

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 444 574**

51 Int. Cl.:

C07D 413/04	(2006.01) A61P 31/18	(2006.01)
C07D 261/20	(2006.01) A61P 35/00	(2006.01)
C07D 261/18	(2006.01) C07D 417/04	(2006.01)
A61K 31/415	(2006.01) C07D 277/56	(2006.01)
A61K 31/4155	(2006.01)	
A61K 31/416	(2006.01)	
A61K 31/426	(2006.01)	
A61P 11/06	(2006.01)	
A61P 25/00	(2006.01)	
A61P 37/00	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.09.2007 E 07814905 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.11.2013 EP 2064207**

54 Título: **N-hidroxiamidinoheterociclos como moduladores de la indolamina 2,3-dioxigenasa**

30 Prioridad:

19.09.2006 US 845700 P

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

25.02.2014

73 Titular/es:

**INCYTE CORPORATION (100.0%)
EXPERIMENTAL STATION, ROUTE 141 & HENRY
CLAY ROAD, BUILDING E336
WILMINGTON, DE 19880, US**

72 Inventor/es:

**COMBS, ANDREW, P.;
GLASS, BRIAN, M.;
SPARKS, RICHARD, B. y
YUE, EDDY WAI**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO FACES, José

ES 2 444 574 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).

N-hidroxiamidinoheterociclos como moduladores de la indolamina 2,3-dioxigenasa**Descripción****5 CAMPO DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere a moduladores de la indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO), así como a composiciones y métodos farmacéuticos de las mismas.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El triptófano (Trp) es un aminoácido esencial necesario para la biosíntesis de proteínas, niacina y el neurotransmisor 5-hidroxitriptamina (serotonina). La enzima indolamina 2,3-dioxigenasa (también conocida como INDO o IDO) cataliza la primera etapa y la etapa de limitación de la velocidad en la degradación del L-triptófano a N-formil-kinurenina. En las células humanas, un empobrecimiento en Trp resultante de la actividad de IDO es un destacado mecanismo efector antimicrobiano inducible por el interferón gamma (IFN- γ). La estimulación por IFN- γ induce la activación de IDO, lo que conduce a un empobrecimiento en Trp, deteniéndose de ese modo el crecimiento de patógenos intracelulares dependientes de Trp tales como *Toxoplasma gondii* y *Chlamydia trachomatis*. La actividad de IDO también tiene un efecto antiproliferativo en muchas células tumorales y se ha observado la inducción de IDO *in vivo* durante el rechazo de tumores alogénicos, lo que indica un posible papel de esta enzima en el proceso de rechazo de tumores (Daubener, *et al.*, 1999, Adv. Exp. Med. Biol., 467:517-24; Taylor, *et al.*, 1991, FASEB J., 5: 2516-22).

Se ha observado que las células HeLa cultivadas conjuntamente con los linfocitos de sangre periférica (PBL) adquieren un fenotipo inmunoinhibidor a través de la regulación por aumento de la actividad de IDO. Se creía que una reducción en la proliferación de PBL tras el tratamiento con interleucina-2 (IL-2) era el resultado de la IDO liberada por las células tumorales en respuesta a la secreción de IFN- γ por los PBL. Este efecto fue revertido por el tratamiento con 1-metil-triptófano (IMT), un inhibidor específico de IDO. Se propuso que la actividad de IDO en las células tumorales puede servir para afectar a las respuestas antitumorales (Logan, *et al.*, 2002, Immunology, 105: 478-87).

Recientemente, ha recibido mucha atención un papel inmunorregulador del empobrecimiento en Trp. Varias líneas de evidencia sugieren que IDO está implicada en la inducción de la tolerancia inmunitaria. Los estudios de gestación en mamíferos, resistencia de tumores, infecciones crónicas y enfermedades autoinmunitarias han demostrado que las células que expresan IDO pueden suprimir las respuestas de linfocitos T y promover la tolerancia. Se ha observado catabolismo acelerado de Trp en enfermedades y trastornos asociados con la activación inmunitaria celular, tales como la infección, el cáncer, las enfermedades autoinmunitarias y el SIDA, así como durante la gestación. Por ejemplo, se ha observado aumento de los niveles de IFN- γ y niveles elevados de metabolitos urinarios de Trp en enfermedades autoinmunitarias; se ha postulado que el empobrecimiento en Trp local o sistémico que se da en las enfermedades autoinmunitarias puede estar relacionado con los síntomas de degeneración y debilitamiento de estas enfermedades. En apoyo de esta hipótesis, se observaron altos niveles de IDO en células aisladas a partir del líquido sinovial de articulaciones artríticas. Los IFN- γ también están elevados en pacientes con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y el aumento de los niveles de IFN- γ se asocia con un pronóstico de empeoramiento. Por lo tanto, se propuso que IDO es inducida de manera crónica por la infección por VIH y aumenta adicionalmente por infecciones oportunistas y que la pérdida crónica de Trp inicia los mecanismos responsables de la caquexia, la demencia y la diarrea y posiblemente la inmunosupresión de los pacientes de SIDA (Brown, *et al.*, 1991, Adv. Exp. Med. Biol., 294: 425-35). Para este fin, se ha demostrado recientemente que la inhibición de IDO puede mejorar los niveles de linfocitos T específicos del virus y, de forma concomitante, reducir el número de macrófagos infectados por el virus en un modelo de ratón para el VIH (Portula *et al.*, 2005, Blood, 106:2382-90).

Se cree que IDO desempeña un papel en los procesos inmunosupresores que previenen el rechazo del feto en el útero. Hace más de 40 años, se observó que, durante la gestación, el producto de la concepción de mamífero genéticamente dispar sobrevive a pesar de lo que podría predecirse según la inmunología del trasplante de tejidos (Medawar, 1953, Symp. Soc. Exp. Biol. 7: 320-38). La separación anatómica de la madre y el feto y la inmadurez antigénica del feto no pueden explicar completamente la supervivencia del aloinjerto fetal. La atención reciente se ha centrado en la tolerancia inmunitaria de la madre. Debido a que IDO es expresada por las células de sincitiotrofoblasto humanas y la concentración de triptófano sistémica disminuye durante la gestación normal, se planteó la hipótesis de que la expresión de IDO en la interfase materno-fetal es necesaria para prevenir el rechazo inmunitario de los aloinjertos fetales. Para probar esta hipótesis, se expusieron ratones en estado de gestación (que portaban fetos singénicos o alogénicos) a 1MT y se observó un rápido rechazo inducido por linfocitos T de todos los productos de la concepción alogénicos. Por lo tanto, mediante el catabolismo del triptófano, parece que el producto de la concepción de mamífero suprime la actividad de los linfocitos T y se defiende contra el rechazo, y el bloqueo del catabolismo del triptófano durante la gestación murino permite a los linfocitos T maternos provocar el rechazo del aloinjerto fetal (Munn, *et al.*, 1998, Science 281:1191-3).

Otra prueba de un mecanismo de resistencia inmunitaria tumoral basado en la degradación del triptófano porIDO proviene de la observación de que la mayoría de los tumores humanos expresan constitutivamente IDO y que la expresión de IDO por las células tumorales inmunógenas de ratón impide su rechazo por parte de los ratones previamente inmunizados. Este efecto se acompaña de una falta de acumulación de linfocitos T específicos en el sitio del tumor y puede revertirse parcialmente mediante el tratamiento sistémico de los ratones con un inhibidor de IDO, sin toxicidad notable. Por lo tanto, se sugirió que la eficacia de la vacunación terapéutica de pacientes con cáncer podría mejorarse mediante la administración concomitante de un inhibidor de IDO (Uyttenhove *et al.*, 2003, *Nature Med.*, 9: 1269-1274). También se ha demostrado que el inhibidor de IDO, 1-MT, puede sinergizar con agentes quimioterapéuticos para reducir el crecimiento tumoral en ratones, lo que sugiere que la inhibición de IDO también puede potenciar la actividad antitumoral de las terapias citotóxicas convencionales (Muller *et al.*, 2005, *Nature Med.*, 11:312-9).

Un mecanismo que contribuye a la falta de respuesta inmunitaria hacia los tumores puede ser la presentación de antígenos tumorales por las APC tolerogénicas del hospedador. También se ha descrito un subconjunto de células presentadoras de antígenos (APC) que expresan IDO humanas, que coexpresaban CD123 (IL3RA) y CCR6 e inhibían la proliferación de linfocitos T. Las células dendríticas positivas para CD123, tanto maduras como inmaduras, suprimían la actividad de los linfocitos T y esta actividad supresora de IDO era bloqueada por 1MT (Munn, *et al.*, 2002, *Science* 297:1867-1870). También se ha demostrado que los ganglios linfáticos de drenaje tumoral de ratón (TDLN) contienen un subconjunto de células dendríticas plasmacitoides (pDC) que expresan constitutivamente niveles inmunosupresores de IDO. A pesar de que comprenden sólo el 0,5% de las células de los ganglios linfáticos, *in vitro*, estas pDC suprimían potentemente las respuestas de linfocitos T contra los antígenos presentados por las propias pDC y además, de manera dominante, suprimían las respuestas de linfocitos T contra los antígenos de terceros presentados por las APC no supresoras. Dentro de la población de pDC, la mayor parte de la actividad funcional supresora dependiente de IDO segregaba con un subconjunto novedoso de pDC que coexpresaban el marcador de linaje B, CD 19. Por lo tanto, se planteó la hipótesis de que la supresión dependiente de IDO por parte de las pDC en los TDLN crea un microambiente local que es un potente supresor de las respuestas de linfocitos T antitumorales del hospedador (Munn, *et al.*, 2004, *J. Clin. Invest.*, 114 (2): 280-90).

IDO degrada el resto indol del triptófano, la serotonina y la melatonina, e inicia la producción de metabolitos neuroactivos e inmunorreguladores, conocidos colectivamente como kinureninas. Mediante el empobrecimiento local en triptófano y el aumento de las kinureninas proapoptóticas, la IDO expresada por las células dendríticas (DC) puede influir en gran medida en la proliferación y supervivencia de los linfocitos T. La inducción de IDO en las DC podría ser un mecanismo común de tolerancia delecional inducida por los linfocitos T reguladores. Dado que puede esperarse que tales respuestas tolerogénicas operen en una diversidad de condiciones fisiopatológicas, el metabolismo del triptófano y la producción de kinurenina podrían representar una interfaz crucial entre los sistemas inmunitario y nervioso (Grohmann, *et al.*, 2003, *Trends Immunol.*, 24: 242-8). En los estados de activación inmunitaria persistente, se ve disminuida la disponibilidad de Trp sérico libre y, como consecuencia de la reducción de la producción de serotonina, también pueden verse afectadas las funciones serotoninérgicas (Wirleitner, *et al.*, 2003, *Curr. Med. Chem.*, 10:1581-91).

Curiosamente, se ha observado que la administración de interferón- α induce efectos secundarios neuropsiquiátricos, tales como síntomas depresivos y cambios en la función cognitiva. La influencia directa sobre la neurotransmisión serotoninérgica puede contribuir a estos efectos secundarios. Además, dado que la activación de IDO conduce a la reducción de los niveles de triptófano, el precursor de la serotonina (5-HT), IDO puede desempeñar un papel en estos efectos secundarios neuropsiquiátricos mediante la reducción de la síntesis central de 5-HT. Además, los metabolitos de la kinurenina tales como la 3-hidroxi-kinurenina (3-OH-KYN) y el ácido quinolinico (QUIN) tienen efectos tóxicos sobre la función cerebral. La 3-OH-KYN es capaz de producir estrés oxidativo mediante el aumento de la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) y QUIN puede producir la sobreestimulación de los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA) del hipocampo, lo que conduce a la apoptosis y la atrofia del hipocampo. Tanto la sobreproducción de ROS como la atrofia del hipocampo originada por la sobreestimulación de nMDA se han asociado con la depresión (Wichers y Maes, 2004, *J. Psychiatry Neurosci*, 29:11-17). Por lo tanto, la actividad de IDO puede jugar un papel en la depresión.

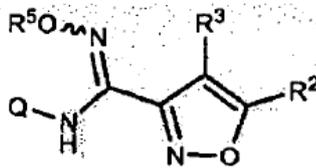
Se están desarrollando inhibidores de IDO de molécula pequeña para tratar o prevenir las enfermedades relacionadas con IDO tales como las descritas anteriormente. Por ejemplo, la publicación PCT WO 99/29310 informa acerca de métodos para modificar la inmunidad dependiente de linfocitos T que comprende la modificación de las concentraciones extracelulares locales de triptófano y los metabolitos del triptófano, utilizando un inhibidor de IDO, tal como 1-metil-DL-triptófano, p-(3-benzofuranilo)-DL-alanina, p-[3-benzo(b)tienilo]-DL-alanina y 6-nitro-L-triptófano (Munn, 1999). En el documento WO 03/087347, también publicado como patente europea 1501918, se informa acerca de métodos de preparación de células presentadoras de antígenos para aumentar o reducir la tolerancia de los linfocitos T (Munn, 2003). En el documento WO 2004/094409 se informa adicionalmente acerca de compuestos con actividad inhibidora de la indolamina-2,3-dioxigenasa (IDO) y la publicación de solicitud de patente de EE.UU. Nº 2004/0234623 se refiere a métodos de tratamiento de un sujeto con un cáncer o una infección administrando un inhibidor de la indolamina-2,3-dioxigenasa en combinación con otras modalidades terapéuticas. En los documentos US-A-3 948 928 y Nishimura, Haruki *et al.* "Amidoxime derivatives" (Database CA, Chemical Abstracts Service,

Columbus, Ohio, EE.UU.; número de registro en la base de datos 1975:606233) se describen algunos derivados de 1,2-bencisoxazol sustituidos en la posición 3.

A la luz de los datos experimentales que indican un papel para laIDO en la inmunosupresión, el rechazo y/o la resistencia de tumores, las infecciones crónicas, la infección por VIH, el SIDA (incluidas sus manifestaciones, tales como la caquexia, la demencia y la diarrea), los trastornos o enfermedades autoinmunitarias (tales como la artritis reumatoide) y la tolerancia inmunitaria y la prevención del rechazo del feto en el útero, resultan deseables agentes terapéuticos dirigidos a la supresión de la degradación del triptófano mediante la inhibición de la actividad deIDO. Pueden utilizarse inhibidores deIDO para activar los linfocitos T y por lo tanto mejorar la activación de los linfocitos T cuando los linfocitos T son suprimidos por la gestación, el cáncer o un virus tal como el VIH. La inhibición deIDO también puede ser una importante estrategia de tratamiento para pacientes con enfermedades o trastornos neurológicos o neuropsiquiátricos tal como la depresión. Los compuestos, las composiciones y los métodos del presente documento ayudan a satisfacer la necesidad actual de moduladores deIDO.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona, entre otros, compuestos de Fórmula III:



III.

o sales de los mismos farmacéuticamente aceptables, en la que los miembros constituyentes se definen en las reivindicaciones.

La presente invención proporciona adicionalmente composiciones que comprenden un compuesto de Fórmula III, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención proporciona adicionalmente métodos para inhibir la actividad enzimática deIDO *ex vivo* que comprenden poner en contacto un compuesto de Fórmula I, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, con laIDO.

La presente invención proporciona adicionalmente un compuesto de Fórmula III, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para su uso en métodos de tratamiento de enfermedades asociadas conIDO, incluidas el cáncer, la infección viral y la depresión.

Los compuestos de la invención también pueden utilizarse en métodos para modificar los niveles extracelulares de triptófano en un mamífero

La presente invención proporciona adicionalmente un compuesto de Fórmula III, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para su uso en métodos de inhibición de la inmunosupresión, tales como la inmunosupresión dependiente deIDO, en un paciente.

La presente invención proporciona adicionalmente los compuestos de Fórmula III, o sales de los mismos farmacéuticamente aceptables, para su uso en terapia.

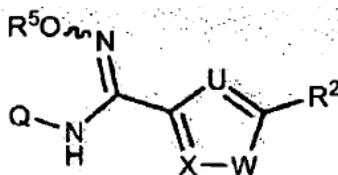
La presente invención proporciona adicionalmente el uso de los compuestos de Fórmula III, o sales de los mismos farmacéuticamente aceptables, para su uso en la preparación de un medicamento para su uso en terapia.

DESCRIPCION DETALLADA

La presente invención proporciona compuestos que son moduladores deIDO que tienen la Fórmula I:

5

10



I

o sales de los mismos farmacéuticamente aceptables, en la que:

15

W es O

U es CR³

X es N;

20

Q es fenilo opcionalmente sustituido por 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidrohaloalquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, CN, NO₂, OR^{a4}, SR^{a4}, C(O)R^{b4}, C(O)NR^{c4}R^{d4}, C(O)OR^{a4}, OC(O)R^{b4}, OC(O)NR^{c4}R^{d4}, NR^{c4}R^{d4}, NR^{c4}C(O)R^{b4}, NR^{c4}C(O)NR^{c4}R^{d4}, NR^{c4}C(O)OR^{a4}, S(O)R^{b4}, S(O)NR^{c4}R^{d4}, S(O)₂R^{b4}, NR^{c4}S(O)₂R^{b4} y S(O)₂NR^{c4}R^{d4}; o

Q es alquilo C₁₋₆ sustituido por fenilo, en el que dicho fenilo está sustituido por alquilo C₁₋₄;

25

R² es halo, alquilo C₁₋₁₀, alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, haloalquilo C₁₋₆, hidrohaloalquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, pentahalosulfanilo, Cy³, CN, NO₂, OR^{a3}, SR^{a3}, C(O)R^{b3}, C(O)NR^{c3}R^{d3}, C(O)OR^{a3}, OC(O)R^{b3}, OC(O)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(O)R^{b3}, NR^{c3}C(O)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(O)OR^{a3}, q=NRⁱ³)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(=NRⁱ³)NR^{c3}R^{d3}, P(R^{f3})₂, P(OR^{e3})₂, P(O)R^{e3}R^{f3}, P(O)OR^{e3}OR^{f3}, S(O)R^{b3}, S(O)NR^{c3}R^{d3}, S(O)₂R^{b3}, NR^{c3}S(O)₂R^{b3} o S(O)₂NR^{c3}R^{d3}; en el que dicho alquilo C₁₋₁₀, alqueno C₂₋₁₀ o alquino C₂₋₁₀ está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₁₀, alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, haloalquilo C₁₋₁₀, hidrohaloalquilo C₁₋₁₀, cianoalquilo C₁₋₁₀, pentahalosulfanilo, Cy³, CN, NO₂, OR^{a3}, SR^{a3}, C(O)R^{b3}, C(O)NR^{c3}R^{d3}, C(O)OR^{a3}, OC(O)R^{b3}, OC(O)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(O)R^{b3}, NR^{c3}C(O)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(O)OR^{a3}, C(=NRⁱ³)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(=NRⁱ³)NR^{c3}R^{d3}, P(R^{f3})₂, P(OR^{e3})₂, P(O)R^{e3}R^{f3}, P(O)OR^{e3}OR^{f3}, S(O)R^{b3}, S(O)NR^{c3}R^{d3}, S(O)₂R^{b3}, NR^{c3}S(O)₂R^{b3} y S(O)₂NR^{c3}R^{d3};

30

R³ está seleccionado de entre H, halo, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆ y alquino C₂₋₆;

35

R⁵ es H;

R^{a3} y R^{a4} están seleccionados independientemente de entre H, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, Cy⁵ y Cy⁵-(alquilo C₁₋₆), en los que dicho alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ o alquino C₂₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidrohaloalquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, Cy⁵, CN, NO₂, OR^{a5}, SR^{a5}, C(O)R^{b5}, C(O)NR^{c5}R^{d5}, C(O)OR^{a5}, OC(O)R^{b5}, OC(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)R^{b5}, NR^{c5}C(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)OR^{a5}, C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, P(R^{f5})₂, P(OR^{e5})₂, P(O)R^{e5}R^{f5}, P(O)OR^{e5}OR^{f5}, S(O)R^{b5}, S(O)NR^{c5}R^{d5}, S(O)₂R^{b5}, NR^{c5}S(O)₂R^{b5} y S(O)₂NR^{c5}R^{d5};

40

R^{b3} y R^{b4} están seleccionados independientemente de entre H, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, Cy⁵ y Cy⁵-(alquilo C₁₋₆), en los que dicho alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ o alquino C₂₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidrohaloalquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, Cy⁵, CN, NO₂, OR^{a5}, SR^{a5}, C(O)R^{b5}, C(O)NR^{c5}R^{d5}, C(O)OR^{a5}, OC(O)R^{b5}, OC(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)R^{b5}, NR^{c5}C(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)OR^{a5}, C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, P(R^{f5})₂, P(OR^{e5})₂, P(O)R^{e5}R^{f5}, P(O)OR^{e5}OR^{f5}, S(O)R^{b5}, S(O)NR^{c5}R^{d5}, S(O)₂R^{b5}, NR^{c5}S(O)₂R^{b5} y S(O)₂NR^{c5}R^{d5};

45

R^{c3} y R^{c4} están seleccionados independientemente de entre H, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, Cy⁵ y Cy⁵-(alquilo C₁₋₆), en los que dicho alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ o alquino C₂₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidrohaloalquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, Cy⁵, CN, NO₂, OR^{a5}, SR^{a5}, C(O)R^{b5}, C(O)NR^{c5}R^{d5}, C(O)OR^{a5}, OC(O)R^{b5}, OC(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)R^{b5}, NR^{c5}C(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)OR^{a5}, C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, P(R^{f5})₂, P(OR^{e5})₂, P(O)R^{e5}R^{f5}, P(O)OR^{e5}OR^{f5}, S(O)R^{b5}, S(O)NR^{c5}R^{d5}, S(O)₂R^{b5}, NR^{c5}S(O)₂R^{b5} y S(O)₂NR^{c5}R^{d5};

50

R^{d3} y R^{d4} están seleccionados independientemente de entre H, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, Cy⁵ y Cy⁵-(alquilo C₁₋₆), en los que dicho alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ o alquino C₂₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidrohaloalquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, Cy⁵, CN, NO₂, OR^{a5}, SR^{a5}, C(O)R^{b5}, C(O)NR^{c5}R^{d5}, C(O)OR^{a5}, OC(O)R^{b5}, OC(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)R^{b5}, NR^{c5}C(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)OR^{a5}, C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, P(R^{f5})₂, P(OR^{e5})₂, P(O)R^{e5}R^{f5}, P(O)OR^{e5}OR^{f5}, S(O)R^{b5}, S(O)NR^{c5}R^{d5}, S(O)₂R^{b5}, NR^{c5}S(O)₂R^{b5} y S(O)₂NR^{c5}R^{d5};

55

R^{e3} y R^{e4} están seleccionados independientemente de entre H, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, Cy⁵ y Cy⁵-(alquilo C₁₋₆), en los que dicho alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ o alquino C₂₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidrohaloalquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, Cy⁵, CN, NO₂, OR^{a5}, SR^{a5}, C(O)R^{b5}, C(O)NR^{c5}R^{d5}, C(O)OR^{a5}, OC(O)R^{b5}, OC(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)R^{b5}, NR^{c5}C(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)OR^{a5}, C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, P(R^{f5})₂, P(OR^{e5})₂, P(O)R^{e5}R^{f5}, P(O)OR^{e5}OR^{f5}, S(O)R^{b5}, S(O)NR^{c5}R^{d5}, S(O)₂R^{b5}, NR^{c5}S(O)₂R^{b5} y S(O)₂NR^{c5}R^{d5};

60

65

o R^{c3} y R^{d3} junto con el átomo de N al que están unidos forman un grupo heteroarilo o heterocicloalquilo de 4, 5, 6 ó 7 miembros, cada uno opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidrohaloalquilo

alquinilo C₂₋₁₀, arilo, cicloalquilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, cicloalquilalquilo o heterocicloalquilalquilo está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre OH, amino, halo, alquilo C₁₋₆, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo.

5 En algunas formas de realización, W es O.

En algunas formas de realización, U es CR³.

10 En algunas formas de realización, X es N.

En algunas formas de realización, Q es fenilo opcionalmente sustituido por 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, CN, NO₂, OR^{a4}, SR^{a4}, C(O)R^{b4}, C(O)NR^{c4}R^{d4}, C(O)OR^{a4}, OC(O)R^{b4}, OC(O)NR^{c4}R^{d4}, NR^{c4}R^{d4}, NR^{c4}C(O)R^{b4}, NR^{c4}C(O)NR^{c4}R^{d4}, NR^{c4}C(O)OR^{a4}, S(O)R^{b4}, S(O)NR^{c4}R^{d4}, S(O)₂R^{b4}, NR^{c4}S(O)₂R^{b4} y S(O)₂NR^{c4}R^{d4}.

En algunas formas de realización, Q es fenilo opcionalmente sustituido por 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆ y haloalquilo C₁₋₆.

20 En algunas formas de realización, Q es fenilo opcionalmente sustituido por 1, 2, 3, 4 ó 5 halo.

En algunas formas de realización, Q es alquilo C₁₋₆ sustituido por fenilo, en el que dicho fenilo está sustituido por alquilo C₁₋₄.

25 En algunas formas de realización, R² es halo, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, haloalquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, Cy³, CN, NO₂, OR^{a3}, SR^{a3}, C(O)R^{b3}, C(O)NR^{c3}R^{a3}, C(O)OR^{a3}, OC(O)R^{b3}, OC(O)NR^{c3}R^{a3}, NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(O)R^{b3}, NR^{c3}C(O)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(O)OR^{a3}, S(O)R^{b3}, S(O)NR^{c3}R^{d3}, S(O)₂R^{b3}, NR^{c3}S(O)₂R^{b3} o S(O)₂NR^{c3}R^{d3}, en el que dicho alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀ está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, haloalquilo C₁₋₁₀, hidroxialquilo C₁₋₁₀, cianoalquilo C₁₋₁₀, Cy³, CN, NO₂, OR^{a3}, SR^{a3}, C(O)R^{b3}, C(O)NR^{c3}R^{d3}, C(O)OR^{a3}, OC(O)R^{b3}, OC(O)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}R^{a3}, NR^{c3}C(O)R^{b3}, NR^{c3}C(O)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(O)OR^{a3}, C(=NRⁱ³)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(=NRⁱ³)NR^{c3}R^{d3}, P(R^{f3})₂, P(OR^{e3})₂, P(O)R^{e3}R^{f3}, P(O)OR^{e3}OR^{f3}, S(O)R^{b3}, S(O)NR^{c3}R^{d3}, S(O)₂R^{b3}, NR^{c3}S(O)R^{b3} y S(O)₂NR^{c3}R^{d3}.

35 En algunas formas de realización, R² es halo, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, haloalquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆ o Cy³, en el que dicho alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀ está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₁₀, haloalquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, Cy³, CN, NO₂, OR^{a3}, SR^{a3}, C(O)R, C(O)OR^{a6}, C(O)NR^{b7}, NR^{c3}R^{d3}, SOR^{b6}, S(O)NR^{c6}R^{d6} y SO₂R.

40 En algunas formas de realización, R² es alquilo C₁₋₁₀, haloalquilo C₁₋₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo, cada uno opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₁₀, haloalquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, CN, NO₂, OR^{a3}, SR^{a3}, C(O)R, C(O)OR^{a6}, C(O)NR^{b7}, NR^{c3}R^{d3}, SOR^{b6}, S(O)NR^{c6}R^{d6} y SO₂R.

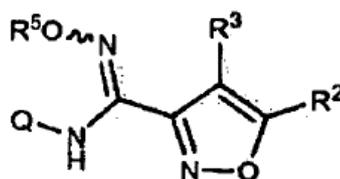
45 En algunas formas de realización, R² es alquilo C₁₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterocicloalquilo, cada uno opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₁₀, haloalquilo C₁₋₆ y NR^{c3}R^{d3}.

50 En algunas formas de realización, R⁵ es H.

En algunas formas de realización, los compuestos de la invención tienen la Fórmula III:

55

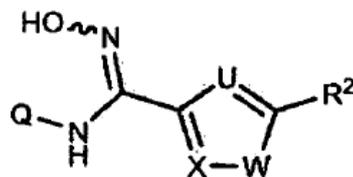
60



65

III.

También se describen compuestos de Fórmula II:



II

o sales de los mismos farmacéuticamente aceptables, en la que:

W es O,

U es CR³

X es N;

R² es halo, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, haloalquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, Cy³, CN, NO₂, OR^{a3}, SR^{a3}, C(O)R^{b3}, C(O)NR^{c3}R^{d3}, C(O)OR^{a3}, OC(O)R^{b3}, OCCO)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(O)R^{b3}, NR^{c3}C(O)NR^{c3}R^{a3}, NR^{c3}C(O)OR^{a3}, CC=NRⁱ³)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(=NRⁱ³)NR^{c3}R^{d3}, P(R^{f3})₂, P(OR^{e3})₂, P(O)R^{e3}R^{f3}, P(O)OR^{e3}OR^{f3}, S(O)R^{b3}, S(O)NR^{c3}R^{d3}, S(O)₂R^{b3}, NR^{c3}S(O)₂R^{b3} o S(O)₂NR^{c3}R^{d3}; en el que dicho alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀ está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, haloalquilo C₁₋₁₀, hidroxialquilo C₁₋₁₀, cianoalquilo C₁₋₁₀, Cy³, CN, NO₂, OR^{a3}, SR^{a3}, C(O)R^{b3}, C(O)NR^{c3}R^{d3}, C(O)OR^{a3}, OC(O)R^{b3}, OCCO)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(O)R^{b3}, NR^{c3}C(O)NR^{c3}R^{a3}, NR^{c3}C(O)OR^{a3}, CC=NRⁱ³)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(=NRⁱ³)NR^{c3}R^{d3}, P(R^{f3})₂, P(OR^{e3})₂, P(O)R^{e3}R^{f3}, P(O)OR^{e3}OR^{f3}, S(O)R^{b3}, S(O)NR^{c3}R^{d3}, S(O)₂R^{b3}, NR^{c3}S(O)₂R^{b3} y S(O)₂NR^{c3}R^{d3};

R³ está seleccionado de entre H, halo, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₆ y alquinilo C₂₋₆;

R^{a3} y R^{a4} están seleccionados independientemente de entre H, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, Cy⁵ y Cy⁵-(alquilo C₁₋₆)-, en los que dicho alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, Cy⁵, CN, NO₂, OR^{a5}, SR^{a5}, C(O)R^{b5}, C(O)NR^{c5}R^{d5}, C(O)OR^{a5}, OC(O)R^{b5}, OC(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)R^{b5}, NR^{c5}C(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)OR^{a5}, C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, P(R^{f5})₂, P(OR^{e5})₂, P(O)R^{e5}R^{f5}, P(O)OR^{e5}OR^{f5}, S(O)R^{b5}, S(O)NR^{c5}R^{d5}, S(O)₂R^{b5}, NR^{c5}S(O)₂R^{b5} y S(O)₂NR^{c5}R^{d5};

R^{b3} y R^{b4} están seleccionados independientemente de entre H, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, Cy⁵ y Cy⁵-(alquilo C₁₋₆)-, en los que dicho alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, Cy⁵, CN, NO₂, OR^{a5}, SR^{a5}, C(O)R^{b5}, C(O)NR^{c5}R^{d5}, C(O)OR^{a5}, OC(O)R^{b5}, OC(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)R^{b5}, NR^{c5}C(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)OR^{a5}, C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, P(R^{f5})₂, P(OR^{e5})₂, P(O)R^{e5}R^{f5}, P(O)OR^{e5}OR^{f5}, S(O)R^{b5}, S(O)NR^{c5}R^{d5}, S(O)₂R^{b5}, NR^{c5}S(O)₂R^{b5} y S(O)₂NR^{c5}R^{d5};

R^{c3} y R^{c4} están seleccionados independientemente de entre H, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, Cy⁵ y Cy⁵-(alquilo C₁₋₆)-, en los que dicho alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, Cy⁵, CN, NO₂, OR^{a5}, SR^{a5}, C(O)R^{b5}, C(O)NR^{c5}R^{d5}, C(O)OR^{a5}, OC(O)R^{b5}, OC(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)R^{b5}, NR^{c5}C(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)OR^{a5}, C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, P(R^{f5})₂, P(OR^{e5})₂, P(O)R^{e5}R^{f5}, P(O)OR^{e5}OR^{f5}, S(O)R^{b5}, S(O)NR^{c5}R^{d5}, S(O)₂R^{b5}, NR^{c5}S(O)₂R^{b5} y S(O)₂NR^{c5}R^{d5};

R^{d3} y R^{d4} están seleccionados independientemente de entre H, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, Cy⁵ y Cy⁵-(alquilo C₁₋₆)-, en los que dicho alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, Cy⁵, CN, NO₂, OR^{a5}, SR^{a5}, C(O)R^{b5}, C(O)NR^{c5}R^{d5}, C(O)OR^{a5}, OC(O)R^{b5}, OC(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)R^{b5}, NR^{c5}C(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)OR^{a5}, C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, P(R^{f5})₂, P(OR^{e5})₂, P(O)R^{e5}R^{f5}, P(O)OR^{e5}OR^{f5}, S(O)R^{b5}, S(O)NR^{c5}R^{d5}, S(O)₂R^{b5}, NR^{c5}S(O)₂R^{b5} y S(O)₂NR^{c5}R^{d5};

o R^{c3} y R^{d3} junto con el átomo de N al que están unidos forman un grupo heteroarilo o heterocicloalquilo de 4, 5, 6 ó 7 miembros, cada uno opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, Cy⁵, CN, NO₂, OR^{a5}, SR^{a5}, C(O)R^{b5}, C(O)NR^{c5}R^{d5}, C(O)OR^{a5}, OC(O)R^{b5}, OC(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)R^{b5}, NR^{c5}C(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)OR^{a5}, C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, P(R^{f5})₂, P(OR^{e5})₂, P(O)R^{e5}R^{f5}, P(O)OR^{e5}OR^{f5}, S(O)R^{b5}, S(O)NR^{c5}R^{d5}, S(O)₂R^{b5}, NR^{c5}S(O)₂R^{b5} y S(O)₂NR^{c5}R^{d5};

En diversos lugares de la presente memoria descriptiva, los sustituyentes de los compuestos de la invención se describen en grupos o en intervalos. Se pretende específicamente que la invención incluya todas y cada una de las subcombinaciones individuales de los miembros de tales grupos e intervalos. Por ejemplo, la expresión "alquilo C₁₋₆" pretende específicamente describir individualmente metilo, etilo, alquilo C₃, alquilo C₄, alquilo C₅ y alquilo C₆.

Se pretende adicionalmente que los compuestos de la invención sean estables. Tal como se utiliza en el presente documento "estable" se refiere a un compuesto que es suficientemente robusto para sobrevivir al aislamiento hasta un grado de pureza útil a partir de una mezcla de reacción y preferentemente capaz de formulación en un agente terapéutico eficaz.

Se entenderá además que determinadas características de la invención, que se describen, para mayor claridad, en el contexto de formas de realización separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una sola forma de realización. A la inversa, diversas características de la invención que se describen, por razones de brevedad, en el contexto de una sola forma realización, también pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación adecuada.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "alquilo" se refiere a un grupo hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada. Los grupos alquilo de ejemplo incluyen metilo (Me), etilo (Et), propilo (por ejemplo, n-propilo e isopropilo), butilo (por ejemplo, n-butilo, isobutilo, t-butilo), pentilo (por ejemplo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo). Un grupo alquilo puede contener de 1 a aproximadamente 20, de 2 a aproximadamente 20, de 1 a aproximadamente 10, de 1 a aproximadamente 8, de 1 a aproximadamente 6, de 1 a aproximadamente 4 o de 1 a aproximadamente 3 átomos de carbono.

Tal como se utiliza en el presente documento, "alqueno" se refiere a un grupo alquilo con uno o más dobles enlaces carbono-carbono. Los grupos alqueno de ejemplo incluyen etenilo, propenilo.

Tal como se utiliza en el presente documento, "alquino" se refiere a un grupo alquilo con uno o más triples enlaces carbono-carbono. Los grupos alquino de ejemplo incluyen etinilo, propinilo.

Tal como se utiliza en el presente documento, "haloalquilo" se refiere a un grupo alquilo con uno o más sustituyentes halógeno. Los grupos haloalquilo de ejemplo incluyen CF₃, C₂F₅, CHF₂, CCl₃, CHCl₂, C₂Cl₅.

Tal como se utiliza en el presente documento, "arilo" se refiere a hidrocarburos aromáticos monocíclicos o policíclicos (por ejemplo, con 2, 3 ó 4 anillos condensados) tales como, por ejemplo, fenilo, naftilo, antraceno, fenantreno, indanilo, indenilo. En algunas formas de realización, los grupos arilo tienen de 6 a aproximadamente 20 átomos de carbono.

Tal como se utiliza en el presente documento, "cicloalquilo" se refiere a carbociclos no aromáticos incluidos alquilo, alqueno y alquino ciclados. Los grupos cicloalquilo pueden incluir sistemas de anillos mono o policíclicos (por ejemplo, con 2, 3 ó 4 anillos condensados), incluidos los espirociclos. En algunas formas de realización, los grupos cicloalquilo pueden tener de 3 a aproximadamente 20 átomos de carbono, de 3 a aproximadamente 14 átomos de carbono, de 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono o de 3 a 7 átomos de carbono. Los grupos cicloalquilo pueden tener adicionalmente 0, 1, 2 ó 3 dobles enlaces y/o 0, 1 ó 2 triples enlaces. También se incluyen en la definición de cicloalquilo restos con uno o más anillos aromáticos condensados (es decir, con un enlace en común con) al anillo cicloalquilo, por ejemplo, benzoderivados de ciclopentano, ciclopenteno, ciclohexano. Puede unirse un grupo cicloalquilo que tenga uno o más anillos aromáticos condensados a través de la porción aromática o de la no aromática. Uno o más átomos de carbono del anillo de un grupo cicloalquilo pueden oxidarse, por ejemplo, con un sustituyente oxo o sulfido. Los grupos cicloalquilo de ejemplo incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo, ciclohexadienilo, cicloheptatrienilo, norbornilo, norpinilo, norcarnilo, adamantilo.

Tal como se utiliza en el presente documento, un grupo "heteroarilo" se refiere a un heterociclo aromático con al menos un heteroátomo como miembro del anillo tal como azufre, oxígeno o nitrógeno. Los grupos heteroarilo incluyen sistemas monocíclicos y policíclicos (por ejemplo, con 2, 3 ó 4 anillos condensados). Cualquier átomo de N del anillo en un grupo heteroarilo también puede oxidarse para formar un resto de N-oxo. Los ejemplos de grupos heteroarilo incluyen, sin limitación, piridilo, N-oxopiridilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridazinilo, triazinilo, furilo, quinolilo, isoquinolilo, tienilo, imidazolilo, tiazolilo, indolilo, pirrilo, oxazolilo, benzofurilo, benzotienilo, benzotiazolilo, isoxazolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, indazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, isotiazolilo, benzotienilo, purinilo, carbazolilo, bencimidazolilo, indolinilo. En algunas formas de realización, el grupo heteroarilo tiene de 1 a aproximadamente 20 átomos de carbono y en formas de realización adicionales de aproximadamente 3 a aproximadamente 20 átomos de carbono. En algunas formas de realización, el grupo heteroarilo contiene de 3 a aproximadamente 14, de 3 a aproximadamente 7 o de 5 a 6 átomos en el anillo. En algunas formas de realización, el grupo heteroarilo tiene de 1 a aproximadamente 4, de 1 a aproximadamente 3 o de 1 a 2 heteroátomos.

Tal como se utiliza en el presente documento, "heterocicloalquilo" se refiere a un heterociclo no aromático en el que uno o más de los átomos del anillo es un heteroátomo tal como O, N o S. Los grupos heterocicloalquilo pueden incluir sistemas de anillos mono o policíclicos (por ejemplo, con 2, 3 ó 4 anillos condensados), así como espirociclos. Los grupos "heterocicloalquilo" de ejemplo incluyen morfolino, tiomorfolino, piperazinilo, tetrahidrofurano, tetrahidrotienilo, 2,3-dihidrobenzofurilo, 1,3-benzodioxol, benzo-1,4-dioxano, piperidinilo, pirrolidinilo, isoxazolidinilo, isotiazolidinilo, pirazolidinilo, oxazolidinilo, tiazolidinilo, imidazolidinil. También se incluyen en la definición de heterocicloalquilo los restos con uno o más anillos aromáticos condensados (es decir, que tienen un enlace en común con) al anillo heterocíclico no aromático, por ejemplo ftalimidilo, naftalimidilo y benzoderivados de heterociclos. Puede unirse un grupo heterocicloalquilo con uno o más anillos aromáticos condensados a través de la porción aromática o de la no aromática. También se incluyen en la definición de heterocicloalquilo los restos en los que cualquier anillo de C, N o S del anillo porta uno o dos sustituyentes oxo. En algunas formas de realización, el grupo heterocicloalquilo tiene de 1 a aproximadamente 20 átomos de carbono y en formas de realización adicionales, de aproximadamente 3 a aproximadamente 20 átomos de carbono. En algunas formas de realización, el grupo heterocicloalquilo contiene de 3 a aproximadamente 20, de 3 a aproximadamente 14, de 3 a aproximadamente 7 o de 5 a 6 átomos en el anillo. En algunas formas de realización, el grupo heterocicloalquilo tiene de 1 a aproximadamente 4, de 1 a aproximadamente 3 o de 1 a 2 heteroátomos. En algunas formas de realización, el grupo heterocicloalquilo contiene de 0 a 3 dobles enlaces. En algunas formas de realización, el grupo heterocicloalquilo contiene de 0 a 2 triples enlaces.

Tal como se utiliza en el presente documento, "halo" o "halógeno" incluye fluoro, cloro, bromo y yodo.

Tal como se utiliza en el presente documento, "hidroxialquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo hidroxilo.

Tal como se utiliza en el presente documento, "cianoalquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo ciano.

Tal como se utiliza en el presente documento, "alcoxi" se refiere a un grupo -O-alquilo. Los grupos alcoxi de ejemplo incluyen metoxi, etoxi, propoxi (por ejemplo, n-propoxi e isopropoxi), t-butoxi.

Tal como se utiliza en el presente documento, "arilalquilo" se refiere a alquilo sustituido por arilo y "cicloalquilalquilo" se refiere a alquilo, sustituido por cicloalquilo. Un grupo arilalquilo de ejemplo es bencilo.

Tal como se utiliza en el presente documento, "heteroarilalquilo" se refiere a alquilo sustituido por heteroarilo y "heterocicloalquilalquilo" se refiere a alquilo sustituido por heterocicloalquilo.

Tal como se utiliza en el presente documento, "pentahalosulfanilo" se refiere a restos de fórmula $-SX_5$ en la que cada X está seleccionado independientemente de entre F, Cl, Br o I. Para los métodos de preparación de compuestos que contienen grupos pentahalosulfanilo véase, por ejemplo, Org. Lett. 2002, 4, 3013. Un pentahalosulfanilo de ejemplo es SF_5 .

Tal como se utiliza en el presente documento, "amino" se refiere a NH_2 .

Tal como se utiliza en el presente documento, "alquilamino" se refiere a un grupo amino sustituido por un grupo alquilo.

Tal como se utiliza en el presente documento, "dialquilamino" se refiere a un grupo amino sustituido por dos grupos alquilo.

Los compuestos descritos en el presente documento pueden ser asimétricos (por ejemplo, con uno o más estereocentros). Se incluyen todos los estereoisómeros, tales como enantiómeros y diastereómeros, a menos que se indique lo contrario. Los compuestos de la presente invención que contienen átomos de carbono sustituidos asimétricamente pueden aislarse en formas racémicas u ópticamente activas. En la técnica se conocen métodos sobre cómo preparar formas ópticamente activas a partir de materiales de partida ópticamente activos, tal como mediante resolución de mezclas racémicas o mediante síntesis estereoselectiva. También pueden estar presentes en los compuestos descritos en el presente documento muchos isómeros geométricos de olefinas, dobles enlaces C=N y similares, y en la presente invención se contemplan todos estos isómeros estables. Los isómeros geométricos cis y trans de los compuestos de la presente invención se describen y pueden aislarse como una mezcla de isómeros o como formas isoméricas separadas.

Los compuestos de la invención también incluyen formas tautómeras. Las formas tautómeras son el resultado del intercambio de un enlace sencillo con un doble enlace adyacente junto con la migración concomitante de un protón. Las formas tautómeras incluyen tautómeros prototrópicos que son estados isoméricos de protonación isoméricos con la misma fórmula empírica y carga total. Los tautómeros prototrópicos de ejemplo incluyen pares cetona-enol, pares amida-ácido imídico, pares lactama-lactima, pares amida-ácido imídico, pares enamina-imina y formas anulares en las que un protón puede ocupar dos o más posiciones de un sistema heterocíclico, por ejemplo,

1H y 3H-imidazol, 1H, 2H y 4H-1,2,4-triazol, 1H y 2H-isoindol y 1H y 2H-pirazol. Las formas tautómeras pueden estar en equilibrio o estéricamente bloqueadas en una forma por sustitución apropiada.

5 Los compuestos de la invención también pueden incluir todos los isótopos de átomos que aparecen en los productos intermedios o compuestos finales. Los isótopos incluyen aquellos átomos con el mismo número atómico pero diferentes números de masa. Por ejemplo, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio.

10 El término "compuesto", tal como se utiliza en el presente documento, incluye todos los estereoisómeros, isómeros geométricos, tautómeros e isótopos de las estructuras representadas.

Los compuestos de la invención pueden estar presentes junto con otras sustancias, tales como con agua o disolvente en forma de hidratos o solvatos, o presentes en forma aislada.

15 En algunas formas de realización, los compuestos de la invención y sales de los mismos, están aislados. Por "aislado" se entiende que el compuesto está al menos parcialmente o sustancialmente separado del entorno en el que se formó o descubrió. La separación parcial puede incluir, por ejemplo, una composición enriquecida en el compuesto de la invención. La separación sustancial puede incluir composiciones que contienen al menos aproximadamente un 90% en peso del compuesto de la invención, o una sal del mismo. Los métodos para aislar compuestos y sus sales son rutinarios en la técnica.

20 La presente invención también incluye sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en el presente documento. Tal como se utiliza en el presente documento, "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a derivados de los compuestos descritos en los que el compuesto precursor se modifica convirtiendo un resto de ácido o base existente en su forma de sal. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales minerales o de ácidos orgánicos de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención incluyen las sales no tóxicas convencionales o las sales de amonio cuaternario del compuesto precursor formadas, por ejemplo, a partir de ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir del compuesto precursor que contiene un resto ácido o básico mediante métodos químicos convencionales. Generalmente, tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, resultan preferentes medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetónitrilo. Las listas de sales adecuadas se encuentran en Remington Pharmaceutical Sciences, 17^a ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 y en Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977).

35 La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del juicio médico, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, acorde con una relación riesgo/beneficio razonable.

40 También se describen profármacos de los compuestos. Tal como se utiliza en el presente documento, "profármacos" se refieren a cualquier vehículo unido covalentemente que libera el fármaco precursor activo cuando se administra a un mamífero. Los profármacos pueden prepararse modificando los grupos funcionales presentes en los compuestos de tal manera que las modificaciones se escindan, ya sea en la manipulación rutinaria o *in vivo*, a los compuestos precursores. Los profármacos incluyen compuestos en los que los grupos hidroxilo, amino, sulfhidrilo o carboxilo están unidos a cualquier grupo que, cuando se administra a un mamífero, se escinde para formar un hidroxilo, amino, sulfhidrilo o carboxilo libres, respectivamente. Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, derivados acetato, formiato y benzoato de alcohol y grupos funcionales amina en los compuestos de la invención. La preparación y el uso de profármacos se analiza en T. Higuchi y V. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems", vol. 14 de la A.C.S. Symposium Series y en Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association y Pergamon Press, 1987.

55 *Síntesis*

Los compuestos novedosos de la presente invención pueden prepararse de diversas formas conocidas para un experto en la técnica de la síntesis orgánica. Los compuestos de la presente invención pueden sintetizarse utilizando los métodos que se describen más adelante, junto con métodos de síntesis conocidos en la técnica de la química orgánica sintética o variaciones de los mismos, como comprenderán los expertos en la materia.

60 Los compuestos de la presente invención pueden prepararse a partir de materiales de partida fácilmente disponibles utilizando los siguientes métodos y procedimientos generales. Se comprenderá que allá donde se proporcionan condiciones de proceso típicas o preferentes (es decir, temperaturas de reacción, tiempos, relaciones molares de reaccionantes, disolventes, presiones, etc.), también pueden utilizarse otras condiciones de proceso a menos que se indique lo contrario. Las condiciones de reacción óptimas pueden variar con los reaccionantes o

disolventes concretos utilizados, pero un experto en la materia puede determinar tales condiciones mediante procedimientos de optimización de rutina.

5 Los procesos descritos en el presente documento pueden supervisarse según cualquier método adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, la formación de producto puede supervisarse mediante medios espectroscópicos, tales como espectroscopia de resonancia magnética nuclear (por ejemplo, ^1H o ^{13}C), espectroscopía infrarroja, espectrofotometría (por ejemplo, UV-visible) o espectrometría de masas, o mediante cromatografía, tal como cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) o cromatografía en capa fina.

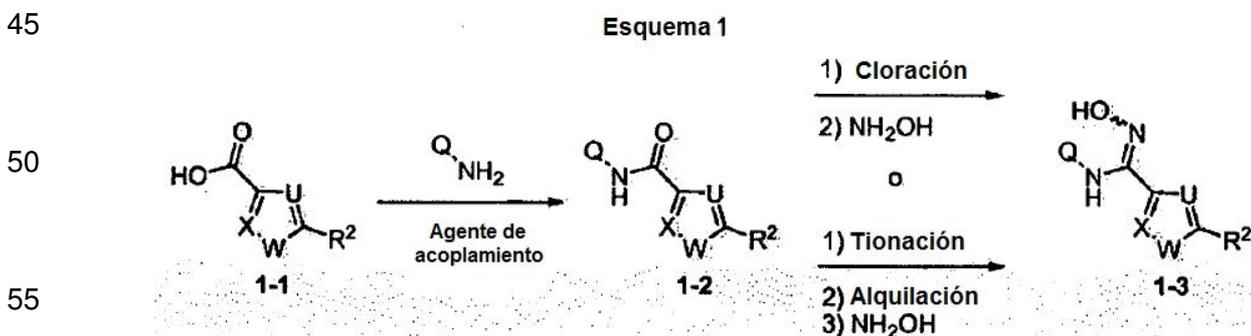
10 La preparación de compuestos puede implicar la protección y desprotección de diversos grupos químicos. Un experto en la materia puede determinar fácilmente la necesidad de protección y desprotección, y la selección de grupos protectores apropiados. La química de grupos protectores puede encontrarse, por ejemplo, en Greene, *et al.*, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2^a ed., Wiley & Sons, 1991.

15 Las reacciones de los procesos descritos en el presente documento pueden llevarse a cabo en disolventes adecuados que un experto en la técnica de la síntesis orgánica puede seleccionar fácilmente. Los disolventes adecuados no reaccionan sustancialmente con los materiales de partida (reaccionantes), los productos intermedios o los productos a las temperaturas a las que se llevan a cabo las reacciones, es decir, temperaturas que pueden oscilar entre la temperatura de congelación del disolvente y la temperatura de ebullición del disolvente. Una reacción determinada puede llevarse a cabo en un disolvente o una mezcla de más de un disolvente. Dependiendo de la etapa de reacción concreta, pueden seleccionarse los disolventes adecuados para una etapa de reacción concreta.

20 La resolución de mezclas racémicas de los compuestos puede llevarse a cabo mediante cualquiera de los numerosos métodos conocidos en la técnica. Un método de ejemplo incluye la recristalización fraccional utilizando un "ácido de resolución quiral", que es un ácido orgánico formador de sales ópticamente activo. Los agentes de resolución adecuados para los métodos de recristalización fraccionada son, por ejemplo, ácidos ópticamente activos, tales como las formas D y L del ácido tartárico, ácido diacetiltartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido mandélico, ácido málico, ácido láctico o los diversos ácidos alcanforsulfónicos ópticamente activos. La resolución de mezclas racémicas también puede llevarse a cabo por elución en una columna rellena con un agente de resolución ópticamente activo (por ejemplo, dinitrobenzoilfenilglicina). Un experto en la materia puede determinar la composición adecuada del disolvente de elución.

25 Los compuestos de la invención pueden prepararse, por ejemplo, utilizando las técnicas y vías de reacción tal como se describe más adelante.

35 En el Esquema 1 se muestran dos métodos para la síntesis de N-hidroxiimidinas (por ejemplo, el Ejemplo 1), en el que se forma una amida 1-2 a partir del acoplamiento de una amina (Q-NH_2) a un ácido 1-1 con un agente de acoplamiento adecuado, tal como HBTU, HATU, DCC o similares. A continuación, la amida 1-2 puede A) clorarse con un reactivo de cloración adecuado (tal como PCl_5 , POCl_3 , SO_2Cl_2 , o similares) seguido de adición de NH_2OH o B) someterse a tionación (con un agente de tionación adecuado tal como reactivo de Lawesson) y posteriormente S-alquilarse (con un agente alquilante adecuado tal como MeI o MeOTf) seguido de adición de NH_2OH para proporcionar los productos deseados 1-3.



Métodos de uso

60 Los compuestos de la invención pueden modular la actividad de la enzima indolamina-2,3-dioxigenasa (IDO). El término "modular" se refiere a la capacidad de aumentar o disminuir la actividad de una enzima o receptor. Por consiguiente, los compuestos de la invención pueden utilizarse en métodos de modulación de IDO poniendo en contacto la enzima con uno cualquiera o más de los compuestos o la composiciones descritas en el presente documento. En algunas formas de realización, los compuestos de la presente invención pueden actuar como inhibidores de IDO. En formas de realización adicionales, los compuestos de la invención pueden utilizarse para

65

modular la actividad de IDO en la célula o en un individuo que necesita la modulación de la enzima, administrando una cantidad moduladora (por ejemplo, inhibidora) de un compuesto de la invención.

5 Los compuestos de la invención también pueden utilizarse en métodos de inhibición de la degradación del triptófano en un sistema que contenga células que expresan IDO tal como un tejido, un organismo vivo o un cultivo celular. Los compuestos de la invención también pueden utilizarse en métodos para modificar (por ejemplo, aumentar) los niveles extracelulares de triptófano en un mamífero. Los métodos para medir los niveles de triptófano y la degradación de triptófano son rutinarios en la técnica.

10 La presente invención proporciona adicionalmente compuestos de la presente invención o composiciones farmacéuticas de los mismos para su uso en métodos de inhibición de la inmunosupresión tales como la inmunosupresión dependiente de IDO en un paciente. La inmunosupresión dependiente de IDO se ha asociado, por ejemplo, con los cánceres, el crecimiento tumoral, la metástasis, la infección viral, la replicación viral, etc.

15 La presente invención proporciona adicionalmente compuestos de la presente invención o composiciones farmacéuticas de los mismos para su uso en métodos de tratamiento de enfermedades asociadas con la actividad o la expresión, incluidas la actividad anormal y/o la sobreexpresión, de IDO en un individuo (por ejemplo, un paciente) administrando al individuo que necesita tal tratamiento una cantidad o dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención o una. Las enfermedades de ejemplo pueden incluir cualquier enfermedad, trastorno o afección que esté directa o indirectamente ligada a la expresión o a la actividad de la enzima IDO, tal como la sobreexpresión o la actividad anormal. Una enfermedad asociada a IDO también puede incluir cualquier enfermedad, trastorno o afección que pueda prevenirse, mejorarse o curarse modulando la actividad enzimática. Los ejemplos de enfermedades asociadas a IDO incluyen el cáncer, la infección viral tal como la infección por VIH, la depresión, los trastornos neurodegenerativos tales como la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Huntington, los traumatismos, las cataratas relacionadas con la edad, el trasplante de órganos (por ejemplo, rechazo de trasplante de órgano) y enfermedades autoinmunitarias incluidas el asma, la artritis reumatoide, la esclerosis múltiple, la enfermedad inflamatoria intestinal, la psoriasis y el lupus eritematoso sistémico. Los cánceres de ejemplo tratables mediante los métodos de la presente invención incluyen el cáncer de colon, de páncreas, de mama, de próstata, de pulmón, de cerebro, de ovario, de cuello uterino, de testículos, renal, de cabeza y cuello, linfoma, leucemia, melanoma.

20 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "célula" se refiere a una célula *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo*. En algunas formas de realización, una célula *ex vivo* puede ser parte de una muestra de tejido extirpado de un organismo tal como un mamífero. En algunas formas de realización, una célula *in vitro* puede ser una célula en un cultivo celular. En algunas formas de realización, una célula *in vivo* es una célula viva en un organismo tal como un mamífero.

25 Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "poner en contacto" se refiere reunir los restos indicados en un sistema *in vitro* o en un sistema *in vivo*. Por ejemplo, "poner en contacto" la enzima IDO con un compuesto de la invención incluye administrar un compuesto de la presente invención a un individuo o paciente, tal como un ser humano, que tiene IDO, así como, por ejemplo, introducir un compuesto de la invención en una muestra que contiene una preparación celular o purificada que contiene la enzima IDO.

30 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "individuo" o "paciente", utilizado indistintamente, se refiere a cualquier animal, incluidos los mamíferos, preferentemente ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, vacas, ovejas, caballos o primates y lo más preferentemente seres humanos.

35 Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de agente farmacéutico o compuesto activo que induce la respuesta biológica o médica buscada por un investigador, veterinario, médico u otro especialista, en un tejido, sistema, animal, individuo o ser humano.

40 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "tratar" se refiere a (1) prevenir la enfermedad, por ejemplo, prevenir una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que puede estar predispuesto a la enfermedad, afección o trastorno pero que aún no experimenta o presenta la patología o la sintomatología de la enfermedad; (2) inhibir la enfermedad, por ejemplo, inhibir una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que está experimentando o que presenta la patología o la sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno; y (3) mejorar la enfermedad, por ejemplo, mejorar una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que está experimentando o que presenta la patología o la sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, revertir la patología y/o la sintomatología), tal como disminuir la gravedad de la enfermedad.

60 *Terapia de combinación*

65 Pueden utilizarse uno o más métodos de tratamiento o gentes farmacéuticos adicionales tales como, por ejemplo, antivirales, agentes quimioterapéuticos u otros agentes anticancerosos, estimuladores del sistema inmunitario, inmunosupresores, radiación, vacunas antitumorales y antivirales, terapia con citocinas (por ejemplo, IL-2, GM-CSF, etc.) y/o inhibidores de la tirosina quinasa, en combinación con los compuestos de la presente

invención para el tratamiento de las enfermedades, trastornos o afecciones asociadas con IDO. Los agentes pueden combinarse con los compuestos de la presente invención en una forma de dosificación unitaria, o los agentes pueden administrarse simultáneamente o secuencialmente como formas de dosificación separadas.

5 Los agentes antivirales adecuados contemplados para su uso en combinación con los compuestos de la presente invención pueden comprender inhibidores nucleosídicos y nucleotídicos de la transcriptasa inversa (INTI), inhibidores no nucleosídicos de la transcriptasa inversa (NNRTI), inhibidores de proteasas y otros fármacos antivirales.

10 Los NRTI adecuados de ejemplo incluyen zidovudina (AZT), didanosina (ddl), zalcitabina (ddC), estavudina (d4T), lamivudina (3TC), abacavir (1592U89), adefovir dipivoxil [bis(POM)-PMEA], lobucavir (BMS-180194), BCH-10652, emitricitabina [(-)-FTC], beta-L-FD4 (también llamado beta-L-D4C y denominado beta-L-2',3'-dicleoxy-5-fluoro-citideno), DAPD, (-)-beta-D-2,6,-diamino-purina dioxolano) y lodenosina (FddA). Los NNRTI adecuados típicos incluyen nevirapina (BI-RG-587), delaviradina (BHAP, U-90152), efavirenz (DMP-266), PNU-142721, AG-1549, MKC-442 (1-(etoxi-metil)-5-(1-metiletil)-6-(fenilmetil)-(2,4(1H,3H)-pirimidindiona) y (+)-calanolida A (NSC-675451) y B. Los inhibidores de proteasas adecuados típicos incluyen saquinavir (Ro 31-8959), ritonavir (ABT-538), indinavir (MK-639), nelfnavir (AG-1343), amprenavir (141W94), lasinavir (BMS-234475), DMP-450, BMS-2.322.623, ABT-378 y AG-1 549. Otros agentes antivirales incluyen hidroxiurea, ribavirina, IL-2, IL-12, pentafusida y Yissum Project N° 11607.

20 Los agentes quimioterapéuticos u otros agentes anticancerosos adecuados incluyen, por ejemplo, agentes alquilantes (incluidos, sin limitación, mostazas nitrogenadas, derivados de etilenimina, sulfonatos de alquilo, nitrosoureas y triazenos) tales como mostaza de uracilo, clormetina, ciclofosfamida (Cytoxan™), ifosfamida, melfalán, clorambucilo, pipobromano, trietilen-melamina, trietilentiófosforamina, busulfán, carmustina, lomustina, estreptozocina, dacarbazina y temozolomida.

25 Los agentes quimioterapéuticos u otros agentes anticancerosos adecuados incluyen, por ejemplo, antimetabolitos (incluidos, sin limitación, antagonistas del ácido fólico, análogos de pirimidina, análogos de purina e inhibidores de la adenosina desaminasa) tales como metotrexato, 5-fluorouracilo, floxuridina, citarabina, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, fosfato de fludarabina, pentostatina y gemcitabina.

30 Los agentes quimioterapéuticos u otros agentes anticancerosos adecuados incluyen adicionalmente, por ejemplo, determinados productos naturales y sus derivados (por ejemplo, alcaloides de la vinca, antibióticos antitumorales, enzimas, linfoquinas y epipodofilotoxinas) tales como vinblastina, vincristina, vindesina, bleomicina, dactinomicina, daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, idarubicina, ara-C, paclitaxel (Taxol™), mitramicina, desoxicoformicina, mitomicina-C, L-asparaginasa, interferones (especialmente IFN-a), etopósido y tenipósido.

35 Otros agentes citotóxicos incluyen navelbino, CPT-11, anastrozol, letrozol, capecitabina, reloxafme, ciclofosfamida, ifosamida y droloxafina.

40 También resultan adecuados agentes citotóxicos tales como epidofilotoxina, una enzima antineoplásica, un inhibidor de la topoisomerasa, procarbazona, mitoxantrona, complejos de coordinación de platino tales como cisplatino y carboplatino, modificadores de la respuesta biológica, inhibidores del crecimiento, agentes terapéuticos antihormonales, leucovorina, tegafur y factores de crecimiento hematopoyéticos.

45 Otro(s) agente(s) anticanceroso(s) incluye(n) terapia con anticuerpos tal como trastuzumab (Herceptin), anticuerpos contra moléculas coestimuladoras tales como CTLA-4, 4-1BB y PD-1, o anticuerpos contra citocinas (IL-10, TGF-β, etc.).

50 Otros agentes anticancerosos también incluyen los que bloquean la migración de las células inmunitarias, tales como los antagonistas de los receptores de quimiocinas, incluidos CCR2 y CCR4.

55 Otros agentes anticancerosos también incluyen los que refuerzan el sistema inmunitario, tales como adyuvantes o transferencia adoptiva de linfocitos T.

Las vacunas anticancerosas incluyen células dendríticas, péptidos sintéticos, vacunas de ADN y virus recombinantes.

60 Los expertos en la materia conocen los métodos para la administración segura y eficaz de la mayoría de estos agentes quimioterapéuticos. Además, su administración se describe en la literatura convencional. Por ejemplo, la administración de muchos de los agentes quimioterapéuticos se describe en "Physicians' Desk Reference" (PDR, por ejemplo, la edición de 1996, Medical Economics Company, Montvale, NJ).

Formulaciones farmacéuticas y formas de dosificación

65

5 Cuando se emplean como productos farmacéuticos, los compuestos de la invención pueden administrarse en forma de composiciones farmacéuticas, que es una combinación de un compuesto de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Estas composiciones pueden prepararse de manera bien conocida en la técnica farmacéutica y pueden administrarse por diversas vías dependiendo de si se desea un tratamiento local o sistémico y de la zona a tratar. La administración puede ser tópica (incluida oftálmica y a las membranas mucosas incluidas intranasal, vaginal y rectal), pulmonar (por ejemplo, por inhalación o insuflación de polvos o aerosoles, incluida mediante nebulizador; intratraqueal, intranasal, epidérmica y transdérmica), ocular, oral o parenteral. Los métodos para la administración ocular pueden incluir la administración tópica (gotas oftálmicas), inyección subconjuntival, periocular o intravítrea o introducción mediante catéter de globo o insertos oftálmicos colocados quirúrgicamente en el saco conjuntival. La administración parenteral incluye la inyección o infusión intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular; o intracraneal, por ejemplo, administración intratecal o intraventricular. La administración parenteral puede ser en forma de una sola dosis de bolo, o puede ser, por ejemplo, mediante una bomba de perfusión continua. Las composiciones farmacéuticas y formulaciones para la administración tópica pueden incluir parches transdérmicos, pomadas, lociones, cremas, geles, gotas, supositorios, aerosoles, líquidos y polvos. Pueden ser necesarios o deseables vehículos farmacéuticos convencionales, bases oleosas, en polvo o acuosas y espesantes.

20 La presente invención también incluye composiciones farmacéuticas que contienen, como principio activo, uno o más de los compuestos de la invención anteriormente indicados en combinación con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Al fabricar las composiciones de la invención, el principio activo se mezcla por lo general con un excipiente, se diluye mediante un excipiente o se mete dentro de tal vehículo, por ejemplo, en forma de cápsula, bolsita, papel u otro recipiente. Cuando el excipiente hace las veces de diluyente, puede ser un material sólido, semisólido o líquido, que actúa como vehículo o medio para el principio activo. Por lo tanto, las composiciones pueden estar en forma de comprimidos, píldoras, polvos, grageas, sobres, obleas, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (como un sólido o en un medio líquido), ungüentos que contienen, por ejemplo, hasta un 10% en peso del compuesto activo, cápsulas de gelatina blandas y duras, supositorios, soluciones inyectables estériles y polvos envasados estériles.

30 Al preparar una formulación, el compuesto activo puede molerse para proporcionar el tamaño de partícula apropiado antes de combinarlo con los demás ingredientes. Si el compuesto activo es sustancialmente insoluble, puede molerse hasta un tamaño de partícula inferior a malla 200. Si el compuesto activo es sustancialmente hidrosoluble, el tamaño de partícula puede ajustarse mediante molienda para proporcionar una distribución sustancialmente uniforme en la formulación, por ejemplo, aproximadamente de malla 40.

35 Los compuestos de la invención pueden molerse utilizando procedimientos de molienda conocidos tales como molienda en húmedo para obtener un tamaño de partícula apropiado para la formación de comprimidos y para otros tipos de formulación. Pueden prepararse preparaciones de los compuestos de la invención finamente divididas (nanoparticuladas) mediante procesos conocidos en la técnica, por ejemplo véase la publicación de patente internacional N° WO 2002/000196.

40 Algunos ejemplos de excipientes adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma de acacia, fosfato cálcico, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato cálcico, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe y metilcelulosa. Las formulaciones pueden incluir adicionalmente: lubricantes tales como talco, estearato de magnesio y aceite mineral; humectantes; emulsionantes y agentes de suspensión; conservantes tales como metil y propilhidroxibenzoatos; edulcorantes; y saboríferos. Las composiciones de la invención pueden formularse para que proporcionen una liberación rápida, sostenida o retardada del principio activo tras la administración al paciente, empleando procedimientos conocidos en la técnica.

50 Las composiciones pueden formularse en forma de dosificación unitaria, conteniendo cada dosis de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 100 mg, más habitualmente de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 30 mg, del principio activo. La expresión "formas de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para seres humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado.

55 El compuesto activo puede ser eficaz en un amplio intervalo de dosificación y se administra generalmente en una cantidad farmacéuticamente eficaz. Sin embargo, debe entenderse que la cantidad de compuesto realmente administrada será determinada por lo general por un médico, según las circunstancias pertinentes, incluidas la afección a tratar, la vía de administración elegida, el compuesto real administrado, la edad, el peso y la respuesta de cada paciente, la gravedad de los síntomas del paciente.

60 Para preparar composiciones sólidas tales como comprimidos, el principio activo principal se mezcla con un excipiente farmacéutico para formar una composición de preformulación sólida que contiene una mezcla homogénea de un compuesto de la presente invención. Cuando se hace referencia a estas composiciones de preformulación como homogéneas, por lo general el principio activo se dispersa de manera uniforme por toda la composición de manera que la composición pueda subdividirse fácilmente en formas de dosificación unitarias igualmente eficaces

tales como comprimidos, píldoras y cápsulas. A continuación se subdivide esta preformulación sólida en formas de dosificación unitarias del tipo descrito anteriormente que contienen, por ejemplo, de 0,1 mg a aproximadamente 500 mg del principio activo de la presente invención.

5 Los comprimidos o las píldoras de la presente invención pueden recubrirse o prepararse de otro modo para proporcionar una forma de dosificación que proporcione la ventaja de una acción prolongada. Por ejemplo, el comprimido o píldora puede comprender un componente de dosificación interno y un componente de dosificación externo, estando el último en forma de envoltura sobre el primero. Los dos componentes pueden estar separados por una capa entérica que sirve para resistir la desintegración en el estómago y permite que el componente interno
10 pase intacto al duodeno o que se retarde su liberación. Pueden utilizarse diversos materiales para tales recubrimientos o capas entéricas, incluyendo tales materiales varios ácidos poliméricos y mezclas de ácidos poliméricos con materiales tales como goma laca, alcohol cetílico y acetato de celulosa.

15 Las formas líquidas en las que pueden incorporarse los compuestos y las composiciones de la presente invención para la administración por vía oral o mediante inyección incluyen soluciones acuosas, jarabes adecuadamente aromatizados, suspensiones acuosas u oleosas y emulsiones aromatizadas con aceites comestibles tales como aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco o aceite de cacahuete, así como elixires y vehículos farmacéuticos similares.

20 Las composiciones para inhalación o insuflación incluyen soluciones y suspensiones en disolventes orgánicos o acuosos farmacéuticamente aceptables o mezclas de los mismos, y polvos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados como se ha descrito anteriormente. En algunas formas de realización, las composiciones se administran por vía respiratoria oral o nasal para un efecto local o sistémico. Las composiciones pueden nebulizarse utilizando gases inertes. Las soluciones nebulizadas pueden respirarse directamente desde el dispositivo de nebulización o puede unirse el dispositivo de nebulización a una mascarilla tipo tienda facial o respirador de presión positiva intermitente. Las composiciones en solución, en suspensión o en polvo pueden administrarse por vía oral o nasal desde dispositivos que suministren la formulación de manera apropiada.

30 La cantidad de compuesto o composición administrada a un paciente variará dependiendo de lo que se esté administrando, el propósito de la administración, tal como profilaxis o terapia, el estado del paciente, la forma de administración y similares. En las aplicaciones terapéuticas, las composiciones pueden administrarse a un paciente que ya padece una enfermedad en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente los síntomas de la enfermedad y sus complicaciones. Las dosis eficaces dependerán del estado patológico que se esté tratando, así como del juicio del médico a cargo dependiendo de factores tales como la gravedad de la enfermedad, la edad,
35 el peso y el estado general del paciente.

Las composiciones administradas a un paciente pueden estar en forma de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Estas composiciones pueden esterilizarse mediante técnicas de esterilización convencionales, o pueden esterilizarse por filtración. Las soluciones acuosas pueden envasarse para su uso tal cual, o liofilizarse, combinándose la preparación liofilizada con un vehículo acuoso estéril antes de la administración. El pH de las preparaciones de compuesto estará por lo general entre 3 y 11, más preferentemente entre 5 y 9, y lo más preferentemente entre 7 y 8. Debe entenderse que el uso de algunos de los excipientes, vehículos o estabilizadores anteriormente indicados dará como resultado la formación de sales farmacéuticas.

45 La dosificación terapéutica de los compuestos de la presente invención puede variar, por ejemplo, según el uso concreto para el cual se realiza el tratamiento, la manera de administración del compuesto, la salud y el estado del paciente y el juicio del médico prescriptor. La proporción o concentración de un compuesto de la invención en una composición farmacéutica puede variar dependiendo de varios factores, incluidos la dosificación, las características químicas (por ejemplo, hidrofobicidad) y la vía de administración. Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden proporcionarse en una solución tampón fisiológica acuosa que contenga de aproximadamente un 0,1% a aproximadamente un 10% p/v de compuesto para la administración parenteral. Algunos intervalos de dosis típicos son de aproximadamente 1 µg/kg a aproximadamente 1 g/kg de peso corporal al día. En algunas formas de realización, el intervalo de dosis es de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal al día. Es probable que la dosificación dependa de variables tales como el tipo y grado de evolución de la enfermedad o trastorno, el estado de salud general del paciente concreto, la eficacia biológica relativa del compuesto seleccionado, la formulación del excipiente y su vía de administración. Las dosis eficaces pueden extrapolarse a partir de las curvas de dosis-respuesta obtenidas de sistemas de ensayo de modelos *in vitro* o animales.

60 Los compuestos de la invención también pueden formularse en combinación con uno o más principios activos adicionales que pueden incluir cualquier agente farmacéutico, tal como antivirales, vacunas, anticuerpos, potenciadores inmunitarios, supresores inmunitarios y antiinflamatorios.

65 *Compuestos marcados y métodos de ensayo*

Otro aspecto de la presente invención se refiere a compuestos de la invención marcados con colorantes fluorescentes, marcadores de espín, metales pesados o marcados radiactivamente que serían útiles no sólo en la obtención de imágenes sino también en ensayos *in vitro* e *in vivo*, para localizar y cuantificar la enzima IDO en muestras de tejido, incluidos los humanos, y para identificar ligandos de la enzima IDO mediante unión por inhibición de un compuesto marcado. Por consiguiente, la presente invención incluye ensayos de la enzima IDO que contienen tales compuestos marcados.

La presente invención incluye adicionalmente compuestos marcados con isótopos de la invención. Un compuesto "marcado con isótopos" o "marcado radiactivamente" es un compuesto de la invención en el que uno o más átomos están reemplazados o sustituidos por un átomo que tiene una masa atómica o un número másico diferente de la masa atómica o del número másico que se encuentra normalmente en la naturaleza (es decir, de origen natural). Los radionúclidos adecuados que pueden incorporarse en los compuestos de la presente invención incluyen, pero no se limitan a ^2H (también escrito como D de deuterio), ^3H (también escrito como T de tritio), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I y ^{131}I . El radionúclido que se incorpora en los compuestos marcados radioactivamente de la presente invención dependerá de la aplicación específica de ese compuesto marcado radiactivamente. Por ejemplo, para los ensayos de competición y de marcado de la enzima IDO *in vitro*, serán generalmente más útiles los compuestos que incorporen ^3H , ^{14}C , ^{82}Br , ^{125}I , ^{131}I o ^{31}S . Para las aplicaciones de obtención de radioimágenes serán generalmente más útiles ^{11}C , ^{18}F , ^{125}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{76}Br o ^{77}Br .

Se entiende que un "compuesto marcado radiactivamente" o "compuesto marcado" es un compuesto que ha incorporado al menos un radionúclido. En algunas formas de realización el radionúclido está seleccionado del grupo que consiste en ^3H , ^{14}C , ^{125}I , ^{35}S y ^{82}Br .

Los métodos de síntesis para la incorporación de radioisótopos en compuestos orgánicos son aplicables a los compuestos de la invención y son bien conocidos en la técnica.

Puede utilizarse un compuesto de la invención marcado radioactivamente en un ensayo de cribado para identificar/evaluar compuestos. En términos generales, puede evaluarse un compuesto recién sintetizado o identificado (es decir, un compuesto de ensayo) para determinar su capacidad para reducir la unión del compuesto de la invención marcado radiactivamente a la enzima IDO. Por consiguiente, la capacidad de un compuesto de ensayo para competir con el compuesto marcado radiactivamente por la unión a la enzima IDO se correlaciona directamente con su afinidad de unión.

Kits

La presente invención también incluye kits farmacéuticos útiles, por ejemplo, en el tratamiento o prevención de enfermedades o trastornos asociados con IDO, la obesidad, la diabetes y otras enfermedades a las que se hace referencia en el presente documento, que incluyen uno o más recipientes que contienen una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención. Tales kits pueden incluir adicionalmente, si se desea, uno o más de diversos componentes de kit farmacéuticos convencionales, tales como, por ejemplo, recipientes con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, recipientes adicionales, etc., como se pondrá fácilmente de manifiesto para los expertos en la materia. También pueden incluirse en el kit instrucciones, ya sea como insertos o como etiquetas, que indiquen las cantidades de los componentes a administrar, directrices para la administración y/o directrices para mezclar los componentes.

La invención se describirá con mayor detalle mediante ejemplos específicos. Los compuestos de los Ejemplos resultaron ser inhibidores de IDO según uno o más de los ensayos proporcionados en el presente documento. En algunos casos en los que los compuestos de los ejemplos se aislaron mediante HPLC preparativa en presencia de ácido trifluoroacético (TFA) u otro ácido, el compuesto puede haberse obtenido como la sal correspondiente.

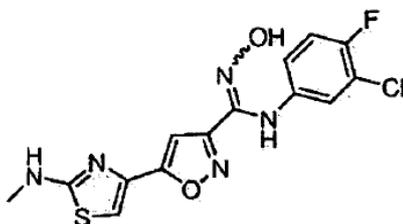
EJEMPLOS

Ejemplo 1

***N*-(3-Cloro-4-fluorofenil)-*N'*-hidroxi-5-[2-(metilamino)-1,3-tiazol-4-il]isoxazole-3-carboximidamida**

5

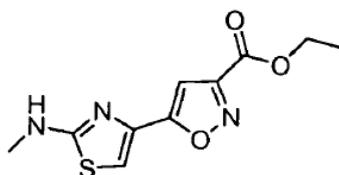
10



Etapa A: 3-[2-(metilamino)-1,3-tiazol-4-il]isoxazol-3-carboxilato de etilo

15

20



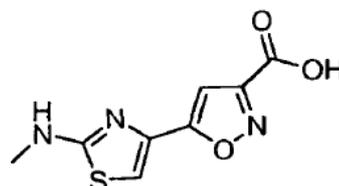
25

Se calentó a 150°C una solución de 3-(bromoacetil)isoxazol-3-carboxilato de etilo (100 mg, 0,40 mmol) y metiltiourea (69 mg, 0,76 mmol) en ácido acético (3,0 ml), en microondas durante 15 minutos. Se eliminó a vacío el disolvente para dar el producto bruto que se utilizó sin purificación. MF = C₁₀H₁₁N₃O₃S; LCMS calculada para C₁₀H₁₁N₃O₃S (M+H)⁺: m/z = 254.

30

Etapa B: ácido 3-[2-(Metilamino)-1,3-tiazol-4-il]isoxazol-3-carboxílico

35



40

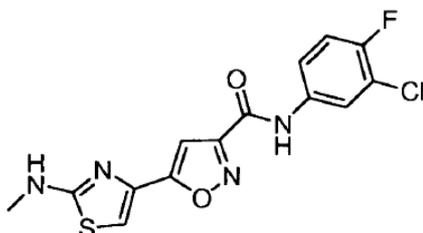
45

Se trató una solución de etil-3-[2-(metilamino)-1,3-tiazol-4-il]isoxazol-3-carboxilato de etilo (65 mg, 0,26 mmoles) en etanol (3,0 ml), con hidróxido sódico acuoso 1 N (0,30 ml, 0,28 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas. Se neutralizó la mezcla con ácido clorhídrico acuoso 1 N y se concentró a vacío para dar el producto bruto que se utilizó sin purificación. MF = C₈H₇N₃O₃S; LCMS calculada para C₈H₇N₃O₃S (M+H)⁺: m/z = 226.

Etapa C: N-(3-cloro-4-fluorofenil)-5-[2-(metilamino)-1,3-tiazol-4-il]isoxazol-3-carboxamida

50

55



60

65

Se agitó a temperatura ambiente una solución de ácido 3-[2-(metilamino)-1,3-tiazol-4-il]isoxazol-3-carboxílico (21 mg, 0,095 mmol) y 3-cloro-4-fluoroanilina (41 mg, 0,28 mmol) en piridina (1,5 ml), hasta que se disolvió totalmente. La solución se enfrió a -30°C (acetónitrilo/hielo) y se añadió, gota a gota, cloruro de fosforilo (30 µl, 0,30 mmol). Se agitó la mezcla durante 1 hora en el baño de hielo. Se evaporó a vacío la mezcla y se purificó el producto bruto mediante cromatografía en fase inversa para dar el producto deseado (22 mg, 60%). MF = C₁₄H₁₀ClFN₄O₂S; LCMS calculada para C₁₄H₁₀ClFN₄O₂S (M+H)⁺: m/z = 353.

Etapa D: N-(3-Cloro-4-fluorofenil)-N'-hidroxi-5-[2-(metilamino)-1,3-tiazol-4-yl]isoxazol-3-carboximidamida

5 Se suspendió *N*-(3-cloro-4-fluorofenil)-5-[2-(metilamino)-1,3-tiazol-4-il]isoxazol-3-carboxamida (22 mg, 0,062 mmol) en benceno (1,5 ml) y se añadió pentacloruro de fósforo (33 mg, 0,16 mmol). Se agitó la mezcla durante 3 horas a 80 °C y se evaporó a vacío para dar un sólido de color tostado. Se añadió benceno (2,0 ml) y se volvió a evaporar la mezcla dos veces. Se disolvió el sólido en tetrahidrofurano (1,5 ml) y se añadió hidroxilamina acuosa 20 M (70 µl, 1,0 mmol) y se agitó la mezcla durante 2 horas. Se evaporó a vacío la mezcla y se trituró con metanol para dar un precipitado blanco que se filtró y se lavó con metanol para dar el producto deseado (12 mg, 35%). MF = C₁₄H₁₁ClFN₅O₂S; LCMS calculada para C₁₄H₁₁ClFN₅O₂S (M+H)⁺: m/z = 368. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11,20 (s, 1H), 8,75 (s, 1H), 7,82 (m, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,20 (m, 1H), 6,92 (m, 1H), 6,65 (m, 1H), 2,82 (m, 3H). Los compuestos de la invención de ejemplo adicionales se exponen en la Tabla 1. Los compuestos se prepararon según los métodos del Ejemplo 1.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

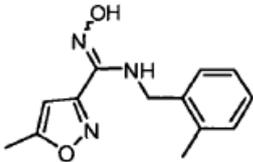
55

60

65

Tabla 1

Ej. Nº	Estructura	Nombre	MS (M+1)
5 2		<i>N</i> -(3-cloro-4-fluorofenil)- <i>N'</i> -hidroxi-5-metilisoxazol-3-carboximidamida	270
10 3		<i>N</i> -(3-cloro-4-fluorofenil)-5-(2-furil)- <i>N'</i> -hidroxiisoxazol-3-carboximidamida	322
15 4		<i>N</i> -(3-cloro-4-fluorofenil)- <i>N'</i> -hidroxi-5-fenilisoxazol-3-carboximidamida	332
20 5		<i>N</i> -(3-cloro-4-fluorofenil)- <i>N'</i> -hidroxi-2-metil-1,3-tiazol-4-carboximidamida	286
25 6		<i>N</i> -(3-cloro-4-fluorofenil)- <i>N'</i> -hidroxi-5-isopropilisoxazol-3-carboximidamida	298
30 7		<i>N</i> -(3-cloro-4-fluorofenil)- <i>N'</i> -hidroxi-4,5,6,7-tetrahidro-1,2-benzisoxazol-3-carboximidamida	310
35 8		<i>N</i> -(3-cloro-4-fluorofenil)- <i>N'</i> -hidroxi-5-(2-metil-1,3-tiazol-4-il)isoxazol-3-carboximidamida	353
40 9		<i>N</i> -(3-cloro-4-fluorofenil)- <i>N'</i> -hidroxi-5-(1H-1,2,3-triazol-5-il)isoxazol-3-carboximidamida	323
45 50 55 60 65			

5 10		<p><i>N</i>-hidroxi-5-metil-<i>N</i>-(2-metilbenzil)isoxazole-3-carboximidamida</p>	246
---------	---	---	-----

10 RMN para el Ejemplo 4

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,2 (s, 1 H), 8,80 (s, 1 H), 7,95-7,85 (m, 2 H), 7,56-7,51 (m, 3 H), 7,21-7,15 (m, 2 H), 6,96 (dd, *J* = 6,4, 2,6 Hz, 1 H), 6,69-6,64 (m, 1 H).

15 RMN para el Ejemplo 5

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,81 (s, 0,8 H), 8,41 (s, 0,2 H), 8,38-8,30 (s, 0,2 H), 8,06 (dd, *J* = 6,5, 2,2 Hz, 0,2 H), 7,71 (s, 0,8 H), 7,49-7,47 (m, 0,2 H), 7,25 (dd, *J* = 9,2, 9,0 Hz, 0,2 H), 7,11 (dd, *J* = 9,0, 9,0 Hz, 0,8 H), 6,82 (dd, *J* = 6,2, 2,1 Hz, 0,8 H), 6,57-6,55 (m, 0,8 H), 2,72 (s, 0,6 H), 2,55 (s, 2,4 H).

20 RMN para el Ejemplo 6

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,1 (bs, 0,9 H), 10,1 (s, 0,1 H), 8,69 (s, 0,9 H), 8,66 (s, 0,1 H), 7,97 (dd, *J* = 6,7, 2,6 Hz, 0,1 H), 7,45-7,40 (m, 0,1 H), 7,27 (dd, *J* = 9,1, 9,1 Hz, 0,1 H), 7,17 (dd, *J* = 9,1, 9,1 Hz, 0,9 H), 6,84 (dd, *J* = 6,4, 2,6 Hz, 0,9 H), 6,66-6,60 (m, 1 H), 6,31 (s, 0,9 H), 3,17-3,00 (m, 1 H), 1,27 (d, *J* = 7,0 Hz, 0,7 H), 1,21 (d, *J* = 6,7 Hz, 5,3 H).

25 RMN para el Ejemplo 7

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,1 (s, 1 H), 8,78 (s, 0,1 H), 8,72 (s, 0,9 H), 7,98 (dd, *J* = 6,9, 2,8 Hz, 0,1 H), 7,41-7,35 (m, 0,1 H), 7,27 (dd, *J* = 9,4, 8,8 Hz, 0,1 H), 7,16 (dd, *J* = 9,1, 9,1 Hz, 0,9 H), 6,89 (dd, *J* = 6,4, 2,6 Hz, 0,9 H), 6,61-6,55 (m, 0,9 H), 2,72-2,63 (m, 2 H), 2,28-2,25 (m, 2 H), 1,79-1,71 (m, 2 H), 1,62-1,59 (m, 2 H).

30 RMN para el Ejemplo 8

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ: 8,81 (s, 1H), 8,21 (s, 1H), 7,17 (m, 1H), 6,95 (m, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,65 (m, 1H), 2,82 (m, 3H).

40 **Ejemplo A**

Ensayo enzimático de indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO) humana

45 Se expresó en *E. coli* indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO) humana con un marcador His N-terminal y se purificó a homogeneidad. La IDO cataliza la escisión oxidativa del anillo de pirrol del núcleo de indol del triptófano para producir *N*²-formilkinurenina. Los ensayos se realizaron a temperatura ambiente, como se describe en la literatura, utilizando IDO 95 nM y D-Trp 2 mM en presencia de ascorbato 20 mM, azul de metileno 5 μM y 0,2 mg/ml de catalasa en tampón fosfato potásico 50 mM (pH 6,5). Se registraron las velocidades de reacción iniciales siguiendo continuamente el aumento de absorbancia a 321 nM debido a la formación de *N*²-formilkinurenina. Véase:

50 Sono, M. Taniguchi, T., Watanabe, Y. y Hayaishi, O. (1980) J. Biol. Chem. 255, 1339-1345. Se descubrió que los compuestos de la invención son inhibidores de IDO según este ensayo. Los datos se proporcionan en la siguiente la Tabla 2. El símbolo "+" indica $Cl_{50} < 1.000 \mu M$. El símbolo "++" indica $1.000 \mu M \leq Cl_{50} \leq 10.000 \mu M$. El símbolo "+++" indica $Cl_{50} > 10.000 \mu M$.

55

60

65

Tabla 2

Ej. N°	CI ₅₀ (μM)
1	++
2	++
3	+
4	++
5	++
6	++
7	++
8	++
9	++
10	++

Ejemplo B**Determinación de la actividad inhibidora en un ensayo de indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO)/kinurenina basado en células HeLa**

Se obtuvieron células HeLa (#CCL-2) de la American Type Tissue Culture Collection (ATCC, Manassas, VA) y se mantuvieron de manera rutinaria en un medio esencial mínimo (Eagle) con L-glutamina 2 mM y BSS de Earle ajustado para contener 1,5 g/l de bicarbonato sódico, aminoácidos no esenciales 0,1 mM, piruvato sódico 1 mM y suero de ternera fetal al 10% (todos de Invitrogen). Se mantuvieron las células a 37°C en una incubadora humidificada con suministro de CO₂ al 5%. Se realizó el ensayo de la siguiente manera: se sembraron células HeLa en una placa de cultivo de 96 pocillos a una densidad de 5 x 10³ por pocillo y se cultivaron durante toda la noche. Al día siguiente, se añadió a las células IFN-γ (concentración final de 50 ng/ml) y diluciones en serie de los compuestos (en un volumen total de 200 μl de medio de cultivo). Después de 48 horas de incubación, se transfirieron 140 μl del sobrenadante por pocillo a una nueva placa de 96 pocillos. Se mezclaron en cada pocillo 10 μl de ácido tricloroacético 6,1 N (#T0699, Sigma) y se incubaron a 50°C durante 30 minutos para hidrolizar la *N*-formilkinurenina producida por la indolamina 2,3-dioxigenasa a kinurenina. A continuación se centrifugó la mezcla de reacción durante 10 minutos a 2.500 rpm para eliminar los sedimentos. Se transfirieron 100 μl del sobrenadante por pocillo a otra placa de 96 pocillos y se mezclaron con 100 μl de p-dimetilaminobenzaldehído al 2% (p/v) (#15647-7, Sigma-Aldrich) en ácido acético. Se midió a 480 nM el color amarillo proveniente de la kinurenina utilizando un lector de microplacas SPECTRAMax 250 (Molecular Devices). Como patrón se utilizó L-kinurenina (#K8625, Sigma). Se prepararon los patrones (240 μM, 120 μM, 60 μM, 30 μM, 15 μM, 7,5 μM, 3,75 μM, 1,87 μM) en 100 μl de medios de cultivo y se mezclaron con un volumen igual de p-dimetilaminobenzaldehído al 2% (p/v). Se determinó el porcentaje de inhibición a concentraciones individuales y se obtuvieron los valores medios de los duplicados. Se analizaron los datos mediante regresión no lineal para generar los valores de CI₅₀ (Prism GraphPad). Véase: Takikawa O., *et al.* (1988). Mechanism of interferon-gamma action. Characterization of indoleamine 2,3-dioxygenase in cultured human cells induced by interferon-gamma and evaluation of the enzyme-mediated tryptophan degradation in its anticellular activity. *J. Biol. Chem.* 263(4):2041-8.

Ejemplo C**Determinación del efecto de los inhibidores de IDO sobre la proliferación de linfocitos T que es suprimida por las células dendríticas que expresan IDO**

Se recogen monocitos a partir de células mononucleares periféricas humanas mediante leucoforesis. A continuación se siembran los monocitos a una densidad de 1 x 10⁵ células/pocillo en una placa de 96 pocillos, utilizando medio RPMI 1640 complementado con suero de ternera fetal al 10% y L-glutamina 2 mM (todos de Invitrogen). Las células adherentes se mantienen en la placa después de cultivo durante toda la noche a 37°C. A continuación se estimula a los monocitos adherentes durante 5-7 días con 100 ng/ml de GM-CSF (#300-03, PeproTech) y 250 ng/ml de IL-4 (#200-04, PeproTech), seguido de activación con 5 μg/ml de LPS de *Salmonella typhimurium* (#437650, Sigma) y 50 ng/ml de IFN-γ (#285-IF, R&D Systems) durante 2 días más para inducir la maduración de las células dendríticas.

Después de la activación de las células dendríticas, se reemplaza el medio con RPMI 1640 completo complementado con 100-200 U/ml de IL-2 (#CYT-209, ProSpec-Tany TechnoGene) y 100 ng/ml de anticuerpo anti-CD3 (#555336, PharMingen), linfocitos T (2-3 x 10⁵ células/pocillo) y diluciones en serie de los compuestos de IDO. Después de incubación durante 2 días más, se mide la proliferación de linfocitos T mediante el ensayo de incorporación de BrdU, utilizando un kit colorimétrico Cell Proliferation ELISA según las instrucciones del fabricante (#1647229, Roche Molecular Biochemicals). Se cultivan las células de forma continua durante 16-18 horas en presencia de solución de marcado BrdU 10 μM. A continuación, se retira el medio de marcado y se añaden a las células 200 μl de FixDenat por pocillo y se incuban durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se elimina la solución FixDenat y se añaden 100 μl/pocillo de solución de trabajo de conjugado de anticuerpo anti-BrdU-POD. Se lleva a cabo la reacción durante 90 minutos a temperatura ambiente. A continuación se elimina el conjugado de anticuerpo y se aclaran las células tres veces con 200 μl/pocillo de solución de lavado. Finalmente, se añaden 100 μl/pocillo de

solución de sustrato y se obtienen los resultados utilizando un lector de microplacas (Spectra Max Plus, Molecular Devices) durante el desarrollo de color. Se obtienen múltiples lecturas en diversos instantes de tiempo para asegurar que los datos se encuentran dentro del intervalo lineal. Los datos se obtienen de manera rutinaria a partir de los experimentos replicados y se incluyen testigos apropiados. Véase: Terness P., *et al.* (2002). Inhibition of allogeneic T cell proliferation by indoleamine 2,3-dioxygenase-expressing dendritic cells: mediation of suppression by tryptophan metabolites. *J. Exp. Med.* 196(4):447-57; y Hwu P., *et al.* (2000). Indoleamine 2,3-dioxygenase production by human dendritic cells results in the inhibition of T cell proliferation. *J. Immunol.* 164(7):3596-9.

Ejemplo D

Ensayo *in vivo* de los inhibidores de IDO para determinar la actividad antitumoral

Puede ensayarse la eficacia antitumoral *in vivo* utilizando protocolos de aloinjerto/xenoinjerto de tumor modificados. Por ejemplo, se ha descrito en la literatura que la inhibición de IDO puede sinergizar con la quimioterapia citotóxica en ratones inmunocompetentes (Muller, A.J., *et al.*). Esta sinergia ha demostrado ser dependiente de los linfocitos T por comparación de los efectos sinérgicos de un inhibidor de IDO en investigación en modelos murinos de xenoinjerto de tumor (por ejemplo, B16 y variantes relacionadas, CT-26, LLC) desarrollados en ratones singénicos inmunocompetentes con la observada en ratones singénicos tratados con anticuerpos anti-CD4 neutralizantes, o los mismos tumores desarrollados en ratones inmunocomprometidos (por ejemplo, nu/nu).

El concepto de efectos antitumorales diferenciales en ratones inmunocompetentes frente a ratones inmunocomprometidos también puede permitir ensayar inhibidores de IDO en investigación como agentes únicos. Por ejemplo, los tumores LLC crecen bien en su cepa hospedadora singénica, C57B1/6. Sin embargo, si se tratan estos ratones con el inhibidor de IDO 1-MT (frente a un placebo) se retarda notablemente la formación de tumores, lo que implica que la inhibición de IDO era inhibidora del crecimiento (Friberg, M., *et al.*). Siguiendo esta lógica, puede examinarse la eficacia de la inhibición de IDO en el modelo de xenoinjerto de tumor LLC desarrollado en ratones C57B1/6 inmunocompetentes y compararse con los efectos de los inhibidores de IDO sobre el crecimiento de tumores LLC en ratones desnudos o SCID (o ratones C57B1/6 tratados con anticuerpos que neutralizan la actividad de los linfocitos T). Como los efectos de alivio de la actividad inmunosupresora dependiente de tumor de IDO probablemente serán diferentes dependiendo del potencial inmunógeno de los diferentes modelos de tumor, pueden hacerse modificaciones genéticas a las células tumorales para aumentar su potencial inmunógeno. Por ejemplo, la expresión de GM-CSF en células B16.F10 aumenta su potencial inmunógeno (Dranoff, G., *et al.*). Como tal, en algunos modelos de tumor (por ejemplo, B16.F10) pueden generarse [poli]clones que expresan proteínas inmunoestimuladoras tales como GM-CSF y ensayarse los efectos inhibidores del crecimiento de los inhibidores de IDO contra tumores establecidos a partir de estas células tumorales en ratones inmunocompetentes e inmunocomprometidos.

Una tercera vía para evaluar la eficacia de los inhibidores de IDO *in vivo* emplea modelos murinos de aloinjerto/xenoinjerto de tumor de "preinmunización". En estos modelos, los ratones inmunocompetentes están sensibilizados frente a un antígeno tumoral o antígenos tumorales específicos para imitar una vacuna antitumoral terapéutica. Esto prepara a los ratones para una respuesta antitumoral mediada por el sistema inmunitario cuando los ratones son provocados posteriormente con líneas de células tumorales murinas (que poseen antígenos tumorales similares a los utilizados para la inmunización) en experimentos de xenoinjerto. Se ha demostrado que la expresión de IDO debilita la respuesta antitumoral y permite a los xenoinjertos crecer más rápidamente. Es importante destacar que el crecimiento de tumores en este modelo es inhibido por el inhibidor de IDO 1-MT (Uyttenhove, C., *et al.*). Este modelo es especialmente atractivo, ya que la actividad de IDO es permisiva para el crecimiento del tumor P815 y la inhibición específica de IDO debe ser, por tanto, inhibidora del crecimiento.

Por último, puede utilizarse la inmunización terapéutica para evaluar el impacto de los inhibidores de IDO *in vivo*. Por ejemplo, se ha demostrado utilizando células B16-BL6 que se puede provocar a ratones Blk/6 con una inyección intravenosa de células tumorales, seguido de tratamiento con un péptido inmunógeno bien caracterizado (por ejemplo, TRP-2; SVYDFVWL) expresado por las células tumorales (Ji, *et al.*, *J. Immunol.*, 2005, 175:1456-63). Es importante destacar que modificadores del sistema inmunitario tales como el anticuerpo anti-CTL-4, pueden mejorar las respuestas a tales inmunizaciones terapéuticas. Puede evaluarse el impacto de los inhibidores de IDO de manera similar - inmunización con el péptido tumoral con o sin inhibidor de IDO. La eficacia se evalúa por la supervivencia de los animales (tiempo de morbilidad) o por la medición de las metástasis tumorales a los pulmones y/o a otros órganos en los instantes de tiempo definidos.

En cualquier/todos los modelos anteriormente mencionados, también puede ser posible medir directamente y/o indirectamente el número y/o la actividad de las células inmunitarias reactivas a tumores. Los métodos para medir el número y/o la actividad de las células inmunitarias reactivas a tumores están bien establecidos y pueden realizarse utilizando técnicas familiares para los versados en la técnica (Current Protocols in Immunology, Vol. 4, Coligan, J.E., *et al.*; Immunotherapy of Cancer, Human Press, 2006, Disis, M.L. y las referencias en los mismos). Conceptualmente, una reducción de los efectos inmunosupresores de IDO puede dar como resultado un aumento del número o la reactividad de las células inmunitarias específicas del tumor. Además, la inhibición de IDO puede aumentar adicionalmente el número o la reactividad de las células inmunitarias reactivas a tumores cuando se

combina con otros agentes terapéuticos, por ejemplo agentes quimioterapéuticos y/o moduladores inmunitarios (por ejemplo, un anticuerpo anti-CTLA4).

5 Todos los experimentos de aloinjerto/xenoinjerto pueden realizarse utilizando técnicas convencionales para tumores (revisado por Corbett, *et al.*). La clonación y la introducción de genes (por ejemplo, IDO, GM-CSF) en las líneas celulares tumorales, puede realizarse utilizando técnicas familiares para los versados en la técnica (revisado en Sambrook, J., *et al.*). Véase: Corbett, T., Polin, L., *et al.* In vivo methods for screening and preclinical testing. Cancer Drug Discovery and Development: Anticancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials, and Approval, 2ª ed. Teicher, B.A. and Andrews, P.A., Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2004; Dranoff, G., Jaffee, E., *et al.* Vaccination with irradiated tumor cells engineered to secrete murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor stimulates potent, specific, and long-lasting anti-tumor immunity. Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 90:3539-3543, 1993; Friberg, M., Jennings, R., *et al.* Indoleamine 2,3-dioxygenase contributes to tumor cell evasion of T cell-mediated rejection. Int. J. Cancer: 101:151-155, 2002; Muller, A. J., DuHadaway, J.B., *et al.* Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase, an immunoregulatory target of the cancer suppression gene Bin1, potentiates cancer chemotherapy. Nat. Med. 11:312-319, 2005; Sambrook, J., Russel, D. Molecular Cloning: A laboratory Manual (3ª edición). Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, NY, EE.UU. 2001; y Uyttenhove, C., Pilotte, L., *et al.* Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase. Nat. Med. 9:1269-1274, 2003.

20 Ejemplo E

Ensayo in vivo de inhibidores de IDO en un modelo de encefalitis por el virus 1 de la inmunodeficiencia humana (VIH-1)

25 1. Aislamiento de células e infección viral

Pueden obtenerse monocitos y PBL mediante elutriación centrífuga a contracorriente de paquetes de leucóforésis de donantes seronegativos para VIH-1, 2 y hepatitis B. Se cultivan los monocitos en cultivo en suspensión utilizando matraces de teflón en medio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM, Sigma-Aldrich), complementado con un suero humano combinado inactivado por calor al 10%, glutamina al 1%, 50 µg/ml de gentamicina, 10 µg/ml de ciprofloxacino (Sigma) y 1.000 U/ml de factor estimulador de colonias de macrófagos humano recombinante altamente purificado. Después de siete días de cultivo, se infectan MDM con el VIH-1_{ADA} a una multiplicidad de infección de 0,01.

35 2. Ratones Hu-PBL-NOD/SCID HIVE

Pueden adquirirse ratones NOD/CB-17 SCID macho de cuatro semanas de edad (Jackson Laboratory). Los animales se mantienen en jaulas Micro-Isolator estériles en condiciones libres de patógenos. Se inyecta a todos los animales, por vía intraperitoneal, anticuerpo anti-CD122 de rata (0,25 mg/ratón) tres días antes del trasplante de PBL y dos veces con anticuerpos contra asialo-GM1 de conejo (0,2 mg/ratón) (Wako) un día antes y tres días después de la inyección de PBL (20 x 10⁶ células/ratón). Se inyectan, por vía intracraneal (i.c.), MDM infectados con el VIH-1_{ADA} (3 x 10⁵ células en 10 µl) ocho días después de la reconstitución de PBL, lo que genera ratones hu-PBL- NOD/SCID HIVE. Inmediatamente después de la inyección i.c. de MDM infectados con VIH-1, se implanta a los ratones hu-PBL-NOD/SCID HIVE por vía subcutánea (s.c.) testigo (vehículo) o microgránulos de compuesto (14 ó 28 días de liberación lenta, Innovative Research). Se diseñan los experimentos iniciales para confirmar la inducción de los CTL específicos del virus en los animales hu PBL-NOD/SCID HIVE tratados con compuestos de IDO. Esto se confirma mediante tinción de tetrámero y análisis neuropatológicos de eliminación de MDM del tejido cerebral. A continuación, se diseña el experimento para analizar la reconstitución de linfocitos humanos, las respuestas inmunitarias humorales y las alteraciones neuropatológicas. En estos experimentos, se sangran los animales el día 7 y se sacrifican los días 14 y 21 después de la inyección i.c. de MDM humanos. Se utiliza la sangre recogida en tubos que contienen EDTA para la citometría de flujo y se utiliza el plasma para la detección de VIH-1 p24 mediante ELISA (Beckman Coulter™). Los anticuerpos específicos contra el VIH-1 se detectan mediante ensayos de transferencia Western según las instrucciones del fabricante (kit de transferencia Western de VIH-1 de Cambridge Biotech, Calypte Biomedical). Se detecta una cantidad similar de anticuerpos específicos del virus en el testigo y en los animales tratados con compuesto. Puede realizarse un total de tres experimentos independientes utilizando tres donantes de leucocitos humanos diferentes.

3. FACS de sangre periférica y bazo en ratones hu PBL-NOD/SCID HIVE

60 Puede realizarse el análisis FACS de dos colores en sangre periférica en la semana 1-3 y en esplenocitos en la semana 2 y 3 después de la inyección i.c. de MDM humanos. Se incuban las células con anticuerpos monoclonales (AcMo) contra CD4, CD8, CD56, CD3, IFN-γ humanos conjugados con fluorocromo (eBioscience) durante 30 minutos a 4°C. Para evaluar la respuesta inmunitaria celular, se realiza la tinción intracelular de IFN-γ en combinación con anticuerpos anti-CD8 humano y anticuerpos anti-CD45 de ratón conjugados con FITC para excluir las células murinas. Para determinar los CTL específicos de anticuerpo, se realiza la tinción de tetrámero conjugada con alofococianina para el VIH-1^{gag} (p17 (aa77-85) SLYNTVATL, SL-9) y el VIH-1^{pol} [(aa476-485) ILKEPVGHV, IL-9]

en esplenocitos estimulados con fitohemaglutinina/interleucina-2 (PHA/IL-2). Se tiñen las células siguiendo la recomendación del NIH/National Institute of Allergy and Infections Disease, National Tetramer Core Facilities. Los datos se analizaron con un FACS Calibur™ utilizando el software CellQuest (Becton Dickinson Immunocytometry System).

5

4. Histopatología y análisis de imágenes

Se recoge tejido cerebral los días 14 y 21 después de la inyección i.c. de MDM, se fija en paraformaldehído al 4% tamponado con fosfato y se embebe en parafina o se congela a -80°C para su uso posterior. Se cortan secciones coronales de los bloques embebidos con el fin de identificar el lugar de la inyección. Para cada ratón, se cortan 30-100 secciones en serie (5 µm de espesor) del sitio de inyección de MDM humanos y se analizan 3-7 portaobjetos (10 secciones separadas). Las secciones de cerebro se deparafinan con xileno y se hidratan en un gradiente de alcoholes. La tinción inmunohistoquímica sigue un protocolo indirecto básico, utilizando la recuperación de antígeno por calentamiento a 95°C en 0,01 mol/l de tampón citrato durante 30 minutos para la recuperación del antígeno. Para identificar las células humanas en cerebros de ratón, se utiliza AcMo contra vimentina (1:50, clon 3B4, Dako Corporation), que identifica todos los leucocitos humanos. Los MDM humanos y los linfocitos CD8⁺ se detectan con anticuerpos contra CD68 (dilución 1:50, clon KP 1) y CD8 (dilución 1:50, 144B clon), respectivamente. Las células infectadas con virus se marcan con AcMo contra VIH-1 p24 (1:10, clon Kal-1, todo de Dako). Las células microgliales murinas reactivas se detectan con anticuerpo Iba-1 (1:500, Wako). La expresión deIDO humana (huIDO) se visualiza con anticuerpos obtenidos del Departamento de Farmacología Celular, Central Research Institute, Facultad de Medicina, Universidad de Hokkaido, Sapporo, Japón. Los anticuerpos primarios se detectan con los anticuerpos secundarios biotinilados apropiados y se visualizan con complejos de avidina-biotina (kit Vectastain Elite ABC, Vector Laboratories) y polímero de dextrano acoplado a peroxidasa de rábano picante (HRP) (EnVision, Dako Corporation). Se realiza la contratinción de las secciones inmunoteñidas con hematoxilina de Mayer. Las secciones de las que se elimina el anticuerpo primario o incorpora el isotipo IgG irrelevante hacen las veces de testigos. Dos observadores independientes, de forma enmascarada, cuentan el número de linfocitos CD8⁺, MDM CD68⁺ y células VIH-1 p24⁺ en cada sección de cada ratón. Se realiza el examen de microscopía óptica con un microscopio Nikon Eclipse 800 (Nikon Instruments Inc.). Se realiza el análisis semicuantitativo para Iba1 (porcentaje del área ocupada por inmunotinción) mediante análisis de imágenes asistido por ordenador (Image-Pro® Plus, Media Cybernetics) como se ha descrito anteriormente.

10

15

20

25

30

5. Análisis estadístico

Pueden analizarse los datos mediante Prism (Graph Pad) con la t de Student para las comparaciones y el ANOVA. Se consideraron significativos los valores de $P < 0,05$.

35

6. Referencia

Poluektova L.Y., Munn DH, Persidsky Y. y Gendelman H.E. (2002). Generation of cytotoxic T cells against virus-infected human brain macrophages in a murine model of HIV-1 encephalitis. *J. Immunol.* 168(8):3941-9.

40

45

50

55

60

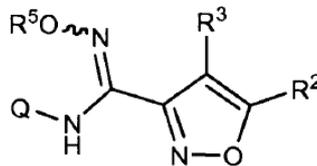
65

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de Fórmula III:

5

10



III

15

o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en la que:

20

Q es fenilo opcionalmente sustituido por 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidroalquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, CN, NO₂, OR^{a4}, SR^{a4}, C(O)R^{b4}, C(O)NR^{c4}R^{d4}, C(O)OR^{a4}, OC(O)R^{b4}, OC(O)NR^{c4}R^{d4}, NR^{c4}R^{d4}, NR^{c4}C(O)R^{b4}, NR^{c4}C(O)NR^{c4}R^{d4}, NR^{c4}C(O)OR^{a4}, S(O)R^{b4}, S(O)NR^{c4}R^{d4}, S(O)₂R^{b4}, NR^{c4}S(O)₂R^{b4} y S(O)₂NR^{c4}R^{d4}; o

25

Q es alquilo C₁₋₆ sustituido por fenilo, en el que dicho fenilo está sustituido por alquilo C₁₋₄;
R² es halo, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, haloalquilo C₁₋₆, hidroalquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, pentahalosulfanilo, Cy³, CN, NO₂, OR^{a3}, SR^{a3}, C(O)R^{b3}, C(O)NR^{c3}R^{d3}, C(O)OR^{a3}, OC(O)R^{b3}, OC(O)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(O)R^{b3}, NR^{c3}C(O)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(O)OR^{a3}, C(=NRⁱ³)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(=NRⁱ³)NR^{c3}R^{d3}, P(R^{f3})₂, P(OR^{e3})₂, P(O)R^{e3}R^{f3}, P(O)OR^{e3}OR^{f3}, S(O)R^{b3}, S(O)NR^{c3}R^{d3}, S(O)₂R^{b3}, NR^{c3}S(O)₂R^{b3} o S(O)₂NR^{c3}R^{d3};

30

en la que dicho alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀ está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, haloalquilo C₁₋₁₀, hidroalquilo C₁₋₁₀, cianoalquilo C₁₋₁₀, pentahalosulfanilo, Cy³, CN, NO₂, OR^{a3}, SR^{a3}, C(O)R^{b3}, C(O)NR^{c3}R^{d3}, C(O)OR^{a3}, OC(O)R^{b3}, OC(O)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(O)R^{b3}, NR^{c3}C(O)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(O)OR^{a3}, C(=NRⁱ³)NR^{c3}R^{d3}, NR^{c3}C(=NRⁱ³)NR^{c3}R^{d3}, P(R^{f3})₂, P(OR^{e3})₂, P(O)R^{e3}R^{f3}, P(O)OR^{e3}OR^{f3}, S(O)R^{b3}, S(O)NR^{c3}R^{d3}, S(O)₂R^{b3}, NR^{c3}S(O)₂R^{b3} y S(O)₂NR^{c3}R^{d3};

35

R³ está seleccionado de entre H, halo, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₆ y alquinilo C₂₋₆;

40

R⁵ es H;

R^{a3} y R^{a4} están seleccionados independientemente de entre H, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, Cy⁵ y Cy⁵-(alquilo C₁₋₆)-, en los que dicho alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidroalquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, Cy⁵, CN, NO₂, OR^{a5}, SR^{a5}, C(O)R^{b5}, C(O)NR^{c5}R^{d5}, C(O)OR^{a5}, OC(O)R^{b5}, OC(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)R^{b5}, NR^{c5}C(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)OR^{a5}, C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, P(R^{f5})₂, P(OR^{e5})₂, P(O)R^{e5}R^{f5}, P(O)OR^{e5}OR^{f5}, S(O)R^{b5}, S(O)NR^{c5}R^{d5}, S(O)₂R^{b5}, NR^{c5}S(O)₂R^{b5} y S(O)₂NR^{c5}R^{d5};

45

R^{b3} y R^{b4} están seleccionados independientemente de entre H, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, Cy⁵ y Cy⁵-(alquilo C₁₋₆)-, en los que dicho alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidroalquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, Cy⁵, CN, NO₂, OR^{a5}, SR^{a5}, C(O)R^{b5}, C(O)NR^{c5}R^{d5}, C(O)OR^{a5}, OC(O)R^{b5}, OC(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)R^{b5}, NR^{c5}C(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)OR^{a5}, C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, P(R^{f5})₂, P(OR^{e5})₂, P(O)R^{e5}R^{f5}, P(O)OR^{e5}OR^{f5}, S(O)R^{b5}, S(O)NR^{c5}R^{d5}, S(O)₂R^{b5}, NR^{c5}S(O)₂R^{b5} y S(O)₂NR^{c5}R^{d5};

50

R^{c3} y R^{c4} están seleccionados independientemente de entre H, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, Cy⁵ y Cy⁵-(alquilo C₁₋₆)-, en los que dicho alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidroalquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, Cy⁵, CN, NO₂, OR^{a5}, SR^{a5}, C(O)R^{b5}, C(O)NR^{c5}R^{d5}, C(O)OR^{a5}, OC(O)R^{b5}, OC(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)R^{b5}, NR^{c5}C(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)OR^{a5}, C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, P(R^{f5})₂, P(OR^{e5})₂, P(O)R^{e5}R^{f5}, P(O)OR^{e5}OR^{f5}, S(O)R^{b5}, S(O)NR^{c5}R^{d5}, S(O)₂R^{b5}, NR^{c5}S(O)₂R^{b5} y S(O)₂NR^{c5}R^{d5};

55

R^{d3} y R^{d4} están seleccionados independientemente de entre H, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, Cy⁵ y Cy⁵-(alquilo C₁₋₆)-, en los que dicho alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆, está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidroalquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, Cy⁵, CN, NO₂, OR^{a5}, SR^{a5}, C(O)R^{b5}, C(O)NR^{c5}R^{d5}, C(O)OR^{a5}, OC(O)R^{b5}, OC(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)R^{b5}, NR^{c5}C(O)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(O)OR^{a5}, C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, NR^{c5}C(=NRⁱ⁵)NR^{c5}R^{d5}, P(R^{f5})₂, P(OR^{e5})₂, P(O)R^{e5}R^{f5}, P(O)OR^{e5}OR^{f5}, S(O)R^{b5}, S(O)NR^{c5}R^{d5}, S(O)₂R^{b5}, NR^{c5}S(O)₂R^{b5} y S(O)₂NR^{c5}R^{d5};

60

o R^{e3} y R^{e4} junto con el átomo de N al que están unidos forman un grupo heteroarilo o heterocicloalquilo de 4, 5, 6 ó 7 miembros, cada uno opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidroalquilo

65

alquinilo C₂₋₁₀, arilo, cicloalquilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, cicloalquilalquilo o heterocicloalquilalquilo está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre OH, amino, halo, alquilo C₁₋₆, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo.

5
2. Compuesto según la reivindicación 1, o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en el que Q es fenilo opcionalmente sustituido por 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, cianoalquilo C₁₋₆, CN, NO₂, OR^{a4}, SR^{a4}, C(O)R^{b4}, C(O)NR^{c4}R^{d4}, C(O)OR^{a4}, OC(O)R^{b4}, OC(O)NR^{c4}R^{d4}, NR^{c4}R^{d4}, NR^{c4}C(O)R^{b4}, NR^{c4}C(O)NR^{c4}R^{d4}, NR^{c4}C(O)OR^{a4}, S(O)R^{b4}, S(O)NR^{c4}R^{d4}, S(O)₂R^{b4}, NR^{c4}S(O)₂R^{b4} y S(O)₂NR^{c4}R^{d4},

10
3. Compuesto según la reivindicación 1, o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en el que Q es fenilo opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₆ y haloalquilo C₁₋₆.

15
4. Compuesto según la reivindicación 1, o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en el que Q es fenilo opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 halo.

20
5. Compuesto según la reivindicación 1, o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en el que Q es alquilo C₁₋₆ sustituido por fenilo, en el que dicho fenilo está sustituido por alquilo C₁₋₄.

25
6. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en el que R² es alquilo C₁₋₁₀, arilo, heteroarilo o heterocicloalquilo, cada uno opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halo, alquilo C₁₋₁₀, haloalquilo C₁₋₆ y NR^{c3}R^{d3}.

7. Compuesto según la reivindicación 1 seleccionado de entre:

30
N-(3-cloro-4-fluorofenil)-*N*-hidroxi-5-(2-(metilamino)-1,3-tiazol-4-il)isoxazol-3-carboximidamida;
N-(3-cloro-4-fluorofenil)-*N*-hidroxi-5-metilisoxazol-3-carboximidamida;
N-(3-cloro-4-fluorofenil)-5-(furan-2-il)-*N*-hidroxiisoxazol-3-carboximidamida;
N-(3-cloro-4-fluorofenil)-*N*-hidroxi-5-fenilisoxazol-3-carboximidamida;
N-(3-cloro-4-fluorofenil)-*N*-hidroxi-5-isopropilisoxazol-3-carboximidamida;
N-(3-cloro-4-fluorofenil)-*N*-hidroxi-5-(2-metil-1,3-tiazol-4-il)isoxazol-3-carboximidamida;
35
N-(3-cloro-4-fluorofenil)-*N*-hidroxi-5-(1H-1,2,3-triazol-5-il)isoxazol-3-carboximidamida; y
N-hidroxi-5-metil-*N*-(2-metilbencil)isoxazol-3-carboximidamida o una sal de los mismos farmacéuticamente aceptable.

40
8. Composición que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

9. Método de inhibición de la actividad de la indolamina 2,3-dioxigenasa *ex vivo*, comprendiendo el método poner en contacto dicha indolamina 2,3-dioxigenasa con un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

45
10. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para su uso en la inhibición de la inmunosupresión en un paciente.

50
11. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento del cáncer, infecciones virales, la depresión, un trastorno neurodegenerativo, un traumatismo, las cataratas relacionadas con la edad, el rechazo de trasplante de órgano o una enfermedad autoinmunitaria en un paciente.

55
12. Compuesto o sal según la reivindicación 11 para su uso en combinación con un antiviral, un agente quimioterapéutico, un inmunosupresor, radiación, una vacuna antitumoral, una vacuna antiviral, una terapia con citocinas o un inhibidor de la tirosina quinasa.

60
13. Compuesto o sal según la reivindicación 11, en el que dicho cáncer es cáncer de colon, cáncer pancreático, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer renal, cáncer de cabeza y cuello, linfoma, leucemia o melanoma.

65