo conjugado HRP, disponible de Biosource, Camarillo, CA). A continuación, las perlas se volvieron a suspender en 100 µl de reactivo de detección quimioluminiscente (Super Signal Pico Chemiluminiscent Substrate <sup>TM</sup>, disponible de Pierce, Rockford, 1 l) y se leyó la luminiscencia en un lector de placas Tecan.

20  
25 **[0222]** La ocupación de los sitios activos del proteosoma con el inhibidor peptídico de epoxicetona da como resultado una disminución en la actividad catalítica de tipo quimiotróptico y una disminución en la unión de la sonda biotinilada (Inhibidor A). Estos datos sugieren que el ensayo basado en ELISA que utiliza la sonda biotinilada refleja con precisión la actividad inhibitoria del inhibidor B.

30  
35 **[0223]** Una característica a modo de ejemplo del ensayo PD basado en ELISA es que permite la diferenciación entre la inhibición del proteosoma constitutivo (β5) y la inhibición del inmunoproteosoma (LMP7) debido a que utiliza anticuerpos específicos de la subunidad.

40 **[0224]** Utilizando un sitio activo diferente, la sonda (Inhibidor C) se amplía la utilidad del ensayo basado en ELISA para medir la ocupación de los sitios activos del proteosoma constitutivo (β5, β1, β2) y del inmunoproteosoma (LMP7, LMP2) en la línea celular 8226 de mieloma múltiple que expresa simultáneamente ambas formas del proteosoma. Se puede utilizar el ensayo del sitio activo expandido para medir la selectividad relativa al inhibidor entre los inmunoproteosomas y los proteosomas constitutivos así como entre los tres sitios activos de cada proteosoma. Además, el ensayo basado en ELISA es capaz de determinar la potencia y la selectividad de otros tipos de inhibidores del proteosoma, que incluyen los inhibidores peptídicos basados en ácido borónico.



**Inhibidor C**

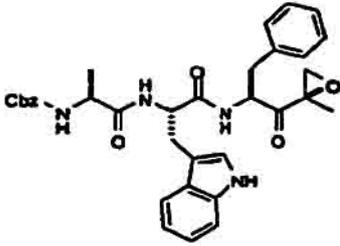
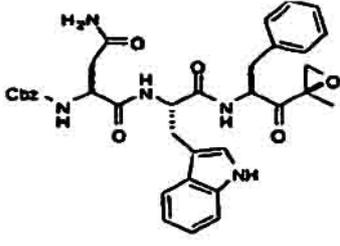
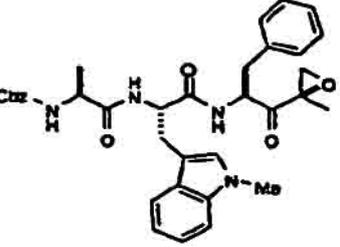
45 **[0225]** Para llevar a cabo la evaluación farmacodinámica de un inhibidor, se recogieron muestras de sangre completa y de PBMC antes de la dosificación y en múltiples puntos temporales después de la dosificación. Se

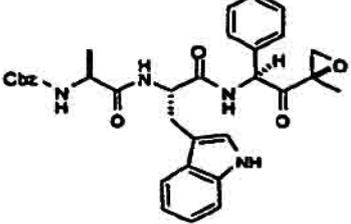
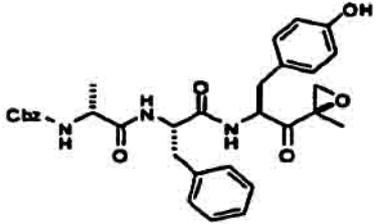
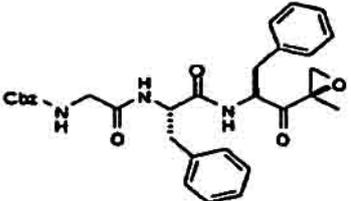
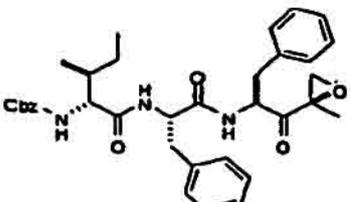
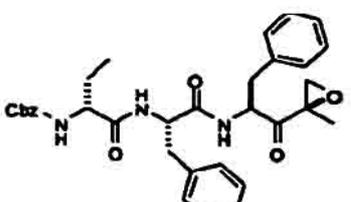
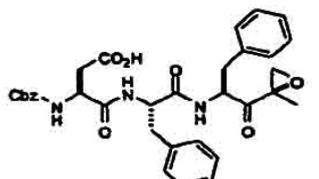
5 prepararon los lisados y se llevaron a cabo los ensayos de concentración de proteínas para normalizar la proteína total en cada lisado. Se determinó el nivel de unión del inhibidor a las subunidades  $\beta 5$  y LMP7 en sangre completa y en células 8226 en PBMC RPMI, respectivamente, mediante el ELISA de captura de la estreptavidina descrito anteriormente. Se utilizaron curvas normalizadas con el proteosoma constitutivo y el inmunoproteosoma normalizados para asegurar la linealidad/intervalo dinámico del ensayo y para convertir la señal de quimioluminiscencia en una cantidad absoluta ( $\mu\text{g}$ ) de la subunidad unida. La relación de la CE50 generada en el ensayo basado en ELISA utilizando el anticuerpo dirigido contra  $\beta 5$  y los anticuerpos dirigidos contra LMP7 (relación ELISA) proporciona la base para determinar la preferencia inhibitoria del compuesto de ensayo. El anterior inhibidor (B) tiene una relación mayor de 20, de esta manera, es mucho más selectivo para inhibir la actividad de tipo quimiotróptico asociada con el inmunoproteosoma.

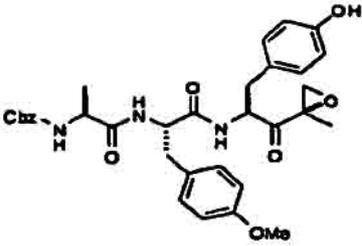
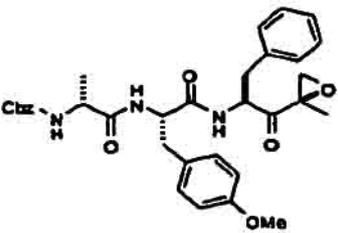
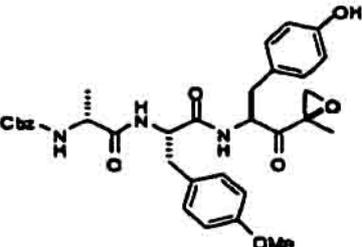
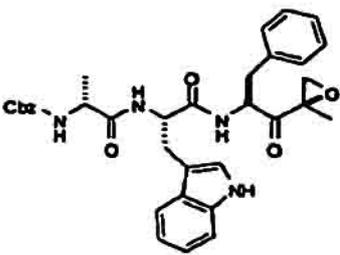
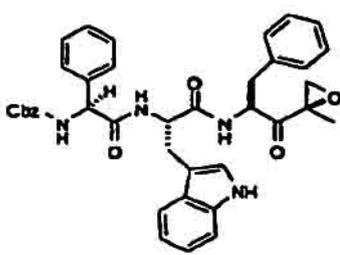
15 **[0226]** Para determinar el nivel de inhibición del proteosoma de un paciente dado, se comparó la cantidad de  $\beta 5$  o LMP7 detectada en la muestra tras la dosis con la de la muestra antes de la dosis. Se determinó la inhibición del proteosoma tras una única dosis o después de un ciclo de dosificación, o se utilizó para vigilar el acortamiento de la inhibición tras la dosificación así como para vigilar la recuperación de la actividad del proteosoma tras un curso de dosificación.

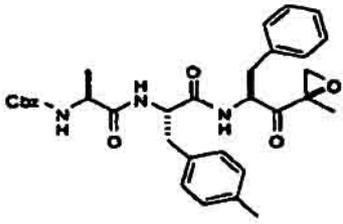
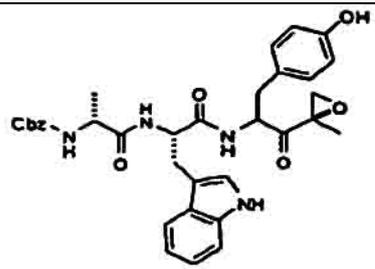
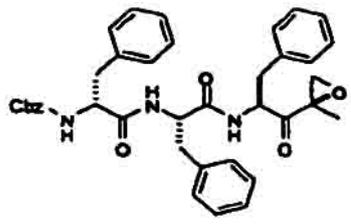
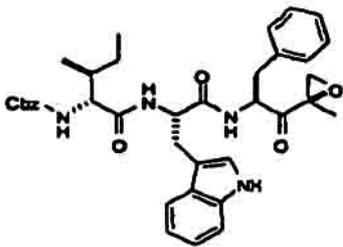
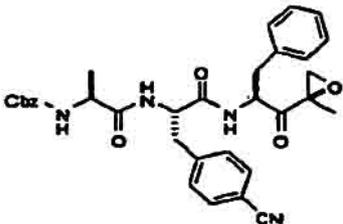
**Ejemplo 20: Resultados biológicos**

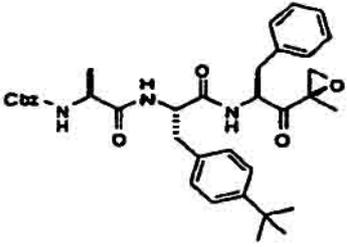
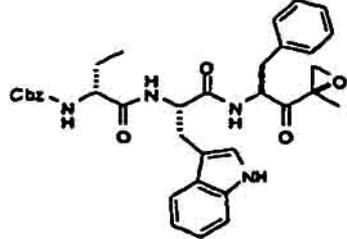
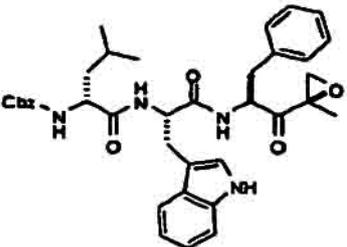
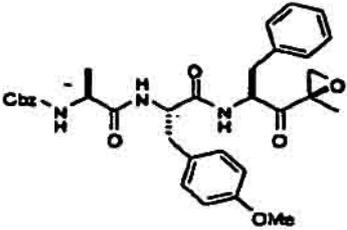
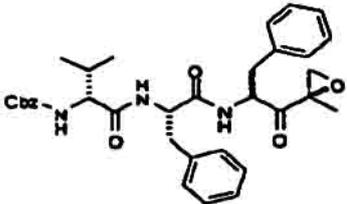
20 **[0227]**

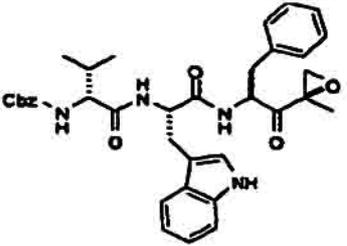
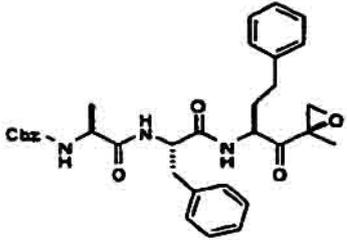
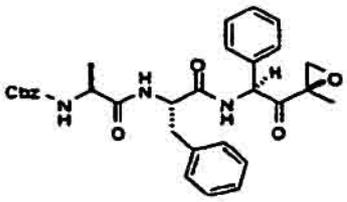
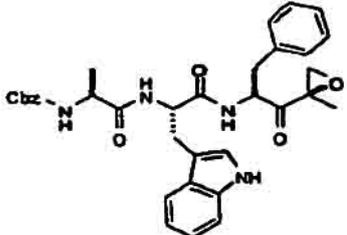
Estructura	Relación 20S (constante: inmuno)	Relación del lisado (HT29: Sultan/Thp1)	Relación Elisa (beta5: LMP7)
	> 1,0	> 2,0	> 5,0
	> 1,0	> 5,0	> 1,0
	> 1,0	> 1,0	> 3,0

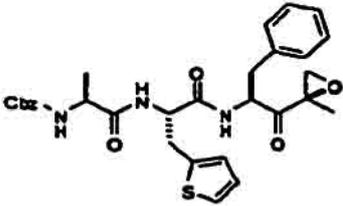
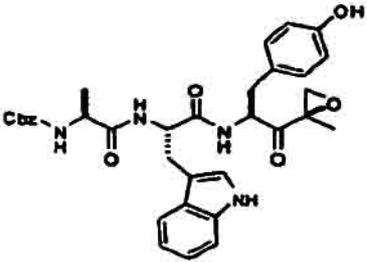
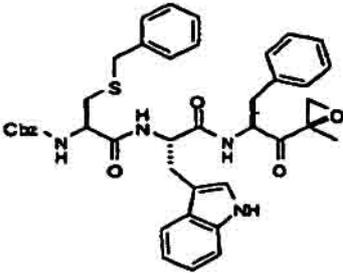
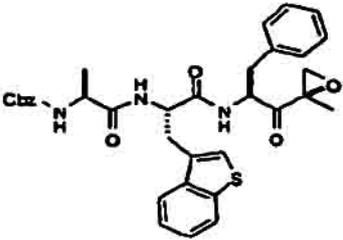
	<p>&gt; 2,0</p>	<p>&gt; 5,0</p>	<p>&gt; 3,0</p>
	<p>&gt; 5,0</p>	<p>&gt; 3,0</p>	<p>&gt; 3,0</p>
	<p>&gt; 3,0</p>	<p>&gt; 5,0</p>	<p>&gt; 2,0</p>
	<p>&gt; 5,0</p>	<p>&gt; 3,0</p>	<p>&gt; 2,0</p>
	<p>&gt; 5,0</p>	<p>&gt; 5,0</p>	<p>&gt; 3,0</p>
	<p>&gt; 3,0</p>	<p>&gt; 3,0</p>	<p>&gt; 2,0</p>

	<p>&gt; 5,0</p>	<p>&gt; 2,0</p>	<p>&gt; 5,0</p>
	<p>&gt; 5,0</p>	<p>&gt; 3,0</p>	<p>&gt; 5,0</p>
	<p>&gt; 5,0</p>	<p>&gt; 3,0</p>	<p>&gt; 5,0</p>
	<p>&gt; 5,0</p>	<p>&gt; 5,0</p>	<p>&gt; 5,0</p>
	<p>&gt; 3,0</p>	<p>&gt; 3,0</p>	<p>&gt; 1,0</p>

	<p>&gt; 2,0</p>	<p>&gt; 5,0</p>	<p>&gt; 5,0</p>
	<p>&gt; 5,0</p>	<p>&gt; 5,0</p>	<p>&gt; 3,0</p>
	<p>&gt; 5,0</p>	<p>&gt; 2,0</p>	<p>&gt; 3,0</p>
	<p>&gt; 5,0</p>	<p>&gt; 3,0</p>	<p>&gt; 5,0</p>
	<p>&gt;1,0</p>	<p>&gt; 2,0</p>	<p>&gt;5,0</p>

	> 2,0	> 2,0	> 3,0
	> 5,0	> 3,0	> 5,0
	> 5,0	> 5,0	> 5,0
	> 2,0	> 2,0	> 5,0
	> 5,0	> 2,0	> 2,0

	> 5,0	> 2,0	> 1,0
	> 5,0	> 5,0	> 5,0
	> 2,0	> 3,0	> 3,0
	> 1,0	> 5,0	> 1,0
	> 1,0	> 2,0	> 5,0

	> 2,0	> 2,0	> 3,0
	> 3,0	> 3,0	> 5,0
	> 2,0	> 3,0	> 1,0
	> 1,0	> 1,0	> 3,0

**Ejemplo 21:** Uso del inhibidor del inmunoproteosoma en el modelo de la artritis reumatoide

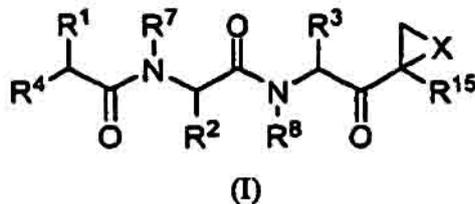
- 5 **[0224]** Se evaluó el efecto del Compuesto **14** sobre la progresión de la enfermedad en 2 modelos de la artritis reumatoide en ratón (Figura 2). En el modelo de anticuerpo artrogénico, en el que la enfermedad está inducida por la administración de anticuerpos dirigidos contra colágeno y lipopolisacáridos (LPS) (Terato y col., J Immunol 148: 2103-2108, 1992), el Compuesto **14** inhibió la progresión de la enfermedad de una manera dependiente de la dosis (Figura 2A). Se indujo la artritis reumatoide en el Día 0 en ratones hembras Balb/c mediante la administración IV de anticuerpos dirigidos contra colágeno de tipo II seguido 3 días después por LPS. Se administró el compuesto X IV tres veces/por semana durante dos semanas comenzando en el Día 4, el primer día los animales mostraron evidencias de la enfermedad. Se midió cada pata, por ratón, para la enfermedad, utilizando una escala de 0 -4 y se asignó una puntuación clínica total por cada animal (puntuación máxima = 16). La administración de 6 mg/kg del Compuesto **14** redujo la gravedad de la enfermedad en ~50% aunque un nivel de la dosis de 20 mg/kg inhibió la enfermedad en más de un 75%.
- 10
- 15

5 **[0225]** Se evaluó también el efecto de la administración del Compuesto **14** sobre el progreso de la enfermedad en un modelo alternativo de ratón para RA, en el que la enfermedad se desarrolla los días 21 – 30 después de la inmunización con el colágeno bovino de tipo II (Kagari y col., J Immunol 169: 1459-1466, 2002). La administración de 6 o 20 mg/kg del Compuesto **14** a partir de los primeros signos de la enfermedad inhibió la progresión de la enfermedad en comparación con el vehículo del control (Figura 2 B). De nuevo, la progresión de la enfermedad se midió utilizando una puntuación clínica total de la dolencia de la pata por ratón. Tal como se ha observado anteriormente, cantidades crecientes del Compuesto 14 dieron como resultado un aumento en la reducción de la gravedad de la enfermedad.

10

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene una estructura de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables,



en la que

10 cada A se selecciona de forma independiente entre C=O, C=S, y SO<sub>2</sub>; o

A es opcionalmente un enlace covalente cuando es adyacente a una ocurrencia de Z;

15 B está ausente o es N(R<sup>9</sup>)R<sup>10</sup>;

L está ausente o se selecciona entre C=O, C=S, y SO<sub>2</sub>;

M está ausente o es alquilo C<sub>1-2</sub>;

20 Q está ausente o se selecciona entre O, NH y N-alquilo C<sub>1-6</sub>;

X se selecciona entre O, S, NH, u N-alquilo C<sub>1-6</sub>;

25 cada Z se selecciona de forma independiente entre O, S, NH, y N-alquilo C<sub>1-6</sub>;

Z es opcionalmente un enlace covalente cuando es adyacente a una ocurrencia de A;

R<sup>1</sup> se selecciona entre H, alquilo C<sub>1-6</sub>-B, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxialquilo C<sub>1-6</sub>, arilo, y aralquilo C<sub>1-6</sub>;

30 R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> se seleccionan cada uno de forma independiente entre arilo, aralquilo C<sub>1-6</sub>, heteroarilo, y heteroalquilo C<sub>1-6</sub>;

R<sup>4</sup> es N(R<sup>5</sup>)L-Q-R<sup>6</sup>;

35 R<sup>5</sup> se selecciona entre hidrógeno, OH, aralquilo C<sub>1-6</sub>, y alquilo C<sub>1-6</sub>;

R<sup>6</sup> se selecciona entre carbociclilo, heterociclilo, un grupo protector del extremo N, heterocicilMZA-alquilo C<sub>1-8</sub>-, heterocicilIM-, carbocicilIM-, en el que el término "carbociclilo" se refiere a un anillo no aromático, en el que cada átomo del anillo es carbono y el término "heterociclilo" se refiere a estructuras de anillos no aromáticos de 3 a 10 miembros que incluyen uno a cuatro heteroátomos;

40 R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> se seleccionan de forma independiente entre hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, y aralquilo C<sub>1-6</sub>;

R<sup>9</sup> se selecciona entre hidrógeno, OH, y alquilo C<sub>1-6</sub>; y

45 R<sup>10</sup> es un grupo protector del extremo N; y

R<sup>15</sup> se selecciona entre hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>;

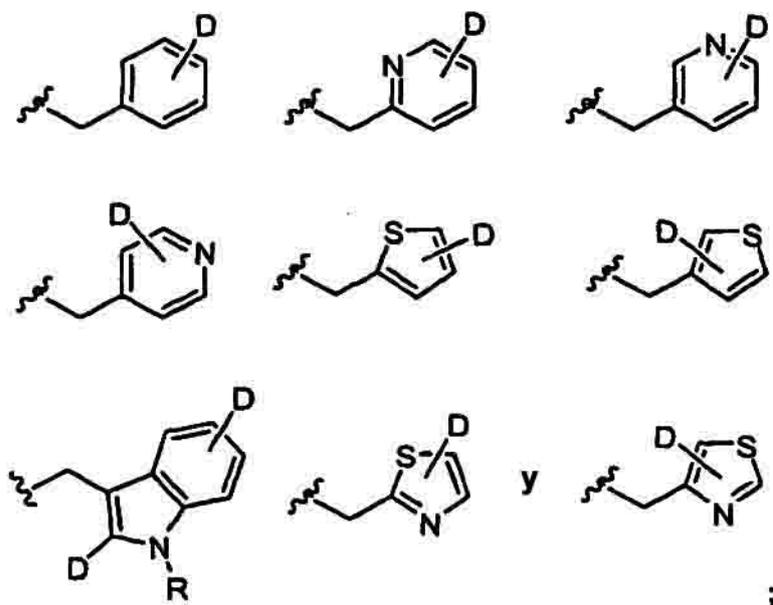
50 con la condición de que en cualquier ocurrencia de la secuencia ZAZ, al menos un miembro de la secuencia debe ser diferente de un enlace covalente.

en la que cada alquilo C<sub>1-12</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxialquilo C<sub>1-6</sub>, arilo, aralquilo C<sub>1-6</sub>, heteroarilo, heteroalquilo C<sub>1-6</sub>, carbociclilo, heterociclilo, y alquilo C<sub>1-8</sub> puede estar sustituido o no.

55 2. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> se seleccionan de forma independiente entre hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub>.

3. Un compuesto de la reivindicación 2, en el que R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> son ambos hidrógeno.

4. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que  $R^{15}$  se selecciona entre metilo, etilo, hidroximetilo, y 2-hidroxietilo.
- 5 5. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que  $R^5$  es hidrógeno.
6. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que L y Q están ausentes.
7. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que  $R^6$  es un grupo protector del extremo N.
- 10 8. Un compuesto de la reivindicación 7, en el que el  $R^6$  se selecciona entre t-butoxicarbonilo y benciloxicarbonilo.
- 15 9. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el carbono que soporta  $R^1$  tiene una configuración estereoquímica D.
10. Un compuesto de la reivindicación 1 a 9, en el que  $R^1$  se selecciona entre alquilo- $C_{1-6}$  B y aralquilo  $C_{1-6}$ .
- 20 11. Un compuesto de la reivindicación 10, en el que  $R^1$  se selecciona entre metilo, etilo, isopropilo, carboximetilo y bencilo.
12. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que  $R^2$  se selecciona entre aralquilo  $C_{1-6}$  y heteroalquilo  $C_{1-6}$ .
- 25 13. Un compuesto de la reivindicación 12, en el que  $R^2$  se selecciona entre alquil  $C_{1-6}$ -fenilo, alquil  $C_{1-6}$ -indolilo, alquil  $C_{1-6}$ -tienilo, alquil  $C_{1-6}$ -tiazolilo, y alquil  $C_{1-6}$ -isotiazolilo.
- 30 14. Un compuesto de la reivindicación 13, en el que  $R^2$  se selecciona entre



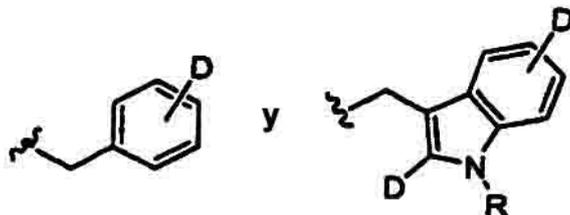
35 en el que D se selecciona entre hidrógeno, metoxi, t-butoxi, hidroxilo, ciano, trifluorometilo, y alquilo  $C_{1-4}$ , en el que alquilo  $C_{1-4}$  puede estar sustituido o no con sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en un halógeno, un hidroxilo, un carbonilo, un tiocarbonilo, un alcoxilo, un fosforilo, un fosfato, un fosfonato, un fosfinato, un amino, un amido, una amidina, una imina, un ciano, un nitro, un azido, un sulfidrido, un alquiltio, un sulfato, un sulfonato, un sulfamoilo, un sulfonamido, un sulfonilo, un heterociclilo, un aralquilo, o un resto aromático o heteroaromático:

40 y  
R es hidrógeno o un grupo protector adecuado.

15. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que  $R^3$  se selecciona entre aralquilo  $C_{1-6}$  y heteroalquilo  $C_{1-6}$ .

16. Un compuesto de la reivindicación 15, en el que R<sup>3</sup> se selecciona entre alquil C<sub>1-6</sub>-fenilo y alquil C<sub>1-6</sub> indolilo.

17. Un compuesto de la reivindicación 16, en el que R<sup>3</sup> se selecciona entre



en el que D se selecciona entre hidrógeno, metoxi, t-butoxi, hidroxilo, ciano, trifluorometilo, y alquilo C<sub>1-4</sub>, en el que alquilo C<sub>1-4</sub> puede estar sustituido o no con sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en un halógeno, un hidroxilo, un carbonilo, un tiocarbonilo, un alcoxilo, un fosforilo, un fosfato, un fosfinato, un amino, un amido, una amidina, una imina, un ciano, un nitro, un azido, un sulfidrilo, un alquiltio, un sulfato, un sulfonato, un sulfamoilo, un sulfonamido, un sulfonilo, un heterociclilo, un aralquilo, o un resto aromático o heteroaromático;

y

R es hidrógeno o un grupo protector adecuado.

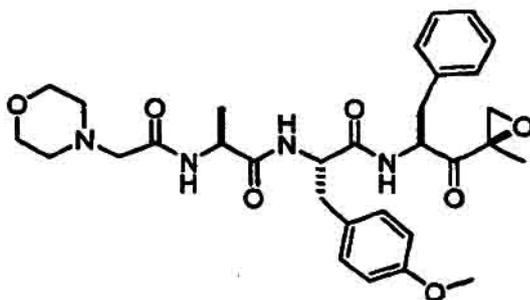
18. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que R<sup>6</sup> se selecciona entre carbociclilo, heterociclilo, heterocicliiMZAZ-alquilo C<sub>1-8</sub>, heterocicliiM- y carbocicliiM-

19. Un compuesto de la reivindicación 18, en el que R<sup>6</sup> se selecciona entre heterociclilo, heterocicliiMZAZ-alquilo C<sub>1-8</sub>, y heterocicliiM-.

20. Un compuesto de la reivindicación 19, en el que L es C=O, Q está ausente, M es alquilo C<sub>1-8</sub> y R<sup>6</sup> es heterocicliiM- y el resto de heterociclilo se selecciona entre morfolino, piperidino, piperazino, y pirrolidino.

21. Un compuesto de la reivindicación 20, en el que L es C=O, Q está ausente, M es alquilo C<sub>1-8</sub> y R<sup>6</sup> es heterocicliiM- y el resto de heterociclilo es morfolino.

22. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

23. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para uso en el tratamiento de una enfermedad inmunorrelacionada, cáncer, inflamación, infección, una enfermedad proliferativa, o una enfermedad neurodegenerativa.

24. El compuesto de la reivindicación 23 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento de una enfermedad inmunorrelacionada.

25. El compuesto de la reivindicación 24 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en el que la enfermedad inmunorrelacionada se selecciona entre asma, enfermedad autoinmune, enfermedad inflamatoria del intestino, diabetes, lupus, esclerosis múltiple, miositis, psoriasis, y artritis reumatoide.

26. El compuesto de la reivindicación 23 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en el que la

enfermedad o la dolencia es cáncer.

- 5 27. El compuesto de la reivindicación 26 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en el que el cáncer se selecciona entre leucemia, linfoma y mieloma múltiple.
28. El compuesto de la reivindicación 23 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en el que la enfermedad o la dolencia es inflamación.
- 10 29. El compuesto de la reivindicación 23 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en el que la enfermedad o la dolencia es una infección.
30. El compuesto de la reivindicación 23 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en el que la enfermedad o la dolencia es una enfermedad proliferativa.
- 15 31. El compuesto de la reivindicación 23, en el que la enfermedad o la dolencia es una enfermedad neurodegenerativa.
- 20 32. Una composición farmacéutica, que comprende un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable y un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.
33. El compuesto de la reivindicación 25 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en el que la enfermedad inflamatoria del intestino se selecciona entre enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa.

Nivel de expresión del inmunoproteosoma						
Líneas celulares			Muestras de pacientes			
	Elevado	Mixto	Bajo	Elevado	Mixto	Bajo
Mieloma múltiple	3/4	1/4		1/3	2/3	
PML	1/1					
AML	4/6	2/6		12/15	3/15	
CML						
Leucemias	1/1			6/6		
APL	1/1					
CLL				6/6		
Linfocitos T	6/6					
Linfocitos B	3/7	4/7				
Tumores sólidos			4/4			
			Elevado	Mixto	Bajo	
			> 70% del inmunoproteosoma	30-70% del inmunoproteosoma	> 305 del inmunoproteosoma	

Figura 1

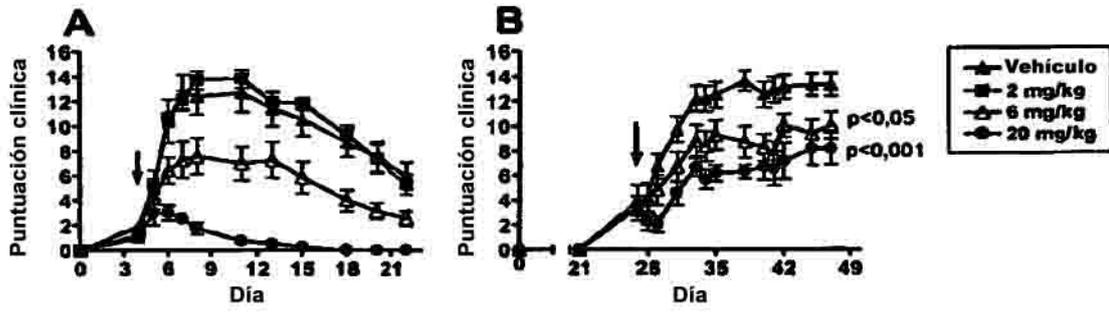


FIGURA 2