

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 415 756**

51 Int. Cl.:

**C07K 5/06** (2006.01)

**A61K 38/55** (2006.01)

**C07K 5/08** (2006.01)

**C07K 5/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.11.2006 E 06837164 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2013 EP 1948678**

54 Título: **Compuestos para la inhibición de enzimas**

30 Prioridad:

**09.11.2005 US 736118 P**

**05.09.2006 US 842582 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:

**ZHOU, HAN-JIE;**

**SUN, CONGCONG, M.;**

**SHENK, KEVIN, D. y**

**LAIDIG, GUY, J.**

74 Agente/Representante:

**PONTI SALES, Adelaida**

**ES 2 415 756 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

Compuestos para la inhibición de enzimas

### 5 Antecedentes de la invención

- [0001]** En eucariotas, la degradación de las proteínas está mediada predominantemente por la vía de la ubiquitina, en la que las proteínas marcadas para su destrucción se unen al aminoácido 76 del polipéptido ubiquitina. Una vez marcadas, las proteínas ubiquitinadas sirven entonces como sustratos para el proteosoma 26S, una proteasa multicatalítica, que escinde las proteínas en péptidos cortos mediante la acción de sus tres principales actividades proteolíticas. Aunque con una función general en el recambio proteico intracelular, la degradación mediada por el proteosoma también juega un papel clave en muchos procesos, tales como la presentación del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase I, la apoptosis, la división celular y la activación del NF- $\kappa$ B.
- [0002]** El proteosoma 20S es un complejo de una proteasa multicatalítica con forma cilíndrica de 700 kDa formado por 28 subunidades organizadas en cuatro anillos que juegan importantes papeles en la regulación del crecimiento celular, en la presentación del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I, en la apoptosis, en el procesamiento de antígenos, en la activación del NF- $\kappa$ B y en la transducción de señales proinflamatorias. En levaduras y en otros eucariotas, 7 subunidades  $\alpha$  diferentes forman los anillos exteriores, y 7 subunidades  $\beta$  diferentes comprenden los anillos interiores. Las subunidades  $\alpha$  sirven como sitios de unión para los complejos reguladores 19S (PA700) y 11 S (PA28), así como una barrera física para la cámara proteolítica interior formada por los dos anillos de subunidades  $\beta$ . Por lo tanto, *in vivo*, se cree que el proteosoma existe como una partícula 26S ("el proteosoma 26S"). Algunos experimentos *in vivo* han demostrado que la inhibición de la forma 20S del proteosoma puede correlacionarse fácilmente con la inhibición del 26S. La escisión de las prosequencias amino terminales de las subunidades  $\beta$  durante la formación de la partícula exponen los residuos de treonina amino terminales, que sirven como nucleófilos catalíticos. Las subunidades responsables de la actividad catalítica en el proteosoma poseen por tanto un residuo nucleófilo amino terminal, y estas subunidades pertenecen a la familia de las hidrolasas nucleófilas N-terminales (Ntn) (en las que el residuo nucleófilo N-terminal es, por ejemplo, Cys, Ser, Thr, y otras fracciones nucleófilas). Esta familia incluye, por ejemplo, la acilasa de penicilina G (PGA), la acilasa de penicilina V (PVA), la amidotransferasa de glutamina PRPP (GAT) y la glucosilasparraginasa bacteriana. Además de las subunidades  $\beta$  expresadas ubiquitinamente, los vertebrados superiores también poseen tres subunidades  $\beta$  inducibles por el interferón  $\gamma$  (LMP7, LMP2 y MECL1), que sustituyen a sus homólogos normales, X, Y y Z, respectivamente, alterando por tanto las actividades catalíticas del proteosoma. Mediante el uso de diferentes sustratos peptídicos, se han definido tres actividades proteolíticas principales para el proteosoma eucariota 20S: la actividad de tipo quimotripsina (CT-L), que escinde después de grandes residuos hidrófobos; la actividad de tipo tripsina (T-L), que escinde después de residuos básicos; y la actividad hidrolizante del péptido peptidilglutamilo (PGPH), que escinde después de residuos ácidos. También se han descrito dos actividades adicionales menos caracterizadas del proteosoma: la actividad BrAAP, que escinde después de aminoácidos de cadena ramificada; y la actividad SNAAP, que escinde después de pequeños aminoácidos neutros. Las principales actividades proteolíticas del proteosoma parecen estar contribuidas por diferentes sitios catalíticos, dado que los inhibidores, las mutaciones puntuales en las subunidades  $\beta$  y el intercambio de las subunidades  $\beta$  inducibles por el interferón  $\gamma$ , alteran estas actividades en diversos grados.
- [0003]** En años recientes, el proteosoma se ha convertido en un objetivo atractivo para la intervención terapéutica en cáncer, alteraciones inmunitarias y autoinmunes, inflamación, estados isquémicos, alteraciones neurodegenerativas y otras enfermedades. Hasta la fecha, el único inhibidor del proteosoma aprobado por la FDA es bortezomib (VELCADE™), sin embargo, otros muchos inhibidores del proteosoma están siendo evaluados actualmente en ensayos clínicos. Hasta ahora, todos estos inhibidores terapéuticos del proteosoma se administran actualmente por vía IV. Las aplicaciones clínicas de los inhibidores del proteosoma en el tratamiento de cánceres hematológicos, tales como mieloma y linfoma, están restringidas en parte por la necesidad de frecuentes administraciones IV, y podrían mejorar mediante una administración oral (PO). Sin embargo, debido a la naturaleza peptídica de estas moléculas, la exposición sistémica tras la administración PO de estos inhibidores está limitada por varios factores que incluyen el pH gástrico, las peptidasas gástricas e intestinales, las bombas de eflujo, la excreción biliar y las actividades metabólicas intestinal y hepática.
- [0004]** Los procedimientos usados para superar la susceptibilidad de los péptidos de ser degradados enzimáticamente y para mejorar la absorción en el torrente sanguíneo desde el tracto digestivo han incluido la elaboración de análogos que tienen una estructura menos peptídica y que son de tamaño reducido. Se considera que dichos procedimientos tendrán éxito cuando el análogo peptídico consiga unos niveles sanguíneos satisfactorios

tras su administración oral, o en el caso de los inhibidores del proteosoma, cuando la actividad del proteosoma en sangre se reduzca satisfactoriamente.

**[0005]** Las técnicas mencionadas anteriormente se han aplicado en la preparación de análogos de los inhibidores del proteosoma del péptido epoxicetona, haciéndolos así biodisponibles por vía oral.

### **Resumen de la Invención**

**[0006]** La invención se refiere a unas clases de moléculas conocidas como  $\alpha',\beta'$ -epóxidos peptídicos y  $\alpha',\beta'$ -aziridinas peptídicas. Se entiende que las moléculas parentales se unen eficaz, irreversible y selectivamente a las hidrolasas nucleófilas N-terminales (Ntn), y pueden inhibir específicamente actividades particulares de las enzimas con múltiples actividades catalíticas.

**[0007]** Aunque una vez se pensó que el proteosoma simplemente se deshacía de las proteínas desnaturalizadas y mal plegadas, ahora se reconoce como una maquinaria proteolítica constituyente que regula los niveles de diversas proteínas intracelulares a través de su degradación de una forma dependiente de señales. Por lo tanto, existe un gran interés en identificar reactivos que puedan alterar específicamente las actividades del proteosoma y de otras hidrolasas Ntn, y usarse por tanto como sondas para estudiar el papel de estas enzimas en los procesos biológicos. En este documento se describen y se investigan compuestos que se dirigen a las Ntn. Se desvelan y se reivindican epóxidos peptídicos y azaridinas peptídicas que pueden inhibir potente, selectiva e irreversiblemente las actividades del proteosoma en particular.

**[0008]** Al contrario que muchos otros inhibidores basados en péptidos, no se espera que los epóxidos peptídicos y las azaridinas peptídicas descritos en este documento inhiban sustancialmente las proteasas no proteosómicas tales como tripsina, quimotripsina, catepsina B, padolor y calpaína a unas concentraciones de hasta 50  $\mu\text{M}$ . A unas concentraciones mayores puede observarse inhibición, pero se esperaría que fuera competitiva y no irreversible, si el inhibidor simplemente compite con el sustrato. También se espera que los nuevos epóxidos peptídicos y azaridinas peptídicas inhiban la activación del NF- $\kappa\text{B}$  y estabilicen los niveles de la p53 en un cultivo celular. Además, se esperaría que estos compuestos tuvieran una actividad antiinflamatoria. Por lo tanto, estos compuestos pueden ser unas sondas moleculares únicas, que tengan la versatilidad de explorar la función enzimática Ntn en procesos biológicos normales y patológicos.

**[0009]** En un aspecto, la invención proporciona inhibidores que comprenden un heteroátomo que contiene tres miembros anulares. Estos inhibidores pueden inhibir la actividad catalítica de las enzimas hidrolasas nucleófilas N-terminales (por ejemplo, el proteosoma 20S o el proteosoma 26S) cuando dicho inhibidor está presente a unas concentraciones por debajo de aproximadamente 50  $\mu\text{M}$ . Con respecto al proteosoma 20S, los inhibidores de la hidrolasa en particular inhiben la actividad de tipo quimotripsina del proteosoma 20S cuando el inhibidor está presente a unas concentraciones por debajo de aproximadamente 5  $\mu\text{M}$ , y no inhiben la actividad de tipo quimotripsina ni la actividad de PGPH del proteosoma 20S cuando están presentes a unas concentraciones por debajo de aproximadamente 5  $\mu\text{M}$ . El inhibidor de la hidrolasa puede ser, por ejemplo, una  $\alpha',\beta'$ -epoxi cetona peptídica o una  $\alpha',\beta'$ -aziridin cetona, y el péptido puede ser un tetrapéptido. El péptido puede incluir cadenas laterales ramificadas o no ramificadas tales como hidrógeno, alquilo  $\text{C}_{1-6}$ , hidroxialquilo  $\text{C}_{1-6}$ , alcoxialquilo  $\text{C}_{1-6}$ , arilo, aralquilo  $\text{C}_{1-6}$ , alquilamida  $\text{C}_{1-6}$ , alquilamina  $\text{C}_{1-6}$ , ácido carboxílico  $\text{C}_{1-6}$ , éster carboxílico  $\text{C}_{1-6}$ , alquiltio  $\text{C}_{1-6}$  o alquiltio éter  $\text{C}_{1-6}$ , por ejemplo isobutilo, 1-naftilo, fenilmetilo y 2-feniletilo. El carbono  $\alpha'$  de la  $\alpha',\beta'$ -epoxi cetona o de la  $\alpha',\beta'$ -aziridin cetona puede tener un átomo quiral, tal como un carbono configurado en (R) o  $\beta$ , según se definen éstos en este documento.

**[0010]** En otro aspecto, la invención proporciona composiciones farmacéuticas, que incluyen un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad farmacéuticamente eficaz del inhibidor de la hidrolasa, que mejora los efectos de las enfermedades neurodegenerativas (tales como la enfermedad de Alzheimer), de las enfermedades de atrofia muscular, del cáncer, de las enfermedades infecciosas crónicas, de la fiebre, de la inactividad muscular, de la desnervación, de las lesiones nerviosas, del ayuno y de estados inmunitarios, entre otras.

**[0011]** En otro aspecto, la invención proporciona compuestos y composiciones farmacéuticas que son biodisponibles por vía oral.

**[0012]** En otro aspecto, la invención proporciona composiciones antiinflamatorias.

**[0013]** En otro aspecto, la invención proporciona compuestos para su uso en procedimientos para lo

siguiente: inhibir o reducir la infección por VIH en un sujeto; afectar al nivel de expresión génica vírica en un sujeto; alterar la variedad de péptidos antigénicos producidos por el proteosoma en un organismo; determinar si un proceso o un resultado celular, de desarrollo o fisiológico en un organismo, está regulado por la actividad proteolítica de una hidrolasa Ntn en particular; tratar la enfermedad de Alzheimer en un sujeto; reducir la tasa de degradación proteica muscular en una célula; reducir la tasa de degradación proteica intracelular en una célula; reducir la tasa de degradación proteica de la p53 en una célula; inhibir el crecimiento de cánceres relacionados con la p53 en un sujeto; inhibir la presentación del antígeno en una célula; suprimir el sistema inmunitario de un sujeto; inhibir la degradación del I $\kappa$ B- $\alpha$  en un organismo; reducir el contenido del NF- $\kappa$ B en una célula, músculo, órgano o sujeto; afectar a los ciclos celulares eucariotas dependientes de ciclina; tratar enfermedades proliferativas en un sujeto; 10 afectar a la regulación dependiente del proteosoma de oncoproteínas en una célula; tratar el crecimiento canceroso en un sujeto; tratar la apoptosis relacionada con la p53 en un sujeto; y cribar proteínas procesadas por las hidrolasas nucleofilas N-terminales en una célula. Cada uno de estos procedimientos implica la administración o el contacto de una cantidad eficaz de una composición que comprende los inhibidores de hidrolasas descritos en este documento, a un sujeto, una célula, tejido, un órgano o un organismo.

15

**[0014]** Otras características y ventajas de la invención serán apreciables a partir de la siguiente descripción detallada, y a partir de las reivindicaciones.

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

20

**[0015]** La invención implica compuestos útiles como inhibidores enzimáticos. Estos compuestos son útiles generalmente para inhibir enzimas con un grupo nucleófilo en el N-terminal. Por ejemplo, pueden inhibirse con éxito las actividades de las enzimas o las subunidades enzimáticas con aminoácidos N-terminales con nucleófilos en sus cadenas laterales, tales como treonina, serina o cisteína, mediante los inhibidores enzimáticos descritos en este documento. Las actividades de enzimas o subunidades enzimáticas con grupos nucleófilos no aminoácidos en sus N-terminales, tales como, por ejemplo, grupos protectores o carbohidratos, también pueden ser inhibidas con éxito por los inhibidores enzimáticos descritos en este documento.

25

**[0016]** Se cree que dichos nucleófilos N-terminales de Ntn forman aductos covalentes con el grupo funcional epóxido de los inhibidores enzimáticos descritos en este documento. Por ejemplo, en la subunidad  $\beta$ 5/Pre2 del proteosoma 20S, se cree que la treonina N-terminal forma irreversiblemente un aducto de morfolino o piperacino tras la reacción con un epóxido peptídico o una aziridina tales como los descritos a continuación. Dicha formación del aducto implicaría una escisión con apertura del anillo del epóxido o de la aziridina.

30

**[0017]** En las formas de realización que incluyen dichos grupos unidos a carbonos a', la estereoquímica del carbono  $\alpha'$  (el carbono que forma parte del anillo de epóxido o de aziridina) puede ser (R) o (S). La invención se basa, en parte, en la información de estructura-función desvelada en este documento, que sugiere las siguientes relaciones estereoquímicas preferidas. Nótese que un compuesto preferido puede tener un número de estereocentros con la relación arriba-abajo (o  $\beta$ - $\alpha$ , en la que  $\beta$ , según se ha dibujado en este documento, está por encima del plano de la página) o (R) - (S) indicada (es decir, no se requiere que todos los estereocentros del compuesto se ajusten a las preferencias establecidas). En algunas formas de realización, la estereoquímica del carbono  $\alpha'$  es (R), es decir, el átomo X está en  $\beta$ , o por encima del plano de la molécula.

35

40

**[0018]** Con respecto a la estereoquímica, se siguen las reglas de Cahn-Ingold-Prelog para la determinación de la estereoquímica absoluta. Estas reglas se describen, por ejemplo, en Organic Chemistry, Fox y Whitesell; Jones y Bartlett Publishers, Boston, MA (1994); Sección 5 - 6, págs. 177 - 178, que se incorpora al presente documento como referencia. Los péptidos pueden tener una estructura del esqueleto repetitiva con cadenas laterales que se extienden desde las unidades de esqueleto. Generalmente, cada unidad de esqueleto tiene una cadena lateral asociada a él, aunque en algunos casos, la cadena lateral es un átomo de hidrógeno. En otras formas de realización, no todas las unidades del esqueleto tienen una cadena lateral asociada. Los péptidos útiles en los epóxidos peptídicos o las aziridinas peptídicas tienen dos o más unidades de esqueleto. En algunas formas de realización útiles para la inhibición de la actividad de tipo quimotripsina (CT-L) del proteosoma, hay presentes entre dos y cuatro unidades de esqueleto, y en algunas formas de realización preferidas para la inhibición de la CT-L, hay presentes tres unidades de esqueleto.

45

50

55

**[0019]** Las cadenas laterales que se extienden desde las unidades de esqueleto pueden incluir cadenas laterales de aminoácidos naturales alifáticos o aromáticos, tales como hidrógeno (glicina), metilo (alanina), isopropilo (valina), sec-butilo (isoleucina), isobutilo (leucina), fenilmetilo (fenilalanina), y la cadena lateral que constituye el aminoácido prolina. Las cadenas laterales también pueden ser otros grupos alifáticos o aromáticos ramificados o no

ramificados tales como etilo, n-propilo, n-butilo, t-butilo, y derivados de arilo sustituido tales como 1-feniletilo, 2-feniletilo, (1-naftil) metilo, (2-naftil) metilo, 1-(1-naftil) etilo, 1-(2-naftil) etilo, 2-(1-naftil) etilo, 2-(2-naftil) etilo y compuestos similares. Los grupos arilo pueden estar adicionalmente sustituidos con grupos alquilo C<sub>1-6</sub> ramificados o no ramificados, o grupos alquilo sustituidos, acetilo y similares, o grupos arilo adicionales, o grupos arilo

5 sustituidos, tales como benzoilo y similares. También pueden usarse grupos heteroarilo y heterociclilo como sustituyentes de las cadenas laterales. Algunos grupos heteroarilo incluyen grupos arilo que contienen nitrógeno, oxígeno y azufre tales como tienilo, benzotienilo, naftotienilo, tiantrenilo, furilo, piranilo, isobenzofuranilo, cromenilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, piridilo, pirazinilo, indolilo, purinilo, quinolilo y similares. Algunos grupos heterociclilo incluyen tetrahidrofurano, piperidina, piperacina, pirrolidina, morfolina, lactones, lactamas y similares.

10 **[0020]** En algunas formas de realización, pueden introducirse residuos polares o cargados en los epóxidos peptídicos o en las aziridinas peptídicas. Por ejemplo, pueden introducirse aminoácidos naturales tales como los que contienen hidroxilo (Thr, Tyr, Ser) o azufre (Met, Cys), así como aminoácidos no esenciales, por ejemplo, taurina, carnitina, citrulina, cistina, ornitina, norleucina y otros. También pueden incluirse sustituyentes con cadenas laterales

15 no naturales cargadas o polares, tales como, por ejemplo, cadenas de alquilo C<sub>1-6</sub> o grupos arilo C<sub>6-12</sub> con uno o más grupos hidroxí, alcoxi de cadena corta, sulfuro, tio, carboxilo, ester, fosfo, amido o amino, o dichos sustituyentes sustituidos con uno o más átomos de halógeno. En algunas formas de realización preferidas, hay presente al menos un grupo arilo en una cadena lateral de la fracción peptídica.

20 **[0021]** En algunas formas de realización, las unidades de esqueleto son unidades de amida [-NH-CHR-C(=O)-], en las que R es la cadena lateral. Dicha denominación no excluye el aminoácido natural prolina, u otros aminoácidos secundarios cíclicos no naturales, que serán reconocidos por los expertos en la técnica.

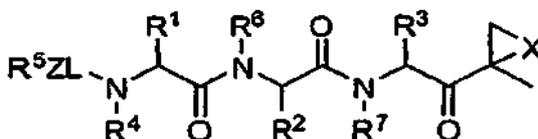
**[0022]** En otras formas de realización, las unidades de esqueleto son unidades de amida N-alquilada (por ejemplo, N-metilo y similares), análogos olefínicos (en los que uno o más enlaces amida están sustituidos por enlaces olefínicos), análogos de tetrazol (en los que el anillo de tetrazol impone una configuración en cis al esqueleto), o combinaciones de dichas uniones de esqueletos. En otras forma de realización más, el carbono  $\alpha$  del aminoácido se modifica mediante una sustitución  $\alpha$ -alquímica, por ejemplo, ácido aminoisobutírico. En algunas formas de realización adicionales, las cadenas laterales se modifican localmente, por ejemplo, mediante una

25 deshidromodificación  $\Delta^E$  o  $\Delta^Z$ , en la que hay un doble enlace presente entre los átomos  $\alpha$  y  $\beta$  de la cadena lateral, o por ejemplo, mediante una modificación ciclopropílica  $\Delta^E$  o  $\Delta^Z$ , en la que hay un grupo ciclopropilo presente entre los átomos  $\alpha$  y  $\beta$  de la cadena lateral. En otras formas de realización adicionales más que emplean grupos amino ácidos, pueden usarse D-aminoácidos. Algunas formas de realización adicionales pueden incluir una ciclación entre

30 la cadena lateral y el esqueleto, una formación de puentes de disulfuro, una formación de lactama, un enlace azo y otras modificaciones analizadas en "Peptides and Mimics, Design of Conformationally Constrained" de Hruby y Boteju, en "Molecular Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference", ed. Robert A. Meyers, VCH Publishers (1995), págs. 658 - 664.

**[0023]** Un aspecto de la invención se refiere a compuestos que tienen una estructura de fórmula (I) o a una

40 sal farmacéuticamente aceptable de los mismos:



(I)

en la que

45 L se elige de entre C=O, C=S, preferiblemente C=O;

X se elige de entre O, S, NH, y N-alquilo C<sub>1-6</sub>;

50 Z está ausente, es alquilo C<sub>1-6</sub>, o alcoxi C<sub>1-6</sub>, preferiblemente está ausente;

$R^1$ ,  $R^2$ , y  $R^3$  se elige cada uno independientemente de entre hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$ , alquenilo  $C_{1-6}$ , alquinilo  $C_{1-6}$ , hidroxialquilo  $C_{1-6}$ , alcoxialquilo  $C_{1-6}$ , arilo, aralquilo  $C_{1-6}$ , heteroarilo, heterociclo, heterocicloalquilo  $C_{1-6}$ , heteroaralquilo  $C_{1-6}$ , carbociclo y carbocicloalquilo  $C_{1-6}$ ;

5  $R^4$  se elige de entre hidrógeno, aralquilo  $C_{1-6}$  y alquilo  $C_{1-6}$ ;

$R^5$  es heteroarilo; y

$R^6$  y  $R^7$  se eligen independientemente de entre hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$  y aralquilo  $C_{1-6}$ .

10

**[0024]** En ciertas formas de realización,  $R^1$ ,  $R^2$ , y  $R^3$  se eligen independientemente de entre hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$ , hidroxialquilo  $C_{1-6}$ , alcoxialquilo  $C_{1-6}$ , aralquilo  $C_{1-6}$ , heterocicloalquilo  $C_{1-6}$ , heteroaralquilo  $C_{1-6}$  y carbocicloalquilo  $C_{1-6}$ . En ciertas formas de realización, cualquiera de  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  son independientemente alquilo  $C_{1-6}$  elegido de entre metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo e isobutilo. En ciertas formas de realización, cualquiera de  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  son independientemente hidroxialquilo  $C_{1-6}$ . En ciertas de dichas formas de realización preferidas, cualquiera de  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  se eligen independientemente de entre hidroximetilo y hidroxietilo, preferiblemente hidroximetilo. En ciertas formas de realización, cualquiera de  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  son independientemente alcoxialquilo  $C_{1-6}$ . En ciertas de dichas formas de realización, cualquiera de  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  se eligen independientemente de entre metoximetilo y metoxietilo, preferiblemente metoximetilo. En ciertas formas de realización, cualquiera de  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  son independientemente heteroaralquilo  $C_{1-6}$ . En ciertas de dichas formas de realización, cualquiera de  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  se eligen independientemente de entre imidazolimetilo, pirazolimetilo y tiazolimetilo y piridimetilo, preferiblemente imidazol-4-ilmetilo, tiazol-4-ilmetilo, 2-piridimetilo, 3-piridimetilo o 4-piridimetilo. En ciertas formas de realización, cualquiera de  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  son independientemente aralquilo  $C_{1-6}$ . En ciertas de dichas formas de realización, cualquiera de  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  se eligen independientemente de entre fenilmetil (bencilo) y feniletilo, preferiblemente fenilmetilo. En ciertas formas de realización, cualquiera de  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  son independientemente carbocicloalquilo  $C_{1-6}$ . En ciertas de dichas formas de realización  $R^1$  es ciclohexilmetilo. En ciertas formas de realización  $R^1$ ,  $R^2$ , y  $R^3$  son todos diferentes. En ciertas formas de realización, dos cualesquiera de  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  son iguales. En ciertas formas de realización,  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  son todos iguales.

30 **[0025]** En ciertas formas de realización, al menos uno de  $R^1$  y  $R^2$  se elige de entre hidroxialquilo  $C_{1-6}$  y alcoxialquilo  $C_{1-6}$ . En ciertas de dichas formas de realización, al menos uno de  $R^1$  y  $R^2$  es alcoxialquilo. En ciertas de dichas formas de realización, al menos uno de  $R^1$  y  $R^2$  se elige de entre metoximetilo y metoxietilo.

35 **[0026]** En ciertas formas de realización,  $R^3$  se elige de entre alquilo  $C_{1-6}$  y aralquilo  $C_{1-6}$ , preferiblemente alquilo  $C_{1-6}$ . En ciertas de dichas formas de realización,  $R^3$  se elige de entre metilo, etilo, isopropilo, sec-butilo e isobutilo. En ciertas de dichas formas de realización  $R^3$  es isobutilo. En ciertas formas de realización alternativas,  $R^3$  se elige de entre fenilmetilo y feniletilo, preferiblemente fenilmetilo.

40 **[0027]** En ciertas formas de realización,  $R^4$ ,  $R^6$  y  $R^7$  se eligen independientemente de entre hidrógeno y metilo, preferiblemente hidrógeno.

45 **[0028]** En ciertas formas de realización,  $R^5$  es un heteroarilo de 5 ó 6 miembros. En ciertas de dichas formas de realización,  $R^5$  se elige de entre isoxazol, isotiazol, furano, tiofeno, oxazol, tiazol, pirazol o imidazol, preferiblemente isoxazol, furano o tiazol.

**[0029]** En ciertas formas de realización,  $R^5$  es un heteroarilo bicíclico. En ciertas de dichas formas de realización el heteroarilo bicíclico se elige de entre benzoisoxazol, benzoxazol, benzotiazol, benzoisotiazol.

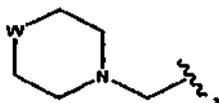
50 **[0030]** En ciertas formas de realización, L es C=O, Z está ausente, y  $R^5$  es un isoxazol-3-ilo o isoxazol-5-ilo. En ciertas de dichas formas de realización preferidas, cuando el isoxazol-3-ilo está sustituido, está sustituido al menos en la posición 5. En ciertas de dichas formas de realización preferidas, cuando el isoxazol-5-ilo está sustituido, está sustituido al menos en la posición 3.

55 **[0031]** En ciertas formas de realización, L es C=O, Z está ausente, y  $R^5$  es un isoxazol-3-ilo no sustituido.

**[0032]** En ciertas formas de realización, L es C=O, Z está ausente, y  $R^5$  es un isoxazol-3-ilo sustituido. En ciertas de dichas formas de realización,  $R^5$  es isoxazol-3-ilo sustituido con un sustituyente elegido de entre alquilo  $C_{1-6}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ , alcoxialquilo  $C_{1-6}$ , hidroxialquilo  $C_{1-6}$ , ácido carboxílico, aminocarboxilato, alquilaminocarboxilato  $C_{1-6}$ , aminocarboxilato (alquilo  $C_{1-6}$ )<sub>2</sub>, alquilcarboxilato  $C_{1-6}$ , heteroaralquilo  $C_{1-6}$ , aralquilo  $C_{1-6}$ , heterocicloalquilo  $C_{1-6}$  y

carbocicloalquilo C<sub>1-6</sub>. En ciertas de dichas formas de realización preferidas R<sup>5</sup> es isoxazol-3-ilo sustituido con un sustituyente elegido de entre metilo, etilo, isopropilo y ciclopropilmetilo.

**[0033]** En ciertas formas de realización L es C=O, Z está ausente, y R<sup>5</sup> es isoxazol-3-ilo sustituido con un heterocicloalquilo C<sub>1-6</sub> de 4 a 6 miembros que contiene nitrógeno. En ciertas de dichas formas de realización, R<sup>5</sup> es isoxazol-3-ilo sustituido con azetidil-metilo, preferiblemente azetidil-1-il-metilo. En ciertas de dichas formas de realización alternativas, L es C=O, Z está ausente, y R<sup>5</sup> es isoxazol-3-ilo sustituido con



10

en la que W es O, NR o CH<sub>2</sub>, y R es H o alquilo C<sub>1-6</sub>. En ciertas de dichas formas de realización, W es O.

**[0034]** En ciertas formas de realización, L es C=O, Z está ausente, y R<sup>5</sup> es isoxazol-3-ilo sustituido con un heterocicloalquilo C<sub>1-6</sub> de 5 miembros que contiene nitrógeno, tal como pirazolilmetilo, imidazolilmetilo, triazol-5-il-metilo, preferiblemente 1,2,4-triazol-5-ilmetilo.

**[0035]** En ciertas formas de realización, L es C=O, Z está ausente, y R<sup>5</sup> es isoxazol-3-ilo sustituido con alcoxi C<sub>1-6</sub> o alcoxilquilo C<sub>1-6</sub>, preferiblemente metoxi, etoxi, metoximetilo o metoxietilo.

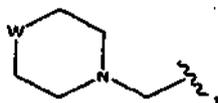
**[0036]** En ciertas formas de realización, L es C=O, Z está ausente, y R<sup>5</sup> es isoxazol-3-ilo sustituido con hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, preferiblemente hidroximetilo o hidroxietilo.

**[0037]** En ciertas formas de realización, L es C=O, Z está ausente, y R<sup>5</sup> es isoxazol-3-ilo sustituido con un ácido carboxílico, aminocarboxilato, alquilaminocarboxilato C<sub>1-6</sub>, aminocarboxilato (alquilo C<sub>1-6</sub>)<sub>2</sub> o alquilcarboxilato C<sub>1-6</sub>. En ciertas de dichas formas de realización, R<sup>5</sup> está sustituido con carboxilato de metilo o carboxilato de etilo, preferiblemente carboxilato de metilo.

**[0038]** En ciertas formas de realización, L es C=O, Z está ausente, y R<sup>5</sup> es un isoxazol-5-ilo no sustituido.

**[0039]** En ciertas formas de realización, L es C=O, Z está ausente, y R<sup>5</sup> es un isoxazol-3-ilo sustituido. En ciertas de dichas formas de realización, R<sup>5</sup> es isoxazol-5-ilo sustituido con un sustituyente elegido de entre alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, alcoxilquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, ácido carboxílico, aminocarboxilato, alquilaminocarboxilato C<sub>1-6</sub>, aminocarboxilato (alquilo C<sub>1-6</sub>)<sub>2</sub>, alquilcarboxilato C<sub>1-6</sub>, heteroaralquilo C<sub>1-6</sub>, aralquilo C<sub>1-6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>1-6</sub> y carbocicloalquilo C<sub>1-6</sub>. En ciertas de dichas formas de realización preferidas R<sup>5</sup> es isoxazol-3-ilo sustituido con un sustituyente elegido de entre metilo, etilo, isopropilo y ciclopropilmetilo.

**[0040]** En ciertas formas de realización L es C=O, Z está ausente, y R<sup>5</sup> es isoxazol-3-ilo sustituido con un heterocicloalquilo C<sub>1-6</sub> de 4 a 6 miembros que contiene nitrógeno. En ciertas de dichas formas de realización, R<sup>5</sup> es isoxazol-5-ilo sustituido con azetidil-metilo, preferiblemente azetidil-1-il-metilo. En ciertas de dichas formas de realización alternativas, L es C=O, Z está ausente, y R<sup>5</sup> es isoxazol-3-ilo sustituido con



45

en la que W es O, NR o CH<sub>2</sub>, y R es H o alquilo C<sub>1-6</sub>. En ciertas de dichas formas de realización, W es O.

**[0041]** En ciertas formas de realización, L es C=O, Z está ausente, y R<sup>5</sup> es isoxazol-5-ilo sustituido con heteroaralquilo C<sub>1-6</sub> de 5 miembros que contiene nitrógeno, tal como pirazolilmetilo, imidazolilmetilo, triazol-5-il-metilo, preferiblemente 1,2,4-triazol-5-ilmetilo.

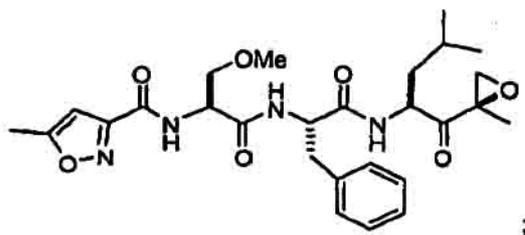
**[0042]** En ciertas formas de realización, L es C=O, Z está ausente, y R<sup>5</sup> es isoxazol-5-ilo sustituido con alcoxi C<sub>1-6</sub> o alcoxilquilo C<sub>1-6</sub>, preferiblemente metoxi, etoxi, metoximetilo o metoxietilo.

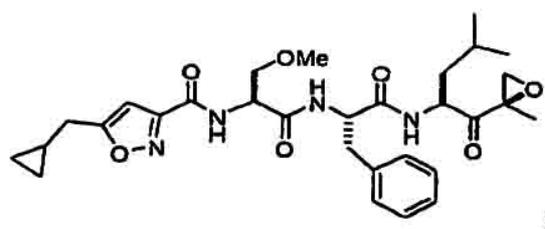
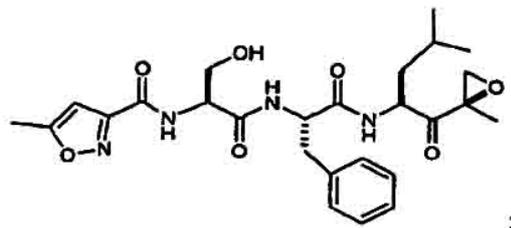
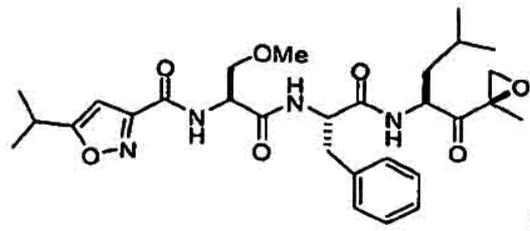
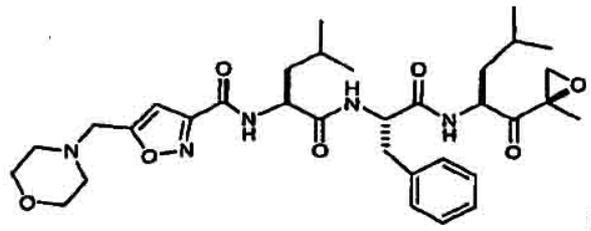
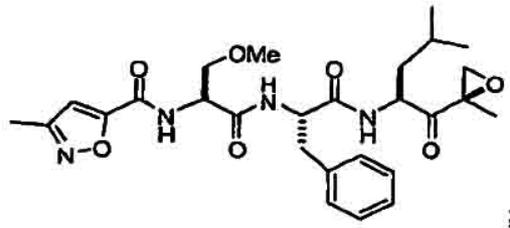
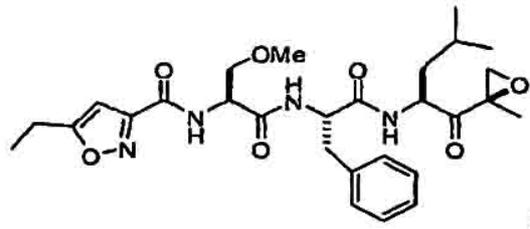
**[0043]** En ciertas formas de realización, L es C=O, Z está ausente, y R<sup>5</sup> es isoxazol-5-ilo sustituido con hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, preferiblemente hidroximetilo o hidroxietilo.

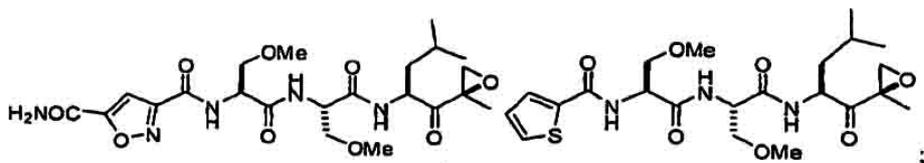
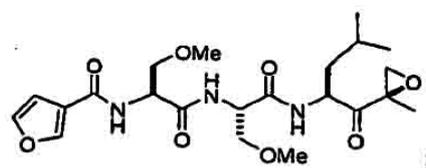
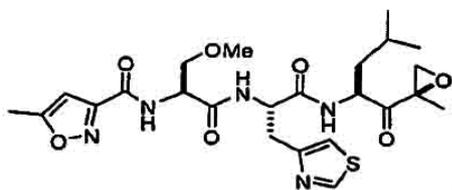
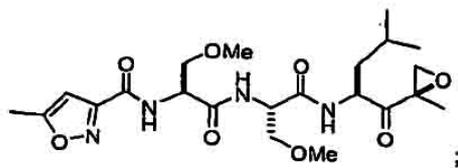
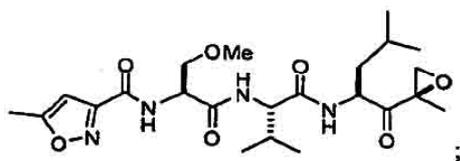
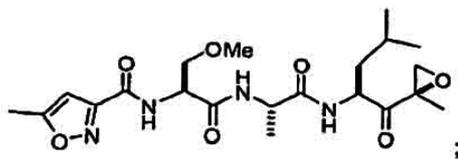
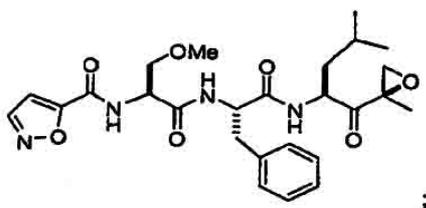
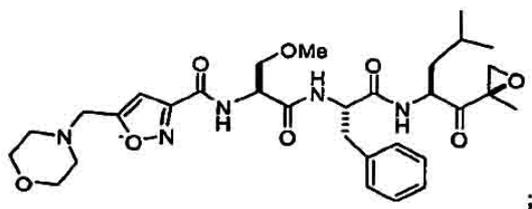
**[0044]** En ciertas formas de realización, L es C=O, Z está ausente, y R<sup>5</sup> es isoxazol-3-ilo sustituido con un ácido carboxílico, aminocarboxilato, alquilaminocarboxilato C<sub>1-6</sub>, aminocarboxilato (alquilo C<sub>1-6</sub>)<sub>2</sub> o alquilcarboxilato C<sub>1-6</sub>. En ciertas de dichas formas de realización, R<sup>5</sup> está sustituido con carboxilato de metilo o carboxilato de etilo, preferiblemente carboxilato de metilo.

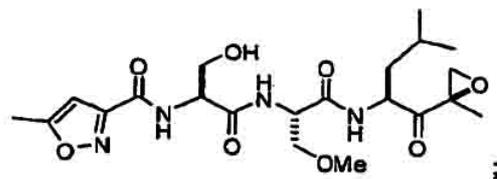
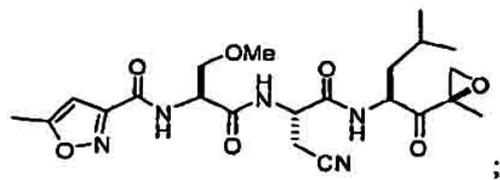
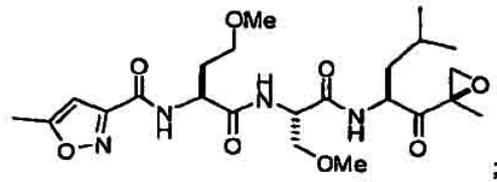
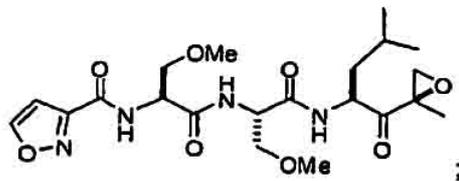
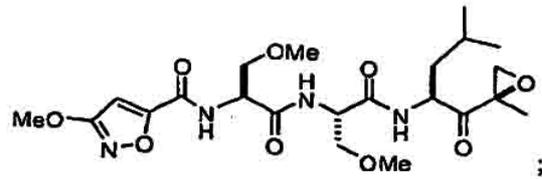
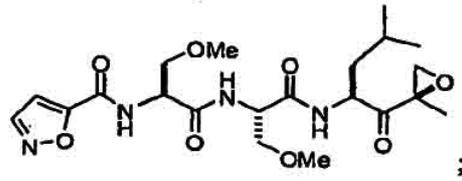
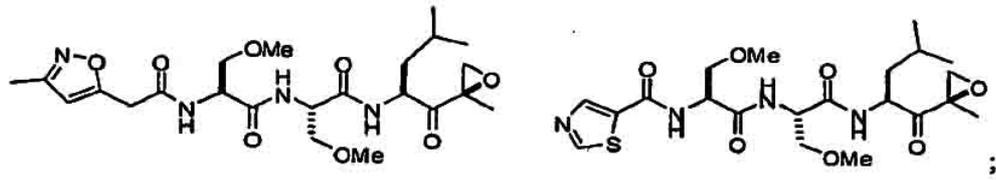
**[0045]** En ciertas formas de realización, un compuesto de fórmula I se elige de entre

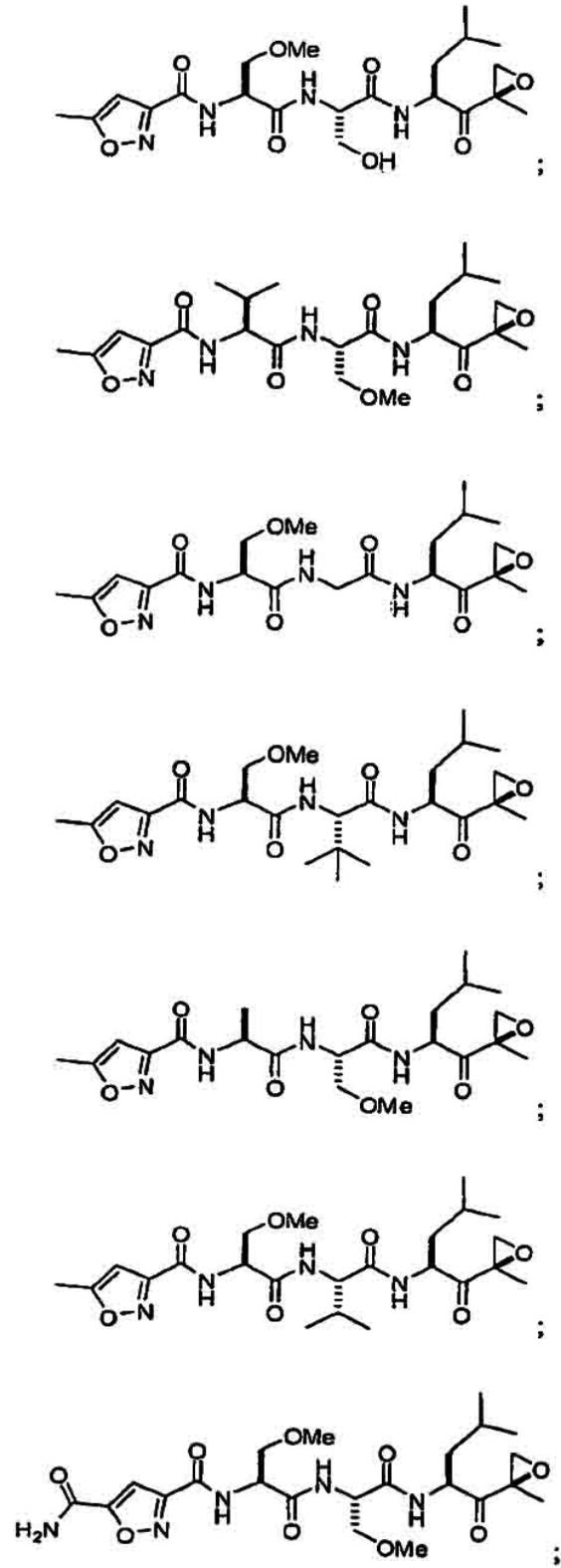
10

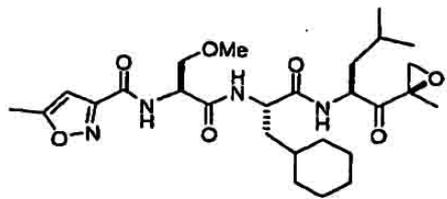
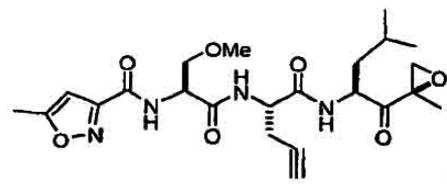
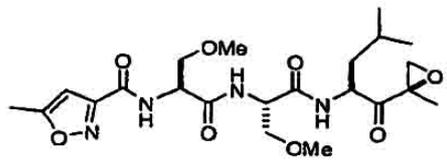
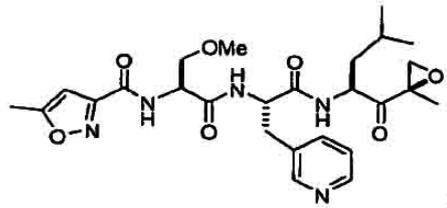
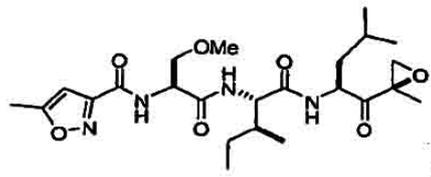
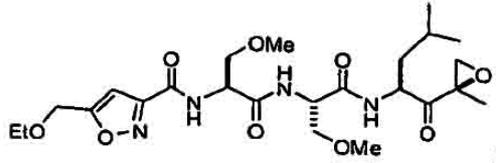
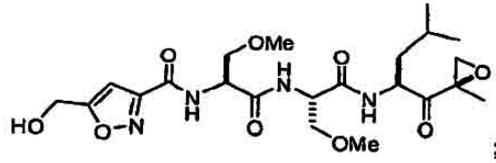


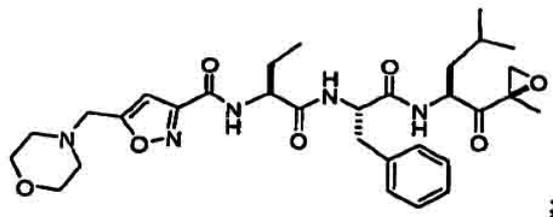
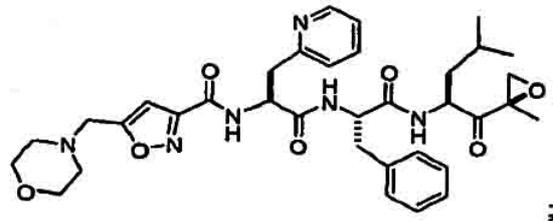
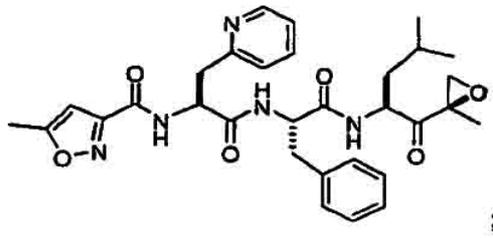
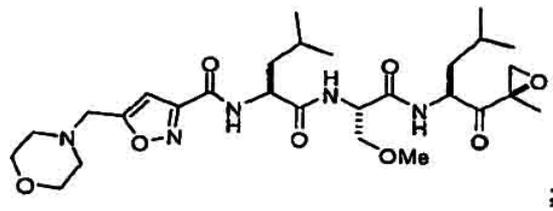
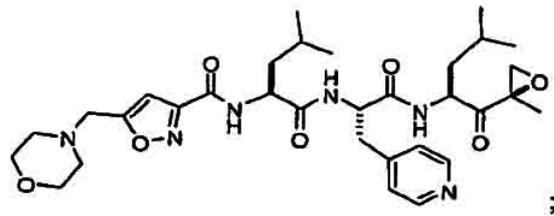
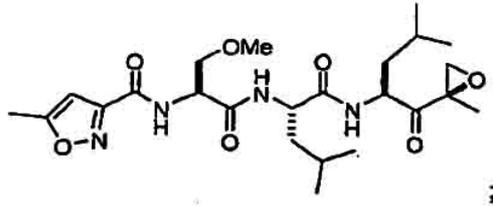


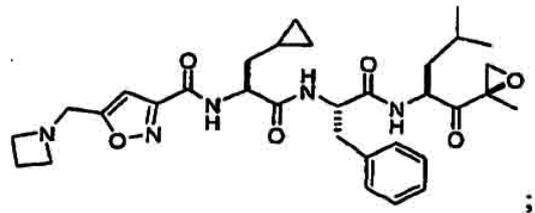
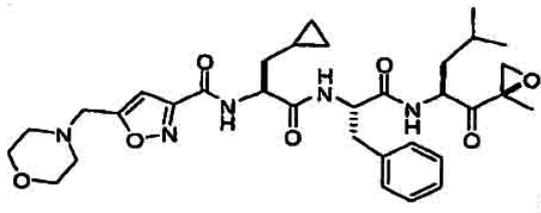
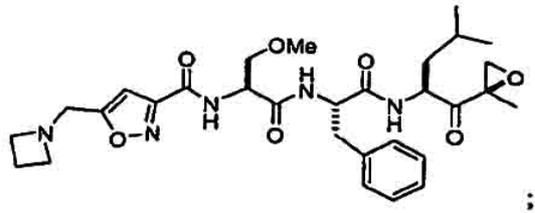
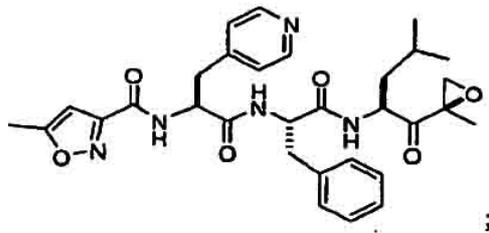
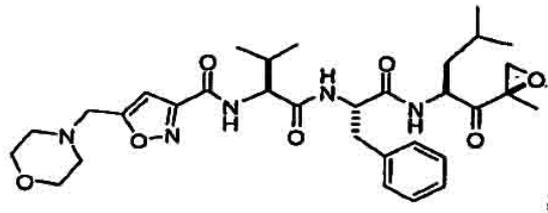
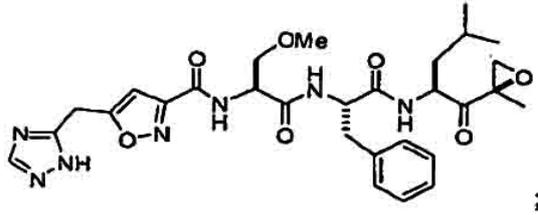


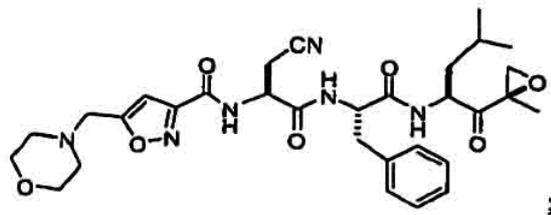
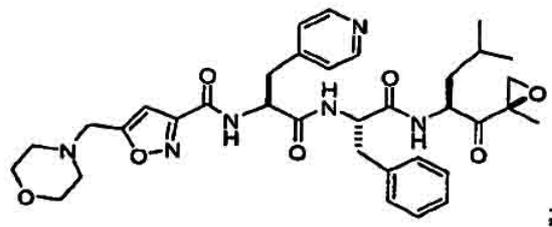
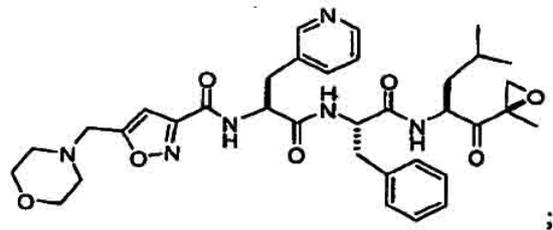
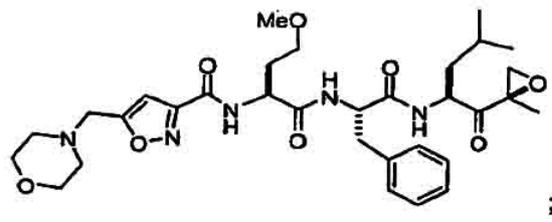
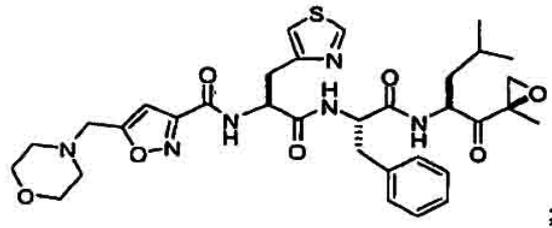
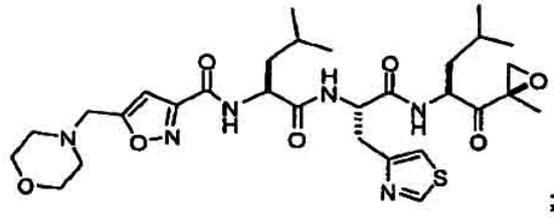


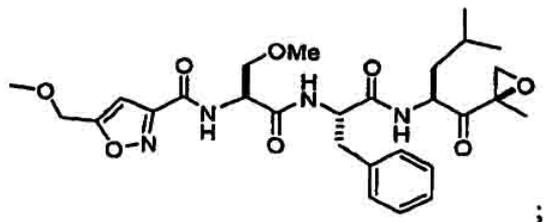
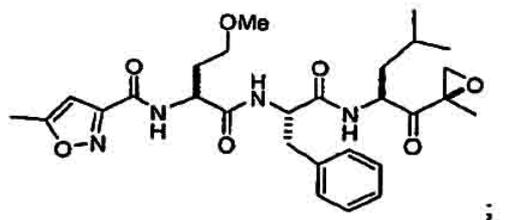
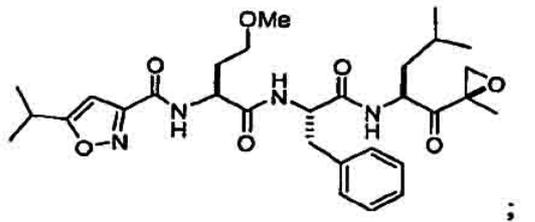
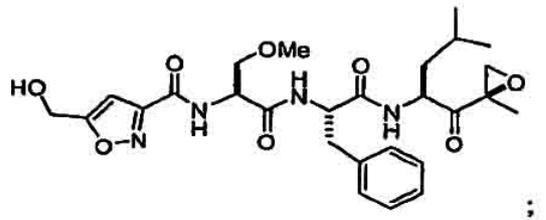
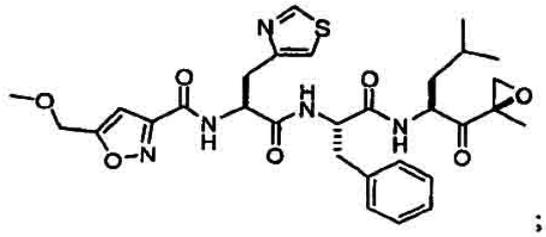
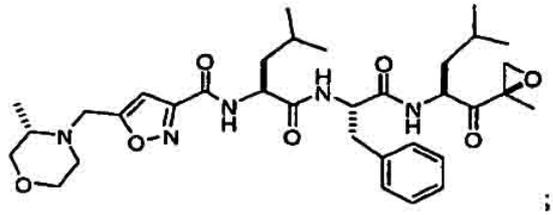


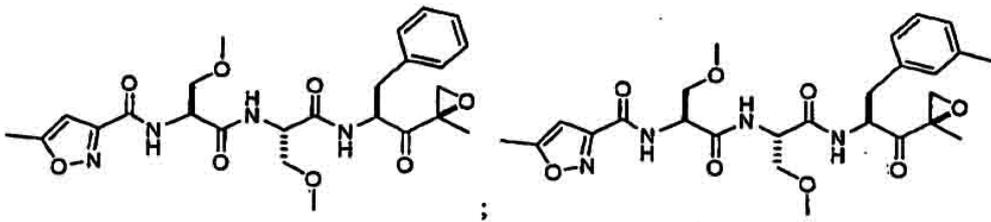
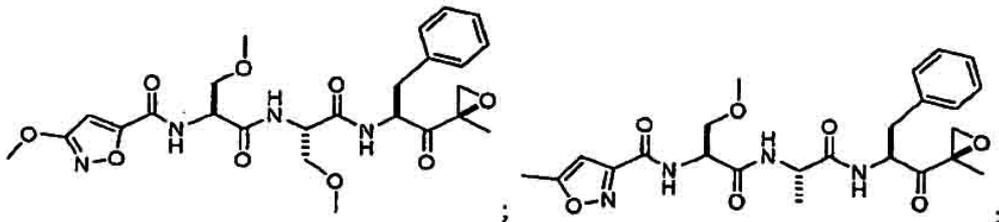
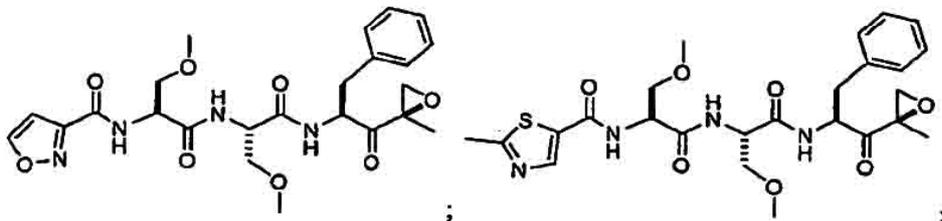
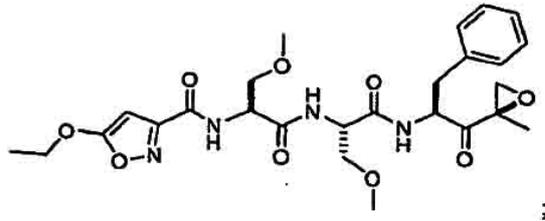
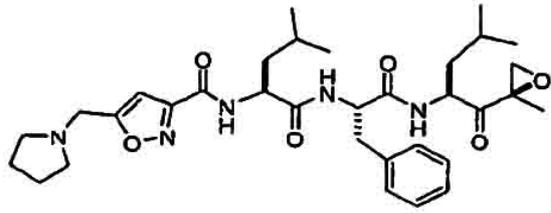
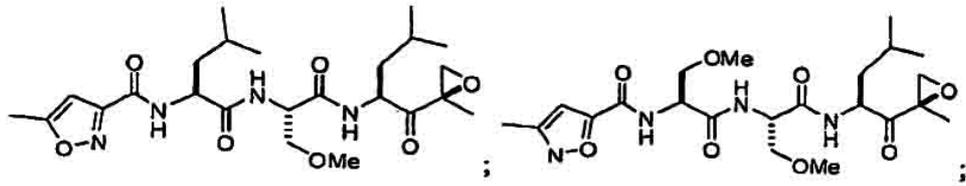


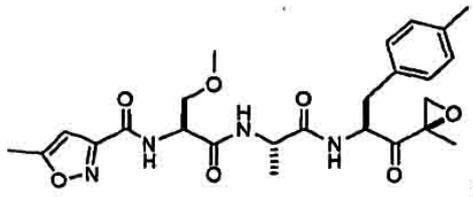
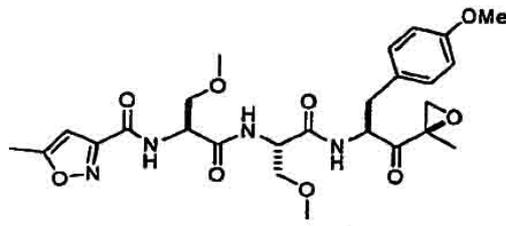
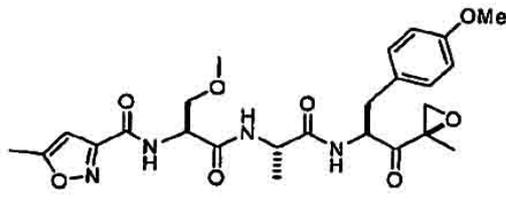
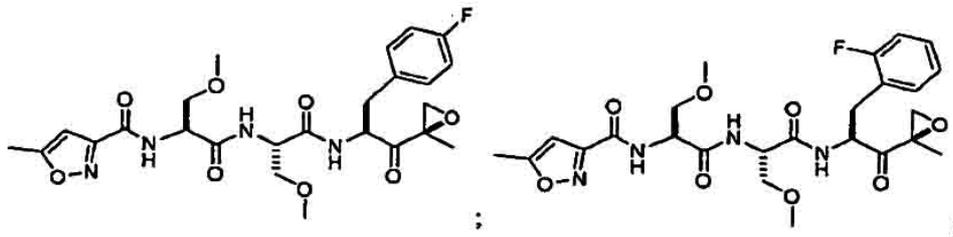
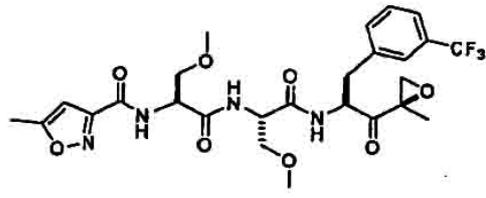
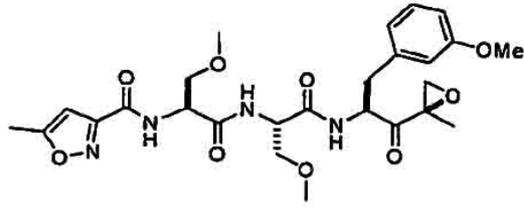


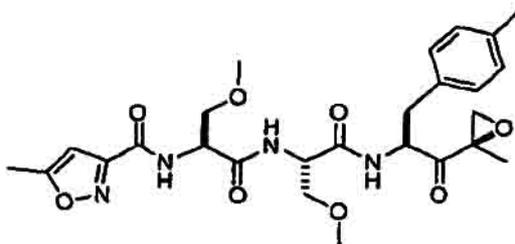












- [0046]** También se describe un dispositivo médico que incluye la composición desvelada en este documento, que incluye un inhibidor con una estructura de fórmula I. En una forma de realización, la composición está incorporada en un dispositivo médico. En ciertas formas de realización, el dispositivo médico es un gel que comprende una matriz polimérica o una matriz cerámica, y un inhibidor. Dicho polímero puede ser natural o sintético. En otra forma de realización, dicho gel sirve como depósito de un fármaco, un adhesivo, una sutura, una barrera o un sellante.
- 10 **[0047]** También se describe un dispositivo médico que comprende un sustrato con una superficie en la que hay dispuesto un inhibidor con una estructura de fórmula I. En una forma de realización, el inhibidor está dispuesto directamente sobre un dispositivo médico. En otra forma de realización, hay un recubrimiento así dispuesto, comprendiendo el recubrimiento una matriz polimérica o una matriz cerámica con un inhibidor con una estructura de fórmula I dispersado o disuelto en la misma.
- 15 **[0048]** En una forma de realización, el dispositivo médico es una endoprótesis coronaria, vascular, periférica o biliar. Más particularmente, la endoprótesis de la presente invención es una endoprótesis expandible. Cuando está recubierta con una matriz que contiene un inhibidor con una estructura de fórmula I, la matriz es flexible para acomodar los estados comprimido y expandido de dicha endoprótesis expandible. En otra forma de realización de esta invención, la endoprótesis tiene al menos una porción que es insertable o implantable en el cuerpo de un paciente, en la que la porción tiene una superficie que está adaptada para su exposición a los tejidos corporales, y en la que al menos una parte de la superficie está recubierta con un inhibidor con una estructura de fórmula I, o hay un recubrimiento que comprende una matriz con un inhibidor con una estructura de fórmula I disperso o disuelto en la misma. Un ejemplo de una endoprótesis adecuada se desvela en la Patente de EE.UU. Nº 4.733.665.
- 25 **[0049]** En otra forma de realización, el dispositivo médico descrito es un implante quirúrgico tal como un implante vascular, un dispositivo intraluminal, un sellante quirúrgico o un soporte vascular. Más particularmente, el dispositivo médico es un catéter, un puerto de acceso vascular implantable, un catéter venoso central, o un catéter arterial, un injerto vascular, una bomba de globo intraaórtica, una sutura, una bomba de asistencia ventricular, una barrera que eluye fármaco, un adhesivo, un vendaje vascular, un soporte extra/perivascular, un filtro de sangre o un filtro adaptado para ser desplegado en un vaso sanguíneo, recubierto con un inhibidor con una estructura de fórmula I bien directamente o bien mediante una matriz que contiene un inhibidor con una estructura de fórmula I.
- 30 **[0050]** En ciertas formas de realización, el dispositivo médico intraluminal está recubierto con un inhibidor con una estructura de fórmula I o un recubrimiento que comprende una matriz tolerada biológicamente y un inhibidor con una estructura de fórmula I dispersado en el polímero, teniendo dicho dispositivo una superficie interior y una superficie exterior, teniendo el recubrimiento aplicado en al menos una parte de la superficie interior, de la superficie exterior o de ambas.
- 40 **[0051]** En ciertas formas de realización, el dispositivo médico puede ser útil para prevenir una reestenosis después de una angioplastia. El dispositivo médico también puede ser útil para el tratamiento de varias enfermedades y estados proporcionando la administración localizada de un inhibidor con una estructura de fórmula I. Dichas enfermedades y estados incluyen reestenosis, inflamación, artritis reumatoide, lesiones tisulares debidas a inflamación, enfermedades hiperproliferativas, psoriasis grave o artrítica, enfermedades de atrofia muscular, enfermedades infecciosas crónicas, respuestas inmunitarias anormales, estados que implican placas vulnerables, lesiones relacionadas con estados isquémicos e infecciones y proliferaciones víricas. Algunos ejemplos de enfermedades y estados que se someten a un tratamiento que incluye los dispositivos médicos recubiertos con el fármaco de la presente invención incluyen aterosclerosis, síndrome coronario agudo, enfermedad de Alzheimer, cáncer, fiebre, inactividad muscular (atrofia), desnervación, oclusiones vasculares, apoplejía, infección por VIH, lesiones nerviosas, fracaso renal asociado con acidosis y fracaso hepático. Véase, por ejemplo, Goldberg, Patente
- 50

de EE.UU. N° 5.340.736.

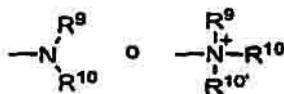
**[0052]** El término "alquilo C<sub>x-y</sub>" se refiere a grupos de hidrocarburos saturados sustituidos o no sustituidos que incluyen grupos alquilo de cadena lineal y alquilo de cadena ramificada que contienen entre x e y carbonos en la cadena, que incluyen grupos haloalquilo tales como trifluorometilo y 2,2,2-trifluoroetilo, etc. Alquilo C<sub>0</sub> indica un hidrógeno cuando el grupo está en una posición terminal, un enlace si es interna. 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 a posibles sustituciones en los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un doble o un triple enlace, respectivamente.

**[0053]** El término "alcoxi" se refiere a un grupo alquilo con un oxígeno unido al mismo. Algunos grupos alcoxi representativos incluyen metoxi, etoxi, propoxi, terc-butoxi y similares. Un "éter" es dos hidrocarburos unidos covalentemente por un oxígeno. Consecuentemente, el sustituyente de un alquilo que hace que el alquilo sea un éter es o se parece a un alcoxi.

**[0054]** 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 así un éter.

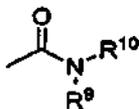
**[0055]** El término "aralquilo C<sub>1-6</sub>", según se usa en este documento, se refiere a un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con un grupo arilo.

**[0056]** Los términos "amina" y "amino" están reconocidos en la técnica y se refieren tanto a aminas sustituidas como no sustituidas y a sales de las mismas, por ejemplo, una fracción que puede ser representada por las fórmulas generales:



en las que R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup> y R<sup>10'</sup> representan cada uno independientemente un hidrógeno, un alquilo, un alqueno, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sup>8</sup>, o R<sup>9</sup> y R<sup>10'</sup> tomados junto con el átomo de N al que están unido, completan un heterociclilo con entre 4 y 8 átomos en la estructura anular; R<sup>8</sup> representa un arilo, un cicloalquilo, un cicloalqueno, un heterociclilo o un policiclilo; y m es cero o un número entero de 1 a 8. En las formas de realización preferidas, sólo uno de R<sup>9</sup> o R<sup>10'</sup> puede ser un carbonilo, por ejemplo, R<sup>9</sup>, R<sup>10'</sup> y el nitrógeno no forman conjuntamente una imida. En las formas de realización aún más preferidas, R<sup>9</sup> y R<sup>10'</sup> (y opcionalmente R<sup>10'</sup>) representan cada uno independientemente un hidrógeno, un alquilo, un alqueno o -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sup>8</sup>. En ciertas formas de realización, el grupo amino es básico, lo que significa que la forma protonada tiene un pK<sub>a</sub> ≥ 7,00.

**[0057]** Los términos "amida" y "amido" están reconocidos en la técnica como un carbonilo sustituido con un amino e incluye una fracción que puede ser representada por la fórmula general:



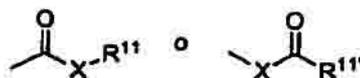
en la que R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup> son como se han definido anteriormente. Las formas de realización preferidas de la amida no incluirán las imidas, que pueden ser inestables.

**[0058]** El término "arilo" según se usa en este documento incluye grupos aromáticos monoanulares sustituidos o no sustituidos de 5, 6 y 7 miembros en los que cada átomo del anillo es carbono. El término "arilo" también incluye sistemas anulares policíclicos con dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes en los que al menos uno de los anillos es aromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenos, cicloalquinos, arilos, heteroarilos y/o heterociclilos. Algunos grupos arilo incluyen benceno, naftaleno, fenantreno, fenol, anilina y similares.

**[0059]** Los términos "carbociclo" y "carbociclilo", según se usan en este documento este documento, se

refieren a un anillo no aromático sustituido o no sustituido en el que cada átomo del anillo es carbono. Los términos "carbociclo" y "carbociclilo" también incluyen sistemas anulares policíclicos con dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes en los que al menos uno de los anillos es carbocíclico, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclilos.

**[0060]** El término "carbonilo" está reconocido en la técnica e incluye fracciones tales que pueden ser representadas por la fórmula general:



10

en la que X es un enlace o representa un oxígeno o un azufre, y  $R^{11}$  representa un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo,  $-(\text{CH}_2)_m\text{R}^8$  o una sal farmacéuticamente aceptable,  $R^{11}$  representa un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo o  $-(\text{CH}_2)_m\text{R}^8$ , en la que m y  $R^8$  son como se han definido anteriormente. Cuando X es un oxígeno y  $R^{11}$  o  $R^{11}$  no son hidrógeno, la fórmula representa un "éster". Cuando X es un oxígeno y  $R^{11}$  es un hidrógeno, la fórmula representa un "ácido carboxílico".

**[0061]** Según se usa en este documento, una "enzima" puede ser cualquier molécula parcial o totalmente proteica que realice una reacción química de una forma catalítica. Dichas enzimas pueden ser enzimas naturales, enzimas de fusión, proenzimas, apoenzimas, enzimas desnaturalizadas, enzimas farnesiladas, enzimas ubiquitinadas, enzimas grasoaciladas, enzimas gerangeraniladas, enzimas unidas a GPI, enzimas unidas a lípidos, enzimas preniladas, enzimas mutantes naturales o generadas artificialmente, enzimas con modificaciones en la cadena lateral o en el esqueleto, enzimas con secuencias líder y enzimas complejadas con materiales no proteicos, tales como proteoglucanos, proteoliposomas. Las enzimas pueden elaborarse mediante cualquier medio que incluye la expresión natural, la expresión promovida, la clonación, diversas síntesis peptídicas basadas en disolución y basadas en sólidos y procedimientos similares conocidos por los expertos en la técnica.

**[0062]** El término "heteroaralquilo  $C_{1-6}$ ", como se usa en este documento, se refiere a un grupo alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un grupo heteroarilo.

30

**[0063]** El término "heteroarilo" incluye estructuras anulares aromáticas sustituidas o no sustituidas de 5 a 7 miembros, más preferiblemente anillos de 5 a 6 miembros, cuyas estructuras anulares incluyen de uno a cuatro heteroátomos. El término "heteroarilo" también incluye sistemas anulares policíclicos con dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes en los que al menos uno de los anillos es heteroaromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclilos. Algunos grupos heteroarilo incluyen, por ejemplo, pirrol, furano, tiofeno, imidazol, isoxazol, oxazol, tiazol, triazol, pirazol, piridina, piracina, piridacina y pirimidina, y similares.

**[0064]** El término "heteroátomo" según se usa en este documento significa un átomo de cualquier elemento distinto al carbono o al hidrógeno. Algunos heteroátomos preferidos son nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre.

**[0065]** Los términos "heterociclilo" o "grupo heterocíclico" se refieren a estructuras anulares no aromáticas sustituidas o no sustituidas de 3 a 10 miembros, más preferiblemente anillos de 3 a 7 miembros, cuyas estructuras anulares incluyen entre uno y cuatro heteroátomos. Los términos "heterociclilo" o "grupo heterocíclico" también incluyen sistemas anulares policíclicos con dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes en los que al menos uno de los anillos es heterocíclico, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclilos. Algunos grupos heterociclilo incluyen, por ejemplo, tetrahidrofurano, piperidina, piperacina, pirrolidina, morfolina, lactonas, lactamas y similares.

50

**[0066]** El término "heterocicloalquilo  $C_{1-6}$ ", según se usa en este documento, se refiere a un grupo alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un grupo heterociclilo.

**[0067]** El término "hidroxialquilo  $C_{1-6}$ " se refiere a un grupo alquilo  $C_{1-6}$  sustituido con un grupo hidroxilo.

55

**[0068]** Según se usa en este 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 sustratos peptídicos fluorogénicos estándar tales como suc-LLVY-AMC, Box-LLR-AMC y Z-LLE-AMC, la inhibición de varias actividades catalíticas del proteosoma 20S). Un inhibidor puede actuar con una inhibición competitiva, acompetitiva o no competitiva. Un inhibidor puede unirse reversiblemente o irreversiblemente, y por lo tanto el término incluye 5 compuestos que son sustratos suicidas de una enzima. Un inhibidor puede modificar uno o más sitios en o cerca del sitio activo de la enzima, o puede provocar un cambio conformacional en cualquier sitio de la enzima.

**[0069]** Según se usa en este documento, se entiende que el término "biodisponible por vía oral" describe un compuesto administrado a un ratón a 40 mg/kg o menos, 20 mg/kg o menos, o incluso 10 mg/kg o menos, en el que 10 una hora después de la administración oral, dicho compuesto muestra al menos aproximadamente un 50%, al menos aproximadamente un 75% o incluso al menos aproximadamente un 90% de inhibición de la actividad de CT-L del proteosoma en la sangre.

**[0070]** Según se usa en este documento, el término "péptido" incluye no sólo enlaces amida estándar con 15  $\alpha$ -sustituyentes estándar, sino peptidomiméticos utilizados habitualmente, otros enlaces modificados, cadenas laterales no naturales y modificaciones de la cadena lateral, según se detalla a continuación.

**[0071]** Los términos "policiclilo" o "policíclico" se refieren a dos o más anillos (por ejemplo, cicloalquilos, cicloalqueniilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclicos) en los que dos o más carbonos son comunes a 20 dos anillos adyacentes, por ejemplo, los anillo son "anillos fusionados". Cada uno de los anillos del policiclo puede estar sustituido o no sustituido.

**[0072]** El término "prevención" está reconocido en la técnica, y cuando se usa en relación con un estado, tal como una reaparición local (por ejemplo, dolor), una enfermedad tal como cáncer, un síndrome complejo tal como 25 fallo cardíaco o cualquier otro estado médico, es bien entendido en la técnica, e incluye la administración de una composición que reduzca la frecuencia, o retrase el inicio, de los síntomas de un estado médico en un sujeto con respecto a un sujeto que no recibe la composición. Por lo tanto, la prevención del cáncer incluye, por ejemplo, reducir el número de crecimientos cancerosos detectables en una población de pacientes que reciben un tratamiento profiláctico con respecto a una población de control no tratada, y/o retrasar la aparición de crecimientos cancerosos 30 detectables en una población tratada frente a una población de control no tratada, por ejemplo, en una cantidad estadísticamente 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 de control no tratada, y/o retrasar la aparición de los síntomas de la infección en una población tratada frente a una población de control no tratada. La prevención del dolor incluye, por ejemplo, reducir la magnitud de, o como alternativa retrasar, las 35 sensaciones dolorosas experimentadas por sujetos en una población tratada frente a una población de control no tratada.

**[0073]** El término "profármaco" engloba compuestos que, en condiciones fisiológicas, se convierten en agentes terapéuticamente activos. Un procedimiento habitual para elaborar un profármaco es incluir fracciones 40 seleccionadas que son hidrolizadas en condiciones fisiológicas para revelar la molécula deseada. En otras formas de realización, el profármaco es convertido por una actividad enzimática del animal hospedador.

**[0074]** El término tratamiento "profiláctico o terapéutico" está reconocido en la técnica e incluye la administración al hospedador de una o más de las composiciones en cuestión. Si se administra antes de la 45 manifestación clínica del estado no deseado (por ejemplo, una enfermedad u otro estado no deseado del animal hospedador), entonces el tratamiento es profiláctico, (es decir, protege al hospedador frente al desarrollo del estado no deseado), mientras que si se administra después de la manifestación del estado no deseado, el tratamiento es terapéutico (es decir, pretende disminuir, mejorar o estabilizar el estado no deseado existente o los efectos secundarios del mismo).

50 **[0075]** El término "proteosoma" según se usa en este documento se entiende que incluye proteosomas inmunitarios y constitutivos.

**[0076]** El término "sustituido" se refiere a fracciones que tienen sustituyentes remplazando al hidrógeno en 55 uno o más carbonos del esqueleto. Se entenderá que "sustitución" o "sustituido con" incluye la condición implícita de que dicha sustitución esté de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y del sustituyente, y que la sustitución de como resultado un compuesto estable, por ejemplo, que no experimente espontáneamente una transformación tal como una reorganización, una ciclación, una eliminación, etc. Según se usa en este documento, se contempla que el término "sustituido" incluye a todos los sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos. En

un aspecto amplio, los sustituyentes permisibles incluyen sustituyentes acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos de compuestos orgánicos. Los sustituyentes permisibles pueden ser uno más, y ser iguales o diferentes para los compuestos orgánicos apropiados. Para los fines de esta invención, los heteroátomos tales como nitrógeno pueden tener sustituyentes de hidrógeno y/o cualquier sustituyente permisible de compuestos orgánicos descrito en este documento que satisfaga 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 sulfhidrilo, un alquiltio, un sulfato, un sulfonato, un sulfamoilo, un sulfonamido, un sulfonilo, un heterociclilo, un aralquilo, o una fracción aromática o heteroaromática. Los expertos en la técnica entenderán que las fracciones sustituidas en la cadena hidrocarbonada pueden estar en sí mismas sustituidas, si fuera apropiado.

**[0077]** Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto con respecto al procedimiento en cuestión de tratamiento, se refiere a una cantidad del (los) compuesto(s) en una preparación que, cuando se administra como parte de un régimen de dosificación (a un mamífero, preferiblemente a un ser humano) alivia un síntoma, mejora un estado o ralentiza el inicio de estados patológicos según estándares clínicamente aceptables para la alteración o el estado que se va a tratar, o el propósito cosmético, por ejemplo, con una proporción beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico.

**[0078]** El término "tioéter" se refiere a un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, con una fracción de azufre unida al mismo. En las formas de realización preferidas, el "tioéter" está representado por -S-alquilo. Algunos grupos tioéter representativos incluyen metiltio, etiltio y similares.

**[0079]** Según se usa en este documento, el término "tratar" o "tratamiento" incluye revertir, reducir o detener los síntomas, los signos clínicos y la patología subyacente de un estado de una forma que se mejore o se estabilice el estado de un sujeto.

#### Selectividad para el proteosoma 20S

**[0080]** Los inhibidores enzimáticos desvelados en este documento son útiles en parte porque inhiben la acción del proteosoma 20S. Adicionalmente, al contrario que otros inhibidores del proteosoma 20S, los compuestos desvelados en este documento son altamente selectivos frente al proteosoma 20S, con respecto a otras enzimas proteasas. Esto es, los compuestos en cuestión muestran unas selectividades para el proteosoma 20S frente a otras proteasas tales como catepsinas, calpaínas, padolor, quimotripsina, tripsina, peptidasa II de tripeptidilo. Las selectividades de los inhibidores enzimáticos para el proteosoma 20S son tales que a unas concentraciones por debajo de aproximadamente 50  $\mu\text{M}$ , los inhibidores enzimáticos muestran una inhibición de la actividad catalítica del proteosoma 20S, mientras que no muestran una inhibición de la actividad catalítica de otras proteasas tales como catepsinas, calpaínas, padolor, quimotripsina, tripsina, peptidasa II de tripeptidilo. En las formas de realización preferidas, los inhibidores enzimáticos muestran una inhibición de la actividad catalítica del proteosoma 20S a unas concentraciones por debajo de aproximadamente 10  $\mu\text{M}$ , mientras que no muestran una inhibición de la actividad catalítica de otras proteasas a estas concentraciones. En las formas de realización aún más preferidas, los inhibidores enzimáticos muestran una inhibición de la actividad catalítica del proteosoma 20S a unas concentraciones por debajo de aproximadamente 1  $\mu\text{M}$ , mientras que no muestran una inhibición de la actividad catalítica de otras proteasas a estas concentraciones. Los ensayos cinéticos enzimáticos se desvelan en la solicitud de EE.UU. con número de serie 09/569748, Ejemplo 2 y en Stein y col., Biochem. (1996), 35, 3899 - 3908.

#### Selectividad para la actividad de tipo quimotripsina

**[0081]** Algunas formas de realización en particular de los compuestos inhibidores enzimáticos descritos en este documento son útiles adicionalmente porque pueden inhibir eficaz y selectivamente la actividad de tipo quimotripsina del proteosoma 20S, en comparación con las actividades de tipo tripsina y las PGPH. La actividad de tipo quimotripsina del proteosoma 20S se caracteriza por la escisión de péptidos en la vecindad inmediata de grandes residuos hidrófobos. En particular, la actividad de tipo quimotripsina de las hidrolasas Ntn puede determinarse por la escisión de un sustrato estándar. Algunos ejemplos de dichos sustratos son conocidos en la técnica. Por ejemplo, puede usarse un derivado de leucilvaliniltirosina. Los ensayos enzimáticos se desvelan en la solicitud de EE.UU. con número de serie 09/569748, en el Ejemplo 2 y en Stein y col., Biochem. (1996), 35, 3899 - 3908.

Usos de los inhibidores enzimáticos

**[0082]** Las consecuencias biológicas de la inhibición del proteosoma son numerosas. Se ha sugerido la inhibición del proteosoma como una prevención y/o un tratamiento de multitud de enfermedades que incluyen, pero no se limitan a, enfermedades proliferativas, enfermedades neurotóxicas/degenerativas, Alzheimer, estados isquémicos, inflamación, enfermedades relacionadas con la inmunidad, VIH, cánceres, rechazo tras el trasplante de órganos, choque séptico, inhibición de la presentación del antígeno, disminución de la expresión génica vírica, infecciones parásitas, estados asociados con acidosis, degeneración macular, estados pulmonares, enfermedades de atrofia muscular, enfermedades fibróticas, enfermedades óseas y del crecimiento del cabello. Por lo tanto, las composiciones inhibidoras del proteosoma, tales como la clase de moléculas epoxi cetona peptídicas biodisponibles por vía oral según se describe en este documento, proporcionan un medio de tratamiento de pacientes con estos estados.

**[0083]** Las composiciones inhibidoras del proteosoma pueden usarse para tratar estados mediados directamente por la función proteolítica del proteosoma tales como la atrofia muscular, o mediados indirectamente a través de proteínas que son procesadas por el proteosoma, tales como el NF- $\kappa$ B. El proteosoma participa en la rápida eliminación y el procesado post-traduccional de las proteínas (por ejemplo, enzimas) implicadas en la regulación celular (por ejemplo, el ciclo celular, la transcripción génica y las vías metabólicas), en la comunicación intercelular y en la respuesta inmunitaria (por ejemplo, en la presentación del antígeno). Algunos ejemplos específicos analizados a continuación incluyen la proteína  $\beta$ -amiloides y proteínas reguladoras tales como las ciclinas y el factor de transcripción NF- $\kappa$ B.

**[0084]** A nivel celular, se ha informado de la acumulación de proteínas poliubiquitinadas, de cambios morfológicos de las células y de apoptosis tras el tratamiento de las células con varios inhibidores del proteosoma. El proteosoma degrada muchas proteínas en reticulocitos en maduración y en fibroblastos en crecimiento. En las células privadas de insulina o de suero, la tasa de proteólisis casi se duplica. La inhibición del proteosoma reduce la proteólisis, reduciendo así tanto la pérdida de proteínas musculares como la carga de nitrógeno en los riñones o en el hígado. Los compuestos de la invención pueden usarse en el tratamiento de la caquexia y de enfermedades de atrofia muscular. Los compuestos de la invención pueden ser útiles para tratar estados tales como cáncer, enfermedades infecciosas crónicas, fiebre, inactividad muscular (atrofia) y desnervación, lesiones nerviosas, ayuno, fracaso renal asociado con acidosis y fracaso hepático. Véase, por ejemplo, Goldberg, Patente de EE.UU. N° 5.340.736. Ciertas formas de realización de la invención engloban por lo tanto composiciones para: reducir la tasa de degradación de las proteínas musculares en una célula; reducir la tasa de degradación de las proteínas intracelulares; reducir la tasa de degradación de la proteína p53 en una célula; e inhibir el crecimiento de los cánceres relacionados con la p53. Cada uno de estos procedimientos incluye 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 desvelado en este documento.

**[0085]** La proteólisis intracelular genera pequeños péptidos para su presentación a los linfocitos T, para inducir las respuestas inmunitarias mediadas por el MHC de clase I. El sistema inmunitario criba las células autólogas que están infectadas víricamente o que han experimentado una transformación oncogénica. En ciertas formas de realización, los compuestos de la invención pueden usarse en un procedimiento para inhibir la presentación del antígeno en una célula, que comprende exponer la célula a un compuesto descrito en este documento. Los inhibidores del proteosoma de la invención pueden usarse para tratar estados relacionados con la inmunidad tales como alergia, asma, rechazo de órganos/tejidos (enfermedad del injerto contra el hospedador) y enfermedades autoinmunes, que incluyen lupus, artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple y enfermedad inflamatoria del intestino (tal como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn). Por lo tanto, en ciertas formas de realización, los compuestos de la invención pueden usarse en un procedimiento para suprimir el sistema inmunitario de un sujeto que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor del proteosoma descrito en este documento.

**[0086]** En ciertas formas de realización, los compuestos de la invención también pueden usarse en un procedimiento para alterar el repertorio de péptidos antigénicos producidos por el proteosoma u otra Ntn con actividad multicatalítica. Por ejemplo, si se inhibe selectivamente la actividad PGPH del proteosoma 20S, se producirá un conjunto de péptidos antigénicos diferentes por parte del proteosoma y se presentarán a las moléculas del MHC en las superficies de las células, que de otro modo producirían y presentarían sin una inhibición enzimática, o por ejemplo, con una inhibición selectiva de la actividad de tipo quimotripsina del proteosoma.

**[0087]** Otro aspecto de la invención se refiere a composiciones inhibidoras del proteosoma desveladas en

este documento para su uso en procedimientos para el tratamiento de enfermedades y estados neurodegenerativos que incluyen apoplejía, lesiones isquémicas en el sistema nervioso, traumatismos neurales (por ejemplo, lesiones en el cerebro por percusión, lesiones en la médula espinal y lesiones traumáticas en el sistema nervioso), esclerosis múltiple y otras neuropatías mediadas por la inmunidad (por ejemplo, síndrome de Guillain-Barre y sus variantes, 5 neuropatía axonal motora aguda, polineuropatía desmielinizante 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, parásita, fúngica y vírica, encefalitis, demencia vascular, demencia multi-infártica, demencia por cuerpos de Lewy, demencia del lóbulo frontal tal como la enfermedad de Pick, demencias subcorticales (tales como Huntington o parálisis supranuclear progresiva), síndromes de atrofia cortical focales (tales como afasia primaria), demencias metabólicotóxicas (tales como hipotiroidismo crónico o deficiencia de B12) y 10 demencias causadas por infecciones (tales como sífilis o meningitis crónica).

**[0088]** La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por depósitos extracelulares de proteína  $\beta$ -amiloide ( $\beta$ -AP) en placas seniles y vasos cerebrales. La  $\beta$ -AP es un fragmento peptídico de entre 39 y 42 aminoácidos derivado 15 de un propulsor de la proteína amiloide (APP). Se conocen al menos tres isoformas de la APP (de 695, 751 y 770 aminoácidos). Un corte alternativo del ARNm genera las isoformas; un procesado normal afecta a una porción de la secuencia de la  $\beta$ -AP, previniendo así la generación de la  $\beta$ -AP. Se cree que el procesado proteico anormal por parte del proteosoma contribuye a la abundancia de la  $\beta$ -AP en el cerebro con Alzheimer. La enzima que procesa la APP en ratas contiene aproximadamente diez subunidades diferentes (22 kDa - 32 kDa). La subunidad de 25 kDa 20 tiene una secuencia N-terminal de X-Gln-Asn-Pro-Met-X-Thr-Gly-Thr-Ser, que es idéntica a la subunidad  $\beta$  del proteosoma humano (Kojima, S. y col., Fed. Eur. Biochem. Soc., (1992) 304: 57 - 60). La enzima que procesa la APP escinde en el enlace Gln<sup>15</sup>--Lys<sup>16</sup>; en presencia de iones de calcio, la enzima también escinde en el enlace Met<sup>1</sup>--Asp<sup>1</sup> y en los enlaces Asp<sup>1</sup>--Ala<sup>2</sup> para liberar el dominio extracelular de la  $\beta$ -AP.

25 **[0089]** Un aspecto de la invención se refiere, por tanto, a los compuestos de la invención para su uso en un procedimiento para tratar la enfermedad de Alzheimer, comprendiendo el procedimiento la administración a un sujeto de una cantidad eficaz de una composición inhibidora del proteosoma desvelada en este documento. Dicho tratamiento incluye reducir la tasa de procesado de la  $\beta$ -AP, reducir la tasa de formación de placas de  $\beta$ -AP, reducir la tasa de generación de  $\beta$ -AP y reducir los signos clínicos de la enfermedad de Alzheimer.

30 **[0090]** La fibrosis es la formación excesiva y persistente de tejido cicatrizal resultante de un crecimiento hiperproliferativo de los fibroblastos, y está asociada con activación de la vía de señalización del TGF- $\beta$ . La fibrosis implica una extensa deposición de matriz extracelular, y puede producirse dentro de prácticamente cualquier tejido o en varios tejidos diferentes. Normalmente, el nivel de proteína de señalización intracelular (Smad) que activa la 35 transcripción de los genes objetivo tras la estimulación del TGF- $\beta$  está regulada por la actividad del proteosoma (Xu y col., 2000). Sin embargo, se ha observado una degradación acelerada de los componentes de señalización del TGF- $\beta$  en cánceres y en otros estados hiperproliferativos. Por lo tanto, en ciertas formas de realización la invención se refiere a compuestos de la invención para su uso en un procedimiento para tratar estados hiperproliferativos tales como retinopatía diabética, degeneración macular, nefropatía diabética, glomeruloesclerosis, nefropatía por IgA, 40 cirrosis, atresia biliar, insuficiencia cardíaca congestiva, esclerodermia, fibrosis inducida por radiación y fibrosis pulmonar (fibrosis pulmonar idiopática, enfermedad vascular de colágeno, sarcoidosis, enfermedades pulmonares intersticiales y alteraciones pulmonares extrínsecas). El tratamiento de las víctimas de quemaduras se ve a menudo dificultado por la fibrosis, por lo que, en ciertas formas de realización, la invención se refiere a la administración tópica o sistémica de los inhibidores para tratar quemaduras. El cierre de heridas tras una cirugía se asocia a 45 menudo con cicatrices desfigurativas, que pueden evitarse mediante la inhibición de la fibrosis. Por lo tanto, en ciertas formas de realización, la invención se refiere a compuestos de la invención para su uso en un procedimiento para la prevención o la reducción de la formación de cicatrices.

**[0091]** Ciertos inhibidores del proteosoma bloquean tanto la degradación como el procesado del NF- $\kappa$ B 50 ubiquitinado *in vitro* e *in vivo*. Los inhibidores del proteosoma también bloquean la degradación de I $\kappa$ B- $\alpha$  y la activación del NF- $\kappa$ B (Palombella, y col. Cell (1994) 78: 773 - 785; y Traenckner, y col., EMBO J. (1994) 13: 5433 - 5441). En este documento se describe un procedimiento para inhibir la degradación de I $\kappa$ B- $\alpha$ , que comprende poner en contacto la célula con un compuesto descrito en este documento. En ciertas formas de realización, se describe un procedimiento para reducir el contenido celular de NF- $\kappa$ B en una célula, músculo, órgano o sujeto, que 55 comprende poner en contacto la célula, el músculo, el órgano o el sujeto con un compuesto inhibidor del proteosoma descrito en este documento.

**[0092]** El NF- $\kappa$ B es un miembro de la familia de proteínas Rel. La familia Rel de proteínas de activación de la transcripción puede dividirse en dos grupos. El primer grupo requiere un procesado proteolítico e incluye la p50

- (NF- $\kappa$ B1, 105 kDa) y la p52 (NF- $\kappa$ 2, 100 kDa). El segundo grupo no requiere un procesado proteolítico, e incluye la p65 (RelA, Rel (c-Rel) y RelB). Pueden formarse homo como heterodímeros en los miembros de la familia Rel; el NF- $\kappa$ B, por ejemplo, es un heterodímero p50 - p65. Después de la fosforilación y la ubiquitinación de I $\kappa$ B y de p105, las dos proteínas son degradadas y procesadas, respectivamente, para producir el NF- $\kappa$ B activo, que se transloca desde el citoplasma hasta el núcleo. La p105 ubiquitinada también procesada por proteosomas purificados (Palombella y col., Cell (1994) 78: 773 - 785). El NF- $\kappa$ B activo forma un complejo mejorador estereoespecífico con otros activadores de la transcripción y, por ejemplo, HMG I (Y), induciendo la expresión selectiva de un gen en particular.
- 10 **[0093]** El NF- $\kappa$ B regula los genes implicados en la respuesta inmunitaria e inflamatoria, y los eventos mitóticos. Por ejemplo, se requiere el NF- $\kappa$ B para la expresión del gen  $\kappa$  de la cadena ligera de la inmunoglobulina, del gen de la cadena  $\alpha$  del receptor de la IL-2, del gen del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I y de varios genes que codifican para citocinas, por ejemplo, IL-2, IL-6, factor estimulante de las colonias de granulocitos e IFN- $\beta$  (Palombella y col., Cell (1994) 78: 773 - 785). También se describen procedimientos para afectar al nivel de expresión de IL-2, MHC-I, IL-6, TNF  $\alpha$ , IFN  $\beta$  o cualquiera de las otras proteínas mencionadas previamente, comprendiendo cada procedimiento la administración a un sujeto una cantidad eficaz de una composición inhibitoria del proteosoma desvelada en este documento. Los complejos que incluyen la p50 son mediadores rápidos de las respuestas inflamatorias e inmunitarias agudas (Thanos, D. y Maniatis, T., Cell (1995) 80: 529 - 532).
- 20 **[0094]** La superproducción de citocinas inducidas por lipopolisacáridos (LPS) tales como TNF  $\alpha$  se considera central en los procesos asociados con el choque séptico. Adicionalmente, está generalmente aceptado que la primera etapa en la activación de las células por los LPS es la unión de los LPS a receptores específicos de la 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 señales inducida por los LPS puede ser un importante objetivo terapéutico en el tratamiento o la prevención de la septicemia (Qureshi, N. y col., J. Immun. (2003) 171: 1515 - 1525). Por lo tanto, en ciertas formas de realización, pueden usarse las composiciones inhibitorias del proteosoma para la inhibición del TNF  $\alpha$  para prevenir y/o tratar un choque séptico.
- 30 **[0095]** El NF- $\kappa$ B también participa en la expresión de los genes de adhesión celular que codifican para E-selectina, P-selectina, ICAM y VCAM-1 (Collins, T. Lab. Invest. (1993) 68: 499 - 508). También se describe un procedimiento para inhibir la adhesión celular (por ejemplo, la adhesión celular mediada por E-selectina, P-selectina, ICAM o VCAM-1), que comprende poner en contacto una célula con (o administrar a un sujeto) una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende un inhibidor del proteosoma desvelado en este documento.
- 35 **[0096]** El NF- $\kappa$ B también se une específicamente al potenciador/promotor del VIH. Cuando se compara con la Nef del mac239, la proteína reguladora Nef del VIH del pbj 14 difiere en dos aminoácidos en la región que controla la unión a la cinasa de proteínas. Se cree que la cinasa de proteínas señala la fosforilación del I $\kappa$ B, desencadenando la degradación del I $\kappa$ B a través de la vía de ubiquitina-proteosoma. Después de la degradación, el NF- $\kappa$ B es liberado en el núcleo, potenciando así la que transcripción del VIH (Cohen, J., Science, (1995) 267: 960).
- 40 En ciertas formas de realización, la invención se refiere a los compuestos para su uso en un procedimiento para inhibir o reducir la infección por VIH en un sujeto, o en un procedimiento para disminuir el nivel de expresión génica vírica, comprendiendo cada procedimiento la administración al sujeto de una cantidad eficaz de una composición inhibitoria del proteosoma desvelada en este documento.
- 45 **[0097]** Las infecciones víricas contribuyen a la patología de muchas enfermedades. Algunos estados cardíacos tales como la miocarditis permanente y la cardiomiopatía dilatada se han relacionado con el virus de coxsackie B3. En unos análisis comparativos en micromatriz del genoma completo de corazones de ratones infectados, algunas subunidades específicas del proteosoma estaban reguladas por incremento uniformemente en los corazones de los ratones que desarrollaron una miocarditis crónica (Szalay y col, Am J Pathol 168: 1542 - 52, 2006).
- 50 Algunos virus utilizan el sistema de ubiquitina-proteosoma en la etapa de entrada vírica en la que el virus es liberado desde el endosoma al citosol. El virus de la hepatitis de ratón (MHV) pertenece a la familia *Coronaviridae*, que también incluye el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS). Yu y Lai (J Virol 79: 644 - 648, 2005) demostraron que el tratamiento de las células infectadas con el MHV con un inhibidor del proteosoma daba como resultado una disminución en la replicación vírica, lo que se correlacionaba con un título vírico reducido en comparación con el de las células no tratadas. El virus de la hepatitis B humano (HBV), un miembro de la familia de virus *Hepadnaviridae*, requiere asimismo proteínas de cubierta codificadas víricamente para propagarse. La inhibición de la vía de degradación del proteosoma provoca una reducción significativa en la cantidad de proteínas de cubierta secretadas (Simsek y col, J Virol 79: 12914 - 12920, 2005). Además del HBV, otros virus de hepatitis (A, C, D y E) también pueden utilizar la vía de degradación de ubiquitina-proteosoma para la secreción, la morfogénesis

y la patogénesis. Consecuentemente, en ciertas formas de realización, la invención se refiere a compuestos para su uso en un procedimiento para tratar una infección vírica, tal como SARS o hepatitis A, B, C, D y E, que comprende poner en contacto una célula con (o administrar a un sujeto) una cantidad eficaz de un compuesto desvelado en este documento.

5

**[0098]** Las lesiones por isquemia y reperfusión dan como resultado una hipoxia, un estado en el que hay una deficiencia en el oxígeno que alcanza los tejidos corporales. Este estado provoca un aumento en la degradación de I $\kappa$ -B $\alpha$ , dando así como resultado la activación del NF- $\kappa$ B (Koong y col., 1994). Se ha demostrado que la gravedad de la lesión resultante de la hipoxia puede reducirse con la administración de un inhibidor del proteosoma (Gao y col., 2000; Bao y col., 2001; Pye y col., 2003). Por lo tanto, ciertas formas de realización de la invención se refieren a compuestos para su uso en un procedimiento para tratar un estado isquémico o una lesión por reperfusión que comprende administrar a un sujeto en necesidad de dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor del proteosoma desvelado en este documento. Algunos ejemplos de dichos estados o lesiones incluyen síndrome coronario agudo (placas vulnerables), enfermedad oclusiva arterial (oclusiones cardíacas, cerebrales, arteriales periféricas y vasculares), aterosclerosis (esclerosis coronaria, enfermedad arterial coronaria), infartos, insuficiencia cardíaca, pancreatitis, hipertrofia miocárdica, estenosis y reestenosis.

10

15

**[0099]** Otros factores de transcripción eucariotas que requieren el procesado proteolítico incluyen el factor de transcripción general TFIIA, una proteína VP16 del virus del herpes simple (factor celular del hospedador), la proteína del factor regulador 2 del IFN inducible por virus y la proteína 1 de unión al elemento regulador del esterol unido a la membrana.

20

**[0100]** También se desvelan procedimientos para afectar a los ciclos celulares eucariotas dependientes de ciclinas, que comprenden exponer una célula (*in vitro* o *in vivo*) a una composición inhibidora del proteosoma desvelado en este documento. Las ciclinas son proteínas implicadas en el control del ciclo celular. El proteosoma participa en la degradación de las ciclinas. Algunos ejemplos de ciclinas incluyen ciclinas mitóticas, ciclinas G1 y ciclina B. La degradación de las ciclinas permite a la célula salir de una etapa del ciclo celular (por ejemplo, la mitosis) y entrar en otra (por ejemplo, la división). Se cree que todas las ciclinas están asociadas con la cinasa de proteínas p34<sup>cdc2</sup> o cinasas relacionadas. La señal objetivo de la proteólisis está localizada en los aminoácidos 42 - RAALGNISEN-50 (caja de destrucción). Hay evidencias de que la ciclina se convierte en una forma vulnerable a la ligasa de ubiquitina o que durante la mitosis se activa una ligasa específica de ciclina (Ciechanover, A., Cell, (1994) 79: 13 - 21). La inhibición del proteosoma inhibe la degradación de la ciclina, y por lo tanto inhibe la proliferación celular, por ejemplo, en cánceres relacionados con las ciclinas (Kumatori y col., Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. (1990) 87: 7071 - 7075). Un aspecto de la invención se refiere a compuestos para su uso en un procedimiento para tratar una enfermedad proliferativa en un sujeto (por ejemplo, cáncer, psoriasis o reestenosis), comprendiendo los procedimientos la administración al sujeto de una cantidad eficaz de una composición inhibidora del proteosoma desvelada en este documento. La invención también se refiere a compuestos para su uso en un procedimiento para tratar una inflamación relacionada con ciclinas en un sujeto, comprendiendo el procedimiento la administración a un sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición inhibidora del proteosoma descrita en este documento.

25

30

35

40

**[0101]** Algunas formas de realización adicionales de la invención se refieren a compuestos para su uso en procedimientos para afectar a la regulación dependiente del proteosoma de las oncoproteínas, y a procedimientos para tratar o inhibir el crecimiento del cáncer, comprendiendo cada procedimiento exponer una célula (*in vivo*, por ejemplo, en un sujeto, o *in vitro*) a una composición inhibidora del proteosoma desvelado en este documento. Las proteínas HPV-16 y E6 derivadas de HPV-18 estimulan la conjugación y la degradación dependiente de ATP y de ubiquitina de la p53 en lisados de reticulocitos en bruto. Se ha demostrado que el oncogen recesivo p53 se acumula a la temperatura no permisiva en una línea celular con una E1 termolábil mutada. Unos niveles elevados de p53 pueden dar lugar a una apoptosis. Algunos ejemplos de proto-oncoproteínas degradadas por el sistema de ubiquitina incluyen c-Mos, c-Fos y c-Jun. En ciertas formas de realización, la invención se refiere a compuestos para su uso en un procedimiento para tratar la apoptosis relacionada con p53, comprendiendo el procedimiento la administración a un sujeto de una cantidad eficaz de una composición inhibidora del proteosoma desvelada en este documento.

45

50

**[0102]** En ciertas formas de realización, las composiciones desveladas pueden ser útiles para el tratamiento de una infección parásita, tales como infecciones causadas por parásitos protozoarios. Se considera que el proteosoma de estos parásitos está implicado principalmente en las actividades de diferenciación y replicación celulares (Paugam y col., Trends Parasitol. 2003, 19 (2): 55 - 59). Adicionalmente, se ha demostrado que la especie entamoeba pierde su capacidad de enquistación cuando se expone a inhibidores del proteosoma (Gonzales, y col.,

55

Arch. Med. Res. 1997, 28, Spec No: 139 - 140). En ciertas de dichas formas de realización, los protocolos administrativos para las composiciones inhibidoras del proteosoma son útiles para el tratamiento de infecciones parásitas en seres humanos provocadas por un parásito protozoario elegido de entre Plasmodium sps. (incluyendo P. falciparum, P. vivax, P. malariae y P. ovale, que provocan la malaria), Trypanosoma sps. (incluyendo T. cruzi, que provoca la enfermedad de Chagas, y T. brucei que provoca la enfermedad del sueño africano), Leishmania sps. (incluyendo L. amazonensis, L. donovani, L. infantum, L. mexicana, etc.), Pneumocystis carinii (un protozoo conocido por provocar neumonía en pacientes con SIDA y en otros inmunodeprimidos), Toxoplasma gondii, Entamoeba histolytica, Entamoeba invadens y Giardia lamblia. En ciertas formas de realización, las composiciones inhibidoras del proteosoma desveladas son útiles para el tratamiento de infecciones parásitas en animales y en ganado provocadas por un parásito protozoario elegido de entre Plasmodium hermani, Cryptosporidium sps., Echinococcus granulosus, Eimeria tenella, Sarcocystis neurona y Neurospora crassa. Otros compuestos útiles como inhibidores del proteosoma en el tratamiento de enfermedades parásitas se describen en el documento WO 98/10779.

**[0103]** En ciertas formas de realización, las composiciones inhibidoras del proteosoma inhiben la actividad del proteosoma en un parásito sin recuperación en los glóbulos rojos y en los glóbulos blancos. En ciertas de dichas formas de realización, la larga semivida de los glóbulos rojos puede proporcionar una protección prolongada con respecto a la terapia frente a exposiciones recurrentes a parásitos. En ciertas formas de realización, las composiciones inhibidoras del proteosoma pueden proporcionar una protección prolongada con respecto a la quimioprofilaxis frente a una futura infección.

**[0104]** También se ha demostrado que los inhibidores que se unen al proteosoma 20S estimulan la formación de hueso en los cultivos de órganos óseos. Adicionalmente, cuando se han administrado dichos inhibidores por vía sistémica a ratones, ciertos inhibidores del proteosoma aumentaron el volumen de hueso y la formación de hueso en unas tasas por encima del 70% (Garrett, I. R. y col., J. Clin. Invest. (2003) 111: 1771 - 1782), sugiriendo por lo tanto que la maquinaria de ubiquitina-proteosoma regula la diferenciación de los osteoblastos y la formación de hueso. Por lo tanto, las composiciones inhibidoras del proteosoma desveladas pueden ser útiles en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades asociadas con la pérdida de hueso, tales como la osteoporosis.

**[0105]** La inhibición del proteosoma ya se ha validado como estrategia terapéutica para el tratamiento del cáncer, particularmente del mieloma múltiple. Sin embargo, basándose en ambos modelos *in vitro* e *in vivo*, se podría predecir que podría servir como estrategia frente a otros cánceres, particularmente cánceres hematológicos y tumores sólidos. Por lo tanto, ciertas formas de realización de la invención se refieren a un procedimiento para tratar cánceres que comprende administrar a un sujeto en necesidad de dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor del proteosoma desvelado en este documento.

#### Administración

**[0106]** Los compuestos preparados según se describe en este documento pueden administrarse de diversas formas, dependiendo de la alteración que se va a tratar y de la edad, el estado y el peso corporal del paciente, como es bien conocido en la técnica. Por ejemplo, cuando los compuestos se van a administrar por vía oral, pueden formularse como comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos o jarabes; o para una administración por vía parenteral, pueden formularse como inyecciones (intravenosa, intramuscular o subcutánea), preparaciones para infusión por goteo o supositorios. Para su aplicación a través de la vía de la membrana mucosa oftálmica, pueden formularse como gotas oculares o como ungüentos oculares. Estas formulaciones pueden prepararse mediante medios convencionales, y si se desea, el principio activo puede mezclarse con cualquier aditivo o excipiente convencional, tal como un ligante, un agente disgregante, un lubricante, un corrector, un agente solubilizante, un coadyuvante de suspensión, un agente emulsionante, un agente de recubrimiento, una ciclodextrina y/o un tampón. Aunque la dosis variará dependiendo de los síntomas, la edad y el peso corporal del paciente, de la naturaleza y la gravedad del alteración que se va a tratar o prevenir, de la vía de administración y de la forma del fármaco, en general, se recomienda una dosis diaria de desde 0,01 hasta 2.000 mg del compuesto para un paciente humano adulto, y ésta puede administrarse en una única dosis o en dosis divididas. La cantidad de principio activo que puede combinarse con un material portador para producir una forma de dosificación individual será generalmente aquella cantidad de compuesto que produzca un efecto terapéutico.

**[0107]** El momento preciso de la administración y/o la cantidad de composición que proporcionará los resultados más eficaces en términos de eficacia del tratamiento en un paciente dado dependerán de la actividad, de la farmacocinética y de la biodisponibilidad de un compuesto en particular, del estado fisiológico del paciente (incluyendo edad, sexo, tipo de enfermedad y etapa, estado físico general, respuesta a una dosis dada y tipo de medicación), de la vía de administración, etc. Sin embargo, pueden usarse las directrices anteriores como la base

para un ajuste fino del tratamiento, por ejemplo, determinar el momento óptimo y/o la cantidad de administración, que no requerirá más que una experimentación rutinaria que consiste en monitorizar el sujeto y ajustar la dosis y/o la cronología.

5 **[0108]** La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en este documento para referirse a aquellos ligandos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance de un juicio médico razonable, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin una toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación excesivos, acorde con una proporción beneficio/riesgo razonable.

10

**[0109]** La expresión "portador farmacéuticamente aceptable", según se usa en este documento, significa un material, una composición o un vehículo farmacéuticamente aceptable, tales como un agente de relleno líquido o sólido, un diluyente, un excipiente, un disolvente o un material de encapsulación. Cada portador debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los demás ingredientes de la formulación y no ser perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores 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 sódica, etil celulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras de supositorio; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de semilla de girasol, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de semilla 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 alginico; (16) agua exenta de pirógenos; (17) suero salino isotónico; (18) disolución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) disoluciones taponadas con fosfato; y (21) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas. En ciertas formas de realización, las composiciones farmacéuticas de la presente invención son apirógenas, es decir, no inducen una elevación significativa de la temperatura cuando se administran a un paciente.

**[0110]** El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales de adición ácida relativamente no tóxicas inorgánicas y orgánicas del (los) inhibidor(es). Estas sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales del (los) inhibidor(es), o mediante una reacción por separado de un(os) inhibidor(es) purificado(s) en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado, y aislando la sal así formada. Algunas sales representativas incluyen sales de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato, laurilsulfonato, y sales de aminoácidos, y similares. (Véase, por ejemplo, Berge y col. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66: 1 - 19.)

**[0111]** En otros casos, los inhibidores útiles en los procedimientos de la presente invención pueden contener uno o más grupos funcionales ácidos, y por lo tanto, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con bases farmacéuticamente aceptables. El término "sales farmacéuticamente aceptables" en estos casos se refiere a las relativamente no tóxicas sales de adición básica inorgánicas y orgánicas de un(os) inhibidor(es). Estas sales pueden prepararse asimismo *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales del (los) inhibidor(es), o mediante una reacción por separado del (los) inhibidor(es) purificado(s) en su forma de ácido libre con una base adecuada tal como las sales de hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico farmacéuticamente aceptable, con amoníaco o con una amina primaria, secundaria o terciaria farmacéuticamente aceptable. Algunas sales de metales alcalinos o alcalinotérreos representativas incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio, y similares. Algunas aminas orgánicas representativas útiles para la formación de las sales de adición básica incluyen etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperacina y similares (véase, por ejemplo, Berge y col., *supra*).

50

**[0112]** En las composiciones también puede haber presentes agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como laurilsulfato sódico y estearato magnésico, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, saborizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes.

55

**[0113]** Algunos ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato sódico, metabisulfito sódico, sulfito sódico, y similares; (2) antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol, y similares; y (3) agentes quelantes de metales,

tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares.

**[0114]** Las formulaciones adecuadas para su administración por vía oral pueden estar en forma de cápsulas, obleas, píldoras, comprimidos, tabletas (usando una base saborizada, habitualmente sacarosa y acacia o tragacanto), polvos, gránulos, o como una disolución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o en forma de una emulsión líquida de aceite en agua o de agua en aceite, o como un elixir o un jarabe, o como pastillas (usando 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 principio activo. Una composición también puede administrarse en bolo, como un electuario o como una pasta.

**[0115]** En las formas de dosificación sólida para su administración por vía oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el principio activo se mezcla con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, tales como citrato sódico o fosfato dicálcico, y/o cualquiera de los siguientes: (1) agentes de relleno o expansores, tales como almidones, ciclodextrinas, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, y/o ácido silícico; (2) ligantes, tales como, por ejemplo, carboximetil celulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o acacia; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o de tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato sódico; (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 de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato cálcico, estearato magnésico, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato sódico y mezclas de los mismos; y (10) agentes colorantes. En el caso de las cápsulas, los comprimidos y las píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes tamponantes. Las composiciones sólidas de un tipo similar también pueden emplearse como relleno en cápsulas de gelatina dura y blanda usando excipientes tales como lactosa o azúcares de leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular, y similares.

**[0116]** Un comprimido puede elaborarse mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos por compresión pueden prepararse usando un aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetil celulosa), un lubricante, un diluyente inerte, un conservante, un disgregante (por ejemplo, glucolato sódico de almidón o carboximetil celulosa sódica reticulada), un agente tensioactivo o dispersante. Los comprimidos por moldeo pueden elaborarse moldeando en una máquina adecuada una mezcla de (los) inhibidor(es) pulverulento(s) humedecido(s) con un diluyente líquido inerte.

**[0117]** Los comprimidos y otras formas de dosificación sólida, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden recubrirse o prepararse opcionalmente con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. También pueden formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada del principio activo usando en los mismos, por ejemplo, hidroxipropilmetil celulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o mediante la incorporación de agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden ser disueltas en agua estéril, o algún otro medio estéril inyectable inmediatamente antes de su uso. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes de opacidad y pueden tener una composición tal que liberen únicamente el (los) principio(s) activo(s), preferentemente, en una porción concreta del tracto gastrointestinal, opcionalmente de una forma retardada. Algunos ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. El principio activo también puede estar en forma microencapsulada, si fuera apropiado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

**[0118]** Las formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen emulsiones, microemulsiones, disoluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del principio activo, las formas de dosificación líquida pueden contener diluyentes inertes usados habitualmente 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 semilla de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfúrico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitano, y mezclas de los mismos.

**[0119]** Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales pueden incluir también coadyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y suspensores, agentes edulcorantes, saborizantes, colorantes, perfumantes y conservantes.

- 5 **[0120]** Las suspensiones, además del (los) inhibidor(es) activo(s), pueden contener agentes suspensores tales como, por ejemplo, alcoholes isostearílicos etoxilados, polioxietilensorbitol y ésteres de sorbitano, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.
- 10 **[0121]** Las formulaciones para su administración por vía rectal o vaginal pueden presentarse como supositorios, que pueden prepararse mezclando uno o más inhibidores con uno o más excipientes o portadores no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera de supositorio o un salicilato, que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a la temperatura corporal, y por lo tanto, se fundirá en la cavidad rectal o vaginal y liberará el principio activo.
- 15 **[0122]** Las formulaciones que son adecuadas para su administración vaginal también incluyen óvulos vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas, o formulaciones pulverizadas que contienen dichos portadores según se conocen en la técnica por ser apropiadas.
- 20 **[0123]** Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un(os) inhibidor(es) incluyen polvos, pulverizadores, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, disoluciones, parches e inhaladores. El componente activo puede mezclarse en condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable, y con cualquier conservante, tamponante o propelente que pueda requerirse.
- 25 **[0124]** Los ungüentos, pastas, cremas y geles pueden contener, además del (los) inhibidor(es), excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico y óxido de cinc, o mezclas de los mismos.
- 30 **[0125]** Los polvos y los pulverizadores pueden contener, además del (los) inhibidor(es), excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, sindicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Los aerosoles pueden contener adicionalmente propelentes habituales, tales como clorofluorohidrocarbonos de hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.
- 35 **[0126]** El (los) inhibidor(es) pueden administrarse alternativamente mediante un aerosol. Esto se consigue preparando un aerosol acuoso, una preparación liposómica o partículas sólidas que contienen la composición. Podría usarse una suspensión no acuosa (por ejemplo, un propelente fluorocarbonado). Se prefieren los nebulizadores sónicos porque minimizan la exposición del agente al cizallamiento, que puede dar como resultado una degradación del compuesto.
- 40 **[0127]** Habitualmente, un aerosol acuoso se elabora formulando una disolución o una suspensión acuosa del agente junto con portadores y estabilizantes convencionales farmacéuticamente aceptables. Los portadores y los estabilizantes varían según los requisitos de la composición en particular, pero típicamente incluyen tensioactivos no iónicos (Tweens, Pluronic, ésteres de sorbitano, lecitina, Cremofores), cosolventes farmacéuticamente aceptables tales como polietilenglicol, proteínas inocuas tales como albúmina sérica, ácido oleico, aminoácidos tales como glicina, tampones, sales, azúcares o alcoholes de azúcar. Los aerosoles se preparan generalmente a partir de disoluciones isotónicas.
- 45 **[0128]** Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar un suministro controlado de un(os) inhibidor(es) al cuerpo. Dichas formas de dosificación pueden elaborarse disolviendo o dispersando el agente en el medio apropiado. También pueden usarse incrementadores de la absorción para aumentar el flujo del (los) inhibidor(es) a través de la piel. La velocidad de dicho flujo puede controlarse proporcionando una membrana de control de la velocidad o dispersando el (los) inhibidor(es) en una matriz polimérica o en un en gel.
- 50 **[0129]** Las composiciones farmacéuticas de esta invención adecuadas para su administración parenteral comprenden uno o más inhibidores junto con uno o más de disoluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones estériles acuosas o no acuosas farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que pueden ser reconstituidos en disoluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos, solutos que hagan la formulación isotónica con respecto a la sangre del receptor
- 55 pretendido, o agentes suspensores o espesantes.
- [0130]** Algunos ejemplos de portadores adecuados acuosos y no acuosos que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y

ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tales como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula requerido en el caso de las dispersiones, y mediante el uso de tensioactivos.

5 **[0131]** Estas composiciones también pueden contener coadyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de los microorganismos puede asegurarse mediante la inclusión de varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes ajustadores de la tonicidad, tales como azúcares, cloruro sódico, y similares, en las composiciones. Además, la absorción prolongada  
10 de la forma farmacéutica inyectable puede llevarse a cabo mediante la inclusión de agentes que retrasen la absorción tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

**[0132]** En algunos casos, con objeto de prolongar el efecto de un fármaco, es deseable ralentizar la absorción del fármaco desde la inyección subcutánea o intramuscular. Por ejemplo, la absorción retardada de una forma  
15 farmacéutica suministrada por vía parenteral se consigue disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso.

**[0133]** Las formas inyectables *depot* se elaboran formando matrices microencapsuladas del (los) inhibidor(es) en polímeros biodegradable tales como polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la proporción entre el fármaco y el  
20 polímero, y de la naturaleza del polímero en particular empleado, puede controlarse la velocidad de liberación del fármaco. Algunos ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poliortoésteres y polianhídridos. Las formulaciones inyectables *depot* también pueden prepararse atrapando el fármaco en liposomas o en microemulsiones que sean compatibles con los tejidos corporales.

25 **[0134]** Las preparaciones de los agentes pueden administrarse por vía oral, parenteral, tópica o rectal. Por supuesto, se administran mediante formas adecuadas para cada día de administración. Por ejemplo, se administran en forma de comprimidos o de cápsulas, mediante inyección, inhalación, loción ocular, ungüento, supositorio, infusión; tópicamente mediante una loción o un ungüento; y rectalmente mediante supositorios. Se prefiere la administración oral.

30 **[0135]** Las frases "administración parenteral" y administrado parenteralmente" según se usan en este documento, significan modos de administración distintos a la administración enteral y tópica, habitualmente mediante inyección, e incluyen, sin limitación, la inyección intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular,  
35 subcapsular, subaracnoidea, intraespinal y intraesternal, y la infusión.

**[0136]** Las frases "administración sistémica", administrado sistémicamente", "administración periférica" y "administrado periféricamente", según se usan en este documento, significan la administración de un ligando, de un fármaco o de otro material de una forma distinta directamente en el sistema nervioso central, de forma que entre en  
40 el sistema del paciente, y por lo tanto, esté sometido al metabolismo y a otros procesos similares, por ejemplo, la administración subcutánea.

**[0137]** Esto(s) inhibidor(es) pueden administrarse a los seres humanos y a otros animales para terapia mediante cualquier vía de administración adecuada, incluyendo por vía oral, nasal, así como, por ejemplo, un  
45 pulverizador, por vía rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal y tópica, así como mediante polvos, ungüentos o gotas, incluyendo por vía bucal y sublingual.

**[0138]** Independientemente de la vía de administración elegida, el (los) inhibidor(es), que puede(n) usarse en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en una  
50 forma de dosificación farmacéuticamente aceptables mediante procedimientos convencionales conocidos por los expertos en la técnica.

**[0139]** Los niveles de dosificación reales de los principios activos en las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden variarse, de forma que se obtenga una cantidad de principio activo que sea eficaz para conseguir  
55 la respuesta terapéutica deseada para un paciente, una composición y una vía de administración en particular, sin ser tóxico para el paciente.

**[0140]** La concentración de un compuesto desvelado en una mezcla farmacéuticamente aceptable variará dependiendo de varios factores, que incluyen la dosis del compuesto que se va a administrar, las características

farmacocinéticas del (los) compuesto(s) empleado(s) y la vía de administración. En general, las composiciones de esta invención pueden proporcionarse en una disolución acuosa que contiene aproximadamente el 0,1 - 10% p/v de un compuesto desvelado en este documento, entre otras sustancias, para su administración por vía parenteral. Los intervalos de dosificación típicos son desde aproximadamente 0,01 hasta aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal por día, administrados en 1 - 4 dosis divididas. Cada dosis dividida puede contener compuestos de la invención iguales o diferentes. La dosis será una cantidad eficaz dependiendo de varios factores que incluyen la salud global de un paciente y la formulación y la vía de administración del (los) compuesto(s) elegido(s).

**[0141]** Otro aspecto de la invención proporciona una terapia conjunta en la que se administran uno o más de otros agentes terapéuticos con el inhibidor del proteosoma. Dicho tratamiento conjunto puede conseguirse mediante la dosificación simultánea, secuencial o por separado de los componentes individuales del tratamiento.

**[0142]** En ciertas formas de realización, un compuesto de la invención se administra conjuntamente con uno o más de otros inhibidores del proteosoma.

**[0143]** En ciertas formas de realización, un compuesto de la invención se administra conjuntamente con un quimioterapéutico. Algunos quimioterapéuticos adecuados pueden incluir productos naturales tales como alcaloides de la vinca (es decir vinblastina, vincristina y vinorelbina), paclitaxel, epidipodofilotoxinas (es decir etopósido, tenipósido), antibióticos (dactinomicina (actinomicina D) daunorrubicina, doxorrubicina e idarrubicina), antraciclinas, mitoxantrona, bleomicinas, plicamicina (mitramicina) y mitomicina, enzimas (L-asparaginasa que metaboliza sistémicamente la L-asparagina y priva a las células que no tienen la capacidad de sintetizar su propia asparagina); agentes antiagregantes plaquetarios; agentes alquilantes antiproliferativos/antimitóticos tales como mostazas nitrogenadas (mecloretamina, ciclofosfamida y análogos, melfalan, clorambucilo), etileniminas y metilmelaminas (hexametilmelamina y tiotepa), sulfonatos de alquilo (busulfano), nitrosoureas (carmustina (BCNU) y análogos, estreptozocina, tracenos - dacarbacinina (DTIC); antimetabolitos antiproliferativos/antimitóticos tales como análogos del ácido fólico (metotrexato), análogos de pirimidina (fluorouracilo, floxuridina y citarabina), análogos de purina e inhibidores relacionados (mercaptipurina, tioguanina, pentostatina y 2-clorodesoxiadenosina); inhibidores de la aromatasas (anastrozol, exemestano y letrozol); y complejos de coordinación de platino (cisplatino, carboplatino), procarbacin, hidroxiaurea, mitotano, aminoglutetimida; inhibidores de la desacetilasa de histona (HDAC); hormonas (es decir, estrógenos) y agonistas hormonales tales como agonistas de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) (goserrelina, leuprolida y triptorelina). Otros agentes quimioterapéuticos pueden incluir mecloretamina, camptotecina, ifosfamida, tamoxifeno, raloxifeno, gemcitabina, navelbina, o cualquier análogo o variante derivada de los anteriores.

**[0144]** En ciertas formas de realización, un compuesto de la invención se administra conjuntamente con una citocina. Algunas citocinas incluyen, interferón  $\gamma$ ,  $\alpha$  y  $\beta$ , interleucinas 1 - 8, 10 y 12, factor estimulante de las colonias de monocitos y granulocitos (GM-CSF), TNF  $\alpha$  y  $\beta$ , y TGF  $\beta$ .

**[0145]** En ciertas formas de realización, un compuesto de la invención se administra conjuntamente con un esteroide. Algunos esteroides adecuados pueden incluir 21-acetoxipregnenolona, alclometasona, algestona, amcinonida, beclometasona, betametasona, budesonida, cloroprednisona, clobetasol, clocortolona, cloprednol, corticosterona, cortisona, cortivazol, deflazacort, desonida, desoximetasona, dexametasona, diflorasona, diflucortolona, difuprednato, enoxolona, fluazacort, flucoronida, flumetasona, flunisolida, acetónido de fluocinolona, fluocinonida, fluocortin butilo, fluocortolona, fluorometolona, acetato de fluperolona, acetato de fluprednido, fluprednisolona, flurandrenolida, propionato de fluticasona, formocortal, halcinonida, propionato de halobetasol, halometasona, hidrocortisona, etabonato de loteprednol, macipredona, medrisona, meprednisona, metilprednisolona, furoato de mometasona; parametasona, prednicarboato, prednisolona, 25-dietilaminoacetato de prednisolona, fosfato de prednisolona sódica, prednisona, prednival, prednilideno, rimexolona, tixocortol, triamcinolona, acetónido de triamcinolona, benetonido de triamcinolona, hexacetónido de triamcinolona, y sales y/o derivados de los mismos.

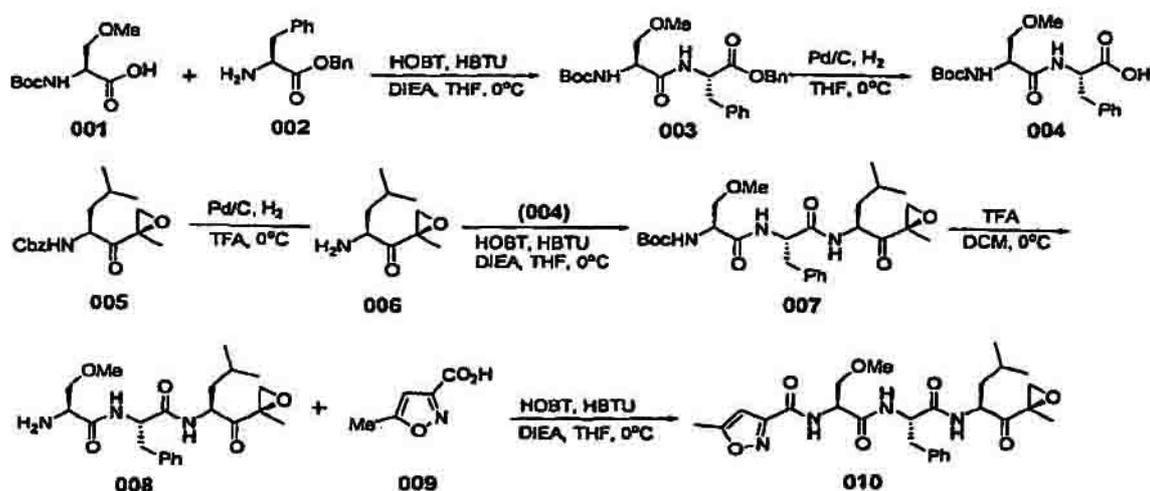
**[0146]** En ciertas formas de realización, un compuesto de la invención se administra conjuntamente con un agente inmunoterapéutico. Algunos agentes inmunoterapéuticos pueden incluir, pero no se limitan a, moduladores de la MDR (verapamilo, valspodar, biricodar, tariquidar, laniquidar), rapamicina, micofenilato mofetilo, ciclofosomida, ciclosporina, talidomida y anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos monoclonales pueden ser simples o conjugados, tales como rituximab, tositumomab, alemtuzumab, daclizumab, epratuzumab, ibritumomab tiuxetan, gemtuzumab ozogamicina, bevacizumab, cetuximab, erlotinib y trastuzumab.

### Ejemplificación

## Ejemplo 1

[0147]

## 5 Esquema 1: Síntesis del compuesto 010



Compuesto (003):

10

[0148] A una disolución a 0 °C de N-Boc serina (metil éter) (001) (2,5 g, 11,4 mmol), clorhidrato de bencil éster de L-alanina (002) (3,3 g, 11,4 mmol), HOBT (2,5 g, 18,2 mmol) y HBTU (6,9 g, 18,24 mmol) en tetrahidrofurano (400 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (8,0 ml, 45,6 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) durante 10 minutos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas. La mayoría de los disolventes se eliminaron a presión reducida y el material resultante se diluyó con acetato de etilo (300 ml). Entonces la disolución se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (100 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (hexano y acetato de etilo), y el compuesto deseado (003) (4,4 g) se aisló y se caracterizó mediante CL/EM

15

(LCRS (MH) m/z: 457,23).

20

Compuesto (004):

[0149] A una disolución a 0 °C de (003) (5,14 g, 11,25 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió Pd al 10%/C (500 mg). La mezcla resultante se dejó en agitación bajo 1 atmósfera de hidrógeno durante 4 horas. La mezcla se filtró a través de Celite-545 y la torta de filtro se lavó con tetrahidrofurano. El filtrado orgánico se concentró a presión reducida y se colocó a alto vacío durante 2 horas para proporcionar (004) según se confirmó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 367,18,) que se usó sin purificación adicional.

25

30

Compuesto (006):

[0150] A una disolución de (005) (para una síntesis de (005) véase la Solicitud de Patente de EE.UU. con número de serie 11/131,688) (3,9 g, 13 mmol) en ácido trifluoroacético (50 ml) se añadió Pd al 10%/C (600 mg). La mezcla resultante se dejó en agitación bajo 1 atmósfera de hidrógeno durante 6 horas. La mezcla se filtró a través de Celite-545 y la torta de filtro se lavó con diclorometano (200 ml). El filtrado se concentró a presión reducida y se colocó a alto vacío durante una noche para proporcionar (006) según se confirmó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 172,13) y se usó en la transformación subsiguiente sin purificación adicional.

40 Compuesto (007):

**[0151]** A una disolución a 0 °C de (004) y (0,06), HOBT (2,5 g, 18 mmol) y HBTU (6,9 g, 18 mmol) en tetrahidrofurano (400 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropilamina (8 ml, 46 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) durante 10 minutos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas. La mayoría de los disolventes se eliminaron a presión reducida y el material remanente se diluyó con acetato de etilo (400 ml). La disolución resultante se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (hexano y acetato de etilo), para proporcionar (007) (3,5 g) caracterizado mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 520,29).

#### 10 Compuesto (008):

**[0152]** A una disolución a 0 °C de (007) (320 mg, 0,616 mmol) en diclorometano (10 ml) se añadió ácido trifluoroacético (10 ml) y la disolución resultante se agitó a la misma temperatura durante otra hora. Las capas orgánicas se concentraron a presión reducida y después se colocaron a alto vacío durante 2 horas para proporcionar (008) según se confirmó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 420,24), que se usó sin purificación adicional.

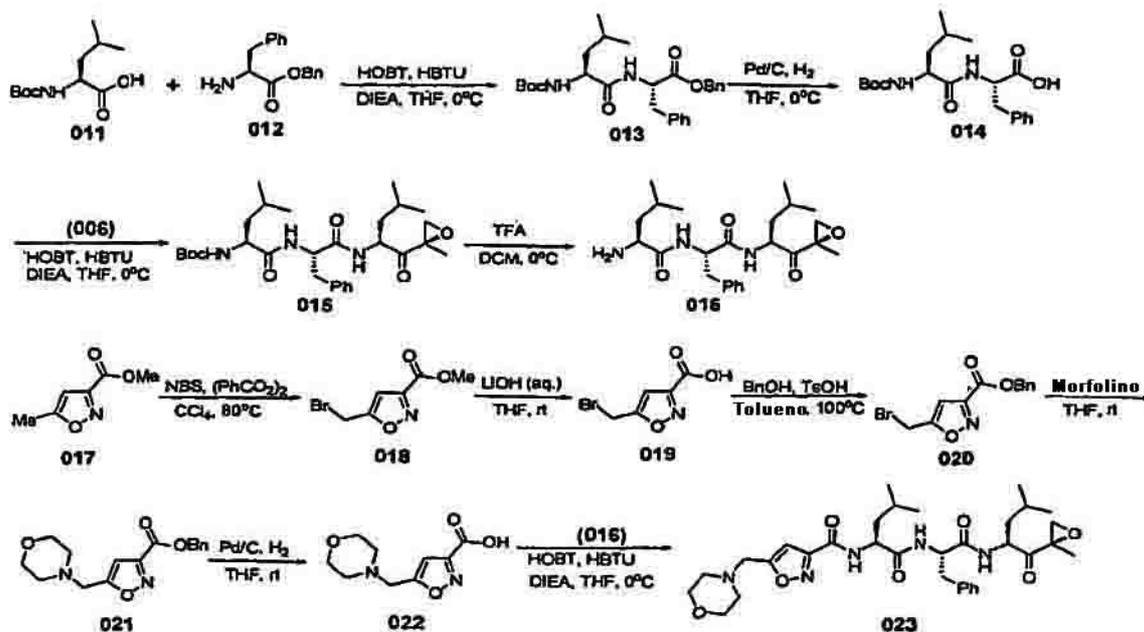
Compuesto (010):

**[0153]** A una disolución a 0 °C de (008), ácido 5-metil-isoxazol-3-carboxílico (009) (94 mg, 0,74 mmol), HOBT (135 mg, 1,0 mmol) y HBTU (350 mg, 1,0 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropilamina (0,5 ml, 2,5 mmol) en tetrahidrofurano (2 ml) durante 5 minutos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas y después se diluyó con acetato de etilo (200 ml). Entonces se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml) y las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (010) (195 mg) caracterizado mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 529,26); >90% de inhibición del proteosoma CT-L a 40 mg/kg PO.

#### Ejemplo 2

30 **[0154]**

#### Esquema 2: Síntesis del Ejemplo 023



Compuesto (013):

35

**[0155]** A una disolución a 0 °C de N-Boc L-leucina (011) (2,6 g, 11 mmol), clorhidrato de bencil éster de L-fenilalanina (012) (2,9 g, 10 mmol), HOBT (1,7 g, 11 mmol) y HBTU (3,9 g, 11 mmol) en tetrahidrofurano (200 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (4,9 ml, 30 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) durante 5 minutos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas y se volvió homogénea. Después se diluyó con 5 acetato de etilo (300 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (100 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (hexano y acetato de etilo) para proporcionar (013) (4,4 g), caracterizado mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 469,26).

10 *Compuesto (014):*

**[0156]** A una disolución a 0 °C de (013) (4,32 g, 9,24 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió Pd al 10%/C (500 mg). La mezcla resultante se dejó en agitación bajo 1 atmósfera de hidrógeno durante 4 horas. La mezcla se filtró a través de Celite-545 y la torta de filtro se lavó con tetrahidrofurano. El filtrado orgánico se concentró 15 a presión reducida y se colocó a alto vacío para proporcionar (014) (3,5 g), según se confirmó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 378,22), que se usó sin purificación adicional.

*Compuesto (015):*

20 **[0157]** A una disolución a 0 °C de (014) (3,5 g, 9,24 mmol) y (006) (2,4 g, 11 mmol), HOBT (1,7 g, 11 mmol) y HBTU (3,9 g, 11 mmol) en tetrahidrofurano (200 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (4,9 ml, 30 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) durante 5 minutos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas y se volvió homogénea. Después se diluyó con acetato de etilo (400 ml), y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron 25 a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (hexano y acetato de etilo), y el compuesto deseado (015) (5,0 g) se aisló y se caracterizó mediante y se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 532,33).

*Compuesto (016):*

30 **[0158]** A una disolución a 0 °C de (015) (5,0 g, 9,40 mmol) en diclorometano (50 ml) se añadió ácido trifluoroacético (20 ml) durante 5 minutos, y la disolución resultante se agitó a la misma temperatura durante otra hora. Las capas orgánicas se concentraron a presión reducida y se colocaron a alto vacío para proporcionar (016) 35 según se confirmó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 432,33), que se usó sin purificación adicional.

*Compuesto (018):*

**[0159]** A una disolución de carboxilato de metil 5-metil-3-isoxazol (017) (14,1 g, 100 mmol) en tetracloruro de carbono (500 ml) se añadió N-bromosuccinimida (23 g, 130 mmol) y peróxido de benzoilo (2,5 g, 10 mmol) a 40 temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a 80 °C en una atmósfera de argón durante una noche. La reacción se enfrió entonces y se diluyó con 500 ml de diclorometano y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (3 x 100 ml). La fase acuosa se extrajo con 200 ml de diclorometano, y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>. Los disolventes se eliminaron y el residuo se purificó mediante 45 cromatografía ultrarrápida (hexano y acetato de etilo) para proporcionar (018) (7,9 g) que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 219,95).

*Compuesto (019):*

**[0160]** A una disolución a 0 °C de (018) (12 g, 55 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml) se añadió hidróxido de litio 50 acuoso (35 ml, 4 N). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Entonces se acidificó con ácido clorhídrico (2 N) a pH =1 y se extrajo con tetrahidrofurano (3 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 ml), se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron. Los disolventes se eliminaron y el residuo se liofilizó para producir (019) (8,2 g), que se confirmó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 205,95), y se usó 55 sin purificación adicional.

*Compuesto (020):*

**[0161]** Una disolución de (019) (6,0 g, 30 mmol), alcohol bencílico (3,5 ml) y ácido p-toluensulfonílico (1,1 g, 6 mmol) en tolueno (100 ml) se agitó a 100 °C durante una noche. Después se dejó enfriar, se diluyó con 300 ml de

acetato de etilo y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado. La fase acuosa se extrajo entonces con 200 ml de acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron. Los disolventes se eliminaron y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (hexano y acetato de etilo), para proporcionar (020) (5,8 g), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 295,98).

5

*Compuesto (021):*

**[0162]** Una disolución de (020) (2,0 g, 6,8 mmol) y morfolina (3,0 ml) en tetrahidrofurano (50 ml) se agitó a temperatura ambiente durante dos horas. Después se eliminaron los disolventes y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (hexano y acetato de etilo/metanol) para proporcionar (021) (820 mg) que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 303,13).

*Compuesto (022):*

15 **[0163]** A una disolución de (021) (400 mg, 1,32 mmol) en tetrahidrofurano (40 ml) se añadió 10%Pd/C (100 mg) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente bajo una atmósfera de hidrógeno durante 2 horas. Después se filtró a través de Celite y se concentró para dar (022), que se confirmó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 213,08), y se usó sin purificación adicional.

20 *Compuesto (023):*

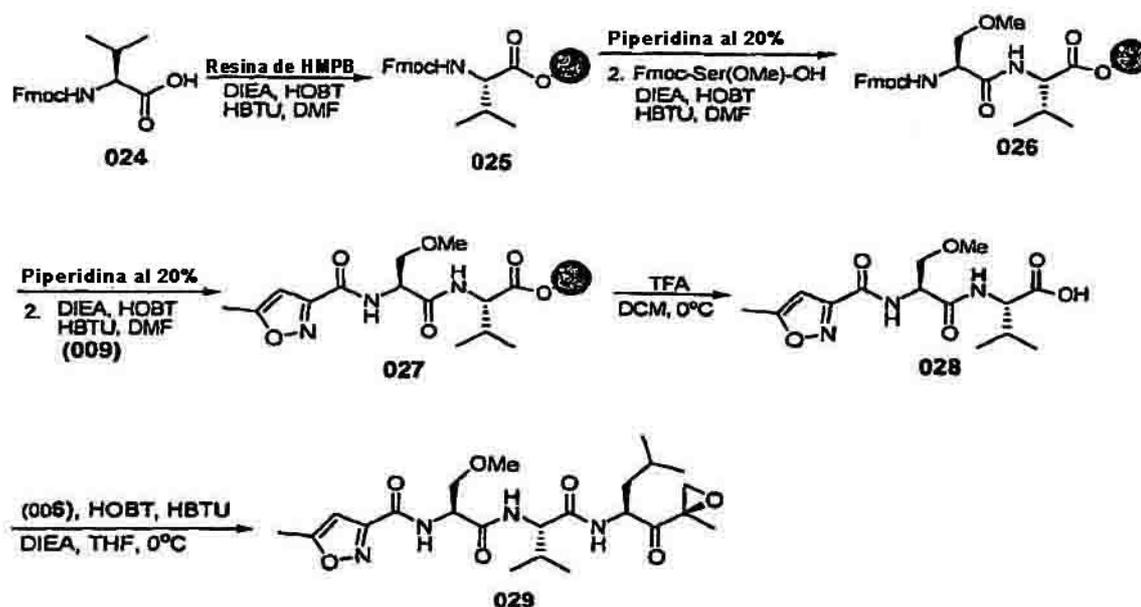
**[0164]** A una disolución a 0 °C de (016) (130 mg, 0,3 mmol) y (022) (70 mg, 0,4 mmol), HOBT (70 mg, 0,5 mmol) y HBTU (170 mg, 0,5 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml, 2,5 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas y se volvió homogénea. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar el Compuesto (023) (125 mg) que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 626,35); >80% de inhibición del proteosoma CT-L a 40 mg/kg PO.

30

### Ejemplo 3

**[0165]**

35 **Esquema 3: Síntesis del Ejemplo 029**



*Compuesto (025):*

**[0166]** A una disolución a 0 °C de Fmoc-Val-OH (024) (348 mg, 1,6 mmol) en diclorometano (4 ml) se añadieron MSNT (474 mg, 1,6 mmol) y N-metil-imidazol (0,13 ml, 1,6 mmol). Se añadió la resina de HMPB (400 mg, 0,32 mmol) una vez que la mezcla se volvió homogénea. La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación durante dos horas a temperatura ambiente. La resina se eliminó mediante filtración, se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml), y se dejó secar al aire para producir (025).

10 *Compuesto (026):*

**[0167]** La resina (025) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La resina se eliminó mediante filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml).

15

**[0168]** A una disolución a 0 °C de Fmoc-Ser(OMe)-OH (546 mg, 1,6 mmol) en N,N-dimetilformamida (4 ml) se añadieron HOBT (245 mg, 1,6 mmol), HBTU (606 mg, 1,6 mmol,) y N,N-diisopropiletilamina (0,6 ml, 3,2 mmol). La resina se añadió una vez que la mezcla de reacción se volvió homogénea. La mezcla resultante se dejó en agitación durante una noche. Después la resina se filtró y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml), y se dejó secar al aire para producir (026).

20

*Compuesto (027):*

**[0169]** La resina (026) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La resina se eliminó mediante filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml).

25

**[0170]** A una disolución a 0 °C de ácido 5-metil-isoxazol-3-carboxílico (009) (162 mg, 1,6 mmol) en N,N-dimetilformamida (4 ml) se añadieron HOBT (245 mg, 1,6 mmol), HBTU (606 mg, 1,6 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (0,6 ml, 3,2 mmol). Una vez que la mezcla resultante se volvió homogénea, se añadió la resina y la mezcla de reacción resultante se dejó en agitación durante una noche. La resina se filtró y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml), y la resina se dejó secar al aire para producir (027).

30

*Compuesto (028):*

35

**[0171]** La resina (027) se añadió una disolución de 50% ácido trifluoroacético en diclorometano (10 ml), y la mezcla resultante se dejó en agitación durante 30 minutos. Después la resina se filtró y se lavó con diclorometano (3 x 10 ml). Los volátiles se eliminaron a presión reducida para proporcionar (028) que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 328,14), y se usó sin purificación adicional.

40

*Compuesto (029):*

**[0172]** A una disolución a 0 °C de (029) y (006) (117 mg, 0,4 mmol), HOBT (70 mg, 0,5 mmol) y HBTU (170 mg, 0,5 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml, 2,5 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas y se volvió homogénea. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (029) (125 mg) que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 481,26); >70% de inhibición del proteosoma CT-L a 20 mg/kg PO.

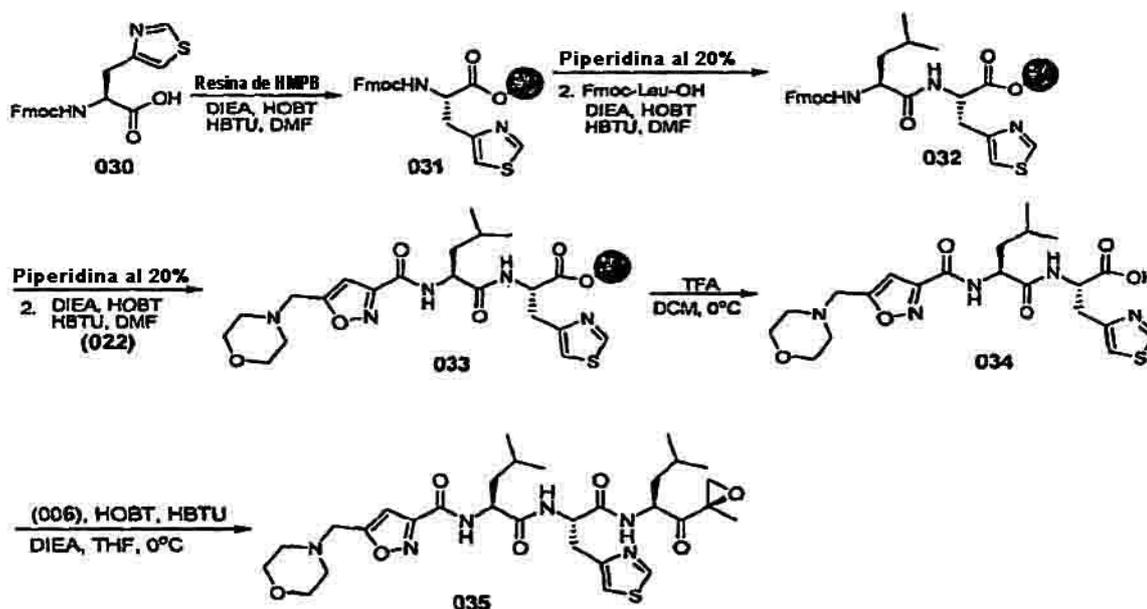
45

50

**Ejemplo 4****[0173]**

55

**Esquema 4: Síntesis del Ejemplo 035**



Compuesto (031):

5 **[0174]** A una disolución a 0 °C de Fmoc-L-4-tiazolilalanina (030) (1,0 g, 2,5 mmol) en diclorometano (4 ml) se añadieron N-metil-imidazol (150  $\mu$ L, 1,9 mmol), MSNT (755 mg, 2,55 mmol) y resina de HMPB (800 mg, 0,51 mmol) se añadió una vez que la mezcla se volvió homogénea. La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación durante dos horas a temperatura ambiente. Después la resina se filtró y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml), y se dejó secar al aire para producir (031).

10

Compuesto (032).

**[0175]** La resina (031) (360 mg, 0,23 mmol) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después la resina se filtró y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml).

15

**[0176]** A una disolución a 0 °C de Fmoc-L-Leucina (204 mg, 0,58 mmol) en N,N-dimetilformamida (4 ml) se añadieron HOBT (124 mg, 0,92 mmol), HBTU (349 mg 0,92 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (402  $\mu$ L, 2,3 mmol). Después se añadió la resina una vez que la mezcla de reacción se volvió homogénea. La mezcla resultante se dejó en a 5 °C durante 5 horas. Después la resina se filtró y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml), y la resina resultante se dejó secar al aire para producir (032).

20

Compuesto (033):

25 **[0177]** La resina (032) (0,23 mmol) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después la resina se filtró y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml).

**[0178]** A una disolución a 0 °C de (022) (123 mg 0,58 mmol) en N,N-dimetilformamida (4 ml) se añadieron HOBT (124 mg, 0,92 mmol), HBTU (349 mg 0,92 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (402  $\mu$ L, 2,3 mmol). Una vez que la mezcla resultante se volvió homogénea, se añadió la resina y la mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche. Después la resina se filtró, se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml), y la resina resultante se dejó secar al aire para producir (033).

35 Compuesto (034):

**[0179]** A la resina (033) se añadió una disolución de ácido trifluoroacético al 50% en diclorometano (10 ml), y

la mezcla resultante se dejó en agitación durante 30 minutos. Después se filtró y la resina se lavó con diclorometano (3 x 10 ml). Los volátiles se eliminaron a presión reducida para proporcionar (34), caracterizado mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 480,18), que se usó sin purificación adicional.

#### 5 Compuesto (035):

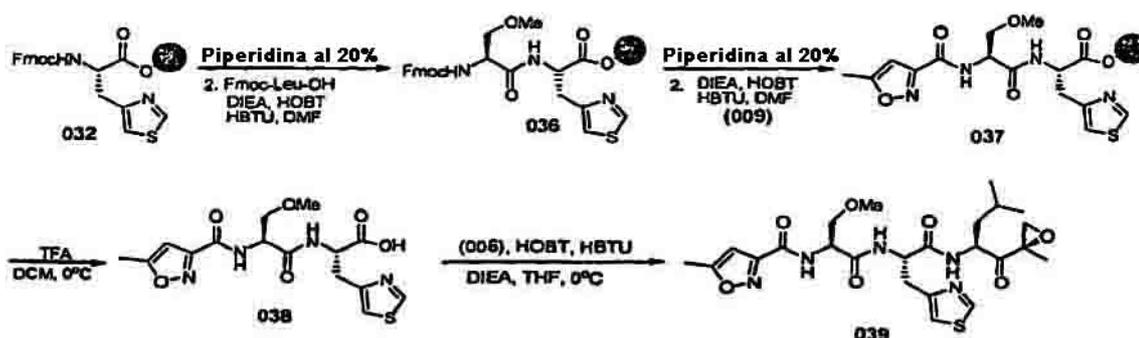
**[0180]** A una disolución a 0 °C de (034) y (006) (70 mg, 0,23 mmol), HOBT (50 mg, 0,37 mmol) y HBTU (140 mg, 0,37 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml, 2,5 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas y después se diluyó con acetato de etilo (200 ml). Después se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545 y los disolventes se eliminaron a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (035) (15 mg) que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 633,3); >90% de inhibición del proteosoma CT-L a 40 mg/kg PO.

15

#### Ejemplo 5

#### [0181]

#### 20 Esquema 5: Síntesis del Ejemplo 039



#### Compuesto (036):

25

**[0182]** La resina (031) (800 mg, 0,23 mmol) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La resina se eliminó mediante filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml).

**[0183]** A una disolución a 0 °C de Fmoc-L-Ser(OMe)-OH (435 mg, 1,3 mmol) en N,N-dimetilformamida (10 ml) se añadieron HOBT (276 mg, 2,0 mmol), HBTU (710 mg, 2,0 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (0,9 ml, 5,1 mmol). Después se añadió la resina, una vez que la mezcla de reacción se volvió homogénea. La mezcla resultante se dejó en agitación a 5 °C durante 5 horas. Después la resina se filtró y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml) y se dejó secar al aire hasta los compuestos para su uso en el rendimiento (036).

35

#### Compuesto (037):

**[0184]** La resina (036) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La resina se eliminó mediante filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml).

40

**[0185]** A una disolución a 0 °C de (009) (162 mg, 1,3 mmol) en N,N-dimetilformamida (4 ml) se añadieron HOBT (276 mg, 2,0 mmol), HBTU (710 mg, 2,0 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (0,9 ml, 5,1 mmol). Una vez que la mezcla resultante se volvió homogénea, se añadió la resina y la mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche. Después la resina se filtró, se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml), y se dejó secar al aire para producir (037).

45

Compuesto (038):

[0186] A (037) se añadió una disolución de ácido trifluoroacético al 50% en diclorometano (10 ml), y la mezcla resultante se dejó en agitación durante 30 minutos. Después la resina se filtró y se lavó con diclorometano (3 x 10 ml). Los volátiles se eliminaron a presión reducida para proporcionar (38), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 383,09) y se usó sin purificación adicional.

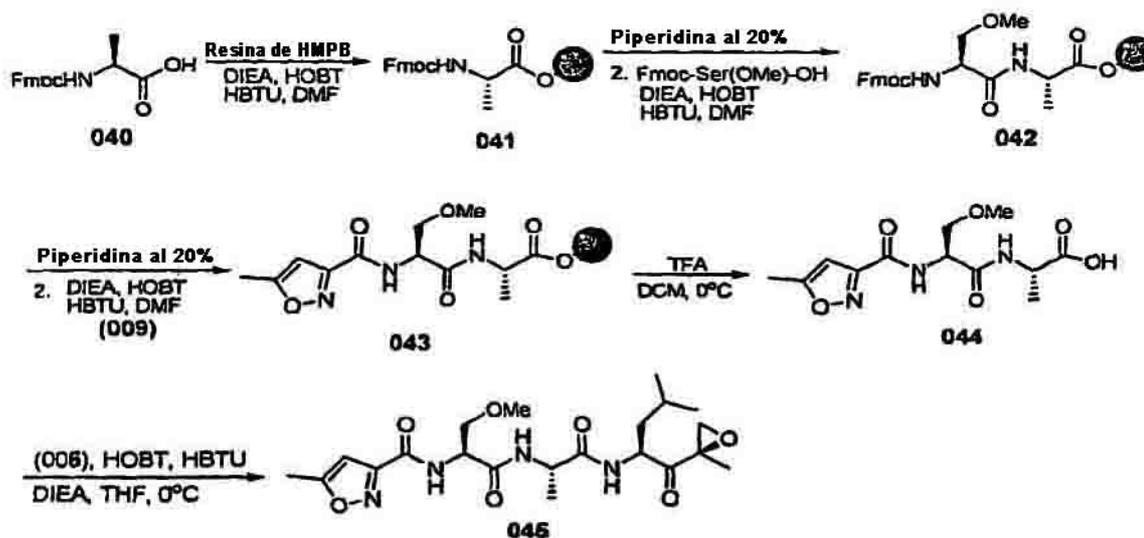
Compuesto (039): a una disolución 0 °C de (038) y (006) (156 mg, 0,51 mmol), HOBT (111 mg, 0,82 mmol) y HBTU (311 mg, 0,82 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml, 2,5 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas y se volvió homogénea. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (039) (22 mg), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 536,21); >75% de inhibición del proteosoma CT-L a 20 mg/kg PO.

### Ejemplo 6

[0187]

20

Esquema 6: Síntesis del Ejemplo 045 (metodología A)



25 Compuesto (041):

[0188] A una disolución a 0 °C de Fmoc-L-alanina (040) (1,0 g, 3,2 mmol) en diclorometano (30 ml) se añadieron N-metil-imidazol (190 ml, 12,4 mmol), MSNT (950 mg, 3,2 mmol) y resina de HMPB (1,0 g, 0,64 mmol), que se añadió después una vez que la mezcla se volvió homogénea. La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación durante dos horas a temperatura ambiente. Después la resina se filtró y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml) para producir (041).

Compuesto (042):

35 [0189] La resina (041) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La resina se eliminó mediante filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml).

[0190] A una disolución a 0 °C de Fmoc-Ser(OMe)-OH (546 mg, 1,6 mmol) en N,N-dimetilformamida (10 ml)

se añadieron HOBT (346 mg, 2,6 mmol), HBTU (970 mg, 2,6 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (1,1 ml, 6,4 mmol). Después se añadió la resina una vez que la mezcla de reacción se volvió homogénea. La mezcla resultante se dejó en agitación a 5 °C durante 5 horas. Después la resina se filtró y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml), y se dejó secar al aire para producir (042).

5

*Compuesto (043):*

**[0191]** La resina (042) (0,23 mmol) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La resina se eliminó mediante filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml).

**[0192]** A una disolución a 0 °C de (009) (203 mg, 1,6 mmol) en N,N-dimetilformamida (10 ml) se añadieron HOBT (346 mg, 2,6 mmol), HBTU (970 mg, 2,6 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (1,1 ml, 6,4 mmol). Una vez que la mezcla resultante se volvió homogénea, se añadió la resina y la mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche. Después la resina se filtró, se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml), y se dejó secar al aire para producir (043).

*Compuesto (044):*

**[0193]** A (043) se añadió una disolución de ácido trifluoroacético al 50% en diclorometano (10 ml), y la mezcla resultante se dejó en agitación durante 30 minutos. Después la resina se filtró y se lavó con diclorometano (3 x 10 ml). Los volátiles se eliminaron a presión reducida para proporcionar (044), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 300,11) y se usó sin purificación adicional.

*Compuesto (045):*

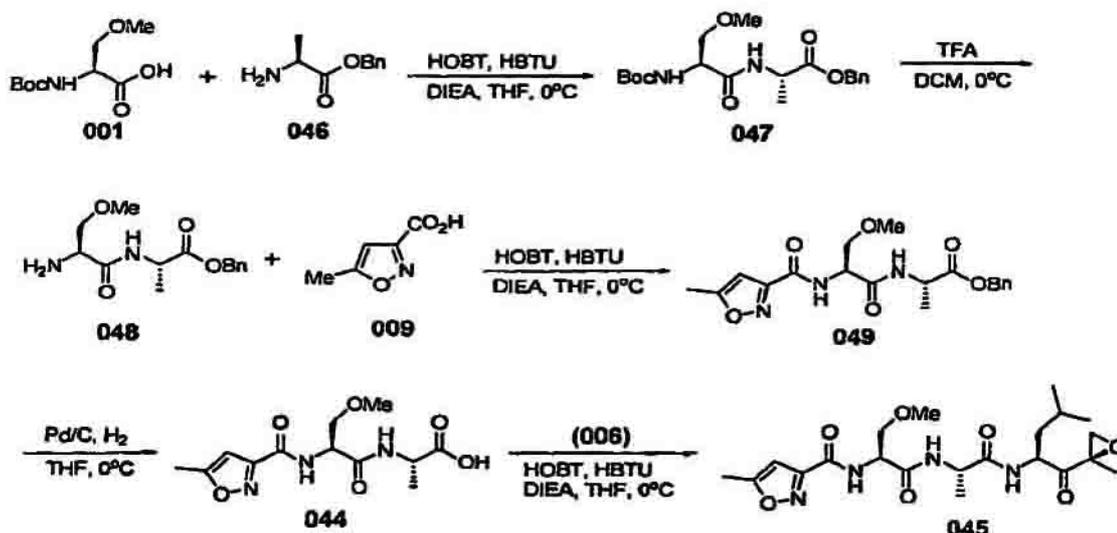
**[0194]** A una disolución a 0 °C de los intermedios mencionados anteriormente (044) y (006) (195 mg, 0,64 mmol), HOBT (137 mg, 1,0 mmol) y HBTU (357 mg, 1,0 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml, 2,5 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (045) (84 mg), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 453,23); >80% de inhibición del proteosoma CT-L a 20 mg/kg PO.

35

### **Ejemplo 7**

**[0195]**

**40 Esquema 7: Síntesis del Ejemplo 045 (metodología B)**



Compuesto (047):

- 5 **[0196]** A una disolución a 0 °C de N-Boc-serina (metil éter) (001) (6,57 g, 33 mmol), clorhidrato de bencil éster de L-alanina (046) (6,45 g, 30 mmol), HOBT (5,05 g, 33 mmol) y HBTU (11,8 g, 33 mmol) en tetrahidrofurano (400 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (9,0 g, 70 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) durante 10 minutos. La mezcla se volvió homogénea y se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas. Después se eliminó la mayor parte del disolvente a presión reducida y el material resultante se diluyó con acetato de etilo (500 ml).  
 10 Se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 150 ml) y salmuera (200 ml) y las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (hexano y acetato de etilo) para proporcionar (047) (11,8 g), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 381,19).

15 *Compuesto (048):*

- [0197]** A una disolución a 0 °C de (047) (11,8 g, 31,0 mmol) en diclorometano (100 ml) se añadió ácido trifluoroacético (50 ml) durante 10 minutos, y la mezcla resultante se agitó a la misma temperatura durante otras 3 horas. Después se eliminaron los disolventes a presión reducida y el residuo se puso a alto vacío durante una noche para proporcionar la sal de TFA de (048), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 281,15) y se usó sin purificación adicional.  
 20

*Compuesto (049):*

- 25 **[0198]** A una disolución a 0 °C de (048), ácido 5-metil-isoxazol-3-carboxílico (009) (3,93 g, 31 mmol), HOBT (4,7 g, 35 mmol) y HBTU (12,5 g, 35 mmol) en tetrahidrofurano (400 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (20 ml) en tetrahidrofurano (100 ml) durante 10 minutos, y el pH de la mezcla resultante era de ~ 8. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas. Después se eliminó la mayor parte del disolvente a presión reducida y se diluyó con acetato de etilo (1,0 l). Después se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml) y las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (hexano y acetato de etilo) para proporcionar (049) (10,8 g), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 390,16).  
 30

35 *Compuesto (044):*

- [0199]** A una disolución a 0 °C de (049) (3,28 g, 8,4 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió Pd al 10%/C (500 mg). La mezcla resultante se dejó en agitación bajo 1 atmósfera de hidrógeno durante 4 horas. Después, la mezcla se filtró a través de Celite-545 y la torta de filtro se lavó con tetrahidrofurano. El filtrado orgánico se concentró a presión reducida y se colocó a alto vacío durante 2 h para producir (044), que se caracterizó mediante CL/EM  
 40

(LCRS (MH) m/z: 281,15) y se usó sin purificación adicional.

Compuesto (045):

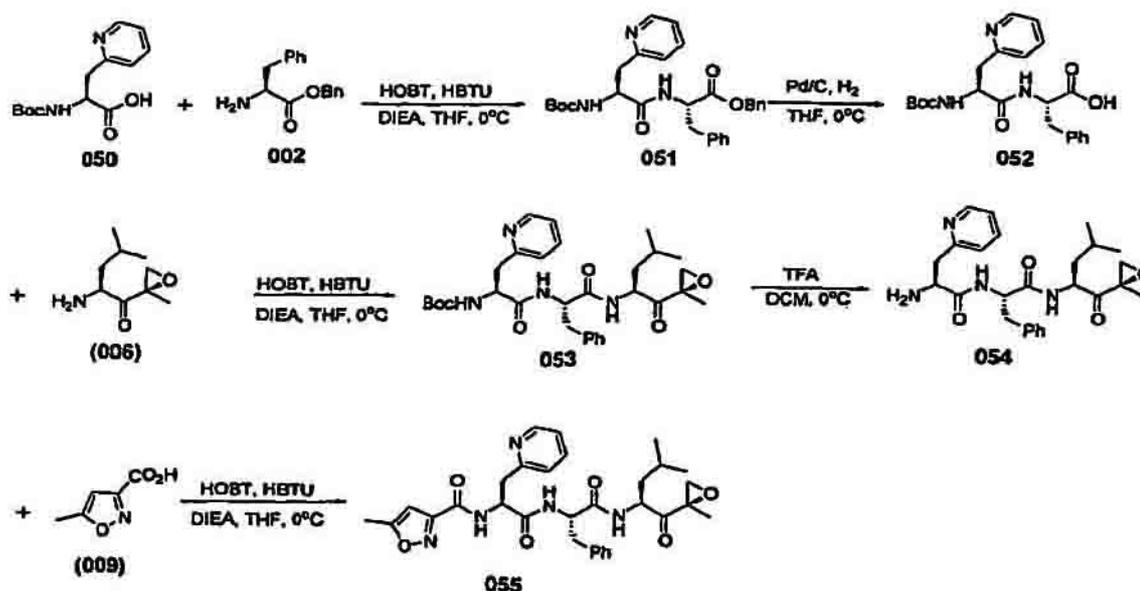
- 5 **[0200]** A una disolución a 0 °C de (044) y (006) (1,9 g, 8,5 mmol), HOBT (2,0 g, 13 mmol) y HBTU (5,4 g, 14 mmol) en tetrahidrofurano (200 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (5,4 g, 42 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas. Después se eliminó la mayor parte del disolvente a presión reducida y el material resultante se diluyó con acetato de etilo (400 ml). Después se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml) y las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (045) (1,35 g), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 453,23).

### Ejemplo 8

15

**[0201]**

#### Esquema 8: Síntesis del Ejemplo 055



20

Compuesto (051):

- 25 **[0202]** A una disolución a 0 °C de N-Boc-L-2-piridilalanina (050) (1,0 g, 3,76 mmol), clorhidrato de bencil éster de L-fenilalanina (002) (1,3 g, 3,76 mmol), HOBT (0,68 g, 5,0 mmol) y HBTU (1,8 g, 5,0 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (1,6 ml) en tetrahidrofurano (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas y después se diluyó con acetato de etilo (200 ml), se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (100 ml) y las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (hexano y acetato de etilo) para proporcionar (051) (1,45 g), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 504,24).

30

Compuesto (052):

- 35 **[0203]** A una disolución a 0 °C de (051) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió Pd al 10%/C (100 mg) y la mezcla resultante se dejó en agitación bajo 1 atmósfera de hidrógeno durante 4 horas. Después, la mezcla se filtró a través de Celite-545 y la torta de filtro se lavó con tetrahidrofurano. Después el filtrado orgánico se concentró a

presión reducida y se colocó a alto vacío para proporcionar (052) mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 414,2), que se usó sin purificación adicional.

Compuesto (053):

5

**[0204]** A una disolución a 0 °C de (052) y (006) (0,85 g, 3,9 mmol), HOBT (0,70 g, 5,3 mmol) y HBTU (1,70 g, 4,9 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (3 ml) en tetrahidrofurano (10 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545, y los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (hexano y acetato de etilo) y HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (053) (1,51 g), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 567,21).

10

15 Compuesto (054):

**[0205]** A una disolución a 0 °C de (053) (200 mg, 0,352 mmol) en diclorometano (10 ml) se añadió ácido trifluoroacético (10 ml), y la disolución resultante se agitó a la misma temperatura durante otra hora. La disolución se concentró a presión reducida y se colocó a alto vacío para proporcionar (054) según se confirmó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 467,26), que se usó sin purificación adicional.

20

Compuesto (055):

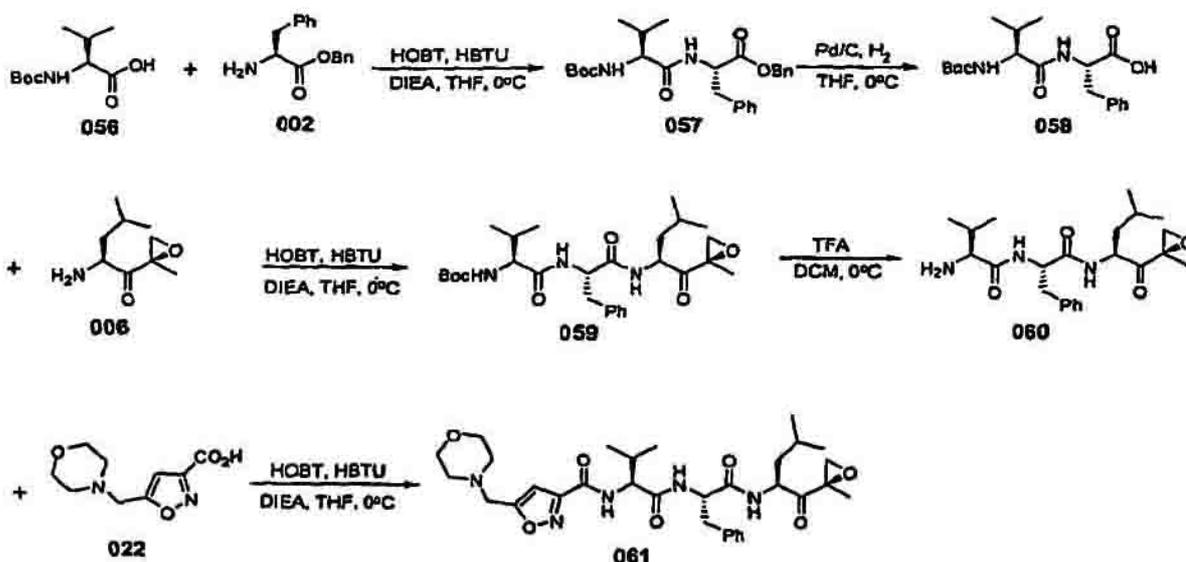
**[0206]** A una disolución a 0 °C de (054) y ácido 5-metil-isoxazol-3-carboxílico (009) (127 mg, 1,0 mmol), HOBT (135 mg, 1,0 mmol) y HBTU (350 mg, 1,0 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml) en tetrahidrofurano (2 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545, los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (055) (40 mg), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 576,27); >80% de inhibición del proteosoma CT-L a 20 mg/kg PO.

30

## Ejemplo 9

35 **[0207]**

### Esquema 9: Síntesis del Ejemplo 061



*Compuesto (057):*

5 **[0208]** A una disolución a 0 °C de N-Boc-L-n-valina (056) (1,0 g, 4,6 mmol), clorhidrato de bencil éster de L-fenilalanina (002) (1,4 g, 4,6 mmol), HOBT (1,0 g, 7,4 mmol) y HBTU (2,8 g, 7,4 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (3,2 ml, 18,4 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y después se diluyó con acetato de etilo (200 ml), se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (100 ml), y las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó  
10 mediante cromatografía ultrarrápida (hexano y acetato de etilo) para proporcionar (057) que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 455,25).

*Compuesto (058):*

15 **[0209]** A una disolución a 0 °C de (057) (1,30 g, 2,875 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió Pd al 10%/C (100 mg). La mezcla resultante se dejó en agitación bajo 1 atmósfera de hidrógeno durante 4 horas. La mezcla se filtró a través de Celite-545 y la torta de filtro se lavó con tetrahidrofurano. Después, el filtrado se concentró a presión reducida y se colocó a alto vacío para proporcionar (058), según se confirmó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 365,2), que se usó sin purificación adicional.

20

*Compuesto (059):*

**[0210]** A una disolución a 0 °C de (058) y (006) (0,99 g, 4,6 mmol), HOBT (0,62 g, 4,6 mmol) y HBTU (1,70 g, 4,9 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (2,4 ml) en  
25 tetrahidrofurano (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche y después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Después los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (059) (1,21 g), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 518,32).

30

*Compuesto (060):*

**[0211]** A una disolución a 0 °C de (059) (250 mg, 0,48 mmol) en diclorometano (10 ml) se añadió ácido trifluoroacético (10 ml), y la disolución resultante se agitó a la misma temperatura durante otra hora. Las capas  
35 orgánicas se concentraron a presión reducida y se colocaron a alto vacío para proporcionar (060) según se confirmó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 418,26), que se usó sin purificación adicional.

*Compuesto (061):*

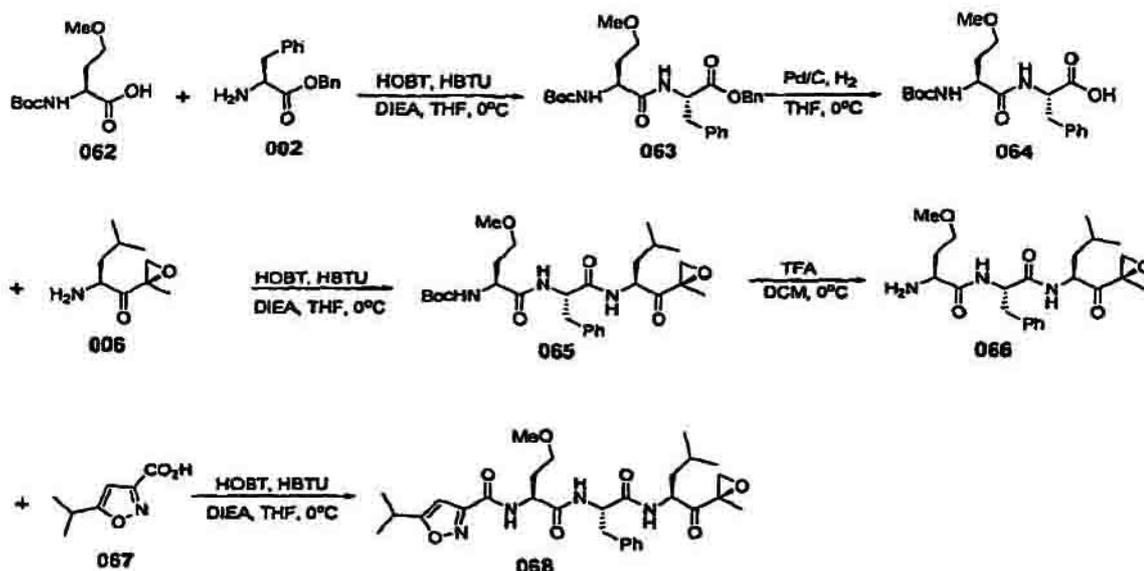
40 **[0212]** A una disolución a 0 °C de (060) y (022) (122 mg, 0,58 mmol), HOBT (104 mg, 0,77 mmol) y HBTU (292 mg, 0,72 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,35 ml) en tetrahidrofurano (2 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 4 horas. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a  
45 presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (061) (88,4 mg), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 612,33); >80% de inhibición del proteosoma CT-L a 40 mg/kg PO.

**Ejemplo 10**

50

**[0213]**

**Esquema 10: Síntesis del Ejemplo 068**



Compuesto (063):

- 5 **[0214]** A una disolución a 0 °C de N-Boc-HoSer(OMe)-OH (062) (1,0 g, 4,3 mmol), clorhidrato de bencil éster de L-fenilalanina (002) (1,3 g, 4,3 mmol), HOBT (0,88 g, 6,5 mmol) y HBTU (2,3 g, 6,5 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (2,0 ml) en tetrahidrofurano (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas y después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (100 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (hexano y acetato de etilo) para proporcionar (063) (1,81 g), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 471,24).

Compuesto (064):

- 15 **[0215]** A una disolución a 0 °C de (063) (1,35 g, 2,875 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió Pd al 10%/C (100 mg). La mezcla resultante se dejó en agitación bajo 1 atmósfera de hidrógeno durante 4 horas. La mezcla se filtró a través de Celite-545 y la torta de filtro se lavó con tetrahidrofurano. El filtrado orgánico se concentró a presión reducida y se colocó a alto vacío para proporcionar (064), según se confirmó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 381,19), que se usó sin purificación adicional.

Compuesto (065):

- 25 **[0216]** A una disolución a 0 °C de (065) y (006) (0,99 g, 4,6 mmol), HOBT (0,62 g, 4,6 mmol) y HBTU (1,70 g, 4,9 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (2,4 ml) en tetrahidrofurano (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche y después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (065) (1,11 g), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 534,31).

Compuesto (066):

- 35 **[0217]** A una disolución a 0 °C de (065) (230 mg, 0,43 mmol) en diclorometano (20 ml) se añadió ácido trifluoroacético (10 ml), y la disolución resultante se agitó a la misma temperatura durante otra hora. Después, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y se colocó a alto vacío para proporcionar (066) según se confirmó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 434,26), que se usó sin purificación adicional.

Compuesto (068):

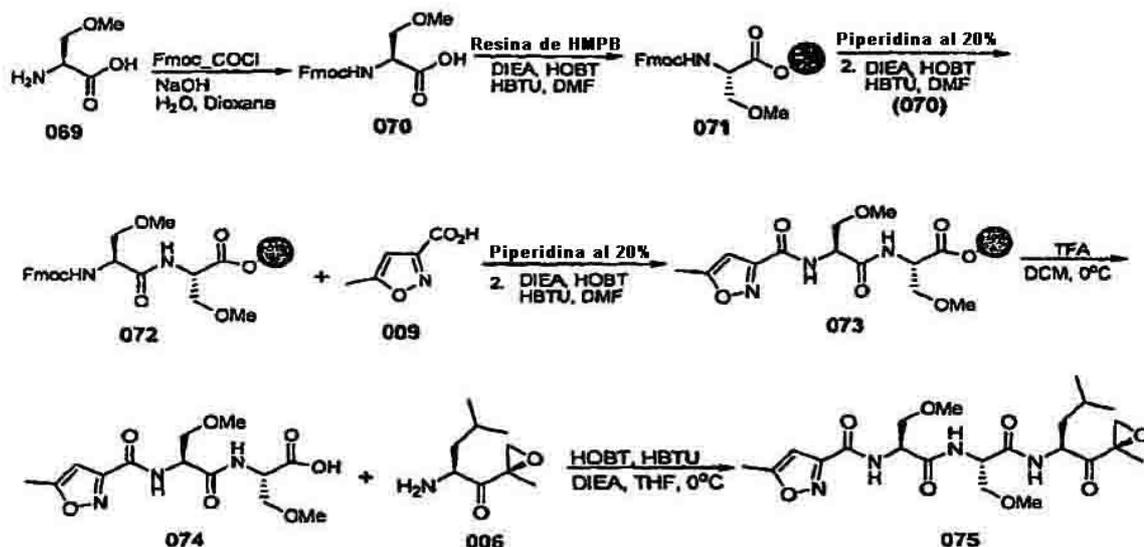
[0218] A una disolución a 0 °C de (066) y ácido 5-isopropilisoxazol-3-carboxílico (067) (81 mg, 0,52 mmol), HOBT (93 mg, 0,69 mmol) y HBTU (262 mg, 0,69 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml), se añadió una disolución de 5 N,N-diisopropiletilamina (0,30 ml) en tetrahidrofurano (2 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 4 horas. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (068) (757 mg), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 571,31); >70% de inhibición del proteosoma CT-L a 40 mg/kg PO.

Ejemplo 11

[0219]

15

Esquema 11: Síntesis del Ejemplo 075 (metodología A)



20 Compuesto (070):

[0220] A una disolución de clorhidrato de L-serina (metil éter) (069) (1,0 g, 6,4 mmol) en agua/dioxano (1:1, 80 ml) se añadió hidróxido sódico (768 mg, 19,2 mmol). Después de la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos, se enfrió hasta 0°C, y se añadió gota a gota una disolución de cloroformiato de 9-fluorenilmetilo (1,65 g, 6,4 mmol) en dioxano (16 ml). La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante otras 4 horas. Entonces se eliminaron los disolventes, el residuo se diluyó con agua y el pH se ajustó a ~ 1 con HCl 1 N, y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (4 x 100 ml). Las capas orgánicas se concentraron a presión reducida y se colocaron a alto vacío para proporcionar (070) (1,8 g), según se confirmó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 342,13), que se usó sin purificación adicional.

30

Compuesto (071):

[0221] La resina de HMPB-BHA (500 mg, 0,32 mmol) se lavó con diclorometano. En un matraz seco, se disolvió Fmoc-Ser(Me)-OH (070) (546 mg, 1,6 mmol) en diclorometano y a la disolución se añadió 1-metilimidazol (95 ml, 1,2 mmol) seguido de MSNT (474 mg, 1,6 mmol). Una vez que la mezcla resultante se había vuelto homogénea (10 minutos) se añadió a la resina de HMPB-BHA como una suspensión en diclorometano (5 ml). La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación durante una noche. Después la resina se filtró y se lavó con DMF (3 x 20 ml), MeOH (3 x 20 ml), DCM (3 x 20 ml), y se dejó secar al aire para producir (071).

35

*Compuesto (072):*

**[0222]** La resina (071) (300 mg, 0.192 mmol) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml) dos veces.

**[0223]** A una disolución a 0 °C de Fmoc-Ser(Me)-OH (070) (0,48 mmol, 163 mg) en N,N-dimetilformamida (10 ml) se añadió HOBt (104 mg, 0,77 mmol), HBTU (291 mg, 0,77 mmol) y diisopropiletilamina (0,34 ml, 1,92 mmol). Una vez que la mezcla resultante se volvió homogénea, se añadió la resina (0,13 mmol, 200 mg) y la mezcla de reacción resultante se dejó en agitación durante una noche. Después la resina se filtró y se lavó con DMF (10 ml), DCM (10 ml), MeOH (10 ml), H<sub>2</sub>O (10 ml), DMF (10 ml), MeOH (10 ml) y DCM (10 ml), y se dejó secar al aire para producir (072).

15 *Compuesto (073):*

**[0224]** A (072) (300 mg, 0,19 mmol) se añadió una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. La resina se eliminó mediante filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml) dos veces.

20

**[0225]** A una disolución a 0 °C de (009) (61 mg, 0,48 mmol) en N,N-dimetilformamida (2 ml) se añadió HOBt (104 mg, 0,77 mmol), HBTU (291 mg, 0,77 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (0,34 ml, 1,92 mmol). Una vez que la mezcla resultante se volvió homogénea, se añadió la resina (300 mg, 0,192 mmol) y la mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche. Después la resina se filtró, se lavó con DMF (10 ml), DCM (10 ml), MeOH (10 ml), H<sub>2</sub>O (10 ml), DMF (10 ml), MeOH (10 ml) y DCM (10 ml), y se dejó secar al aire para producir (073).

25 *Compuesto (074):*

**[0226]** A (073) se añadió una disolución de ácido trifluoroacético al 50% en diclorometano (10 ml), y la mezcla resultante se dejó en agitación durante 30 minutos. Después la resina se filtró y se lavó con diclorometano (3 x 10 ml). Los volátiles se eliminaron a presión reducida, y el compuesto deseado (074) se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 330,12) y se usó sin purificación adicional.

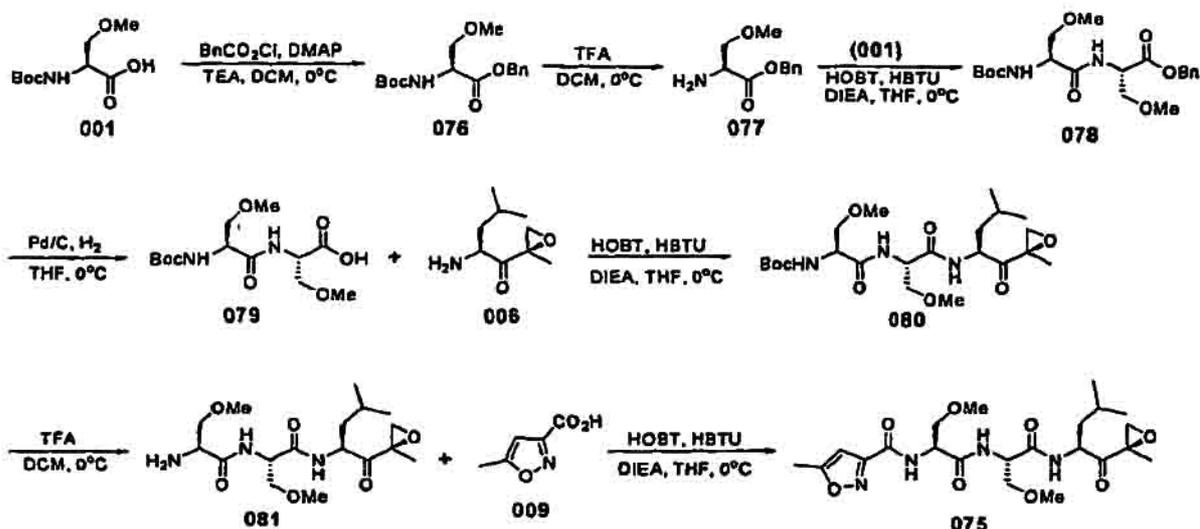
35 *Compuesto (075):*

**[0227]** A una disolución a 0 °C de (074) y (006) (78 mg, 0,38 mmol), HOBt (41 mg, 0,30 mmol) y HBTU (116 mg, 0,30 mmol) en acetonitrilo (50 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,1 ml, 0,6 mmol). La mezcla se agitó a 0 - 4 °C durante una noche y después se diluyó con acetato de etilo (200 ml). Después se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml) y las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (075) (29 mg), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 483,24); >80% de inhibición del proteosoma CT-L a 20 mg/kg PO.

## 45 Ejemplo 12

**[0228]****Esquema 12: Síntesis del Ejemplo 075 (metodología B)**

50



Compuesto (076):

- 5 **[0229]** A una disolución a 0 °C de N-Boc serina (metil éter)-OH (43,8 g, 200 mmol), trietilamina (26,5 g, 260 mmol) y 4-(dimetilamino) piridina en diclorometano (1,2 l) se añadió una disolución de cloroformiato de bencilo (41 g, 240 mmol) en diclorometano (250 ml) durante 30 minutos y la mezcla resultante se agitó a la misma temperatura durante otras 3 horas. Después se añadió bicarbonato sódico acuoso saturado (200 ml) y la capa orgánica se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (200 ml) y salmuera (200 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (hexano y acetato de etilo) para proporcionar (076) (54 g), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 310,16).

Compuesto (077):

- 15 **[0230]** A una disolución a 0 °C de (076) (54 g, 174,6 mmol) en diclorometano (200 ml) se añadió ácido trifluoroacético (200 ml) durante 10 minutos, y la mezcla resultante se agitó a la misma temperatura durante otras 3 horas. Después se eliminaron los disolventes a presión reducida y el residuo se puso a alto vacío durante una noche proporcionando la sal de TFA de (077), confirmada mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 210,11), y se usó sin purificación adicional.

Compuesto (078):

- 25 **[0231]** A una disolución a 0 °C de (077) (43,8 g, 200 mmol), N-Boc serina (metil éter)-OH (36,7 g, 167 mmol), HOBT (27 g, 200 mmol) y HBTU (71,4 g, 200 mmol) en tetrahidrofurano (1,2 l), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (75 g, 600 mmol) en tetrahidrofurano (250 ml) durante 10 minutos, y el pH de la mezcla resultante era de ~ 8. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas. Después se eliminó la mayor parte del disolvente a presión reducida y el material resultante se diluyó con acetato de etilo (1,0 l). Después se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 150 ml) y salmuera (200 ml) y las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (hexano y acetato de etilo) para proporcionar (078) (65 g), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 411,21).

Compuesto (079):

- 35 **[0232]** A una disolución a 0 °C de (079) (13,4 g, 32,7 mmol) en tetrahidrofurano (300 ml) se añadió Pd al 10%/C (2,7 g) y la mezcla resultante se dejó en agitación bajo 1 atmósfera de hidrógeno durante 4 horas. La mezcla se filtró a través de Celite-545 y la torta de filtro se lavó con tetrahidrofurano. Las capas orgánicas se concentraron a presión reducida y se colocaron a alto vacío para proporcionar (079) según se confirmó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 321,16), que se usó sin purificación adicional.

*Compuesto (080):*

**[0233]** A una disolución a 0 °C de (079) y (006) (5,6 g, 26 mmol), HOBT (6,0 g, 41,4 mmol) y HBTU (14,8 g, 41,4 mmol) en tetrahidrofurano (400 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (23 ml) en tetrahidrofurano (40 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después se eliminó la mayor parte del disolvente a presión reducida y el material resultante se diluyó con acetato de etilo (500 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (hexano y acetato de etilo) para proporcionar (080) (9,2 g), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 474,27).

*Compuesto (081):*

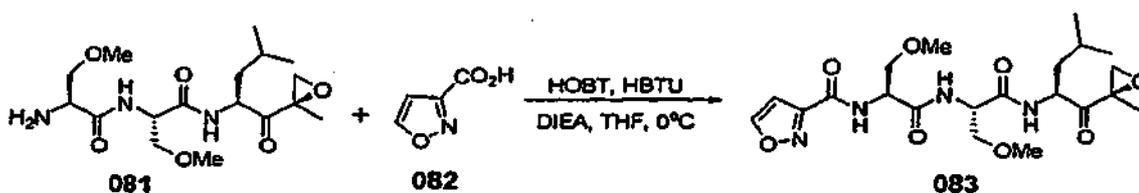
**[0234]** A una disolución a 0 °C de (080) (200 mg, 0,43 mmol) en diclorometano (10 ml) se añadió ácido trifluoroacético (10 ml), y la disolución resultante se agitó a la misma temperatura durante otra hora. Las capas orgánicas se concentraron a presión reducida y se colocaron a alto vacío para proporcionar (081) según se confirmó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 374,22), que se usó sin purificación adicional.

*Compuesto (075):*

**[0235]** A una disolución a 0 °C de (081) y ácido 5-metil-isoxazol-3-carboxílico (009) (65 mg, 0,5 mmol), HOBT (65 mg, 0,5 mmol) y HBTU (175 mg, 0,5 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml) en tetrahidrofurano (2 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico entraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (075) (85 mg), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 483,24).

**Ejemplo 13****[0236]****Esquema 13: Síntesis del Ejemplo 083**

35

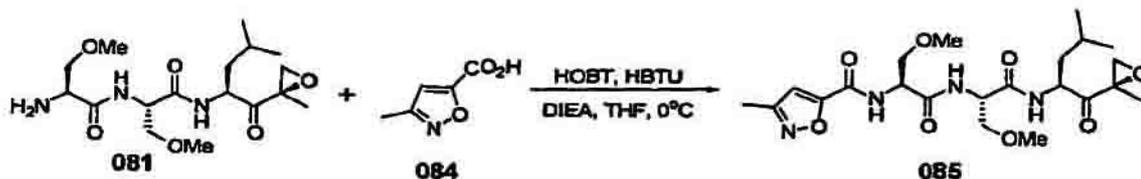
*Compuesto (083):*

**[0237]** A una disolución a 0 °C de (081) (160 mg, 0,43 mmol) y ácido isoxazol-3-carboxílico (082) (60 mg, 0,5 mmol), HOBT (65 mg, 0,5 mmol) y HBTU (175 mg, 0,5 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml) en tetrahidrofurano (2 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico entraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (083) (74 mg), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 469,22); >80% de inhibición del proteosoma CT-L a 20 mg/kg PO.

**Ejemplo 14**

50

**[0238] [0238]****Esquema 14: Síntesis del Ejemplo 085**

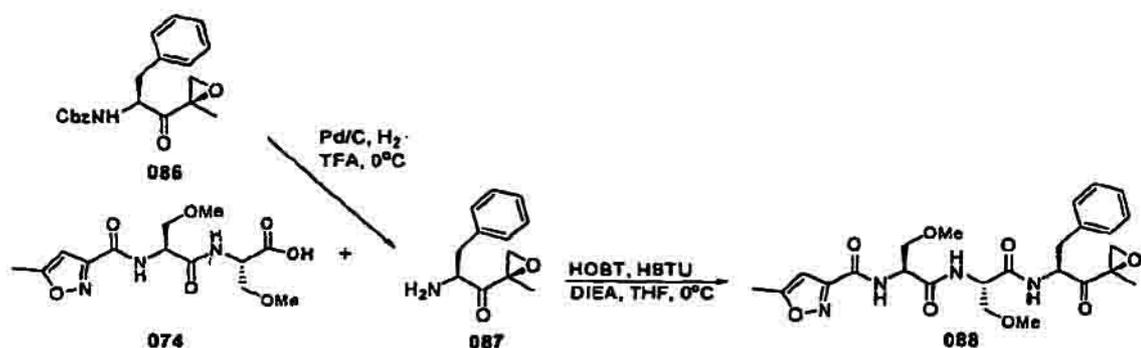


Compuesto (085):

5

**[0239]** A una disolución a 0 °C de (081) (160 mg, 0,43 mmol) y ácido isoxazol-3-carboxílico (084) (65 mg, 0,5 mmol), HOBT (65 mg, 0,5 mmol) y HBTU (175 mg, 0,5 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml), se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml) en tetrahidrofurano (2 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas. La reacción después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (085) (71 mg), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 483,24); >50% de inhibición del proteosoma CT-L a 20 mg/kg PO.

#### 15 Esquema 15: Síntesis del Ejemplo 088



Compuesto (087):

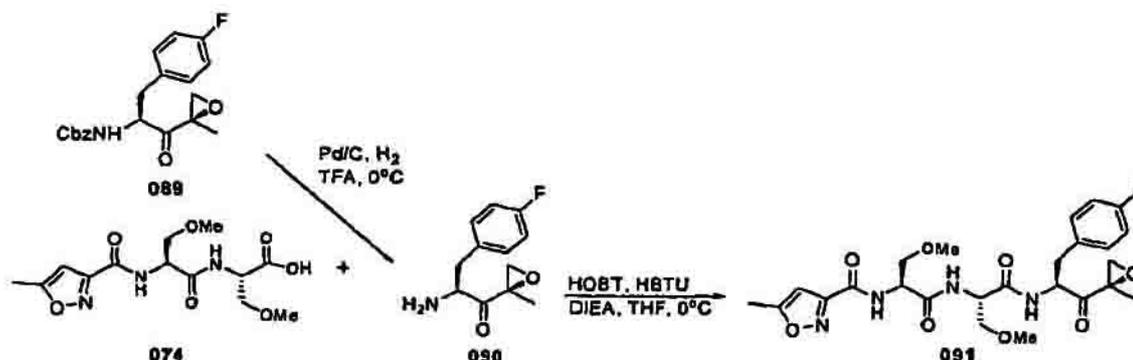
20

**[0240]** A una disolución de (086) (preparada usando el mismo procedimiento que (005) excepto porque la Cbz-fenilalanina se sustituyó por Cbz-Leucina) (0,100 g, 0,295 mmol) en ácido trifluoroacético (10 ml), se añadió Pd al 10%/C (20 mg). La mezcla resultante se dejó en agitación bajo 1 atmósfera de hidrógeno durante 6 horas. Después, la mezcla se filtró a través de Celite-545 y la torta de filtro se lavó con diclorometano (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida y se colocó a alto vacío durante una noche para proporcionar (087), según se confirmó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 206,1), que se usó en la transformación subsiguiente sin purificación adicional.

Compuesto (088):

**[0241]** A una disolución a 0 °C de (087) y (074) (166 mg, 0,354 mmol), HOBT (54 mg, 0,354 mmol) y HBTU (134 mg, 0,354 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml) se añadió N,N-diisopropiletilamina (0,2 ml, 1,18 mmol). La mezcla se agitó 0 °C durante una noche y se volvió homogénea. Después se diluyó con acetato de etilo (20 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron a través de Celite-545 y se concentraron a presión reducida, y el residuo se purificó mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (088) (10 mg), caracterizado mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 517,69); >80% de inhibición del proteosoma CT-L a 20 mg/kg PO.

#### Esquema 16: Síntesis del Ejemplo 091



Compuesto (090):

5 **[0242]** A una disolución de (089) (preparada usando el mismo procedimiento que (005) excepto porque la Cbz-4-fluorofenilalanina se sustituyó por Cbz-leucina) (0,100 g, 0,28 mmol) en ácido trifluoroacético (10 ml), se añadió Pd al 10%/C (20 mg). La mezcla resultante se dejó en agitación bajo 1 atmósfera de hidrógeno durante 6 horas. La mezcla se filtró a través de Celite-545 y la torta de filtro se lavó con diclorometano (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida y se colocó a alto vacío durante una noche para proporcionar (090), según se confirmó  
10 mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 224,1), que se usó en la transformación subsiguiente sin purificación adicional.

Compuesto (091):

**[0243]** A una disolución a 0 °C de (090) y (074) (110 mg, 0,336 mmol), HOBT (51 mg, 0,336 mmol) y HBTU  
15 (127 mg, 0,336 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml), se añadió N,N-diisopropiletilamina (0,2 ml, 1,18 mmol). La mezcla se agitó 0 °C durante una noche y se volvió homogénea. Después se diluyó con acetato de etilo (20 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron a través de Celite-545 y se concentraron a presión reducida. Después el residuo se purificó  
20 mediante HPLC (acetato amónico acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (091) (60 mg), que se caracterizó mediante CL/EM (LCRS (MH) m/z: 535,69); >80% de inhibición del proteosoma CT-L a 20 mg/kg PO.

### Actividad biológica

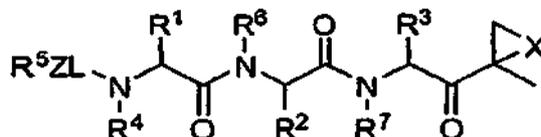
**[0244]** Los compuestos se formularon en vehículo de PS80/NaCitrato al 10% (pH 3) y se administraron a  
25 ratones por vía oral (PO) (3 animales/cohorte). Una hora después de la dosificación, los animales fueron sacrificados y se recogieron los siguientes tejidos: sangre, cerebro, glándula adrenal, corazón e hígado. La sangre completa (~ 200 µl) se lavó dos veces con PBS y se lisó mediante choque hipotónico (300 µl de Tris 50 mM pH 8, EDTA 5 mM). Los lisados sanguíneos se almacenaron a -80 °C hasta su ensayo. Los lisados sanguíneos se clasificaron mediante centrifugación en una microcentrífuga. La actividad específica de CT-L del proteosoma de cada lisado se  
30 evaluó mediante la determinación de: a) la concentración de proteínas mediante el ensayo de Bradford modificado con gammaglobulina bovina como estándar; y b) la tasa de escisión del sustrato fluorogénico del proteosoma LLVY-AMC. El porcentaje de actividad del proteosoma para los animales tratados con el análogo se calculó dividiendo la actividad específica media de cada cohorte tratada con el análogo por la actividad específica media de la cohorte tratada con vehículo. El porcentaje de inhibición del proteosoma se calculó restando el porcentaje de actividad del  
35 proteosoma de 100.

### Equivalentes

**[0245]** Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de determinar usando nada más que  
40 experimentación rutinaria, numerosos equivalentes de los compuestos y los procedimientos de uso de los mismos descritos en este documento.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene una estructura de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(I)

5 en la que

L se elige de entre C=O y C=S;

10 X se elige de entre O, S, NH, y N-alquilo C<sub>1-6</sub>;

Z está ausente, es alquilo C<sub>1-6</sub>, o alcoxi C<sub>1-6</sub>;

15 R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, y R<sup>3</sup> se elige cada uno independientemente de entre hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, alqueno C<sub>1-6</sub>, alquino 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, heterociclo, heterocicloalquilo C<sub>1-6</sub>, heteroaralquilo C<sub>1-6</sub>, carbociclo y carbocicloalquilo C<sub>1-6</sub>;

R<sup>4</sup> se elige de entre hidrógeno, aralquilo C<sub>1-6</sub> y alquilo C<sub>1-6</sub>;

20 R<sup>5</sup> es heteroarilo; y

R<sup>6</sup> y R<sup>7</sup> se eligen independientemente de entre hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub> y aralquilo C<sub>1-6</sub>.

2. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que Z está ausente.

25 3. Un compuesto de la reivindicación 1 ó 2, en el que R<sup>4</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> se eligen independientemente de entre hidrógeno y metilo.

4. Un compuesto de la reivindicación 1 ó 2, en el que L es C=O.

30 5. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> se eligen independientemente de entre hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, alqueno C<sub>1-6</sub>, alquino C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxialquilo C<sub>1-6</sub>, aralquilo C<sub>1-6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>1-6</sub>, heteroaralquilo C<sub>1-6</sub> y carbocicloalquilo C<sub>1-6</sub>.

35 6. Un compuesto de la reivindicación 5, en el que cualquiera de R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, y R<sup>3</sup> son independientemente alquilo C<sub>1-6</sub>.

7. Un compuesto de la reivindicación 6, en el que cualquiera de R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, y R<sup>3</sup> se eligen independientemente de entre metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo e isobutilo.

40 8. Un compuesto de la reivindicación 5 en el que cualquiera de R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, y R<sup>3</sup> son independientemente propargilo.

9. Un compuesto de la reivindicación 5, en el que cualquiera de R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, y R<sup>3</sup> son independientemente

45 hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>.

10. Un compuesto de la reivindicación 9, en el que cualquiera de R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, y R<sup>3</sup> se eligen independientemente de entre hidroximetilo e hidroxietilo.

50 11. Un compuesto de la reivindicación 5, en el que cualquiera de R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, y R<sup>3</sup> son independientemente alcoxialquilo C<sub>1-6</sub>.

12. Un compuesto de la reivindicación 11, en el que cualquiera de  $R^1$ ,  $R^2$ , y  $R^3$  se eligen independientemente de entre metoximetilo y metoxietilo.
- 5 13. Un compuesto de la reivindicación 5, en el que cualquiera de  $R^1$ ,  $R^2$ , y  $R^3$  son independientemente heteroaralquilo  $C_{1-6}$ .
14. Un compuesto de la reivindicación 13, en el que cualquiera de  $R^1$ ,  $R^2$ , y  $R^3$  se eligen independientemente de entre imidazolilmetilo, pirazolilmetilo y tiazolilmetilo y piridiletilo.
- 10 15. Un compuesto de la reivindicación 5, en el que cualquiera de  $R^1$ ,  $R^2$ , y  $R^3$  son independientemente ciclohexilmetilo.
16. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en el que  $R^1$ ,  $R^2$ , y  $R^3$  son todos  
15 diferentes.
17. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que al menos uno de  $R^1$  y  $R^2$  se elige de entre hidroxialquilo  $C_{1-6}$  y alcoxialquilo  $C_{1-6}$ .
- 20 18. Un compuesto de la reivindicación 17, en el que al menos uno de  $R^1$  y  $R^2$  es alcoxialquilo  $C_{1-6}$ .
19. Un compuesto de la reivindicación 18, en el que al menos uno de  $R^1$  y  $R^2$  se elige de entre metoximetilo y metoxietilo.
- 25 20. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 ó 17 a 19, en el que  $R^3$  se elige de entre alquilo  $C_{1-6}$  y aralquilo  $C_{1-6}$ .
21. Un compuesto de la reivindicación 20, en el que  $R^3$  es alquilo  $C_{1-6}$ .
- 30 22. Un compuesto de la reivindicación 21, en el que  $R^3$  se elige de entre metilo, etilo, isopropilo, sec-butilo e isobutilo.
23. Un compuesto de la reivindicación 22, en el que  $R^3$  es isobutilo.
- 35 24. Un compuesto de la reivindicación 20, en el que  $R^3$  es aralquilo  $C_{1-6}$ .
25. Un compuesto de la reivindicación 24, en el que  $R^3$  es fenilmetilo.
26. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25, en el que  $R^5$  es heteroarilo de 5 ó 6  
40 miembros.
27. Un compuesto de la reivindicación 26, en el que  $R^5$  se elige de entre isoxazol, isotiazol, furano, tiofeno, oxazol, tiazol, pirazol o imidazol.
- 45 28. Un compuesto de la reivindicación 27, en el que  $R^5$  se elige de entre isoxazol, furano o tiofeno.
29. Un compuesto de la reivindicación 28, en el que  $R^5$  es furano o tiofeno.
30. Un compuesto de la reivindicación 29, en el que  $R^5$  es furan-3-ilo o tien-2-ilo no sustituido.
- 50 31. Un compuesto de la reivindicación 28, en el que  $R^5$  es isoxazol-3-ilo o isoxazol-5-ilo.
32. Un compuesto de la reivindicación 31, en el que  $R^5$  es isoxazol-3-ilo que tiene un sustituyente en la posición 5.
- 55 33. Un compuesto de la reivindicación 31, en el que  $R^5$  es isoxazol-5-ilo que tiene un sustituyente en la posición 3.
34. Un compuesto de la reivindicación 32 ó 33, en el que el sustituyente se elige de entre alquilo  $C_{1-6}$ ,

ácido carboxílico, aminocarboxilato, d-flalquilaminocarboxilato, alquilcarboxilato C<sub>1-6</sub>, heteroaralquilo C<sub>1-6</sub>, aralquilo C<sub>1-6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>1-6</sub>, y carbocicloalquilo C<sub>1-6</sub>.

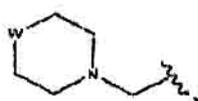
35. Un compuesto de la reivindicación 34, en el que el sustituyente se elige de entre metilo, etilo, isopropilo y ciclopropilmetilo.

36. Un compuesto de la reivindicación 34, en el que el sustituyente se elige de entre heteroaralquilo C<sub>1-6</sub> y heterocicloalquilo C<sub>1-6</sub>.

10 37. Un compuesto de la reivindicación 36, en el que el sustituyente es 1,2,4-triazol-5-ilmetilo.

38. Un compuesto de la reivindicación 36, en el que el sustituyente es azetidin-1-ilmetilo.

15 39. Un compuesto de la reivindicación 36, en el que el sustituyente es



en el que W es O, NR, o CH<sub>2</sub>, y R es H o alquilo C<sub>1-6</sub>.

20 40. Un compuesto de la reivindicación 39, en el que W es O.

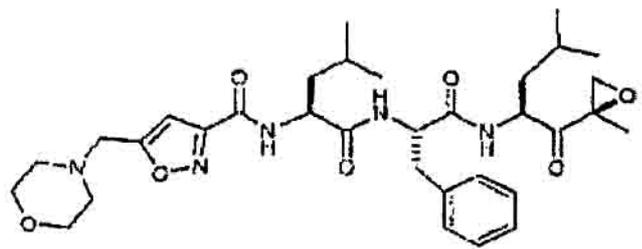
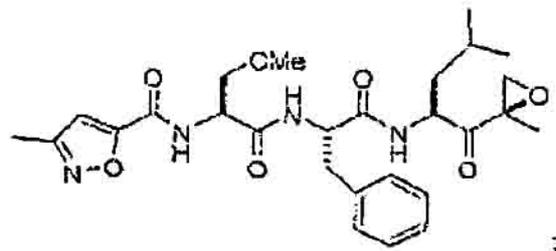
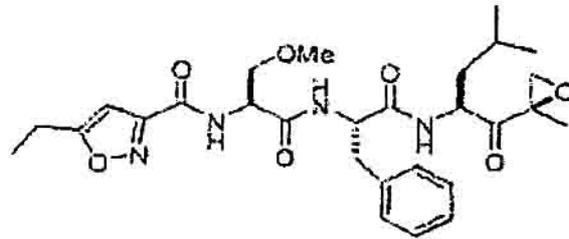
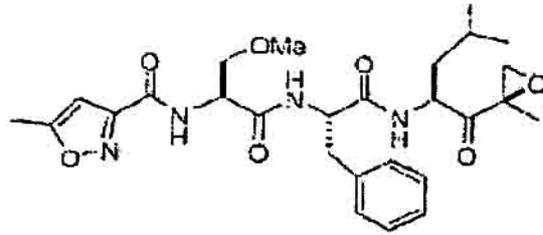
41. Un compuesto de la reivindicación 36, en el que el sustituyente se elige de entre alcoxi C<sub>1-6</sub> y alcoxialquilo C<sub>1-6</sub>.

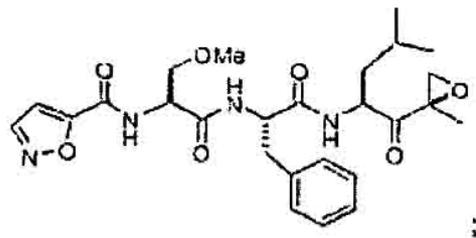
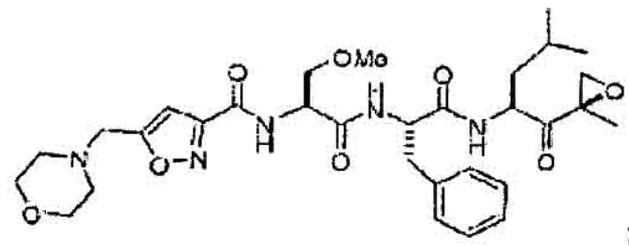
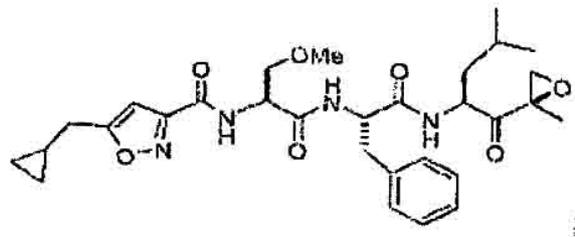
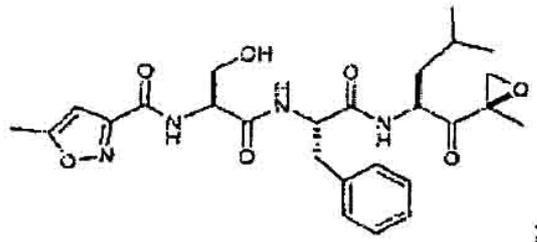
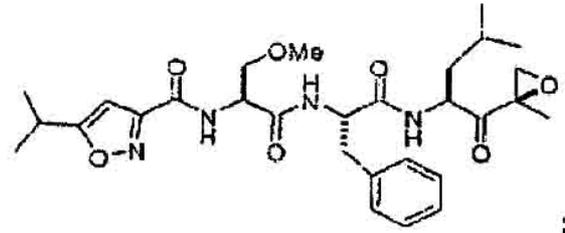
25 42. Un compuesto de la reivindicación 41, en el que el sustituyente se elige de entre metoxi, etoxi, metoximetilo y metoxietilo.

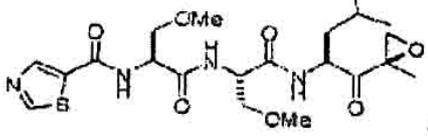
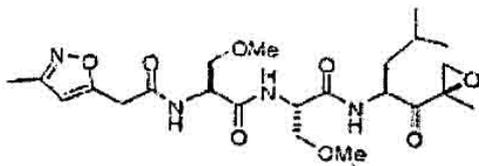
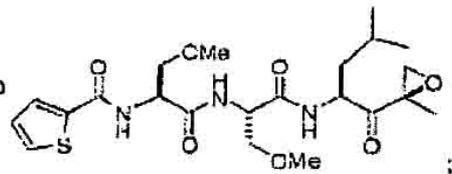
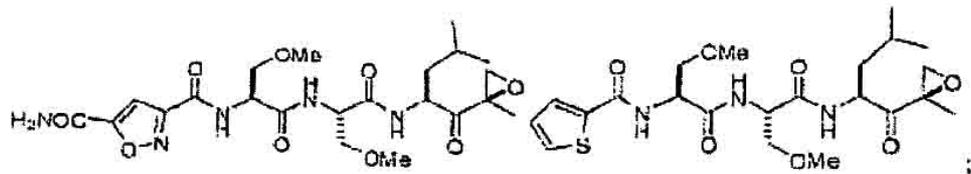
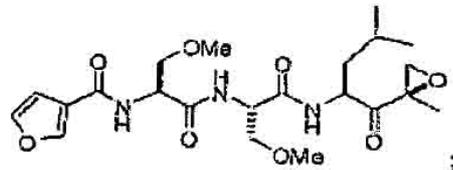
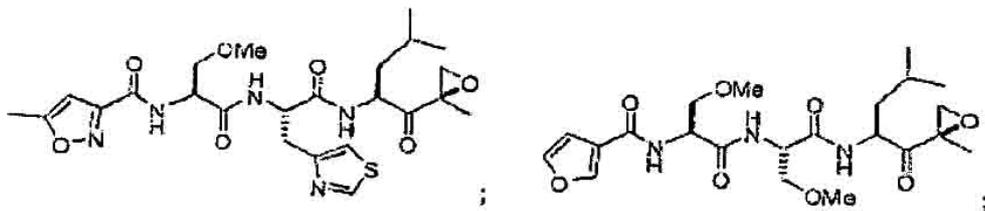
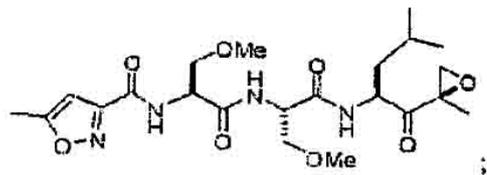
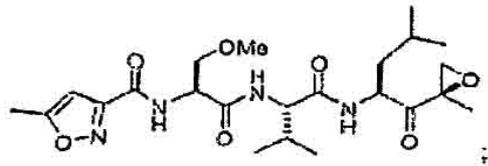
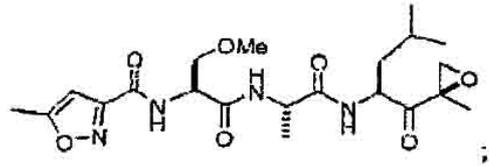
30 43. Un compuesto de la reivindicación 36, en el que el sustituyente se elige de entre ácido carboxílico, aminocarboxilato, alquilaminocarboxilato C<sub>1-6</sub>, aminocarboxilato (alquilo C<sub>1-6</sub>)<sub>2</sub> o alquilcarboxilato C<sub>1-6</sub>.

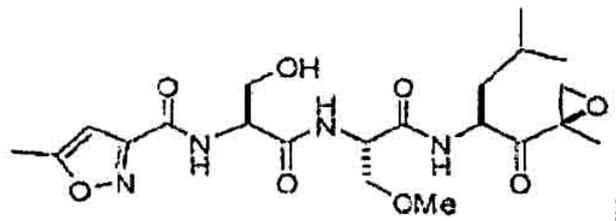
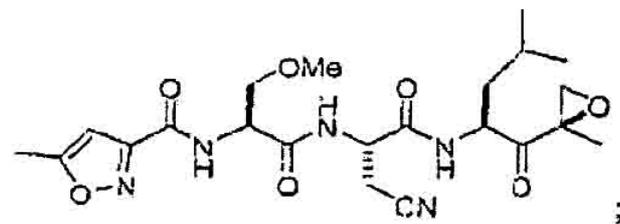
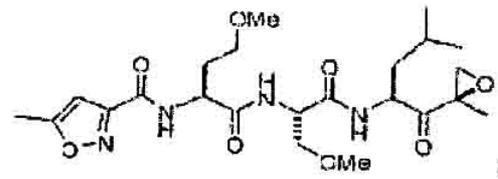
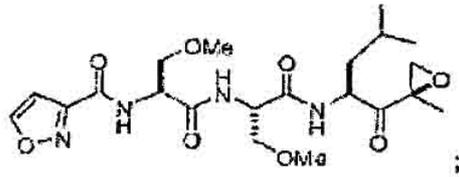
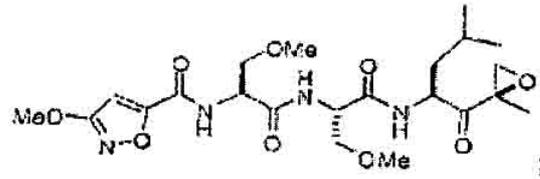
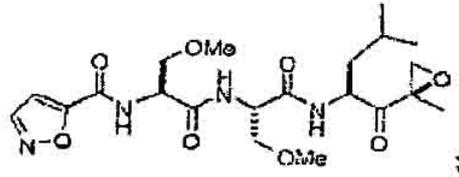
44. Un compuesto de la reivindicación 43, en el que el sustituyente es carboxilato de metilo.

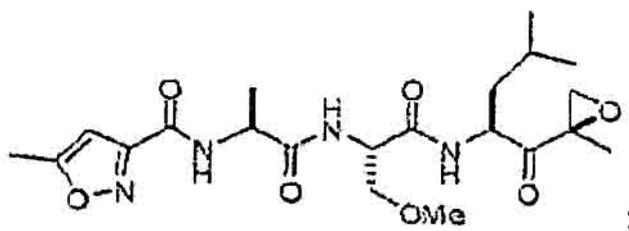
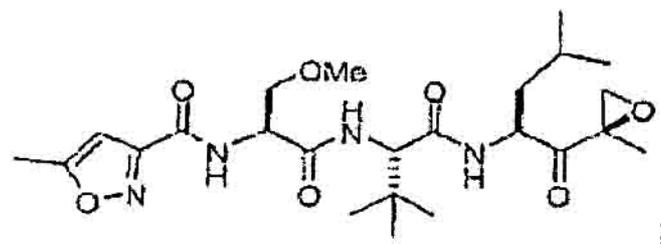
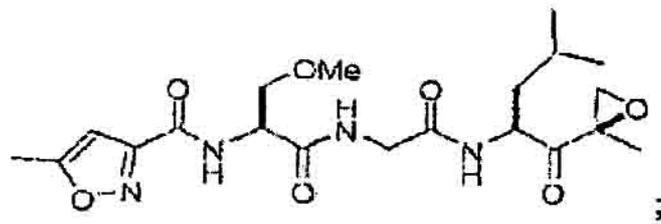
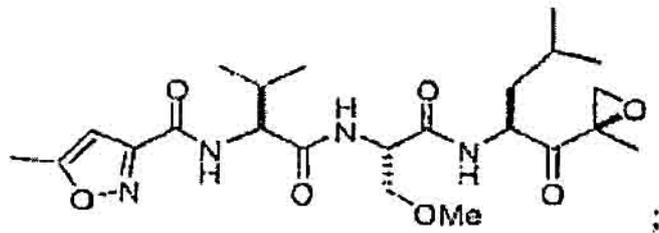
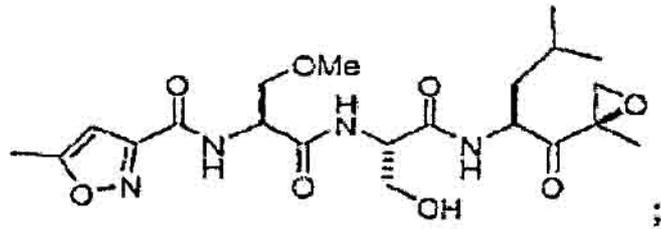
45. Un compuesto elegido de entre

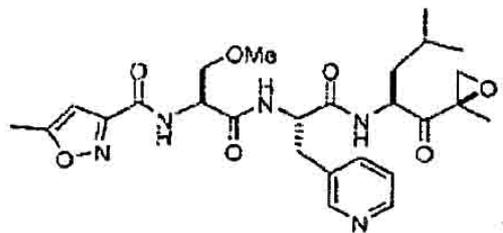
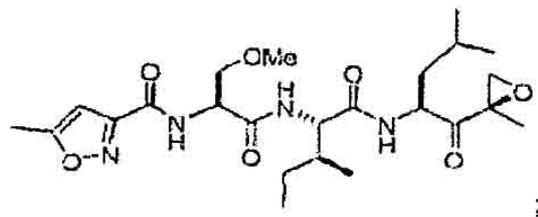
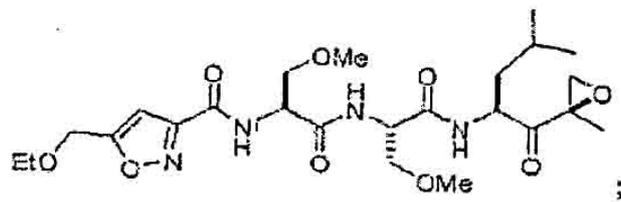
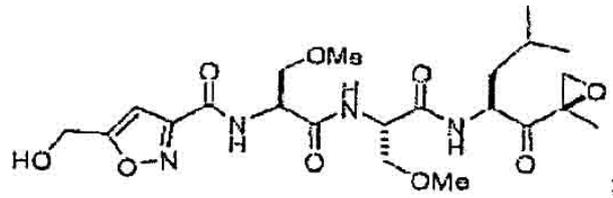
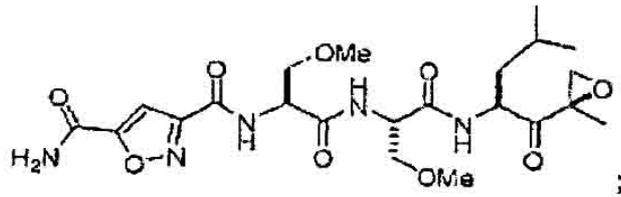
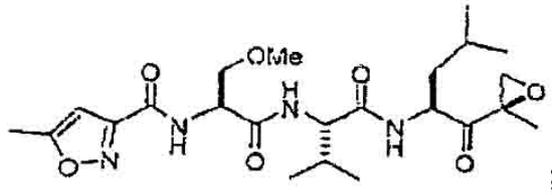


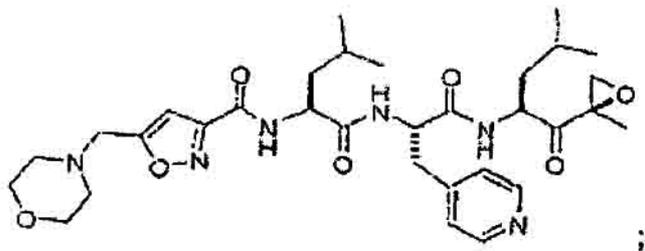
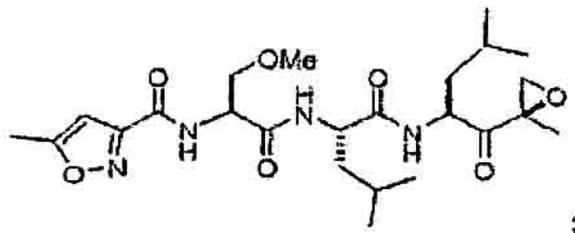
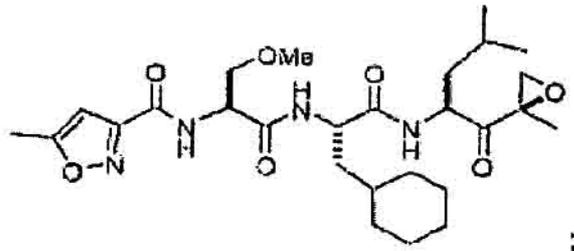
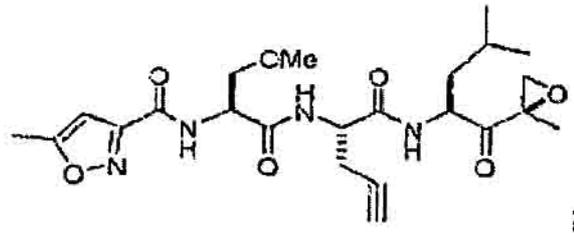
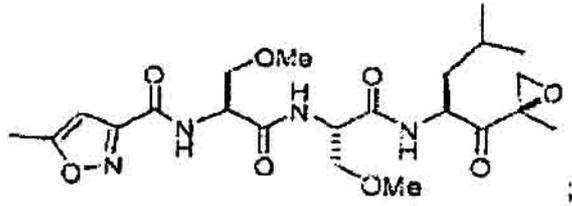


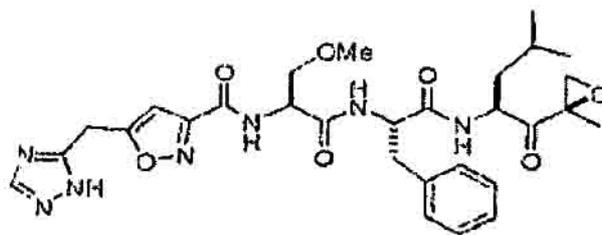
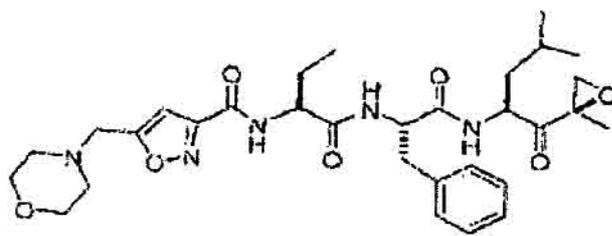
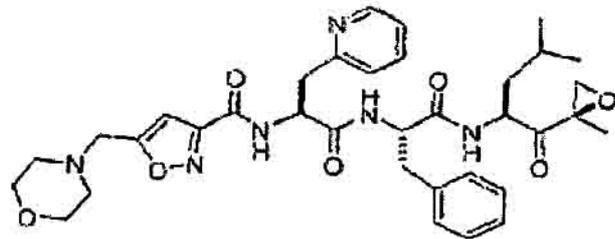
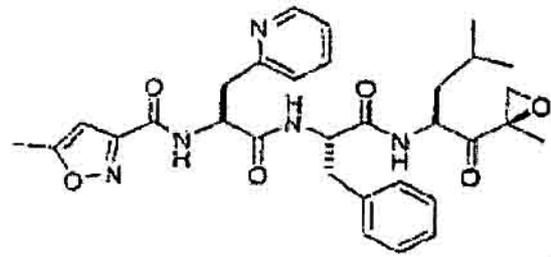
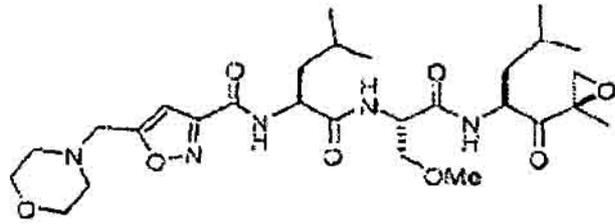


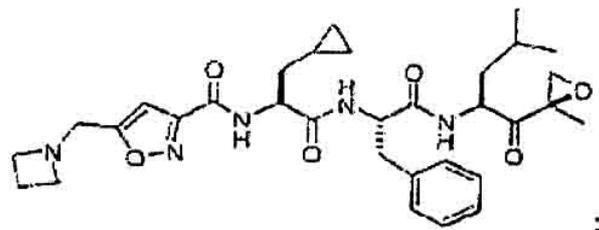
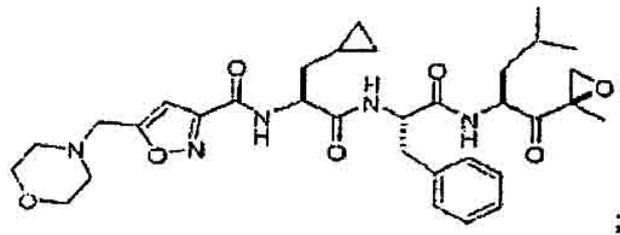
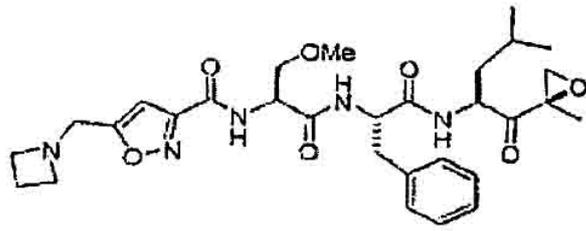
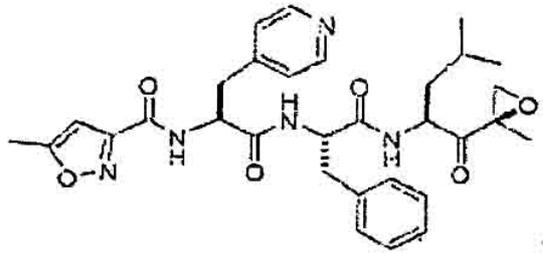
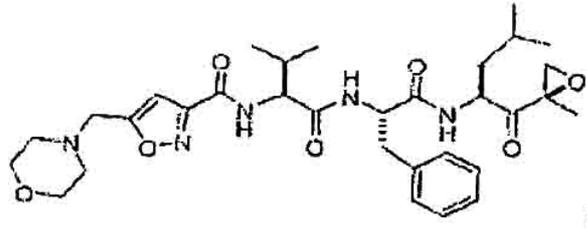


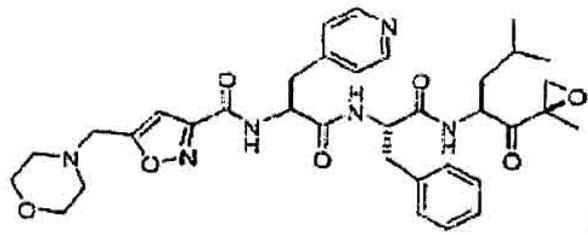
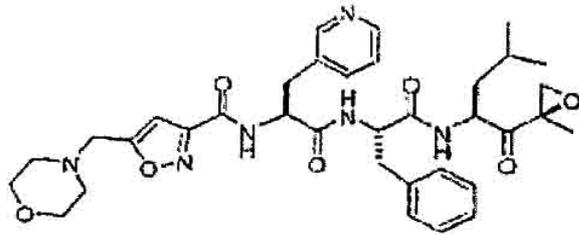
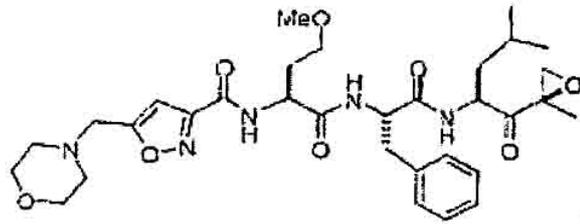
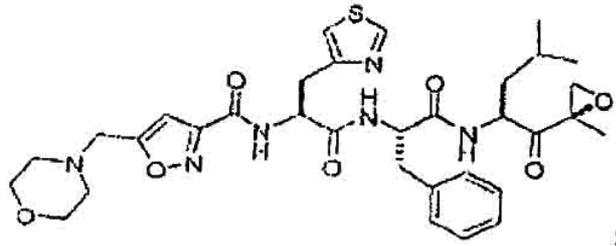
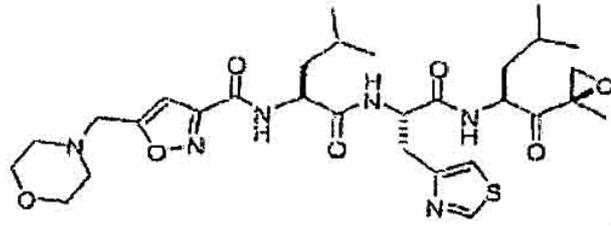


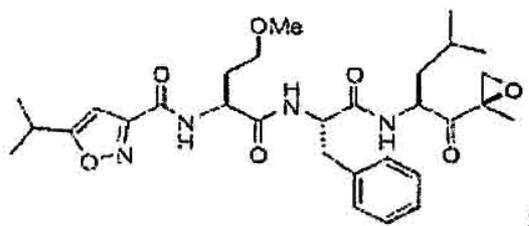
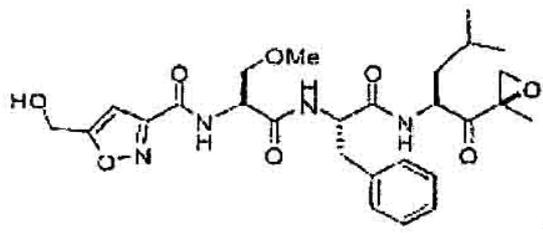
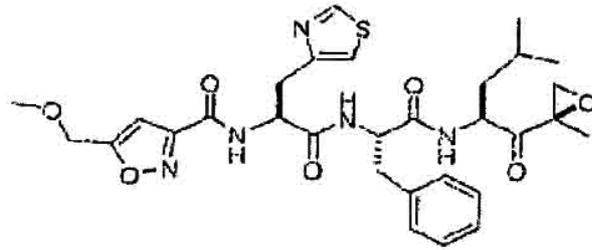
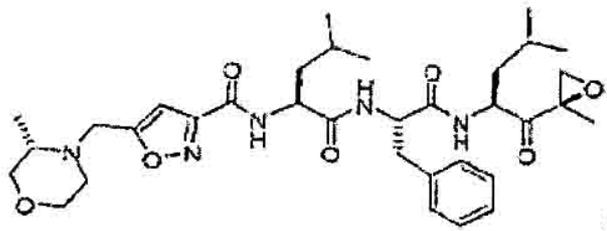
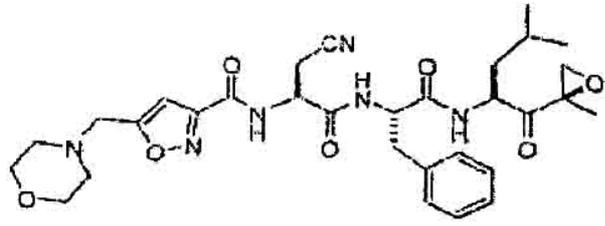


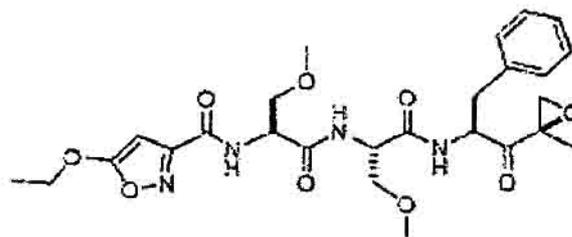
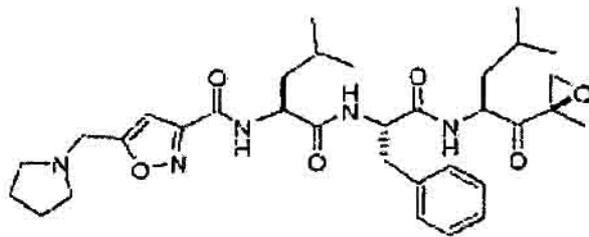
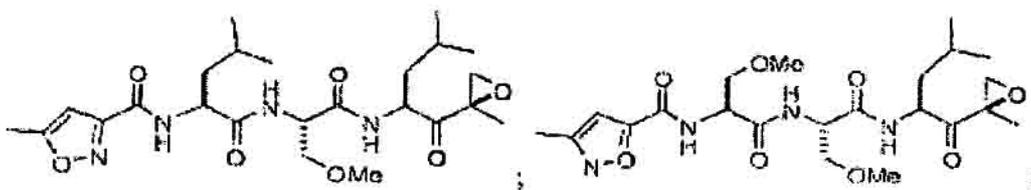
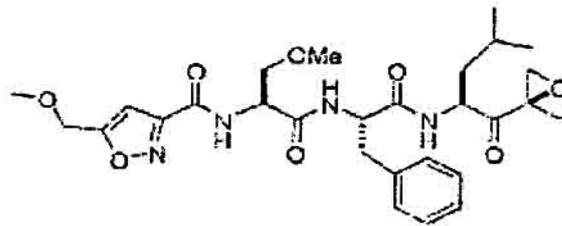
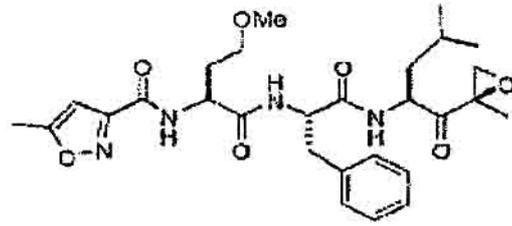


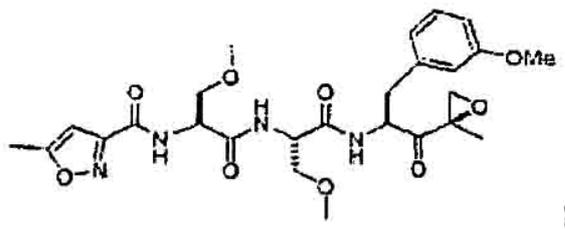
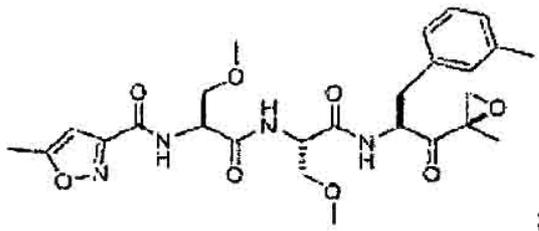
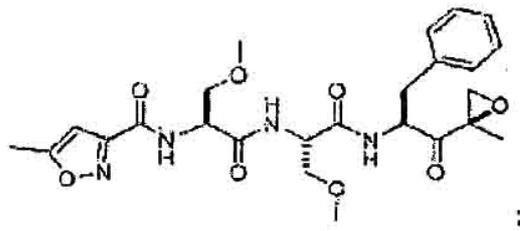
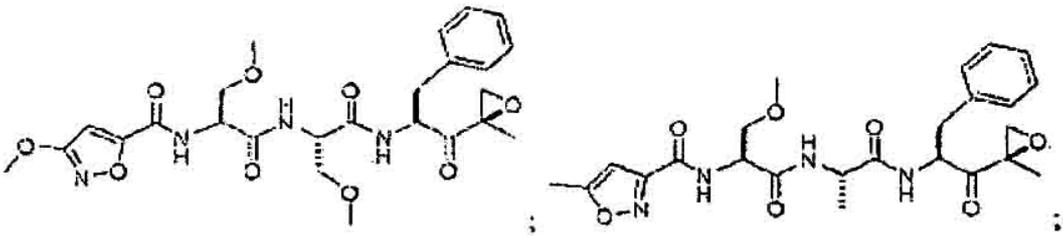
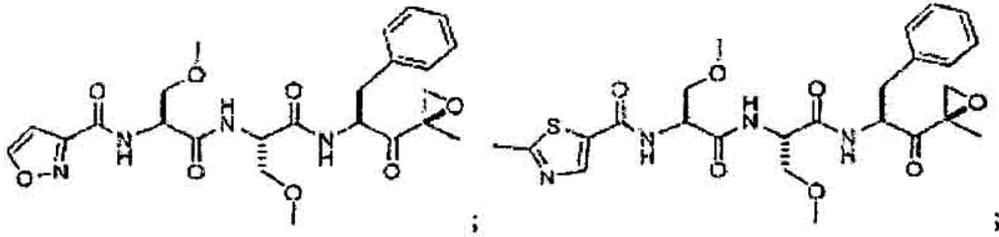


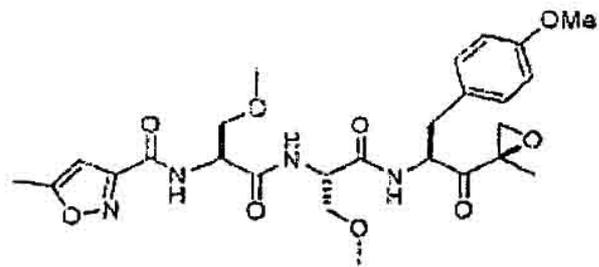
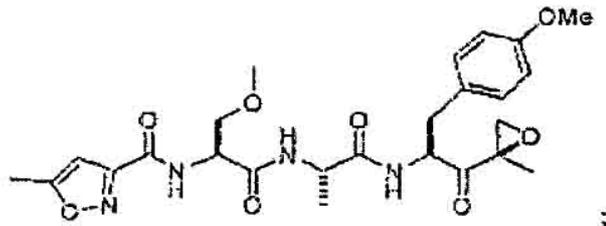
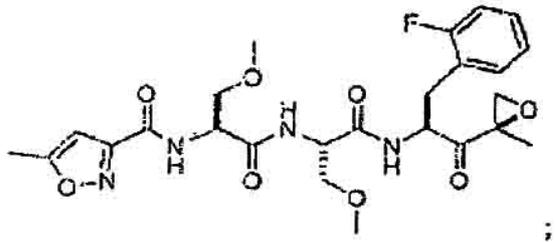
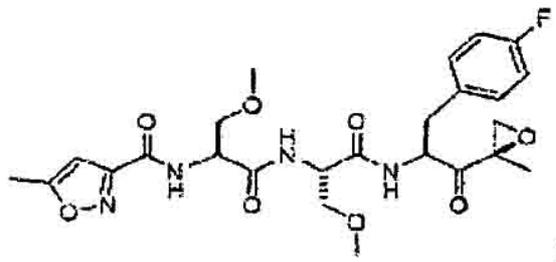
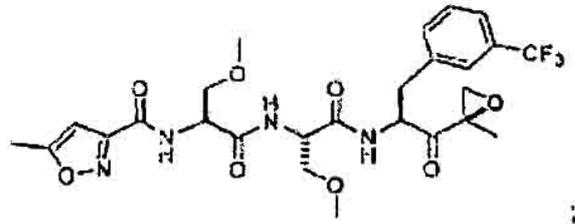


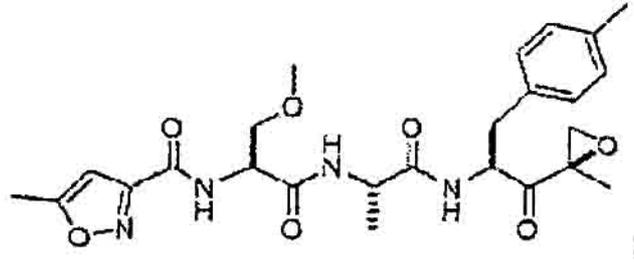




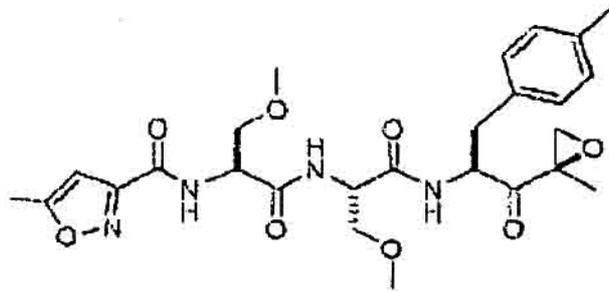






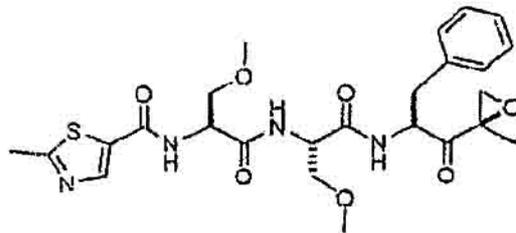


y



5

46. Un compuesto de la reivindicación 1 que tiene la fórmula:



10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

47. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 46 y un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

15

48. Una composición farmacéutica de la reivindicación 47, que es biodisponible por vía oral.

49. Composición farmacéutica de la reivindicación 47 ó 48 para su uso en el tratamiento de inflamación, enfermedad neurodegenerativa, enfermedades de atrofia muscular, cáncer, enfermedades infecciosas crónicas, un estado hiperproliferativo, inactividad muscular, estados relacionados con el sistema inmunitario; para su uso en la inhibición o la reducción de la infección por VIH; para su uso en la afectación del nivel de expresión génica vírica en un sujeto; o para su uso en la alteración de varios péptidos antigénicos producidos por el proteosoma en un organismo.

20