(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 469 797**

(51) Int. Cl.:

C07D 209/44 (2006.01)
A61K 31/4035 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.04.2009** **E 09731468 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.05.2014** **EP 2271618**

(54) Título: **Compuestos farmacéuticos**

(30) Prioridad:

11.04.2008 GB 0806527
11.04.2008 US 44256

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.06.2014

(73) Titular/es:

ASTEX THERAPEUTICS LIMITED (100.0%)
436 Cambridge Science Park Milton Park
Cambridge
Cambridgeshire CB4 0QA, GB

(72) Inventor/es:

FREDERICKSON, MARTYN

(74) Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 469 797 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Compuestos farmacéuticos

Campo de la técnica

Esta invención se refiere a pro-fármacos de compuestos que inhiben o modulan la actividad de la proteína de choque térmico 90 (Hsp90), para el uso de los pro-fármacos en el tratamiento o profilaxis de estados de enfermedad o afecciones mediadas por la Hsp90, y a nuevos pro-fármacos que se descomponen *in vivo* para dar lugar a compuestos que tienen una actividad inhibidora o moduladora de la Hsp90.

Antecedente de la invención

En respuesta a las agresiones celulares entre las que se incluyen el calor, toxinas, radiación, infección, inflamación, y oxidantes, todas las células producen un grupo común de proteínas de choque térmico (Hsp) (Macario y de Macario 2000). La mayoría de las proteínas de choque térmico actúan como carabinas moleculares. Las carabinas se unen y estabilizan proteínas en estados intermedios de plegamiento y permiten que las proteínas se plieguen en sus estados funcionales. La Hsp90 es la Hsp citosólica más abundante en condiciones normales. Hay dos isoformas de Hsp90 en el ser humano, una forma Hsp90α mayor inducible y una forma Hsp90β menor que se expresa constitutivamente y otras dos carabinas estrechamente relacionadas que están restringidas con respecto a su localización celular (GP96/GRP94 del retículo endoplásmico; TRAP1 mitocondrial). El término HSP90 como se utiliza en el presente documento incluye todas estas proteínas análogas a menos de que se especifiquen. La Hsp90 se une a proteínas en un estado de plegamiento tardío y se distingue de otras Hsp en que la mayoría de sus sustratos proteicos están implicados en transducción de la señal. La Hsp90 tiene un sitio distintivo de unión al ATP, que incluye un pliegue de Bergerat característico de la girasa bacteriana, topoisomerasas e histidina quinasas. Se ha demostrado que la unión del ATP en el bolsillo del extremo N de Hsp90 se hidroliza. Esta actividad ATPasa da como resultado un cambio conformacional en la Hsp90 que es necesario para hacer posibles los cambios conformacionales en la proteína cliente.

Se ha descubierto un dominio de dimerización y un segundo sitio de unión en el ATP, que puede regular la actividad ATPasa, cerca del extremo C de la Hsp90. La dimerización de la HSP90 parece ser crítica para la hidrólisis de ATP. Además la activación de Hsp90 está regulada por medio de interacciones con una variedad de otras proteínas carabinas y puede aislarse formando un complejo con otras carabinas que incluyen, Hsp70, Hip, Hop, p23, y p50cdc37. También se ha demostrado que otras muchas proteínas co-carabinas se unen a HSP90. Ha aparecido un modelo simplificado en el que la unión de ATP al bolsillo del extremo amino altera la conformación de la Hsp90 para permitir la asociación con un complejo multicarabina. En primer lugar la proteína cliente se une a un complejo Hsp70/Hsp40. Este complejo entonces se asocia con la Hsp90 por medio de Hop. Cuando el ADP se remplaza por ATP, se altera la conformación de Hsp90, Hop y Hsp70 se liberan y se recluta un grupo diferente de co-carabinas, incluyendo p50cdc37 y p23. La hidrólisis de ATP da como resultado la liberación de estas co-carabinas y la proteína cliente del complejo maduro. Los antibióticos Ansamicina como la herbimicina, geldanamicina (GA) y la 17-alilamino-17-demetoxi geldanamicina (17-AAG) son inhibidores del sitio de unión del ATP que bloquean la unión al ATP y evitan la conversión a complejo maduro (Grenert y col., 1997. J Biol Chem., 272: 23834-23850).

A pesar de que la Hsp90 se expresa ubicuamente, la GA tiene una afinidad de unión más alta por la Hsp90 derivada de líneas celulares tumorales que de líneas celulares normales (Kamal y col., Nature 2003; 425: 407-410). La GA también muestra una potente actividad citotóxica en las células tumorales y está secuestrada en altas concentraciones en los tumores en modelos de ratón de xenoinjertos (Brazidec J. Med. Chem. 2004, 47, 3865-3873). Además, la actividad ATPasa de Hsp90 está elevada en células cancerosas y es una indicación del aumento del nivel de estrés en estas células. También se ha informado de que la amplificación del gen Hsp90 se produce en los estadios tardíos del cáncer (Jolly y Morimoto JNCI Vol. 92, Nº 19, 1564-1572, 2000).

El aumento de la inestabilidad genética que se asocia con el fenotipo canceroso da lugar a un aumento de la producción de proteínas no nativas o mutantes. La ruta de la ubiquitina también sirve para proteger la célula de las proteínas no nativas o mal plegadas, marcando estas proteínas para la descomposición por los proteosomas. Las proteínas mutantes lo son por su naturaleza no nativa y por lo tanto tienen el potencial de mostrar inestabilidad estructural y un aumento de las necesidades para el sistema carabina (Giannini y col., Mol Cell Biol. 2004; 24(13): 5667-76).

Hay algunas pruebas de que la Hsp90 se encuentra primariamente en complejos multicarabina “activados” en las células tumorales en contraposición a los complejos “latentes” en las células normales. Un componente del complejo multicarabina es la co-carabina cdc37. La cdc37 se une a la Hsp90 en la base del sitio de unión al ATP y podría afectar a la velocidad de disociación de unión a inhibidores de Hsp90 en estado “activado” (Roe y col., Cell 116, (2004), pp. 87-98). Se cree que la unión de la proteína cliente a la forma Hsp90-Hsp70 del complejo carabina es más susceptible a la ubiquitinación y marcado para la descomposición por los proteosomas. Se han identificado ubiquitina ligasas E3 con patrones que interactúan con carabinas y uno de estos (CHIP) se demostró que promueve la ubiquitinación y la descomposición de las proteínas clientes de Hsp90 (Connell y col., 2001. Xu y col., 2002).

Proteínas clientes de Hsp90

El número de proteínas clientes de Hsp90 que se han informado excede actualmente de 100. Como muchas de sus proteínas clientes están implicadas en la señalización celular de proliferación y supervivencia, la Hsp90 ha recibido un interés importante como diana oncológica. Dos grupos de proteínas clientes, proteína quinasas de señalización celular y factores de transcripción, sugieren en particular que la regulación de la Hsp90 puede tener un beneficio potencial como terapia contra el cáncer.

Las proteínas clientes de la Hsp90 proteína quinasas implicadas en la proliferación celular y la supervivencia incluyen las siguientes:

c-Src

El Src celular (c-Src) es un receptor tirosina quinasa, que es necesario para la mitogénesis iniciada por múltiples receptores de factores de crecimiento, incluyendo los receptores del factor de crecimiento epidérmico (EFGR), el receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), el factor-1 estimulante de colonias (CSF-1) y el factor básico de crecimiento de fibroblastos (bFGFR). El c-Src también se sobre-expresa y se activa en muchos de los mismos carcinomas humanos que sobre-expresan el EGFR y ErbB2. El Src también es necesario para el mantenimiento de la homeostasis normal del hueso por su regulación de la función sobre osteoclastos.

p185erbB2

El erbB2 (Her2/neu) es un receptor tirosina quinasa sobre-expresado en una variedad de enfermedades malignas incluyendo, cánceres de mama, ovarios, próstata, y gástricos. El erbB2 se identificó originalmente como un oncogén y la inhibición de Hsp90 da como resultado la poliubiquitinación y la descomposición de erbB2.

Polo quinasa mitótica

Las quinasas similares a polo (Plk) son importantes reguladores de la progresión del ciclo celular durante la Metafase. Las Plk están implicadas en el ensamblaje del huso del aparato mitótico y en la activación de los complejos CDK/ciclina. La Plk1 regula la tirosín desfosforilación de las CDK a través de la fosforilación y la activación de Cdc25C. La activación de CDK1 a su vez da lugar a la formación del huso y la entrada en la Metafase.

Akt (PKB)

Akt está implicada en las rutas que regulan el crecimiento celular estimulando la proliferación y supresión de la apoptosis. La inhibición de Hsp90 por las ansamicinas da como resultado una reducción en la semivida de Akt por medio de ubiquitinación y la descomposición proteosómica. La unión de cdc37 a Hsp90 también se necesita para la regulación negativa de Akt. Después del tratamiento con Ansamicina las células cancerosas se detienen en la fase G2/M del ciclo celular 24 horas después del tratamiento y evolucionan a apoptosis 24-48 horas más tarde. Las células normales también se detienen 24 horas después del tratamiento con Ansamicina, pero no evolucionan a apoptosis.

c-Raf, B-RAF, Mek

La ruta RAS-RAF-MEK-ERK-MAP quinasa interviene en las respuestas celulares a las señales de crecimiento. RAS está mutado en una forma oncogénica en aproximadamente el 15% de los cánceres humanos. Los tres genes RAF son serina/treonina quinasas que están reguladas por unión con RAS.

EGFR

El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) está implicado en el crecimiento, diferenciación, proliferación, supervivencia, apoptosis y migración celulares. La sobre-expresión del EGFR se ha encontrado en muchos diferentes cánceres y la activación de mutaciones de su dominio quinasa parece ser patogénica en un subgrupo de adenocarcinomas de pulmón.

Flt3

La tirosina quinasa similar a FMS 3 (FLT3) es un receptor tirosina quinasa implicado en la proliferación, diferenciación y apoptosis celulares. La activación de FLT3 también da lugar a la activación de las cascadas de transducción de la señal fosfatidil inositol 3 quinasa (PI3K) y RAS.

c-Met

El c-Met es un receptor tirosina quinasa que se une al factor de crecimiento del hepatocito (HGF) y regula tanto la motilidad celular como el crecimiento celular. El c-Met se sobre-expresa en tumores, incluyendo el cáncer de tiroides, estómago, páncreas y colon. El HGF se detecta también alrededor de los tumores, incluyendo la metástasis hepática.

Esto sugiere que el c-Met y HGF tienen un papel importante en la invasión y metástasis.

Cdk1, Cdk2, Cdk4, Cdk6

Cdk1, Cdk2, Cdk4, y Cdk6 dirigen el ciclo celular. La actividad de las CDK está regulada por su unión a subunidades específicas tales como ciclinas, factores inhibidores y de ensamblaje. El sustrato específico y el tiempo de las actividades de CDK se dictan por su interacción con ciclinas específicas. Cdk4/ciclina D y Cdk6/ ciclina D son activos en la fase G1, Cdk2/ciclina E y Ckd2/ciclina A en fase S, y Cdc2/ciclina A y Cdc2/ciclina B en la fase G2/M.

La quinasa tipo 4 dependiente de ciclina (CDK4), tiene un papel clave permitiendo a las células a atravesar la transición de fase G1 a S del ciclo celular y está activada constitutivamente en muchos cánceres humanos. El activador de CDK4, la ciclina D1, está sobre expresado y un inhibidor de CDK4, el p16, se ha eliminado en una variedad de tumores humanos.

Se han desarrollado inhibidores de Cdk1/Cdk2 que bloquean reversiblemente células normales en la fase G1/S o en la frontera de G2/M. La detención en G2/M generalmente es peor tolerada por las células y consecuentemente, les sobreviene la muerte celular apoptópica. Como la Hsp90 también se conoce por afectar las rutas de supervivencia celular este efecto puede amplificarse más con un inhibidor de la Hsp90.

Wee-1

La Wee-1 proteína quinasa lleva a cabo la fosforilación inhibidora de CDC2 sobre la tirosina 15 (Tyr15). Esto es necesario para la activación del punto de control de la fase G2 en respuesta al daño del ADN.

Los factores de transcripción de Hsp90 implicados en la proliferación celular y supervivencia incluyen los siguientes:

p53 mutante

P53 es una proteína supresora tumoral que produce la detención del ciclo celular e induce apoptosis. La p53 está mutada en aproximadamente la mitad de todos los cánceres. La p53 mutante se asocia con Hsp90 y está regulada negativamente en las líneas de cáncer tratadas con inhibidores de la Hsp90, mientras que los niveles de p53 en el tipo silvestre no están afectados.

Receptor estrogénico/receptor androgénico

Aproximadamente el 70% de las mujeres post-menopáusicas que desarrollan cáncer de mama tienen tumores que expresan el receptor estrogénico. La primera línea de tratamiento de estos pacientes se dirige a evitar la señalización por medio de esta ruta y de esta manera inhibir el crecimiento tumoral. Esto se puede hacer por ablación ovárica, tratamiento con agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas, inhibición de la aromatasa o tratamiento con agonistas específicos que se unen al receptor pero que evitan más señalización. Los pacientes que en último término desarrollan resistencia a estas intervenciones, es a menudo como consecuencia de la comunicación entre el receptor estrogénico y los receptores del factor de crecimiento localizados en la membrana celular. En estado no ligando, los receptores estrogénicos están formando complejos con Hsp90 lo que facilita la unión hormonal. A continuación de la unión con el complejo receptor maduro de Hsp90 el ligando receptor se puede unir a elementos de respuesta hormonal (HRE) en las regiones reguladoras de los genes diana implicados en el mantenimiento de la proliferación celular. La inhibición de Hsp90 inicia la descomposición proteosómica del receptor estrogénico evitando así más señalización de crecimiento por medio de esta ruta. Los cánceres de próstata son enfermedades malignas dependientes de hormonas que responden a las intervenciones terapéuticas que reducen los niveles circulantes de testosterona o evitan que la testosterona se una al receptor androgénico. Aunque los pacientes responden inicialmente a estos tratamientos más adelante desarrollan resistencia por la restauración de la señalización por el receptor androgénico. Antes de que el ligando se una al receptor androgénico está formando un complejo con Hsp90 y otras co-carabinas incluyendo la p23 e inmunofilinas. Esta interacción mantiene el receptor androgénico en una conformación de unión de ligando con alta afinidad. La inhibición de Hsp90 da lugar a descomposición proteosómica del receptor androgénico y otras co-carabinas que pueden sensibilizar el tumor para otras terapias hormonales.

Los receptores mutados de hormonas esteroides que aparecen por ejemplo durante la terapia anti-hormonal y que pueden ser resistentes a tales terapias es más probable que tengan una mayor dependencia de la HSP90 para su estabilidad y función de unión hormonal.

Hif-1a

El factor inducible por hipoxia -1 a (HIF-1a) es un factor de transcripción que controla la expresión de genes que tienen un papel en la angiogénesis. El HIF-1a se expresa en la mayoría de las metástasis y se conoce por asociarse con Hsp90. El tratamiento de líneas celulares de carcinoma renal con Ansamicina da lugar a la ubiquitinación y la descomposición proteosómica de HIF-1a.

Los inhibidores de Hsp90 son capaces de afectar a un gran número de dianas significativas para la transducción de la señal en la proliferación celular. Los inhibidores de la transducción de la señal que regula las actividades de una única diana, puede que no sean eficaces debido a redundancia en la ruta de señalización y el rápido desarrollo de resistencia.

Regulando múltiples dianas implicadas en la señalización celular y en la proliferación celular, los inhibidores de la HSP90 pueden ser beneficiosos en el tratamiento de un amplio espectro de trastornos proliferativos.

ZAP70

ZAP-70, un miembro de la familia de las proteína tirosina quinasa Syk-ZAP-70, normalmente se expresa en células T y en linfocitos citolíticos naturales y tiene un papel crítico en el inicio de la señalización de las células T. Sin embargo, también se expresa de manera aberrante en aproximadamente el 50% de los casos de CLL, normalmente en estos casos con genes del receptor de células B sin mutar. El estado mutacional de los genes de la región variable de cadena pesada de la inmunoglobulina (IgVh) en las células leucémicas de la leucemia linfocítica crónica (CLL) es un importante factor pronóstico. La expresión de ZAP-70 en células CLL se correlaciona con el estado mutacional de IgVH, la progresión de la enfermedad y la supervivencia. El CLL ZAP-70 positivo es más agresivo que el CLL ZAP-70 negativo indicando que ZAP-70 puede ser un director clave de malignidad en esta enfermedad. ZAP-70 se asocia físicamente con HSP90 en los linfoblastos B-CLL por lo tanto la inhibición de Hsp90 puede sensibilizar estas células a la quimioterapia en curso o a la terapia con anticuerpos monoclonales.

Inhibidores de HSP90 como agentes anti-fúngicos, anti-protozoarios y anti-parasitarios

Las infecciones fúngicas ha llegado a ser una causa mayor de preocupación en años recientes debido al uso extendido de terapias inmunosupresoras y el aumento de la incidencia de especies resistentes a los agentes antifúngicos establecidos tales como los azoles. La población en crecimiento de pacientes inmunosuprimidos (por ejemplo, pacientes tales como los pacientes de trasplante de órganos, pacientes de cáncer que se han sometido a quimioterapia, pacientes quemados, pacientes con SIDA, o pacientes con cetoacidosis diabética) ha dado lugar a un aumento en la incidencia de infecciones fúngicas oportunistas por agentes fúngicos tales como especies de Candida, Cryptoccocus y Aspergillus y, en ocasiones, especies de Fusarium, Trichosporum y Dreschlera.

En consecuencia, hay una necesidad de nuevos agentes antifúngicos que se puedan utilizar en el número creciente de pacientes con infecciones fúngicas y en infecciones particulares debidas a hongos que se han hecho resistentes a los fármacos antifúngicos existentes.

La HSP90 se ha conservado a través de la evolución y se encuentra en bacterias (por ejemplo HPTG en E. coli) y levaduras (por ejemplo, HSC82 y HSP82). Aunque hay proteínas clientes que no se han identificado formalmente para la forma de E. coli, en levaduras y todos los organismos mayores la familia HSP90 ha demostrado que funciona como una carabina para muchas proteínas esenciales como se ha descrito anteriormente.

La infección por un intervalo de gérmenes patógenos se ha asociado con una respuesta de anticuerpos contra la HSP90. Por ejemplo, en pacientes infectados con Candida albicans el fragmento del extremo C de 47 kDa de HSP90 es un epítopo inmunodominante. Además, esta respuesta de anticuerpos se asocia con un buen pronóstico sugiriendo un efecto protector contra la infección. Los anticuerpos recombinantes contra un epítopo en este polipéptido también son protectores contra la infección en modelos de ratón de candidiasis invasiva (véase, Mathews y col., Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2003 vol. 47, 2208 - 2216 y las referencias en el mismo). Al igual, la HSP90 expresada de superficie sirve como antígeno en la enfermedad de Chagas, ascariasis, leishmaniosis, toxoplasmosis e infección debida a Schistosoma mansoni y se ha propuesto que los anticuerpos contra la HSP90 confieren protección contra infección por Plasmodium y malaria.

El Mycograb (NeuTec Pharma/Novartis) es un anticuerpo monoclonal humano contra la proteína 90 de choque térmico que se ha desarrollado como tratamiento para Candida y ha mostrado respuestas significativas en los primeros ensayos. Además, los inhibidores del producto HSP90 natural Geldanamicina, Herbimicina y Radicicol se identificaron originalmente por su actividad antifúngica. Se han identificado proteínas clave esenciales como clientes de HSP90 en varios agentes patógenos para el ser humano (véase Cowen y Lindquist, Science. 30 Sep. 2005; 309 (5744): 2175-6). Por lo tanto la HSP90 puede tener un papel importante en el crecimiento de agentes patógenos tales como las especies de Candida, y los inhibidores de HSP90 pueden ser útiles como tratamiento para un intervalo de enfermedades infecciosas incluyendo la candidiasis.

También se ha descubierto que la Hsp90 aumenta la capacidad de los hongos para desarrollar resistencia a los fármacos antifúngicos (véase Cowen LE, Lindquist S. "Hsp90 potentiates the rapid evolution of new traits: drug resistance in diverse fungi". Science. 30 Sep 2005; 309 (5744): 2185-9). Por lo tanto, la co-administración de un inhibidor de la Hsp90 puede aumentar la eficacia del fármaco antifúngico y reducir la resistencia evitando la aparición de fenotipos resistentes.

Inhibidores de HSP90 en el tratamiento del dolor, afecciones neuropáticas y choque

La Cdk5 es miembro de la familia Cdk de las serina/treonina quinasas, la mayoría de los cuales son reguladores clave del ciclo celular. La actividad de Cdk5 se regula por medio de la asociación con sus activadores específicos neuronales, p35 y p39. Pruebas recientes sugieren que CDK5 puede fosforilar la proteína tau y varias otras proteínas neuronales tales como NUDE-1, sinapsinI, DARPP32 y el complejo Munc18/Sintaxin1A. Las pruebas también sugieren que la actividad de la Cdk5 aberrante inducida por la conversión de p35 en p25 tiene un papel en la patogénesis de enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer (AD), esclerosis amiotrófica lateral (ALS) y la enfermedad de Niemann Pick tipo C (NPD). La fosforilación de tau anormal tras el tratamiento con Ap1-42 desestabiliza los microtúbulos, contribuyendo a la degeneración de neurita y a la formación de filamentos helicoidales pareados (PHF) que contienen ovillos neurofibrilares (NFT), una de las principales lesiones de AD. Se ha descubierto además de la cdk5 es necesaria para el desarrollo neuronal correcto.

La proteína p35 que actúa como un regulador de la actividad de CDK5 se ha identificado recientemente como una proteína cliente de HSP90 y por lo tanto la actividad de CDK5 se puede regular por cambios en el nivel y actividad de HSP90. Así, la inhibición de HSP90 puede dar lugar a la pérdida de p35, una inhibición de CDK5, una reducción de la proteína tau fosforilada en individuos susceptibles y pueden beneficiar a los pacientes de Enfermedad de Alzheimer.

Adicionalmente, la inhibición de HSP90 utilizando agentes conocidos ha demostrado que reduce la acumulación de agregados de proteína tau en los sistemas celulares in vitro (Dickey y col., Curr Alzheimer Res. 2005 Abr; 2 (2): 231-8).

También se ha demostrado que la Cdk5 tiene un papel en la mediación de la señalización del dolor. Tanto la Cdk5 como la p35 se ha demostrado que se expresan en neuronas nociceptivas. En ratones knockout p35, que muestran una actividad de Cdk5 sustancialmente reducida, la respuesta al estímulo de dolor térmico se retrasa (Pareek, T.K., y col., Proceedings of the National Academy of Sciences., 103: 791-796 (2006). Adicionalmente, la administración de roscovitina, un inhibidor de la quinasa 5 dependiente de la ciclina (Cdk5) se ha demostrado que atenúa las respuestas nociceptivas inducidas por la formalina en ratas (Wang, Cheng-haung, y col., Acta Pharmacologica Sinica., 26: 46-50 (2005). La activación de la calpaína es dependiente del calcio y se sabe que se afecta por la activación del receptor NMDA del canal del calcio (Amadoro, G; Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 103, 2892-2897 (2006)). Se sabe que los antagonistas del receptor NMDA son eficaces contra afecciones de dolor neuropático (Christoph, T; y col., Neuropharmacology, 51,12-17 (2006)). Esta eficacia se puede ligar al efecto de la influencia del receptor NMDA relacionado con el calcio sobre la actividad de la calpaina y su subsecuente efecto sobre la actividad de Cdk5. Como tales compuestos modulan la actividad de Cdk5 se espera que sean útiles para el tratamiento o prevención del dolor y así la modulación del regulador p35 de CDK5 por la inhibición de HSP90 podría dar lugar a la inhibición de CDK5.

Es deseable tener un agente para el tratamiento paliativo del dolor, es decir, alivio directo del dolor que se sume al alivio del dolor como resultado de la mejoría de la enfermedad o afección médica subyacente, que es la causante del dolor.

Varias Cdk (especialmente Cdk 4, 5 y 6) han demostrado estar implicadas con, o median en, la muerte neuronal que sigue a la agresión hipóxica o isquémica (Rashidan, J.; y col.; Proceedings of the National Academy of Sciences., 102:14080-14085 (2005). Además el flavopiridol, un inhibidor de Cdk, ha demostrado que reduce significativamente la muerte celular en un modelo de rata de isquemia cerebral focal (Osuga, H.; y col.; Proceedings of the National Academy of Sciences., 97: 10254-10259 (2000)). Los inhibidores de la Cdk5 han demostrado tener efectos protectores en ambos paradigmas necrótico y apoptótico de la muerte celular neuronal (Weishaupt, J.; y col.; Molecular and Cellular Neuroscience., 24:489-502 (2003)).

El choque es un acontecimiento cerebrovascular, que se produce cuando el flujo sanguíneo normal al cerebro se altera, y el cerebro recibe demasiada o demasiada poca sangre. El choque es una de las causas que dan lugar a la muerte en todo el mundo, y también es una de las causas más comunes de discapacidad neurológica.

El choque isquémico, que es el tipo más común de choque, se produce por la circulación cerebral insuficiente de sangre producida por obstrucción del flujo de sangre arterial. Normalmente, el suministro cerebral adecuado de sangre está asegurado por un sistema de arterias en el cerebro. Sin embargo, varios trastornos, incluyendo la inflamación y aterosclerosis, pueden causar un trombo, es decir, un coágulo sanguíneo que se forma en un vaso sanguíneo. El trombo puede interrumpir el flujo sanguíneo, produciendo isquemia cerebral y los síntomas neurológicos consecuentes. El choque isquémico también puede estar causado por el asentamiento de un émbolo (una burbuja de aire) desde el corazón en un vaso intracraneal, que causa un descenso en la presión de perfusión o un aumento de la viscosidad sanguínea con un flujo sanguíneo cerebral inadecuado. Un émbolo puede estar causado por varios trastornos, incluyendo la fibrilación auricular y la aterosclerosis.

Un segundo tipo de choque, el choque hemorrágico, implica una hemorragia o la ruptura de una arteria que va al cerebro. El choque hemorrágico da como resultado el sangrado en el tejido cerebral, incluyendo la epidural, subdural, o el espacio subaracnoideo del cerebro. Un choque hemorrágico típicamente es el resultado de la ruptura de un vaso arteriosclerótico que se ha expuesto a hipertensión arterial o a trombosis.

Una oportunidad para intervenir en el choque es la prevención o la reducción del riesgo de choque en pacientes con riesgo de choque. Hay muchos factores de riesgo conocidos, incluyendo la inflamación vascular, aterosclerosis, hipertensión arterial, diabetes, hiperlipidemia y fibrilación auricular. Los pacientes de riesgo se tienen que tratar para controlar la presión sanguínea o manejar el nivel de lípidos en la sangre, y tienen que tratarse con agentes antiplaquetarios (tales como el clopidrogel) y anticoagulantes. Una segunda oportunidad es el tratamiento del choque agudo. Sin embargo, las terapias farmacológicas actuales para tratar el choque agudo están limitadas a la restauración del flujo sanguíneo con una ventana de tiempo terapéutica muy estrecha de menos de tres horas después del choque. Existe una necesidad de agentes que sean eficaces en una ventana de tiempo terapéutica más larga. Otra oportunidad es la recuperación o restauración después del periodo agudo de choque, es decir, la reducción o prevención de los daños celulares secundarios en la sombra. Sigue habiendo una necesidad de agentes que sean eficaces en la reducción o prevención del daño celular secundario después del choque.

Sería deseable obtener un único agente farmacéutico que se pudiera utilizar en más de una de las oportunidades mencionadas anteriormente para tratar el choque. Tal agente puede administrarse al paciente en riesgo de choque, y puede también administrarse a pacientes que padezcan un choque agudo, o pacientes que se someten a tratamiento para la recuperación o restauración después del periodo agudo de choque. Tal agentes puede también dirigirse a más de un mecanismo de la cascada bioquímica del choque.

Inhibidores de la HSP90 y el tratamiento de la Hepatitis C y otras enfermedades víricas

La infección de una célula huésped con ARN/ADN vírico da como resultado la redirección sustancial de la síntesis proteica hacia las proteínas víricas clave codificadas por el ácido nucleico vírico. El aumento de la carga de síntesis de proteínas supone un estrés para la célula como consecuencia del aumento de la demanda de energía y precursores sintéticos. La regulación positiva de las proteínas del choque térmico frecuentemente es una consecuencia de la infección vírica al menos en parte debida a este estrés. Una función de la inducción de la HSP puede ser ayudar a la estabilización y el plegamiento de los altos niveles de proteína “ajena” generada en la preparación de la replicación vírica. En particular, un trabajo reciente ha sugerido que se necesita la HSP90 para la producción estable de NS2/3 proteasa en las células infectadas con el replicón de la Hepatitis C (HCV). Se ha demostrado que los inhibidores de la HSP90 también bloquean la replicación vírica en sistemas in vitro (Nagkagawa, S, Umehara T, Matsuda C, y col., Biochem. Biophys. Res Commun. 353 (2007) 882-888; Waxman L, Witney, M y col., PNAS 98 (2001) 13931 - 13935).

Proteínas de choque térmico y resistencia a fármacos antitumorales

Se ha reconocido ampliamente que la conformación terciaria nativa de cualquier polipéptido está determinada por su secuencia primaria (aminoácidos). Sin embargo, como se ha explicado anteriormente, ahora está claro que el plegamiento apropiado de muchas proteínas *in vivo* necesita la ayuda de proteínas de choque térmico (Hsp) que actúan como carabinas moleculares. Aunque esta función carabina es importante para la función celular normal en todas las circunstancias, llega a convertirse en crucial en las células que están estresadas (por ejemplo, por calor, hipoxia o acidosis).

Tales circunstancias prevalecen típicamente en células tumorales, que existen en un ambiente hospedador hostil. La regulación positiva de Hsp se ve a menudo en tales células y por tanto es probable que representen un mecanismo por el que las células malignas mantienen la integridad de sus proteomas bajo condiciones que comprometen su plegamiento proteico. Por lo tanto, los moduladores o inhibidores de las proteínas de estrés en general (y Hsp90 en particular) representan una clase de quimioterápicos con la única capacidad para inhibir múltiples rutas de señalización simultáneamente. Por lo tanto pueden ejercer efectos antitumorales mientras que eliminan (o reducen la incidencia de) la resistencia relativa a otros paradigmas de tratamiento.

Además, las intervenciones terapéuticas anticáncer de todos los tipos aumentan necesariamente el estrés impuesto a las células tumorales diana. Para mitigar los efectos perjudiciales de tal estrés, las Hsp están directamente implicadas en la resistencia a los efectos de los fármacos contra el cáncer y los regímenes de tratamiento. Por lo tanto, los moduladores o inhibidores de la función de las proteínas de estrés en general (y la Hsp90 en particular) representan una clase de quimioterápicos con el potencial para: (i) sensibilizar las células malignas a las drogas anticáncer y/o tratamientos; (ii) aliviar o reducir la incidencia de la resistencia a los fármacos anticáncer y/o tratamientos; (iii) revertir la resistencia a los fármacos anticáncer y/o tratamientos; (iv) potenciar la actividad de los fármacos anticáncer y/o tratamientos; (v) retrasar o evitar la aparición de resistencias a los fármacos anticáncer y/o tratamientos.

Pro-fármacos

Los pro-fármacos se reconocen generalmente por ser compuestos químicos que tienen poca o ninguna actividad farmacológica por sí mismos pero que se someten a biotransformación *in vivo* en un metabolito terapéuticamente activo (véase por ejemplo, Bernard Testa, Biochemical Pharmacology, 68 (2004), 2097-2106, y "Design of Prodrugs" (Bundgaard H. ed.) 1985 Elsevier Science Publishers B. V. (Biomedical Division) y Rautio y col., Nature Reviews (Drug Discovery), Volumen 7, Marzo 2008, 255 to 270).

Los pro-fármacos se utilizan por una variedad de razones. Por ejemplo, se pueden utilizar entre otras para:

- Otorgar una mejor solubilidad a los fármacos que de otra forma son insolubles o se disuelven mal
- mejorar la estabilidad química
- mejorar las propiedades organolépticas de un fármaco
- alterar las propiedades farmacocinéticas de un fármaco
- reducir el metabolismo pre-sistémico (primer paso)
- reducir la extensión de conjugaciones de un fármaco
- mejorar la absorción por vía oral
- proveer de un direccionamiento selectivo a un fármaco
- proveer de activación *in situ* de un agente citotóxico

Mientras que hasta un 5-7% de los fármacos aprobados en todo el mundo se pueden clasificar como pro-fármacos (Rautio (2008)), el desarrollo de pro-fármacos de fármacos que contienen grupos hidroxil fenólicos ha dado pruebas de ser un tanto problemático.

Se han propuesto y/o se han investigado (véase Rautio *ídem*) varios derivados de grupos hidroxilo pero con resultados variables.

En el caso del pro-fármaco de la terbutalina (bambuterol), los dos grupos hidroxil fenólicos de la terbutalina se han derivado para dar grupos dimetilcarbamoiloxi que se vuelven a convertir lentamente en grupos hidroxilo *in vivo* para regenerar la terbutalina.

Sin embargo, como se encuentra en la bibliografía, se ha descubierto que muchos derivados simples dialquilcarbamato de compuestos hidroxilo son demasiado estables y demasiado resistentes para funcionar como pro-fármacos (Igarashi y col., Chem. Pharm. Bull., 55(2), 328-333 (2007) – véase en particular la página 329 columna 2).

Los fármacos simples dialquilcarbamato también se han asociado con efectos secundarios tóxicos (Thorberg y col., J. Med. Chem., 1987, 30, Nº 11, 2008-2012 – véase en particular la página 2010, columna 2). Thorberg y col. descubrieron que los derivados arilcarbamato no daban lugar a los mismos efectos tóxicos.

Los derivados monoalquilcarbamato de los compuestos hidroxil fenólicos también se han investigado como pro-fármacos potenciales. Igarashi y col., (*ídem*) descubrieron que los derivados monoetilcarbamoilo de un análogo de la capilarisina fenólica producían buenos niveles en el plasma del compuesto fenólico parental pero que otros carbamatos monosustituidos eran hidrolizados o metabolizados demasiado fácilmente para ser adecuados como pro-fármacos. Además, como los dialquilcarbamatos, los monoalquilcarbamatos también se han asociado con efectos secundarios tóxicos (Thorberg y col*., ídem* página 2010 columna 2).

Los derivados éteres y ésteres del agonista del autorreceptor fenólico de dopamina (-)-3-(hidroxifenil)-N-propil -piperidina también fueron estudiados por Thorberg y col., como pro-fármacos potenciales pero descubrieron (véase la página 2010 columna 1) que los derivados éter y acil éster fallan en la generación del compuesto parental en el plasma, posiblemente debido a la falta de estabilidad y a la tendencia a hidrolizarse en el tracto digestivo.

Por lo tanto, como se indica anteriormente, el desarrollo de pro-fármacos para compuestos fenólicos está lejos de derivados con un grupo directo y funcional que pueden proporcionar propiedades de pro-fármaco que sean útiles en una clase de compuestos pudiendo ser ineficaces o incluso producir problemas de toxicidad en otras clases de compuestos.

El documento WO 99/29705 (Glycomed y col., desvela una clase de compuestos glucomiméticos que tienen varios usos posibles incluyendo el tratamiento del cáncer. Un compuesto desvelado específicamente en el documento WO 99/29705 es el compuesto ácido 2-(2-hidroxi-benzoil)-1, 2, 3, 4-tetrahidro-isoquinolin-3-carboxílico.

El documento WO 2006/117669 (Pfizer) desvela una clase de amida de resorcinoles como inhibidores de HSP90.

La solicitud internacional WO2006/109085 (Astex Therapeutics) desvela amidas del ácido hidroxibenzoico como inhibidores de Hsp90

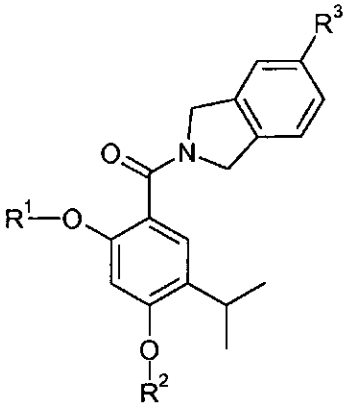
El documento WO 2008/044027 (Astex Therapeutics) desvela los pro-fármacos del documento WO2006/109085.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona un nuevo grupo de compuestos pro-fármacos que contienen grupos funcionales que se modifican o eliminan *in vivo* para dar compuestos que tienen una actividad de inhibición o modulación de la Hsp90. Se espera que los compuestos pro-fármacos sean útiles para prevenir o tratar estados de enfermedad o afecciones mediadas por la Hsp90.

Así, por ejemplo, se piensa que los compuestos de la invención son útiles para aliviar o reducir la incidencia del cáncer.

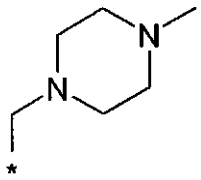
En consecuencia, en un primer aspecto (Aspecto I), la invención proporciona un compuesto de la fórmula (1 a):



(1a)

o una sal, solvato, N-óxido o tautómero del mismo;

donde R^1 es R^{1a} y R^2 es R^{2a}; o R^1 es R^{1b} y R^2 es R^{2b}; con la condición de que en cada caso al menos uno de R^1 y R^2 sea distinto de hidrógeno hidrógeno;
R^{1a} y R^{2a} son iguales o diferentes y cada uno se selecciona entre hidrógeno, alquilo C_{1-4}, alquenilo C_{2-4} y alquinilo C_{2-4}, donde el alquilo C_{1-4} está sustituido con alcoxi C_{1-2};
R^{1b} y R^{2b} son iguales o diferentes y se seleccionan entre hidrógeno, $C(O)NR^4R^5$, $C(O)R^6$ y $C(O)OR^6$, donde R^6 es alquilo C_{1-4}, R^4 y R^5 son ambos alquilo C_{1-4}, o NR^4R^5 forma un un anillo heterocíclico saturado de 4 a 7 miembros que contiene opcionalmente un segundo miembro de anillo heteroaromático seleccionado entre O, N o S y formas oxidadas de N y S, estando el anillo heterocíclico opcionalmente sustituido con uno o dos grupos alquilo C_{1-4} y/o uno o dos grupos oxo; y
R^3 es un grupo D:



D

donde el asterisco indica el punto de unión al anillo isoindolina;
pero excluyendo el compuesto 5-acetoxi-4-isopropil-2-[5-(4-metil-piperazin-1-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido acético.
En la fórmula (1a), R^1 es R^{1a} y R^2 es R^{2a}; o R^1 es R^{1b} y R^2 es R^{2b}; con la condición de que en cada caso al menos uno de R^1 y R^2 sea distinto de hidrógeno.

En una realización general (Realización AA) R^1 es R^{1a} y R^2 es R^{2a}.

En la Realización AA, en un grupo de compuestos (Grupo AAA), R^{1a} y R^{2a} pueden ser iguales o diferentes y cada uno puede seleccionarse entre hidrógeno, alquilo C_{1-2} (por ejemplo, metilo), alquenilo C_{2-3}, (por ejemplo, alilo) y alquinilo C_{2-3}, (por ejemplo, propargilo), donde el alquilo C_{1-2} está sustituido con metoxi.

Por ejemplo, en un Grupo AAAA de compuestos dentro del Grupo AAA, cada uno de R^{1a} y R^{2a} puede seleccionarse entre hidrógeno, metilo, metoximetilo y alilo.

En otro subgrupo particular (AAAAB) de compuestos dentro del Grupo AAAA, cada uno de R^{1a} y R^{2a} se seleccionan entre hidrógeno y metoximetilo.

En un subgrupo particular adicional (AAAAC) de compuestos dentro del Grupo AAAA, cada uno de R^{1a} y R^{2a} se seleccionan entre hidrógeno y alilo.

En otra realización particular (Realización AB), R^1 es R^{1b} y R^2 es R^{2b}.

En la Realización AB, en un subgrupo de compuestos (Grupo ABA), R^{1b} y R^{2b} son iguales o diferentes y se seleccionan entre hidrógeno, $C(O)NR^4R^5$, $C(O)R^6$ y $C(O)OR^6$ donde R^6 es alquilo C_{1-4}, R^4 y R^5 son ambos alquilo C_{1-4}.

Dentro del Grupo ABA, en un subgrupo de compuestos (Grupo ABAA), R^{1b} y R^{2b} son iguales o diferentes y se seleccionan entre hidrógeno y $C(O)NR^4R^5$. Dentro del Grupo ABAA, más particularmente, R^4 y R^5 pueden ser ambos

alquilo C_{1-3}. Por ejemplo, R^4 y R^5 pueden seleccionarse ambos entre metilo y etilo. En una realización, R^{1a} es hidrógeno y R^{1b} es $C(O)NR^4R^5$. En otra realización, R^{1b} es hidrógeno y R^{1a} es $C(O)NR^4R^5$.

En otro subgrupo de compuestos (Grupo ABAB) dentro del Grupo ABA, R^{1b} y R^{2b} son iguales o diferentes y se seleccionan entre hidrógeno y $C(O)R^6$. Dentro del Grupo ABAB, R^6 puede ser metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, 1-metilpropilo, 2-metilpropilo o *terc*-butilo. En una realización preferida (Grupo ABABA), R^6 es alquilo C_{2-4} (más preferiblemente alquilo C_{3-4}, tal como *terc*-butilo o isopropilo).

En otro subgrupo de compuestos (Grupo ABAC) dentro del Grupo ABA, R^{1b} y R^{2b} son iguales o diferentes y se seleccionan entre hidrógeno y $C(O)OR^6$. Dentro del Grupo ABAC, R^6 puede ser metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, 1-metilpropilo, 2-metilpropilo o *terc*-butilo. En una realización preferida (Grupo ABACA), R^6 es alquilo C_{2-4} (más preferiblemente alquilo C_{3-4}, tal como *terc*-butilo o isopropilo).

En otro subgrupo de compuestos (Grupo ABAD), uno de R^{1b} y R^{2b} es $C(O)NR^4R^5$ donde R^4 y R^5 son ambos alquilo C_{1-4}, y el otro de R^{1b} y R^{2b} se selecciona entre $C(O)R^6$ y $C(O)OR^6$ donde R^6 es como se define en uno cualquiera de los Grupos ABAB, ABABA, ABAC y ABACA.

En otro subgrupo de compuestos (Grupo ABB) dentro de la Realización AB, R^{1b} y R^{2b} son iguales o diferentes y cada uno es hidrógeno o un grupo $C(O)NR^4R^5$, donde NR^4R^5 forma un un anillo heterocíclico saturado de 4 a 7 miembros que contiene opcionalmente un segundo miembro de anillo heteroaromático seleccionado entre O, N o S y formas oxidadas de N y S, estando el anillo heterocíclico opcionalmente sustituido con uno o dos grupos alquilo C_{1-4} (por ejemplo, grupos metilo) y/o uno o dos grupos oxo.

Por ejemplo, dentro del Grupo ABB, en un subconjunto de compuestos (Grupo ABBA), el anillo heterocíclico saturado se selecciona entre azetidina, pirrolidina, pirrolidona, piperidina, piperidona, azepina, piperazina, 4-metilpiperazina, morfolina y tiomorfolina.

En otro subconjunto de compuestos (Grupo ABBB) dentro del Grupo ABB, NR^4R^5 forma un anillo heterocíclico saturado de 5 o 6 miembros que contiene opcionalmente un segundo miembro de anillo heteroaromático seleccionado entre O, N o S y formas oxidadas de N y S, estando el anillo heterocíclico opcionalmente sustituido con uno o dos grupos alquilo C_{1-4} (por ejemplo, grupos metilo) y/o uno o dos grupos oxo. Dentro del Grupo ABBB, u subconjunto preferido (Grupo ABBBA) de anillos heterocíclicos saturados consiste en pirrolidina, piperidina, piperazina, 4-metilpiperazina y morfolina. En una realización preferida dentro del Grupo ABBBA, el anillo heterocíclico saturado es pirrolidina. En otra realización preferida dentro del Grupo ABBBA, el anillo heterocíclico saturado es morfolina.

En el Aspecto I, y en las Realizaciones Generales AA y AB y los subgrupos y subconjuntos de los mismos como se ha definido anteriormente, al menos uno de R^1 y R^2 debe ser distinto de hidrógeno.

En un subgrupo de compuestos dentro de cada uno del Aspecto I, y las Realizaciones Generales AA y AB y subgrupos y subconjuntos de los mismos como se ha definido anteriormente, uno de R^1 y R^2 es distinto de hidrógeno y el otro es hidrógeno. En una realización general, R^2 es distinto de hidrógeno.

En otro subgrupo de compuestos dentro de cada uno del Aspecto I, y las Realizaciones Generales AA y AB y subgrupos y subconjuntos de los mismos como se ha definido anteriormente, R^1 y R^2 son ambos distintos de hidrógeno.

En aspectos adicionales de la invención (Aspectos (II) y (III) como se definen en el presente documento, se proporcionan compuestos de las fórmulas (1 a), (1 b) y (1 c) como se definen en las reivindicaciones adjuntas al presente documento.

En cada uno del Aspecto (II) y el Aspecto (III) como se ha definido anteriormente, n es preferiblemente 1 o 2, En una realización general (Realización BA) dentro de cada uno del Aspecto (II) y el Aspecto (III), n es 1.

En cada uno de los Aspectos (II) y (III), Realización BA y Grupos BAA, BAB y BAC, R^1 y R^2 pueden ser como se definen en una cualquiera de las Realizaciones AA y AB, y los Grupos AAA, AAAA, AAAAB, AAAAC, ABA, ABAA, ABAB, ABABA, ABAC, ABACA, ABB, ABBA, ABBB, ABBBA y ABAD como se han definido anteriormente en el presente documento y las preferencias dentro de cada uno de los Grupos mencionados.

En el Aspecto (V) y la Realización BA y los Grupos BAA, BAB y BAC de los mismos, R^{1a} y R^{1b} pueden ser como se definen en una cualquiera de las Realizaciones AA y AB, y los Grupos AAA, AAAA, AAAAB, AAAAC, ABA, ABAA, ABAB, ABABA, ABAC, ABACA, ABB, ABBA, ABBB, ABBBA y ABAD como se han definido anteriormente en el presente documento y las preferencias dentro de cada uno de los Grupos mencionados; y el anillo heterocíclico saturado del resto R^{1c} pueden ser como se definen en uno cualquiera de los Grupos ABBA, ABBB y ABBBA, y las preferencias dentro de cada uno de los Grupos mencionados.

Son compuestos específicos de la invención:

(2-aliloxi-4-hidroxi-5-isopropil-fenil)-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona;
(4-aliloxi-2-hidroxi-5-isopropil-fenil)-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona;
(2,4-bis-aliloxi-5-isopropil-fenil)-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona;
[4-hidroxi-5-isopropil-2-(metoximetiloxi)-fenil]-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona;
[2-hidroxi-5-isopropil-4-(metoximetiloxi)-fenil]-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona;
[5-isopropil-2,4-bis-(metoximetiloxi)-fenil]-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona;
5-dietilcarbamoiloxi-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido dietil-carbámico;
5-dimetilcarbamoiloxi-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-iso-indol-2-carbonil]-fenilo éster del ácido dimetil-carbámico;
2-[2,4-bis-(pirrolidin-1-ilcarboniloxi)-5-isopropil-benzoil]-5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol;
2-[2,4-bis-(morfolin-4-ilcarboniloxi)-5-isopropil-benzoil]-5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol;
5-hidroxi-4-isopropil-2-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilil)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido dietil-carbámico;
5-hidroxi-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido dietil-carbámico;
5-hidroxi-4-isopropil-2-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido dimetil-carbámico;
5-hidroxi-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido dimetil-carbámico;
2-[2-(pirrolidin-1-ilcarboniloxi)-4-hidroxi-5-isopropil-benzoil]-5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidroisoindol;
2-[4-(pirrolidin-1-ilcarboniloxi)-2-hidroxi-5-isopropil-benzoil]-5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidroisoindol;
2-[2-(morfolin-4-ilcarboniloxi)-4-hidroxi-5-isopropil-benzoil]-5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidroisoindol;
2-[4-(morfolin-4-ilcarboniloxi)-2-hidroxi-5-isopropil-benzoil]-5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidroisoindol;
5-dimetilcarbamoiloxi-4-isopropil-2-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster de *terc*-butilo éster del ácido carbónico;
terc-butil éster de 5-*terc*-butoxicarboniloxi-4-isopropil-2-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenilo éster del ácido carbónico;
5-(2,2-dimetil-propioniloxi)-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-di-hidro-lsoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido 2,2-dimetil-propiónico;
5-isobutiriloxi-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido isobutírico;

y sales, solvatos, tautómeros y N-óxidos de los mismos.

Un grupo preferido de compuestos de la invención consiste en

5-hidroxi-4-isopropil-2-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido dimetil-carbámico; y
5-hidroxi-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido dimetil-carbámico;

y sales, solvatos, tautómeros y N-óxidos de los mismos.

Dentro del grupo mencionado anteriormente de compuestos preferidos de la invención, un compuesto particular es:

5-hidroxi-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido dimetil-carbámico;

y sales, solvatos, tautómeros y N-óxidos de los mismos.

Los compuestos de las fórmulas (1 a), (1 b) y (1 c) y subgrupos de los mismos como se definen en el presente documento son pro-fármacos de los compuestos desvelados en nuestra solicitud anterior PCT/GB2006/001382. Por lo tanto, se contempla que los compuestos de las fórmulas (1 a), (1 b) y (1 c) se convertirán *in vivo* para dar compuestos donde R^1 y R^2 son ambos OH.

En más aspectos, la invención proporciona:

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso en la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección mediada por Hsp90.

- El uso de un compuesto de la formula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, subgrupos, subclases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección mediada por Hsp90.

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso en el alivio o la reducción de la incidencia de un estado de enfermedad o afección mediada por Hsp90.

- El uso de un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento.

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección que comprende o se produce por el crecimiento celular anormal en un mamífero.

- El uso de un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad o afección que comprende o se produce por crecimiento celular anormal en un mamífero.

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso en el alivio o reducción de la incidencia de una enfermedad o afección que comprende o se produce por crecimiento celular anormal en un mamífero.

- El uso de un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para la fabricación de un medicamento para el alivio o reducción de la incidencia de una enfermedad o afección que comprende o se produce por crecimiento celular anormal en un mamífero.

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso como un inhibidor de Hsp90.

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso en la modulación de un proceso celular (por ejemplo la división celular) inhibiendo la actividad de Hsp90.

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso en la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad como se describe en el presente documento.

- El uso de un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para la fabricación de un medicamento, en donde el medicamento es para cualquiera o más de los usos definidos en el presente documento.

- Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

- Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable en una forma adecuada para su administración vía oral.

- Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable en una forma adecuada para su administración parenteral, por ejemplo, por administración por vía intravenosa (i.v.).

- Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable en una forma adecuada para su administración por vía intravenosa (i.v.) por inyección o infusión.

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso en medicina.

- Un compuesto como se define en el presente documento para cualquiera de los usos y métodos expuestos anteriormente, y como se describen en cualquier parte del presente documento.

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso en el tratamiento o profilaxis de un estado de enfermedad o afección en un paciente que se ha explorado y se ha determinado que padece, o está en riesgo de padecer, una enfermedad o afección que sería susceptible al tratamiento con un compuesto que tiene una actividad contra Hsp90.

- El uso de un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de un estado de enfermedad o afección de un paciente que se ha explorado y se ha determinado que padece o está en riesgo de padecer, una enfermedad o afección que sería susceptible al tratamiento con un compuesto que tiene actividad contra la Hsp90.

Preferencias generales y definiciones

Los compuestos de la invención son pro-fármacos de inhibidores de Hsp90 de amida del ácido hidroxibenzoico desvelados en nuestra solicitud Internacional anterior PCT/GB2006/001382. Por conveniencia, los compuestos de la PCT/GB2006/001382 pueden denominarse diversamente en la presente solicitud "los compuestos precursores" o "los compuestos fenólicos". La referencia a los profármacos que se "derivan" de los "compuestos precursores" o "compuestos fenólicos" solo tiene la intención de hacer referencia a una relación estructural y no pretende implicar ningún método de preparación particular de los profármacos. Por lo tanto, los profármacos pueden prepararse a partir de los compuestos del documento PCT/GB2006/001382 como se describe a continuación, o pueden prepararse por métodos que no implican la intermediación de un compuesto fenólico del documento PCT/GB2006/001382.

Una referencia a un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1c) y Realizaciones, subgrupos de las mismas incluye formas iónicas, sales, solvatos, isómeros, tautómeros e isótopos de los mismos, como se describe más adelante.

Los compuestos de las fórmulas (1 a), (1 b) y (1 c) y Realizaciones, subgrupos, subconjuntos de los mismos, incluyendo formas iónicas, sales, solvatos, isómeros, tautómeros e isótopos de los mismos como se definen en el presente documento pueden denominarse por conveniencia "los compuestos de la invención" o, en singular, "un compuesto de la invención".

Como se utiliza en el presente documento, el término “tratamiento” y los términos relacionados “tratar” y “tratando” se refieren al tratamiento tanto profiláctico o preventivo como al tratamiento curativo o paliativo del dolor. Por tanto, el término engloba situaciones en donde el dolor ya lo ha experimentado el sujeto o paciente, así como situaciones en las que el dolor no se ha experimentado aún pero que se espera que se produzca. Los términos “tratamiento”, “tratar” y “tratando” y términos relativos también cubren la reducción o prevención del dolor tanto completa como parcial. Así, por ejemplo, los compuestos de la invención pueden evitar el empeoramiento del dolor existente, o reducir o incluso eliminar el dolor. Cuando se utilizan en un sentido profiláctico, los compuestos pueden prevenir el desarrollo de cualquier dolor o pueden aminorar la extensión del dolor que puede desarrollarse.

Como se utiliza en el presente documento, el término “modulación”, como se aplica a la actividad de la proteína de choque térmico Hsp90, pretende que defina un cambio en el nivel de actividad biológica de la proteína de choque térmico. Por tanto, la modulación engloba los cambios fisiológicos que tienen un efecto de aumento o descenso en la actividad relevante de la proteína de choque térmico. En el último caso, la modulación se puede describir como “inhibición”. La modulación puede producirse directa o indirectamente, y puede estar mediada por cualquier mecanismo y a cualquier nivel fisiológico, incluyendo por ejemplo, a nivel de la expresión genética (incluyendo por ejemplo, la transcripción, traducción y/o modificación post-traduccional), a nivel de la expresión de genes que codifican elementos reguladores que actúan directa o indirectamente sobre los niveles de actividad de la proteína de choque térmico. Así, la modulación puede implicar la expresión elevada/ suprimida o la sobre- o bajo-expresión de la proteína de choque térmico, incluyendo la amplificación genética (es decir, las copias de múltiples genes) y/o el aumento o descenso de la expresión por un efecto transcripcional, así como hiper- (o hipo-) actividad y (des)activación de la proteína de choque térmico (incluyendo la (des)activación por mutación(es). Los términos “modulado”, “modulando” y “modula” se tienen que interpretar en consecuencia.

Como se utiliza en el presente documento, el término “mediado”, como se utiliza por ejemplo en conjunción con la proteína de choque térmico como se describe en el presente documento (y se aplica por ejemplo a varios procesos fisiológicos, enfermedades, estados, afecciones, terapias, tratamientos o intervenciones) se pretende que opere limitativamente de forma que los varios procesos, enfermedades, estados, afecciones, tratamientos o intervenciones a los que se aplica el término son en los que la proteína de choque térmico Hsp90 tiene un papel biológico. En los casos en los que el término se aplica a enfermedades, estados o afecciones, el papel biológico que tiene la proteína de choque térmico Hsp90 puede ser directo o indirecto y puede ser necesario y/o suficiente para la manifestación de los síntomas de la enfermedad, estado o condición (o su etiología o progresión). Por lo tanto, la actividad de la proteína de choque térmico Hsp90 (y en particular los niveles aberrantes de proteína de choque térmico Hsp90, por ejemplo la

sobre expresión de Hsp90) no tiene que ser necesariamente la causa próxima de la enfermedad, estado o condición: más bien, se contempla que las enfermedades, estados o afecciones mediadas por la proteína de choque térmico Hsp90 incluyen las que tienen etiologías multifactoriales y progresiones complejas en la que la Hsp90 está solo parcialmente implicada. En los casos en los que el término se aplica al tratamiento, profilaxis o intervención (por ejemplo, en los "tratamientos mediados por Hsp90" y "profilaxis mediada por Hsp90" de la invención), el papel que tiene la Hsp90 puede ser directo o indirecto y puede ser necesario y/o suficiente para la operación del tratamiento, profilaxis o resultado de la intervención. Por tanto, un estado de enfermedad o afección mediada por Hsp90 incluye el desarrollo de resistencia a cualquier fármaco particular para el cáncer o tratamiento (incluyendo en particular la resistencia a uno o más de los inhibidores de la señalización descritos en el presente documento).

El término "intervención" es un término de la técnica utilizado en el presente documento para definir cualquier medio que efectúa un cambio fisiológico, acontecimiento, ruta bioquímica o acontecimiento celular/bioquímico. Las intervenciones de la invención efectúan típicamente (o contribuyen a) la terapia, tratamiento o profilaxis de una enfermedad o afección.

Como se utiliza en el presente documento, el término "combinación", como se aplica a dos o más compuestos y/o agentes (también denominados en el presente documento como componentes), se pretende que defina un material en el que dos o más compuestos/ agentes están asociados. Los términos "combinado" y "combinación" en este contexto se tienen que interpretar en consecuencia.

La asociación de dos o más compuestos/ agentes en una combinación puede ser física o no física. Ejemplos de compuestos/agentes combinados asociados físicamente incluyen:

- composiciones (por ejemplo formulaciones unitarias) que comprenden los dos o más compuestos/agentes en una mezcla (por ejemplo, en la misma dosis unitaria);

- composiciones que comprenden material en el que los dos o más compuestos/ agentes están unidos químicamente/
fisicoquímicamente (por ejemplo por un enlace cruzado, aglomeración molecular o unión a un resto común de un vehículo);

- composiciones que comprenden un material en el que los dos o más compuestos/agentes están co-envasados química/ fisicoquímicamente (por ejemplo, dispuestos sobre o en vesículas lipídicas, partículas (por ejemplo micro- o nanopartículas) o emulsión en gotas);

- kits farmacéuticos, envases farmacéuticos o envases para pacientes en los que dos o más compuestos/agentes están envasados juntos o presentados juntos (por ejemplo, como parte de un conjunto de unidades de dosis);

Ejemplos de compuestos/agentes combinados asociados no físicamente incluyen:

- material (por ejemplo una formulación no unitaria) que comprende al menos uno de los dos o más compuestos/ agentes junto a instrucciones para la asociación extemporánea del al menos un compuesto para formar una asociación física de los dos o más compuestos/agentes;

- material (por ejemplo una formulación no unitaria) que comprende al menos uno de los dos o más compuestos/ agentes junto con instrucciones para la terapia de combinación con los dos o más compuestos/agentes;

- material que comprende al menos uno de los dos o más compuestos/agentes junto con las instrucciones para la administración a una población de pacientes en el que el(los) otro(s) de los dos o más compuestos/agentes se ha (o está siendo) administrado;

- material que comprende al menos uno de los dos o más compuestos/agentes en una cantidad o en una forma que se adapte específicamente para su uso en combinación con el otro(s) de los dos o más compuestos/agentes.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "en combinación" se puede referir a compuestos/agentes que se administran como parte del mismo régimen de tratamiento completo. Como tal, la posología de cada uno de los dos o más compuestos/agentes puede ser diferente; cada uno se puede administrar al mismo tiempo o en tiempos diferentes. Por lo tanto se apreciará que los compuestos/agentes de la combinación se pueden administrar secuencialmente (por ejemplo, antes o después) o simultáneamente, sea en la misma formulación farmacéutica (es decir, juntas), o en diferentes formulaciones farmacéuticas (es decir, separadamente). Simultáneamente en la misma formulación es como formulación unitaria mientras que simultáneamente en diferentes formulaciones farmacéuticas es no unitaria. Las posologías de cada uno de los dos o más compuestos/agentes en una terapia de combinación también pueden diferenciarse con respecto a la vía de administración.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "kit farmacéutico" define un conjunto de una o más dosis unitarias de una composición farmacéutica junto con medios de dosificación (por ejemplo un dispositivo de medición)

y/o medios de suministro (por ejemplo, un inhalador o una jeringa), opcionalmente todo se contiene en un envase externo común. En los kits farmacéuticos que comprenden una combinación de dos o más compuestos/agentes, los compuestos/agentes individuales pueden estar como formulaciones unitarias o no unitarias. La dosis unitaria puede estar contenida en un envase blíster. El kit farmacéutico puede comprender opcionalmente además, instrucciones para su uso.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión “envase farmacéutico” define un conjunto de una o más dosis unitarias de una composición farmacéutica, contenida opcionalmente en un envase externo común. En los envases farmacéuticos que comprenden una combinación de dos o más compuestos/agentes, los compuestos/ agentes individuales pueden estar como formulaciones unitarias o no unitarias. La dosis unitaria puede estar contenida en un envase blíster. El envase farmacéutico puede además comprender opcionalmente instrucciones para su uso.

Como se utiliza en el presente documento, el término “envase para el paciente” define un envase, prescrito a un paciente, que contiene composiciones farmacéuticas para todo el curso del tratamiento. Los envases para pacientes normalmente contienen uno o más envases blíster. Los envases para pacientes tienen la ventaja sobre las prescripciones tradicionales, en las que el farmacéutico divide un suministro del paciente de un fármaco de entre un volumen de suministro, de que el paciente siempre tiene acceso al prospecto contenido en el envase para el paciente, que normalmente está ausente en las prescripciones para el paciente. Se ha demostrado que la inclusión de un prospecto mejora el cumplimiento de las instrucciones del médico por el paciente.

Las siguientes definiciones y preferencias generales se aplicarán a los sustituyentes R^1, R^2 y R^3, a menos que el contexto indique lo contrario.

El término "alquilo", como se usa en la presente memoria, se usa en su sentido convencional para referirse a un grupo de la fórmula empírica C_nH_{2n+1}, donde n es un número entero (por ejemplo, de 1 a 6). El término "alquilo" cubre grupos alquilo de cadena lineal y ramificada. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, *terc*-butilo, n-pentilo, 2-pentilo, 3-pentilo, 2-metilbutilo, 3-metilbutilo y n-hexilo y sus isómeros. Dentro del subconjunto de grupos alquilo que tienen de 1 a 6 átomos de carbono, son ejemplos particulares grupos alquilo C_{1-4} (por ejemplo, grupos alquilo C_{1-3} o grupos alquilo C_{1-2} o grupos alquilo C_{2-3} o grupos alquilo C_{2-4}).

El término "cicloalquilo", como se usa en la presente memoria, se usa en su sentido convencional para indicar un grupo alquilo cíclico de la fórmula empírica C_nH_{2n-1} donde n es un número entero. Los ejemplos de dichos grupos cicloalquilo incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

El término "alquenilo", como se usa en la presente memoria, se usa en su sentido convencional para referirse a un un grupo hidrocarburo acíclico que contiene uno o más dobles enlaces carbono-carbono, y más preferiblemente un sólo doble enlace carbono-carbono. Los ejemplos de grupos alquenilo incluyen etenilo (vinilo), 1-propenilo, 2-propenilo (alilo), isopropenilo, butenilo y buta-1,4-dienilo.

El término "alquinilo", como se usa en la presente memoria, se usa en su sentido convencional para referirse a un un grupo hidrocarburo que contiene un triple enlace carbono-carbono. Un grupo alquinilo preferido es un grupo propargilo.

El sufijo "C_{x-y}" (donde x e y son números enteros), como se usa en la presente memoria, se refiere al número de átomos de carbono en un grupo dado. Por lo tanto, un grupo alquilo C_{1-4} contiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo C_{3-6} contiene de 3 a 6 átomos de carbono, un grupo alcoxi C_{1-4} contiene de 1 a 4 átomos de carbono, y así sucesivamente.

El término "alcoxi", como se usa en la presente memoria, se usa en su sentido convencional para referirse a un grupo de la fórmula empírica OC_nH_{2n+1} donde n es un número entero (por ejemplo, de 1 a 6). Son ejemplos de grupos alcoxi, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, 1-metilpropoxi, 2-metilpropoxi y *terc*-butoxi.

La expresión "anillo heterocíclico saturado" como se usa en el presente documento para un grupo cíclico que no contiene enlaces múltiples (por ejemplo, dobles enlaces) entre miembros de anillo adyacentes y que contiene uno o más miembros de anillo heteroaromáticos siendo el resto de los miembros de anillo átomos de carbono. A menos que se indique lo contrario, el anillo heterocíclico saturado contiene uno o dos miembros de anillo heteroaromáticos seleccionados entre O, N y S y formas oxidadas de N y S. Son grupo heterocíclicos saturados preferidos aquellos que tienen 5 o 6 miembros de anillo. Los ejemplos de grupos heterocíclicos saturados incluyen azetidina, pirrolidina, piperidina, azepina, morfolina, tiomorfolina, tiomorfolina S-óxido y S,S-dióxido, piperazina, y N-metil piperazina. Son grupo heterocíclicos saturados particulares pirrolidina, piperidina, morfolina, piperazina y N-metil piperazina.

El término "arilo", como se usa en la presente memoria, se usa en su sentido convencional para denote un grupo aromático donde los miembros de anillo son todos átomos de carbono. El grupo arilo puede ser monocíclico o bicíclico y por tanto puede ser un grupo fenilo o naftilo. El grupo arilo puede estar sin sustituir o sustituido con hasta 4 sustituyentes, más típicamente hasta 3 sustituyentes y preferiblemente hasta 2 sustituyentes. En el contexto del grupo sustituyente R^{12} en el presente documento, el grupo arilo es preferiblemente monocíclico y es un grupo fenilo opcionalmente sustituido donde los sustituyentes opcionales para el grupo fenilo se seleccionan entre alquilo C_{1-4} (por

ejemplo, metilo), halógeno (por ejemplo, cloro, flúor o bromo), ciano, trifluorometilo, trifluorometoxi, difluorometoxi, alcoxi C_{1-4} (por ejemplo, metoxi), metilenodioxi. En una realización general, un grupo arilo que forma parte del grupo sustituyente R^{12} puede ser fenilo sin sustituir o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados entre metilo, metoxi, flúor o cloro.

Los diversos grupos funcionales y sustituyentes que constituyen los compuestos de las fórmulas (1 a), (1 b), (1 c) y las Realizaciones, subgrupos, subconjuntos y preferencias y ejemplos de los mismos se seleccionan típicamente de manera que el peso molecular del compuesto de la invención no exceda 1000. De manera más habitual, el peso molecular del compuesto será inferior a 750, por ejemplo menos de 700, o menos de 650, o menos de 600, o menos de 550. Más preferiblemente, el peso molecular es inferior a 525 y, por ejemplo, es 500 o inferior.

Sales, Solvatos, Tautómeros, Isómeros, N-Óxidos e Isótopos

Una referencia a un compuesto de las fórmulas (1 a), (1 b), (1 c) y Realizaciones, subgrupos, subconjuntos y preferencias y ejemplos de los mismos también incluye formas iónicas, sales, solvatos, isómeros, tautómeros, N-óxidos, ésteres, isótopos y formas protegidas de los mismos, por ejemplo, como se describe más adelante; preferiblemente, las sales o tautómeros o isómeros o N-óxidos o solvatos de los mismos; y más preferiblemente, las sales o tautómeros o N-óxidos o solvatos de los mismos

Muchos de los compuestos pueden existir en forma de sales, por ejemplo sales de adición de ácidos, en ciertos casos, sales de bases orgánicas e inorgánicas, tales como sales fenolato, carboxilato, sulfonato y fosfato. Todas estas sales están dentro del alcance de esta invención, y las Referencias a compuestos de las fórmulas (1 a), (1 b), (1c) y Realizaciones, subgrupos, subconjuntos y preferencias y ejemplos de los mismos incluyen las formas de sal de los compuestos.

Las sales de la presente invención pueden sintetizarse a partir del compuesto precursor que contiene un resto básico u ácido por métodos químicos convencionales, tales como los métodos que se describen en Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8. Hardcover, 388 páginas, agosto 2002. Generalmente, tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libre de estos compuestos con la base o ácido adecuado, en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, se usan medios no acuosos, tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo.

Las sales de adición de ácidos pueden formarse con una gran diversidad de ácidos, tanto inorgánicos como orgánicos. Los ejemplos de sales de adición de ácidos incluyen sales formadas con un ácido seleccionado entre el grupo que consiste en ácidos, 2,2-dicloroacético, adípico, algínico, ascórbico (por ejemplo, L-ascórbico), L-aspártico, bencenosulfónico, benzoico, 4-acetamidobenzoico, butanoico, (+) alcanfórico, alcanforsulfónico, (+)-(1S)-alcanfor-10-sulfónico, cáprico, caproico, caprílico, cinámico, cítrico, ciclámico, dodecilsulfúrico, etano-1,2-disulfónico, etanosulfónico, 2-hidroxietanosulfónico, fórmico, fumárico, galactárico, gentísico, glucoheptónico, D-glucónico, glucurónico (por ejemplo, D-glucurónico), glutámico (por ejemplo, L-glutámico), α-oxoglutárico, glicólico, hipúrico, bromhídrico, clorhídrico, yodhídrico, isetiónico, (+)-L-láctico, (±)-DL-láctico, lactobiónico, maleico, málico, (-)-L-málico, malónico, (±)-DL-mandélico, metanosulfónico, naftaleno-2-sulfónico, naftaleno-1,5-disulfónico, 1-hidroxi-2-naftoico, nicotínico, nítrico, oleico, orótico, oxálico, palmítico, pamoico, fosfórico, propiónico, L-piroglutámico, salicílico, 4-amino-salicílico, sebácico, esteárico, succínico, sulfúrico, tánico, (+)-L-tartárico, tiociánico, p-toluenosulfónico, undecilénico y valérico, así como aminoácidos acilados y resinas de intercambio catiónico.

Si el compuesto es aniónico, o tiene un grupo funcional que puede ser aniónico (por ejemplo, -COOH puede ser -COO-), entonces puede formarse una sal con un catión adecuado. Los ejemplos de cationes inorgánicos adecuados incluyen, pero sin limitación, iones de metal alcalino, tales como Na^+ y K^+, cationes de metal alcalinotérreo, tales como Ca^{2+} y Mg^{2+}, y otros cationes, tales como Al^{3+}. Los ejemplos de cationes orgánicos adecuados incluyen, pero sin limitación, ion amonio (es decir, NH_4^+) e iones de amonio sustituido (por ejemplo, NH_3R^+, $NH_2R_2^+$, NHR_3^+, NR_4^+). Son ejemplos de algunos iones amonio sustituidos adecuados los que se obtienen a partir de: etilamina, dietilamina, diciclohexilamina, trietilamina, butilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, bencilamina, fenilbencilamina, colina, meglumina y trometamina, así como aminoácidos, tales como lisina y arginina. Un ejemplo de un ion de amonio cuaternario común es $N(CH_3)_4^+$.

Cuando los compuestos de las fórmulas (1a), (1b), (1c) y Realizaciones, subgrupos, subconjuntos y preferencias y ejemplos de los mismos contienen una función amina, estos pueden formas sales de amonio cuaternario, por ejemplo por reacción con un agente de alquilación de acuerdo con métodos conocidos para el experto. Dichos compuestos de amonio cuaternario están dentro del alcance de las fórmulas (1 a), (1 b), (1c) y Realizaciones, subgrupos, subconjuntos y preferencias y ejemplos de los mismos.

Las formas de sal de los compuestos de la invención son típicamente sales farmacéuticamente aceptables, y se describen ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables en Berge et al., 1977, "Pharmaceutically Acceptable Salts," J. Pharm. Sci., Vol. 66, pp. 1-19. Sin embargo, también pueden prepararse sales que no son farmacéuticamente

aceptables como formas intermedias que después pueden convertirse en sales farmacéuticamente aceptables. Dichas formas de sal no farmacéuticamente aceptable, que pueden ser útiles, por ejemplo, en la purificación o separación de los compuestos de la invención, también forman parte de la invención.

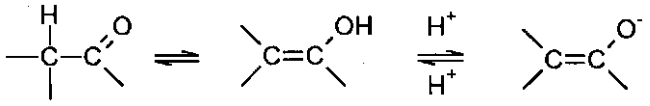
Los compuestos de las fórmulas (1a), (1b), (1c) y Realizaciones, subgrupos, subconjuntos y preferencias y ejemplos de los mismos que contienen una función amina también pueden formar N-óxidos. Una referencia en el presente documento a un compuesto de cualquiera de las fórmulas (1 a), (1 b), (1c) y Realizaciones, subgrupos, subconjuntos y preferencias y ejemplos de los mismos que contiene una función amina también incluye el N-óxido.

Cuando un compuesto contiene varias funciones amina, uno o más de un átomo de nitrógeno puede oxidarse para formar un N-óxido. Son ejemplos particulares de N-óxidos los N-óxidos de una amina terciaria o un átomo de nitrógeno de un heterociclo que contiene nitrógeno.

Pueden formarse N-óxidos por tratamiento de la amina correspondiente con un agente de oxidación, tal como peróxido de hidrógeno o un per-ácido (por ejemplo, un ácido peroxicarboxílico), véase, por ejemplo, Advanced Organic Chemistry, por Jerry March, 4ª Edición, Wiley Interscience, páginas. Más particularmente, pueden prepararse N-óxidos por el procedimiento de L. W. Deady (Syn. Comm. 1977, 7, 509-514) en el que el compuesto de amina se hace reaccionar con ácido m-cloroperoxibenzoico (MCPBA), por ejemplo, en un disolvente inerte, tal como diclorometano.

Los compuestos de las fórmulas (1 a), (1 b), (1c) y Realizaciones, subgrupos, subconjuntos y preferencias y ejemplos de los mismos pueden existir en una diversidad de formas isoméricas geométricas y tautoméricas diferentes y las Referencias a compuestos de las fórmulas (1 a), (1 b), (1 c) y Realizaciones, subgrupos, subconjuntos y preferencias y ejemplos de los mismos incluyen todas dichas formas. Para evitar dudas, cuando un compuesto puede existir en una de varias formas isoméricas geométricas o tautoméricas y una se describe o muestra específicamente, todas las otras están, sin embargo, abarcadas por las fórmulas (1 a), (1 b), (1 c) y Realizaciones, subgrupos, subconjuntos y preferencias y ejemplos de los mismos.

Los ejemplos de formas tautoméricas incluyen, por ejemplo, formas ceto, enol y enolato, como en, por ejemplo, los siguientes pares tautoméricos: ceto/enol (ilustrado más adelante), imina/enamina, amida/imino alcohol, amidina/amidina, nitroso/oxima, tiocetona/enetiol y nitro/aci-nitro.



ceto enol enolato

Cuando los compuestos de las fórmulas (1 a), (1b), (1c) y Realizaciones, subgrupos, subconjuntos y preferencias y ejemplos de los mismos contienen uno o más centros quirales, y pueden existir en forma de dos o más isómeros ópticos, las referencias a los compuestos de las fórmulas (1 a), (1 b), (1 c) y realizaciones, subgrupos, subconjuntos y preferencias y ejemplos de los mismos incluyen todas las formas tautoméricas de los mismos (por ejemplo, enantiómeros, epímeros y diaestereoisómeros), tanto como isómeros ópticos individuales, o mezclas (por ejemplo, mezclas racémicas) o dos o más isómeros ópticos, a menos que el contexto requiera lo contrario.

Los isómeros ópticos pueden caracterizarse e identificarse por su actividad óptica (es decir como isómeros + y -, o isómeros *d* y *l*) o pueden caracterizarse en términos de estereoquímica absoluta usando la nomenclatura "R y S" desarrollada por Cahn, Ingold y Prelog, véase Advanced Organic Chemistry por Jerry March, 4ª Edición, John Wiley & Sons, Nueva York, 1992, páginas 109-114, y véase también Cahn, Ingold & Prelog, Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1966, 5, 385-415.

Pueden separarse isómeros ópticos por una diversidad de técnicas, incluyendo cromatografía (cromatografía sobre un soporte quiral) y tales técnicas son bien conocidas para el experto en la materia.

Como una alternativa a la cromatografía quiral, pueden separarse isómeros ópticos formando sales diastereoméricas con ácidos quirales, tales como ácido (+)-tartárico, ácido (-)-piroglutámico, ácido (-)-di-toluoil-L-tartárico, ácido (+)-mandélico, ácido (-)-málico, y (-)-canforsulfónico, separando los diaestereoisómeros por cristalización preferencias, y después disociando las sales para dar el enantiómero individual de la base libre.

Cuando los compuestos de las fórmulas (1 a), (1 b), (1 c) y Realizaciones, subgrupos, subconjuntos y preferencias y ejemplos de los mismos existen como dos o más formas isoméricas ópticas , un enantiómero en un par de enantiómeros puede mostrar ventajas sobre el otro enantiómero, por ejemplo, en términos de actividad biolófica. Por lo tanto, en determinadas circunstancias, puede ser deseable usar como agente terapéutico solo uno de un par de enantiómeros, o solo uno de una pluralidad de diaestereoisómeros. En consecuencia, la invención proporciona composiciones que contiene compuestos de las fórmulas (1 a), (1 b), (1 c) y Realizaciones, subgrupos, subconjuntos y

preferencias y ejemplos de los mismos que tienen uno o más centros quirales, donde al menos un 55 % (por ejemplo, al menos un 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %) del compuesto de la invención está presente en forma de un solo isómero óptico (por ejemplo, enantiómero o diastereoisómero). En una realización general, un 99 % o más (por ejemplo, sustancialmente toda) de la cantidad total del compuesto de las fórmulas (1 a), (1 b), (1c) y Realizaciones, subgrupos, subconjuntos y preferencias y ejemplos de los mismos puede estar presente en forma de un solo isómero óptico (por ejemplo, enantiómero o diastereómero).

Los compuestos de la invención incluyen compuestos con una o más sustituciones isotópicas, y una referencia a un elemento en particular incluye dentro de su alcance todos los isótopos del elemento. Por ejemplo, una referencia a hidrógeno incluye dentro de su alcance ^{1}H, ^{2}H (D) y ^{3}H (T). De forma análoga, las referencias a carbono y oxígeno incluyen dentro de su alcance respectivamente ^{12}C, ^{13}C y ^{14}C y ^{16}O y ^{18}O.

Los isótopos pueden ser radioactivos o no radioactivos. En una realización de la invención, los compuestos no contienen isótopos radioactivos. Dichos compuestos se prefieren para uso terapéutico. En otra realización, sin embargo, el compuesto puede contener uno o más radioisótopos. Los compuestos que contienen tales radioisótopos pueden ser útiles en un contexto de diagnóstico.

También están abarcadas por las fórmulas (1 a), (1 b), (1c) y Realizaciones, subgrupos, subconjuntos y preferencias y ejemplos de los mismos, cualquiera de las formas poliméricas de los compuestos, solvatos (por ejemplo, hidratos) y complejos (por ejemplo, complejos de inclusión o clatratos con compuestos, tales como ciclodextrinas, o complejos con metales) de los compuestos.

Son solvatos preferidos, solvatos formados por la incorporación en la estructura de estado sólido (por ejemplo, estructura cristalina) de los compuestos de la invención de moléculas de disolvente no tóxico, farmacéuticamente aceptable (denominado más adelante como el disolvente de solvatación). Los ejemplos de dichos disolvente incluyen agua, alcoholes (tales como etanol, isopropanol y butanol) y dimetilsulfóxido. Los solvatos pueden prepararse recristalizando los compuestos de la invención con un disolvente o mezcla de disolventes que contienen el disolvente de solvatación. Puede determinarse si se ha formado un solvato o no, en cualquier caso dado sometiendo cristales del compuesto a análisis usando técnicas bien conocidas y convencionales, tales como análisis termogravimétrico (TGE), calorimetría de exploración diferencias (DSC) y cristalografía de rayos X.

Los solvatos pueden ser solvatos estequiométricos o non estequiométricos.

Son solvatos particularmente preferidos, hidratos, y los ejemplos de hidratos incluyen hemihidratos, monohidratos y dihidratos.

Para una descripción más detallada de solvatos y los métodos usados para prepararlos y caracterizarlos, véase Bryn et al., Solid-State Chemistry of Drugs, Segunda Edición, publicado por SSCI, Inc of West Lafayette, IN, USA, 1999. ISBN 0-967-06710-3.

Actividad biológica y Usos terapéuticos

Los compuestos de las fórmulas (1 a), (1 b), (1 c) y las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases y preferencias y ejemplos de las mismas se considera que son pro-fármacos de compuestos que son inhibidores de Hsp90.

Los compuestos pro-fármacos de la invención pueden tener varias ventajas con respecto a sus productos parentales. Por ejemplo, pueden proporcionar una mejor biodisponibilidad por vía oral, por ejemplo, gracias a la mejor absorción intestinal. Además, formando un pro-fármaco, la conjugación y/o el metabolismo del compuesto parental puede reducirse sustancialmente.

Se espera que los compuestos pro-fármacos de la invención sean beneficiosos en el tratamiento de amplio espectro de trastornos proliferativos. Ejemplos de tales trastornos proliferativos incluyen, pero sin limitarse a estos, un carcinoma, por ejemplo un carcinoma de vejiga, mama, colon (por ejemplo carcinomas colorrectales tales como adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), riñón, epidermis, hígado, pulmón, por ejemplo adenocarcinoma, cáncer pulmonar de células pequeñas y carcinomas de pulmón de células no pequeñas, esófago, vesícula, ovario, páncreas por ejemplo carcinoma pancreático exocrino, estómago, cérvix, tiroides, próstata, sistema gastrointestinal, por ejemplo tumores del estroma gastrointestinal, o piel, por ejemplo carcinoma de células escamosas; un tumor hematopoyético de linaje linfoide, por ejemplo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, linfoma de células B (tales como linfoma difuso de células B grandes), linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas, o linfoma de Burkitt; un tumor hematopoyético de linaje mieloide, incluyendo leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemias mielógenas, y leucemias mielógenas crónicas sensibles y refractarias al Imatinib, síndrome mielodisplasico, mieloma múltiple sensible y refractario al Bortezomib, enfermedad mieloproliferativa o leucemia promielocítica; cáncer folicular de tiroides; un tumor de origen mesenquimático, por ejemplo fibrosarcoma o rabdomiosarcoma; un tumor del sistema nervioso central o periférico, por ejemplo un astrocitoma, neuroblastoma, glioma (un glioma de alto grado) o un schwanoma; melanoma (por ejemplo, melanoma maligno o metastático); seminoma; terato-carcinoma; osteosarcoma; queratoacantoma; cáncer folicular de

tiroides; o sarcoma de Kaposi. Un ejemplo más de un tumor origen mesenquimático es el sarcoma de Ewing.

Un subgrupo de cánceres incluye un carcinoma, por ejemplo un carcinoma de vejiga, mama, colon (por ejemplo carcinomas colorrectales tales como adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), riñón, epidermis, hígado, pulmón, por ejemplo adenocarcinoma, cáncer pulmonar de células pequeñas y carcinomas de pulmón de células no pequeñas, vesícula, ovario, páncreas por ejemplo carcinoma pancreático exocrino, estómago, tiroides, próstata, sistema gastrointestinal, por ejemplo tumores del estroma gastrointestinal, o piel, por ejemplo carcinoma de células escamosas; un tumor hematopoyético de linaje linfoide, por ejemplo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, linfoma de células B (tales como el linfoma difuso de células B grandes), linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas, o linfoma de Burkitt; un tumor hematopoyético de linaje mieloide, incluyendo leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemias mielógenas, y leucemias mielógenas crónicas sensibles y refractarias al Imatinib, síndrome mielodisplasico, mieloma múltiple sensible y refractario al Bortezomib, enfermedad mieloproliferativa o leucemia promielocítica; cáncer folicular de tiroides; un tumor de origen mesenquimático, por ejemplo fibrosarcoma o rabdomiosarcoma; un tumor del sistema nervioso central o periférico, por ejemplo un astrocitoma, glioma (un glioma de alto grado); melanoma (por ejemplo, melanoma maligno o metastático); osteosarcoma; o cáncer folicular de tiroides. Un ejemplo más de un tumor origen mesenquimático es el sarcoma de Ewing.

Un grupo preferido de cánceres consiste en tumores sólidos seleccionados de entre cáncer metastático de mama que sea HER2 positivo; adenocarcinoma de próstata; melanoma metastático; carcinoma pulmonar de células no pequeñas (NSCLC); carcinoma pulmonar de células pequeñas (SCLC); gliomas de alto grado; tumores del estroma gastrointestinal (GIST); cáncer colorrectal; glioblastoma; melanoma; cáncer metastático de tiroides; cáncer de próstata; y cáncer rectal.

En este grupo de cánceres, un subgrupo particular consiste en cáncer colorrectal; glioblastoma; melanoma; cáncer metastático de tiroides; cáncer de próstata; y cáncer rectal.

Los cánceres pueden ser cánceres que sean sensibles a la inhibición de Hsp90, y tales cánceres se pueden determinar por un método que se expone en la sección de título “Métodos y Diagnóstico”.

Un grupo de cánceres incluye los cánceres humanos de mama (por ejemplo, tumores de mama primarios, cáncer de mama ganglios negativos, adenocarcinomas de mama ductales invasivos, cánceres de mama no endometrioides); y linfomas de células del manto. Además, otros cánceres son los cánceres colorrectal y endometrial.

Otra subclase de cánceres incluye tumores hematopoyéticos de linaje tanto linfoide como mieloide, por ejemplo leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica (tanto de células T como B), leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, linfoma de células del manto y linfoma de células B (tal como el linfoma difuso de células B grandes) y opcionalmente se incluyen además la leucemia mielógena crónica y el mieloma múltiple.

Una subclase preferida de cánceres consiste en cáncer de mama positivo a ErbB2, próstata, pulmón, y cáncer gástrico; leucemia mieloide crónica; cáncer de próstata dependiente del receptor androgénico; leucemia mieloide aguda dependiente de Flt3; melanoma asociado con la mutación Braf; mieloma múltiple; mieloma múltiple refractario a velcade; y tumores del estroma gastrointestinal (GIST).

De estos, son cánceres particularmente preferidos los mielomas múltiples y los tipos tumorales refractarios al velcade como se definen en el presente documento.

Otra subclase preferida de cánceres consiste en cáncer prostático refractario a hormonas, melanoma metastático, cáncer de mama positivo a HER2, carcinoma pulmonar de células no pequeñas positivo a EFGR mutante y tumores del estroma gastrointestinal resistentes a Gleevec.

Una subclase de cánceres preferida más consiste en cáncer de próstata refractario a hormonas, melanoma metastático, cáncer de mama positivo a HER2, carcinoma pulmonar de células no pequeñas positivo a EFGR mutante, carcinoma pulmonar de células pequeñas y tumores del estroma gastrointestinal.

Los inhibidores de la Hsp90 podrían también utilizarse para tratar otras afecciones tales como infecciones víricas, enfermedades parasitarias, enfermedades autoinmunes (por ejemplo, esclerosis múltiple y lupus eritematoso), trastornos neurodegenerativos (por ejemplo enfermedad de Alzheimer), inflamación, diabetes Tipo I y II, aterosclerosis, enfermedad cardíaca y xeroderma pigmentosum (un trastorno multisistémico hereditario de la reparación del ADN que no es un cáncer pero que tiene una predisposición al cáncer de piel inducido por UV).

Los inhibidores de Hsp90 podrían también tener un beneficio clínico en el trasplante y la inmunosupresión.

Los inhibidores de Hsp90 también pueden tener un beneficio clínico en las enfermedades descritas previamente cuando se utilizan en combinación con agentes terapéuticos existentes o nuevos.

Basándose en las actividades de las proteínas clientes de Hsp90 y las pruebas experimentales, los siguientes trastornos pueden ser particularmente sensibles al tratamiento con inhibidores de la Hsp90.

Cáncer de mama positivo a ErbB2, próstata, pulmón y gástrico

La sobre-expresión de ErbB2 (HER-2) se produce en aproximadamente el 30% de los cánceres de mama y está ligado a un mal pronóstico y a resistencia a los fármacos (Tsugawa y col., 1993. Oncology 1993; 50: 418).

EGFR mutante en el cáncer de pulmón

Las mutaciones somáticas en el dominio quinasa del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), que incluyen la L858R y eliminaciones en el exón 19, sustentan la sensibilidad del cáncer pulmonar de células no pequeñas (NSCLC) al gefitinib y erlotinib. La resistencia adquirida a estos inhibidores de la tirosina quinasa está mediada en algunos casos por una segunda mutación, la T790M. Los antibióticos Ansamicina, tales como geldanamicina, inhiben potentemente la proteína de choque térmico 90 (Hsp90), promoviendo la descomposición mediada por la ubiquitina de las quinasas oncogénicas que necesitan la carabina para el plegamiento conformacional apropiado. La exposición de líneas celulares EGFR mutantes a la geldanamicina induce la depleción marcada de fosfo-Akt y ciclina D1 así como apoptosis. Estos datos sugieren que la activación mutacional del EGFR se asocia con la dependencia de Hsp 90 para su estabilidad y que la inhibición de Hsp90 puede representar una nueva estrategia para el tratamiento del NSCLC EGFR mutante.

Leucemia mieloide crónica

La proteína BCR-Abl aberrante se crea por medio de una translocación cromosómica y da como resultado un dominio constitutivamente activo Abl quinasa. Este acontecimiento de translocación ha demostrado ser la causa de CML. Se sabe que P210BcrAbl es una proteína cliente de Hsp90. El tratamiento de la línea celular K562 positiva a BCR-Abl con un inhibidor de hsp90 induce apoptosis. El Gleevec®, inhibidor de Bcr-Abl también induce apoptosis en las células K562; sin embargo, las células K562 resistentes a Gleevec® siguen reteniendo la sensibilidad a los inhibidores de Hsp90 (Gorre y col. 2002, Blood 100: 3041-3044).

Cáncer de próstata dependiente del receptor androgénico

El receptor androgénico quinasa es una proteína cliente de Hsp90. La testosterona sigue siendo la primera terapia para la enfermedad no localizada aunque el desarrollo de resistencias es inevitable. En algunos casos la resistencia se desarrolla como consecuencia de una mutación que se produce en el receptor androgénico que confiere una señalización independiente del ligando. Bajo estas circunstancias, la bajo-regulación de la expresión del receptor androgénico que sigue a la inhibición de Hsp90 representa una estrategia terapéutica potencial.

Existe un sistema paralelo con los cánceres de mama dependientes de estrógenos.

Leucemia mieloide aguda dependiente de Flt3

La duplicación interna del receptor de la tirosina quinasa da lugar a su activación constitutiva y a oncogénesis. Estas duplicaciones internas se observan en el 20% de todos los casos informados de AML y son una indicación de mal pronóstico. La inhibición de la señalización se ha demostrado que da lugar a respuestas transitorias. Se puede predecir que los inhibidores Hsp90 beneficien clínicamente a los pacientes ya que la Flt3 es una proteína cliente de Hsp90 (Bali y col., 2004 Cancer Res. 64(10):3645-52).

Melanoma asociado con la mutación Braf

Braf codifica una serina/treonina quinasa que está mutada en el 70% de todos los melanomas. El 80% de estos representa una mutación puntual V599E que confiere una actividad quinasa elevada de BRAF. Esta mutación también está transformando en células NIH3T3 (Bignell y col., 2002 Nature. 417(6892):949-54).

Mieloma Múltiple

El 17-AAG que es un inhibidor de Hsp90 inhibe potentemente la proliferación de líneas celulares resistentes al Bortezomib. Los niveles de IGF-1R e IL-6R en la superficie celular también están disminuidos en las células MM-1 tratadas con 17-AAG (Mitsiades y col., Blood 107:1092-1100, 2006). La estimulación autocrina de células de mieloma múltiple, así como la estimulación paracrina de las células del estroma de médula ósea con IL-6 también está disminuida por la regulación negativa de la IKK cliente de Hsp90.

Cánceres refractarios al Bortezomib (Velcade)

Los compuestos de la presente invención se pueden utilizar en el tratamiento de los tipos tumorales refractarios al Velcade incluyendo el tratamiento de pacientes con mieloma múltiple, linfoma de células del manto, linfoma indolente

no Hodgkin, carcinoma bronquialveolar de estadio IIIB y IV, cáncer pulmonar de células no pequeñas, cánceres de mama, próstata y ovario y linfoma no Hodgkin.

Tumores del estroma gastrointestinal (GIST)

Los tumores GIST son enfermedades particularmente dependientes de la activación o sobre-expresión de factores de crecimiento (por ejemplo, c-kit).

CLL-B

La ZAP-70 es una proteína cliente de Hsp90 en los linfocitos circulantes de los pacientes con CLL pero no en las correspondientes células T donde esta quinasa se expresa normalmente. Sin embargo, la ZAP-70 es única entre las clientes de Hsp90 identificadas ya que su dependencia de su carabina está condicionada al tipo de célula en la que se expresa.

Otras afecciones o trastornos para los que un inhibidor de Hsp90 puede ser clínicamente beneficioso incluyen pero no se limitan a:

Trastornos Neurodegenerativos

La enfermedad de Huntington (HD) es un trastorno neurodegenerativo progresivo sin tratamiento eficaz. La inhibición por GA de la Hsp90 y la regulación positiva resultante de las Hsp son eficaces en la prevención de la agregación de la proteína de Huntington en las células neuronales (Sittler y col., 2001, Human Molecular Genetics, Vol. 10, Nº 12 1307-1315). La regulación positiva de HSP puede ser también clínicamente beneficiosa en otras enfermedades con mal plegamiento proteico, por ejemplo CJD y enfermedad de Alzheimer.

Enfermedad inflamatoria, incluyendo artritis reumatoide, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, y enfermedad inflamatoria del intestino grueso

Se ha demostrado que la GA disocia el HSF-1 de Hsp90 dando lugar a la activación y la translocación nuclear de HSF-1. El HSF-1 actúa posteriormente como un factor de transcripción que induce HSP90 y Hsp70. La inducción de Hsp70 se ha implicado en la resolución de la inflamación en un modelo de ratón con edema inducido (Lanaro y col., 2004 Human Molecular Genetics, 2001, Vol. 10, No. 12 1307-1315). Adicionalmente, el tratamiento con GA inhibe la activación de la quinasa I kappa B (IKK) por el TNF-a o PMA. La IKK es un regulador de Nf-kB y Ap-1 (Broemer y col. 2004). Ap-1 y Nf-kB son factores de transcripción principales que dan lugar a la producción de citoquinas pro-inflamatorias (Yeo y col., 2004 Biochem Biophys Res Commun. 30; 320(3):816-24). La estabilidad de las transcripciones de citoquinas pro-inflamatorias también se regulan a través de la inhibición de p38 MapK (Wax y col., 2003. Rheumatism Vol. 48, No. 2, pp 541-550).

Aterosclerosis

Se sabe que las células inflamatorias e inmunes tienen un papel central en el inicio y progresión de la aterosclerosis humana (Riganò y col., Ann. N. Y. Acad. Sci., 2007, 1107:1-10) y se ha propuesto que la Hsp90 actúa como un autoantígeno en la aterosclerosis de la carótida. Riganò y col. descubrieron anticuerpos específicos y células contra Hsp90 en el suero del 60% de los pacientes ensayados que padecían de placas ateroscleróticas en la carótida pero ni anticuerpos específicos ni células T dirigidos contra Hsp90 en el suero de pacientes sanos. Por lo tanto, los inhibidores de Hsp90 pueden ser útiles en el tratamiento y prevención de aterosclerosis.

Enfermedades relacionadas con angiogénesis, incluyendo pero sin limitarse a: angiogénesis tumoral, psoriasis, artritis reumatoide, y retinopatía diabética

La inducción de la angiogénesis está regulada por las proteínas clientes de Hsp90 eNOS y Akt en las células endoteliales (Sun y Liao, 2004 Arterioscler Thromb Vasc Biol. 24(12):2238-44). La supresión del factor inducible por la hipoxia (HIF)-1a también puede afectar al crecimiento, la angiogénesis y la maduración vascular de tumores gástricos en un modelo de ratón (Stoeltzing y col., 2004 J Natl Cancer Inst; 96:946-956).

Diabetes Tipo I y tipo II

La inhibición de Hsp90 tiene un profundo efecto en la señalización de Akt así como de E-nos. Estos son dos reguladores clave en la apoptosis celular endotelial inducida por la glucosa alta en la diabetes tipo I (Lin y col., 2005 J Cell Biochem. 1; 94(1):194-201) y el desarrollo de hipertensión en diabetes tipo II (Kobayashi y col., 2004 Hypertension. 44(6):956-62).

Inmunosupresión y trasplante

La inhibición de Hsp90 ha demostrado que regula negativamente Lck, que es una tirosina quinasa específica de células T necesaria para la activación de células T (Yorgin y col., 2000 J Immunol. 15; 164(6):2915-23).

Enfermedad cardíaca

La isquemia cardíaca es la causa más común de muerte en el mundo occidental. Se ha demostrado que las Hsp y sobre todo la Hsp70 (inducida por el tratamiento con radicicol) tienen actividad cardioprotectora en los cardiomiocitos en la rata (Griffin y col., 2004). La inhibición de Hsp90 da como resultado la liberación de HSF-1 del complejo de carabinas y su posterior activación de genes Hsp. La inhibición de Hsp90 también da lugar a la bajo-regulación de HIF-1, lo que se ha implicado en la patogénesis de la enfermedad cardiaca isquémica y el choque.

Enfermedad Infecciosa

La proteasa vírica NS2/3 de la hepatitis C es una proteína cliente de Hsp90 y la actividad de Hsp90 es necesaria para el procesamiento y replicación vírica (Whitney y col., 2001. Proc Natl Acad Sci U S A. 20; 98 (24):13931-5).

Enfermedad parasitaria

La Geldanamicina (GA) tiene supuestamente actividad antimalaria contra una Hsp90 ortóloga encontrada en Plasmodium falciparum. El crecimiento de Plasmodium era inhibido por GA con una CI_{50} similar a la observada con la cloroquina. La GA también era eficaz contra las cepas de Plasmodium falciparum resistentes a la cloroquina (Kumar y col., 2003. Malar. J.15; 2 (1): 30).

Inhibición, Prevención o Reversión del desarrollo de resistencia farmacológica

Como se ha tratado anteriormente, los moduladores o inhibidores de la función de las proteínas de estrés en general (y Hsp90 en particular) representa una clase de quimioterápicos con el potencial para: (i) sensibilizar las células malignas a los fármacos anticáncer y/o tratamientos; (ii) aliviar o reducir la incidencia de la resistencia a los fármacos anticáncer y/o tratamientos; (iii) reversión de la resistencia a los fármacos anticáncer y/o tratamientos; (iv) potenciar la actividad de los fármacos anticáncer y/o tratamientos; (v) retrasar o evitar la aparición de resistencias a los fármacos anticáncer y/o tratamientos.

En consecuencia, la presente invención proporciona además:

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso en un método para la profilaxis o el tratamiento (o el alivio o reducción de la incidencia) de un estado de enfermedad o afección mediada por la Hsp90, cuyo método comprende la administración del compuesto a un sujeto que necesita del mismo, en donde el estado de enfermedad o afección mediada por Hsp90 es el desarrollo de la resistencia a un fármaco para el cáncer.

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso en un método para: (i) sensibilizar las células malignas a un fármaco anticáncer; (ii) aliviar o reducir la incidencia de resistencias a un fármaco anticáncer; (iii) revertir la resistencia a un fármaco anticáncer; (iv) potenciar la actividad de un fármaco anticáncer; (v) retrasar o evitar la aparición de resistencias a un fármaco anticáncer, cuyo método comprende la administración del compuesto a un sujeto que necesita del mismo.

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso en un método para el tratamiento de un cáncer cuyo método comprende la administración del compuesto a un sujeto que necesita del mismo, cuyo método se caracteriza por la ausencia de resistencias al fármaco.

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso para la profilaxis o tratamiento (o alivio o reducción de la incidencia) de un estado de enfermedad o afección mediada por la Hsp90 en un sujeto que está sometido a tratamiento con un agente terapéutico (tal como un agente anticáncer), cuyo método comprende la administración del compuesto al sujeto, donde el estado de enfermedad o afección mediada por la hsp90 es el desarrollo de resistencias a dicho agente terapéutico.

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso en un método para: (i) sensibilizar las células malignas a un agente anticáncer; (ii) aliviar o reducir la incidencia de la resistencia a un agente anticáncer; (iii) revertir la resistencia a un agente anticáncer; (iv) potenciar la actividad de un agente

anticáncer; (v) retrasar o evitar la aparición de resistencias a un agente anticáncer, cuyo método comprende la administración del compuesto a un sujeto que está sometido a un tratamiento con dicho agente anticáncer.

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso en un método para el tratamiento de un cáncer en un sujeto que está sometido a un tratamiento con un agente anticáncer, comprendiendo el método la administración del compuesto a un sujeto que necesita el mismo, cuyo método se caracteriza por la ausencia de resistencia farmacológica al agente anticáncer.

Actividad biológica

La actividad biológica (por ejemplo, como inhibidores de hsp90) de los compuestos fenólicos de los que se derivan los compuestos pro-fármacos de la invención puede medirse utilizando los ensayos expuestos en los posteriores ejemplos, por ejemplo los experimentos de calorimetría de titulación isotérmica (ITC) descritos en el Ejemplo 46 y los ensayos de actividad antiproliferativa descritos en el Ejemplo 47. El nivel de actividad mostrado por un compuesto determinado en el ensayo ITC se puede definir en términos de valor de la K_d, y los compuestos preferidos de la presente invención son compuestos que tienen un valor de la K_d de menos de 1 micromolar, más preferentemente menor de 0,1 micromolar. En los ensayos de actividad antiproliferativa, el nivel de actividad mostrada por un compuesto determinado en un ensayo se puede definir en términos del valor de la CI_{50}, y los compuestos preferidos de la presente invención son compuestos que tienen un valor de CI_{50} de menos de 1 micromolar, más preferentemente de menos de 0,1 micromolar.

hERG

A finales de los 90 tuvieron que retirarse del mercado en los Estados Unidos varios fármacos, aprobados por la US FDA, cuando se descubrió que estaban implicados en muertes producidas por insuficiencia cardíaca. Se descubrió en consecuencia que un efecto secundario de estos fármacos era el desarrollo de arritmias causadas por el bloqueo de los canales de hERG en las células cardíacas. El hERG es un canal de la familia de los canales del ion de potasio, el primer miembro de los cuales se identificó a finales de los 80 en una mosca de la fruta Drosophila melanogaster mutante (véase Jan, L.Y. and Jan, Y.N. (1990). A Superfamily of Ion Channels. Nature, 345 (6277): 672). Las propiedades biofísicas del canal de ion potasio hERG se han descrito en Sanguinetti, M.C., Jiang, C., Curran, M.E., and Keating, M.T. (1995). A Mechanistic Link Between an Inherited and an Acquired Cardiac Arrhythmia: HERG encodes the Ikr potassium channel. Cell, 81: 299-307, y Trudeau, M.C., Warmke, J.W., Ganetzky, B., and Robertson, G.A. (1995). HERG, a Human Inward Rectifier in the Voltage-Gated Potassium Channel Family. Science, 269:92-95.

La eliminación de la actividad bloqueante del hERG sigue siendo una consideración importante en el desarrollo de cualquier fármaco nuevo.

Se ha descubierto que muchos de los compuestos fenólicos que se derivan de los pro-fármacos de la invención tienen baja actividad hERG y una buena separación entre la actividad inhibidora de hsp90 y actividad hERG.

Los compuestos pro-fármacos preferidos son compuestos pro-fármacos de compuestos fenólicos que tienen valores medios de CI_{50} contra hERG que son más de 30 veces, o más de 40 veces, o más de 50 veces los valores de CI_{50} de los compuestos en ensayos de proliferación celular. Los pro-fármacos preferidos son pro-fármacos de compuestos fenólicos que tienen valores medios contra hERG que son mayores de 5 μM, más particularmente mayores de 10 μM, y más preferentemente mayores de 15 μM. Algunos de los compuestos fenólicos que se derivan de los compuestos pro-fármacos de la invención tienen valores medios de CI_{50} contra hERG que son mayores de 50 μM.

Los compuestos de la invención pueden tener propiedades ADME ventajosas y en particular una mejor biodisponibilidad por vía oral que los compuestos fenólicos parentales.

Tratamiento del dolor, neuropatías, coque y afecciones relativas

Los compuestos de la invención tienen actividad inhibidora o moduladora de hsp90 y por consiguiente pueden ser útiles en su uso en el tratamiento, alivio o prevención de ciertas enfermedades y afecciones mediadas por cdk5.

En consecuencia, la invención proporciona el uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del dolor.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis y el tratamiento del choque.

En un aspecto más, la invención proporciona el uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para su uso como agente neuroprotector.

En otros aspectos, la invención proporciona:

- Un compuesto de la invención como se define en el presente documento para su uso en el tratamiento del dolor.

- Un compuesto de la invención como se define en el presente documento para su uso en la reducción o eliminación del dolor en un paciente (por ejemplo, un mamífero tal como un ser humano) que sufre de dolor.

- El uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para su uso en la reducción o eliminación del dolor en un paciente (por ejemplo, un mamífero tal como el ser humano) que sufre dolor.

- El uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cualquiera o más de entre nocicepción, dolor somático, dolor visceral, dolor agudo, dolor crónico, hiperalgesia, alodinia, dolor post-operatorio, dolor debido a la hipersensibilidad, dolor de cabeza, dolor inflamatorio (reumático, dental, dismenorrea o infección), dolor neurológico, dolor musculoesquelético, dolor relacionado con el cáncer o dolor vascular.

- Un compuesto de la invención como se define en el presente documento para su uso en el tratamiento de cualquiera o más de entre nocicepción, dolor somático, dolor visceral, dolor agudo, dolor crónico, hiperalgesia, alodinia, dolor post-operatorio, dolor debido a la hipersensibilidad, dolor de cabeza, dolor inflamatorio (reumático, dental, dismenorrea o infección), dolor neurológico, dolor musculoesquelético, dolor relacionado con el cáncer o dolor vascular.

- Un compuesto de la invención como se define en el presente documento para su uso en la profilaxis o tratamiento del choque.

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso en un método para la profilaxis o tratamiento del choque en un paciente tal como un mamífero (por ejemplo, un ser humano), cuyo método comprende la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto.

- Un compuesto de la invención como se define en el presente documento para su uso como agente neuroprotector.

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso en un método de prevención o reducción del daño neuronal en un paciente que sufre choque, cuyo método comprende la administración al paciente de una cantidad neuroprotectora eficaz del compuesto.

- El uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la prevención o reducción del riesgo de choque en pacientes con riesgo de choque, por ejemplo, un paciente que muestra uno o más factores de riesgo seleccionados de entre inflamación vascular, aterosclerosis, hipertensión arterial, diabetes, hiperlipidemia y fibrilación auricular.

- Un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la prevención o reducción del choque en pacientes en riesgo de choque, por ejemplo, un paciente que muestra uno o más de los factores seleccionados de entre inflamación vascular, aterosclerosis, hipertensión arterial, diabetes, hiperlipidemia y fibrilación auricular.

- Un compuesto de la invención como se define en el presente documento para su uso en la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección mediada por una quinasa dependiente de ciclina 5.

- El uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección mediada por una quinasa dependiente de ciclina 5.

- El uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección mediada cdk5 o p35.

■ El uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección mediada por cdk5 o p35, siendo dicho estado de enfermedad o afección distinta de la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, o enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.

■ El uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento de un estado de denfermedad o afección medada por cdk5 o p35, siendo dicho estado de enfermedad o afección distinta de una enfermedad degenerativa.

■ El uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento de un estado de enfermedad o afección caracterizada por niveles elevados de cdk5 o p35.

■ Un compuesto de la invención como se define en el presente documento para su uso en la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección mediado por cdk5 o p35, siendo tal estado de enfermedad o afección distinto de la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, o enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.

■ Un compuesto de la invención como se define en el presente documento para su uso en la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección mediado por cdk5 o p35, siendo dicho estado de enfermedad o afección distinto de una enfermedad neurodegenerativa.

■ Un compuesto de la invención como se define en el presente documento para su uso en la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección caracterizada por niveles elevados de cdk5 o p35.

■ Un compuesto de la invención como se define en el presente documento para su uso en la profilaxis o tratamiento de una neuropatía, tal como una neuropatía periférica, distinta de la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, o enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.

■ El uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o tratamiento de una neuropatía, tal como una neuropatía periférica, distinta de la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington o enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.

Actividad antifúngica, anti-protozoaria, antiviral y antiparasitaria

Los compuestos de la presente invención y sus sales de adición de ácido y formas cristalinas de los mismos pueden tener actividad antifúngica, actividad antiprotozoaria y actividad antiparasitaria.

En particular, los compuestos de la invención pueden ser útiles en el tratamiento de la infección por hongos patógenos, protozoos y parásitos en donde la infección por el agente patógeno se asocia normalmente con una respuesta de anticuerpos a la HSP90.

En una realización, la invención proporciona compuestos de la invención como se definen en el presente documento para su uso como agentes antifúngicos.

Ejemplos de hongos incluyen aquellos que son patógenos en el hombre y otros animales, por ejemplo:

■ Especies de Candida tales como *Candida albicans* y *Candida tropicalis;*
■ Especies de Cryptococcus tales como *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcal meningitis;*
■ Especies de Aspergillus tales como *Aspergillus fumigatus, Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger,*
■ Especies de Microsporum tales como *Microsporum canis* y *Microsporum gypseum;*
■ Especies de Epidermophyton;
■ Especies de Trichophyton tales como *Trichophyton equinum, Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum;*
■ *Epidermophyton floccosum;*
■ *Exophiala werneckii;*
■ Especies de Fusarium tales como *Fusarium solani;*
■ *Sporothrix schenckii;*
■ Especies de Penicillium tales como *Penicillium rubrum;*
■ Especies de Alternaria;
■ Ceratocystis pilifera;
■ *Chrysosporium pruinosum;*
■ Especies de Helminthsporium;

■ *Paecilomyces variotti;*
■ Levaduras, por ejemplo *Saccharomyces cerevisiae* y especies de Pityrosporum tales como *Pityrosporum orbiculare* y *Pityrosporum ovale;*
■ Especies de Histoplasma tales como *Histoplasma capsulatum;*
■ Especies de Coccidiodes;
■ Especies de Paracoccidioides; y
■ Especies de Blastomyces.

En otra realización, la invención proporciona compuestos de la invención como se definen en el presente documento para su uso como agentes antiprotozoarios.

Ejemplos de protozoos incluyen:

■ *Trypanosoma cruzi;*
■ Especies de *Leishmania*; por ejemplo el complejo *L. donovani* (*L. donovani, L. infantum,* y *L. chagasi*); el complejo *L. mexicana* (3 especies principales - *L. mexicana, L. amazonensis,* y *L. venezuelensis); L. tropica; L. major, L. aethiopica;* y el subgénero Viannia con cuatro especies principales *(L. (V.) braziliensis, L. (V.) guyanensis, L. (V.) panamensis,* y *L. (V.) peruviana);*
■ *Toxoplasma gondii;* y
■ *Trichomonas vaginalis.*

En una realización más, la invención proporciona compuestos de la invención como se definen en el presente documento para su uso como agentes antiparasitarios.

Ejemplos de parásitos incluyen gusanos parásitos tales como:

■ gusanos redondos parásitos tales como Ascaris lumbricoides;
■ gusanos planos parásitos tales como gusanos trematodos parásitos, por ejemplo, Schistosoma mansoni

La invención también proporciona entre otros:

- Un compuesto de la invención como se define en el presente documento para su uso en la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección fúngica, protozoaria o parasitaria (distinto de un estado de enfermedad o afección debida a Plasmodium falciparum), por ejemplo un estado de enfermedad o afección caracterizado por una respuesta de anticuerpos a Hsp90.

- El uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección fúngica, protozoaria o parasitaria (distinta de un estado de enfermedad o afección debida a Plasmodium falciparum), por ejemplo un estado de enfermedad o afección caracterizada por una respuesta de anticuerpos contra Hsp90.

- Un compuesto de la invención como se define en el presente documento para su uso en la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección, por ejemplo un estado de enfermedad o afección caracterizada por una respuesta de anticuerpos contra Hsp90.

- El uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección fúngica, por ejemplo un estado de enfermedad o afección caracterizada por una respuesta de anticuerpos contra Hsp90.

- Un compuesto de la invención como se define en el presente documento para su uso en la prevención, detención o reversión de la infección de un animal (tal como un mamífero, por ejemplo, un ser humano) por hongos patógenos.

- El uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para prevenir, detener o revertir la infección de un animal (tal como un mamífero, por ejemplo, un ser humano) por hongos patógenos.

- Un compuesto de la invención como se define en el presente documento para cualquiera de los usos y métodos expuestos anteriormente, y como se describen en cualquier parte del presente documento.

- El uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o tratamiento de cualquiera de los estados de enfermedad o afecciones descritas en el presente documento.

- Una combinación de un compuesto de la invención como se define en el presente documento con un compuesto secundario que es un agente antifúngico (por ejemplo una agente antifúngico azólico).

- Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención como se define en el presente documento con un compuesto secundario que es un agente antifúngico (por ejemplo, un agente antifúngico azólico).

- Un compuesto de la invención como se define en el presente documento para su uso en la prevención, reducción o reversión del desarrollo de resistencias a un agente antifúngico, agentes anti-protozoario o agente antiparasitario (preferentemente un agente antifúngico) co-administrado con el mismo.

- El uso de en compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la co-administración con un agente antifúngico, un agente anti-protozoario o un agente antiparasitario (preferentemente un agente antifúngico) para prevenir, reducir o revertir el desarrollo de resistencias al agente antifúngico, agente anti-protozoario o agente antiparasitario.

- Un compuesto de la fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) o cualquiera de las Realizaciones, sub-grupos, sub-clases, preferencias o ejemplos de la misma como se definen en el presente documento para su uso en un método para: (i) sensibilizar las células fúngicas, del protozoo o del parásito a un fármaco antifúngico, antiprotozoario o antiparasitario; (ii) aliviar o reducir la incidencia de resistencias a un fármaco antifúngico, antiprotozoario o antiparasitario; (iii) revertir la resistencia a un fármaco antifúngico, antiprotozoario, o antiparasitario; (iv) potenciar la actividad de un fármaco antifúngico, anti-protozoario o antiparasitario; (v) retrasar o prevenir la aparición de resistencias a un fármaco antifúngico, anti-protozoario o antiparasitario, cuyo método comprende la administración de una combinación del compuesto con el fármaco antifúngico, anti-protozoario o antiparasitario a un sujeto que necesita del mismo.

Como se describió anteriormente en la parte de la introducción de esta solicitud, se ha descubierto que los compuestos que tienen una actividad inhibidora de Hsp90 muestran una potente actividad antifúngica y evitan el desarrollo de resistencias a los antifúngicos en particular la resistencia a antifúngicos dependiente de Hsp90. Además, se ha descubierto que la inhibición de la actividad de Hsp90 puede reducir el desarrollo de resistencias a los fármacos antifúngicos que se utilizan comúnmente tales como los azoles. Por lo tanto se cree que los compuestos de la invención serán útiles en la profilaxis o tratamiento de una variedad de enfermedades y alteraciones fúngicas y también serán útiles, cuando se co-administran con otros fármacos antifúngicos tales como los azoles, aumentando la actividad de los fármacos antifúngicos.

La actividad antifúngica de los compuestos de la presente invención puede evaluarse determinando la concentración mínima fungistática (de inhibición) (CIM). Este ensayo se lleva a cabo normalmente preparando una serie de placas o tubos que contienen un medio nutriente adecuado, cada placa o tubo también contiene una concentración diferente del compuesto de ensayo y luego se inocula el medio con especies fúngicas. Tras un periodo de incubación las placas se examinan visualmente para detectar la presencia de crecimiento fúngico. La CIM es la mínima concentración necesaria para evitar el crecimiento fúngico.

Los compuestos se pueden utilizar en medicina animal (por ejemplo en el tratamiento de mamíferos tales como los seres humanos).

Las infecciones fúngicas en animales contra las que se pueden utilizar los compuestos de la invención como se definen en el presente documento incluyen:

■ Micosis superficiales – es decir, infecciones fúngicas limitadas a las capas más externas de la piel y el pelo;
■ Micosis cutáneas – es decir, las infecciones fúngicas que se extienden más profundamente en la epidermis pero que típicamente se restringen a las capas queratinizadas de la piel, pelo y uñas;
■ Micosis subcutáneas – las infecciones fúngicas afectan a la dermis, tejidos subcutáneos, músculos y fascias;
■ Micosis sistémicas debidas a agentes patógenos primarios (estos típicamente se originan primariamente en los pulmones y se pueden diseminar a otros sistemas orgánicos); y
■ Micosis sistémicas debidas a agentes patógenos oportunistas (infecciones de pacientes con deficiencias inmunitarias que de otra manera no se infectarían).

Ejemplos particulares de estados de enfermedad fúngica para los que los compuestos de la invención como se definen en el presente documento se pueden utilizar incluyen:

■ Infecciones por dermatofitos tales como la tinea versicolor (una infección fúngica superficial de la piel), tinea pedís (pie de atleta), tinea capitis (infección fúngica superficial de la cabeza), tinea barbae (infección fúngica de las zonas de la barba), tinea corporis (infección fúngica de áreas de piel fina).
■ Candidiasis mucosa tales como la candidiasis oral, esofagitis y candidiasis vaginal.
■ Candidiasis invasiva de órganos profundos (por ejemplo, fungemia, endocarditis, y endoftalmitis).
■ Infecciones criptocócicas tales como la meningitis criptocócica.
■ Histoplasmosis.
■ Blastomycosis, una infección fúngica de los pulmones y ocasionalmente de la piel.
■ Infecciones fúngicas invasivas (por ejemplo candidiasis invasiva y aspergilosis invasiva) en pacientes con

sistemas inmunes débiles, tales como pacientes con SIDA (por ejemplo, pacientes en tratamiento con fármacos anti-SIDA), o en tratamiento con agentes anticáncer.
■ Aspergilosis tales como la Aspergilosis broncopulmonar alérgica.
■ Aspergiloma.
■ Infecciones Intértrigo (infecciones fúngicas que se producen en los pliegues de la piel, por ejemplo, entre los dedos de los pies o de las manos, en el área axilar, o en el área de las ingles).
■ Maduramicosis (invasión fúngica de los tejidos del pie, también conocido como pie de madura).
■ Coccidiomicosis.
■ Mucormicosis.
■ Blastomicosis.
■ Geotricosis.
■ Cromoblastomicosis.
■ Conidiosporosis.
■ Histoplasmosis.
■ Rinosporidiosis.
■ Nocardiosis
■ Para-actinomicosis.
■ Peniciliosis.
■ Monoliasis.
■ Esporotricosis.

Las infecciones fúngicas de particular interés son Candidiasis y Aspergilosis.

Los compuestos de la invención también tienen actividad anti-protozoaria y actividad antiparasitaria. La actividad anti-protozoaria de los compuestos de la presente invención se puede evaluar por métodos convencionales, por ejemplo determinando la concentración inhibidora mínima (CIM) o el nivel del 50% de inhibición (CI_{50}).

Los ejemplos de enfermedades o afecciones parasitarias para las que los compuestos de la invención pueden ser útiles incluyen:

■ Enfermedad de Chagas (tripanosomiasis) – una infección causada por el parásito Tripanosoma cruzi.
■ Ascariasis – una enfermedad humana causada por el gusano redondo parásito Ascaris lumbricoides.
■ Leishmaniosis – una enfermedad causada por parásitos del género Leishmania.
■ Toxoplasmosis - una enfermedad parásita causada por el protozoo Toxoplasma gondii.
■ Schistosomiasis (Bilharzia) – una enfermedad causada por el parásito Schistosoma mansoni.
■ Tricomoniasis – una enfermedad transmitida sexualmente causada por el protozoo parásito Trichomonas vaginalis.

Actividad anti-vírica

Como se ha tratado anteriormente en las secciones de introducción de la presente solicitud, la infección de una célula huésped con un ARN/ADN vírico da como resultado la redirección de la síntesis proteica celular en dirección de las proteínas víricas clave codificadas por el ácido nucleico vírico, y esto frecuentemente da lugar a la regulación positiva de proteínas de choque. Se cree que una función que la inducción de HSP puede ser ayudar en la estabilización y plegado de altos niveles de proteína 'ajena' generada en la preparación de la replicación vírica y se ha demostrado (Naakagawa y col.) que los inhibidores de la HSP90 pueden bloquear la replicación vírica. En consecuencia, los compuestos de la invención pueden ser útiles en combatir las infecciones víricas, por ejemplo bloqueando o inhibiendo la replicación vírica.

Por lo tanto, en otro aspecto, la invención proporciona un compuesto de la invención como se define en el presente documento para su uso en la profilaxis o tratamiento de una infección vírica (o enfermedad vírica).

En más aspectos, la invención proporciona:

- El uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o tratamiento de una infección vírica (o una enfermedad vírica).

- Un compuesto de la invención como se define en el presente documento para su uso en el bloqueo o inhibición de la replicación vírica en un organismo huésped (por ejemplo un animal tal como un mamífero (por ejemplo un ser humano)).

- El uso de un compuesto de la invención como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para su uso en el bloqueo o inhibición de la replicación vírica en un organismo huésped (por ejemplo, un animal tal como un mamífero (por ejemplo, un ser humano)).

Ejemplos de infecciones víricas que se pueden tratar con los compuestos de la invención incluyen infecciones debidas

a cualquiera o varios de los siguientes virus:

O Picornavirus tales como los rinovirus (virus del resfriado común), virus Coxsackie (por ejemplo el virus Coxsackie B); y virus de enfermedades de los pies y la boca;
O Virus de la Hepatitis tal como virus de la hepatitis A (HAV), virus de la hepatitis B (HBV), virus de la hepatitis C (HCV), virus de la hepatitis D (HDV) y virus de la hepatitis E (HEV).
O Coronavirus (por ejemplo el virus del resfriado común y el virus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS).
O Adenovirus tales como los Adenovirus Humanos (una causa de infecciones respiratorias y conjuntivales);
O Astrovirus (una causa de síntomas similares a la gripe);
O Flavivirus tales como el virus de la Fiebre Amarilla;
O Ortomixovirus tales como los virus de la influenza (por ejemplo, los virus de la influenza A, B, y C);
O Virus de la Parainfluenza;
O Virus Respiratorio sincitial;
O Enterovirus tales como Poliovirus (virus de la Poliomielitis);
O Paramixovirus tales como el virus del Sarampión (rubeola), virus de las paperas, virus respiratorio sincitial (RSV) y el virus del moquillo canino (CDV);
O Togavirus tales como el virus de la Rubeola (sarampión alemán) y el virus Sindbis;
O Herpesvirus tales como:

■ Virus del herpes simple (HSV), por ejemplo, el HSV-1 que produce ampollas febriles (llagas frías), gingivoestomatitis, queratitis herpética, eccema herpético y encefalitis HSV; y HSV-2 que causa lesiones genitales, infecciones neonatales, meningitis HSV, proctitis HSV:
■ Virus Zóster de la varicela (VZV), que produce la viruela aviar, síndrome de varicela congénita y culebrilla;
■ Virus de Epstein-Barr (EBV), que produce mononucleosis infecciosa, linfoma de Burkitt y cáncer nasofaríngeo;
■ Citomegalovirus (CMV), por ejemplo citomegalovirus humano (HCMV);
■ Herpesvirus humano 6 (HHV-6), que produce el exanthum subitum o la roséola infantum
■ Herpesvirus humano 8 (HHV-8) o herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi (KSHV), que se encuentra en la saliva de muchos pacientes de SIDA y se asocian con el sarcoma de Kaposi;

O Papoviridae tal como el virus de polioma y el virus del papiloma humano (HPV);
O Parvovirus;
O Poxvirus tales como el virus de la Viruela (virus de la viruela humana);
O Rhabdovirus tales como el virus de la rabia y el virus de la estomatitis vesicular (VSV); y
O Retrovirus tales como el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) que es el responsable del síndrome de inmunodeficiencia adquirido (SIDA); y el virus linfotrófico T humano (HTLV).

Las infecciones víricas particulares contra las que los compuestos de la invención se pueden utilizar incluyen los herpes virus, poxvirus, virus de Epstein-Barr, virus Sindbis, adenovirus, HIV (para la prevención del desarrollo del SIDA en individuos infectado por HIV), HPV, HCV, y virus HCMV.

La infección vírica puede ser distinta de una infección por el virus de la hepatitis C (HCV).

La actividad de los compuestos de la invención como agentes para el bloqueo o la prevención de la replicación vírica en organismos huésped o células huésped se pueden determinar de acuerdo con procedimientos de referencia bien conocidos por un experto.

Los compuestos de la invención se pueden utilizar como agentes antivirales solos o se pueden utilizar en conjunción con otros agentes antivíricos tales como Aciclovir, ganciclovir, oseltamivir (Tamiflu®) y zanamavir (Relenza®), amantadina, rimantadina, adefovir dipivoxil, interferones (por ejemplo, interferón alfa-2b e interferón alfa-2a pegilado), lamivudina, entecavir, ribavirin, famciclovir, valcicilovir, valaciclovir, azidotimidina (AZT - Retrovir®) , atazanavir, fosamprenavir, lamivudina, lamivudina + abacavir, tenofovir fumarato de disoproxil, fumarato disoproxil tenofovir + emtricitabina, tipranavir, nelfinavir, indinavir, raltegravir, ritonavir, lopinavir + ritonavir, darunavir, amprenavir, enfuvirtida, saquinavir, hidroxiurea, VGV-1y vacunas antivirales.

En consecuencia, la invención proporciona además:

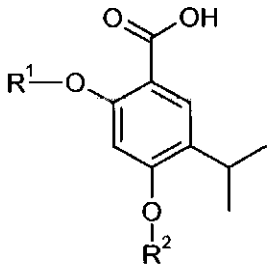
- Una combinación de un compuesto de la invención como se define en el presente documento con un compuesto secundario que es agente antiviral.
- Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención como se define en el presente documento con un compuesto secundario que es un agente antiviral.

Métodos para la preparación de Compuestos de las Fórmulas (1a), (1b) y (1c) y subgrupos de los mismos

En esta sección, como en todas las otras secciones de la presente solicitud a menos que el contexto indique lo contrario, las referencias a las Fórmulas (1 a), (1 b) y (1 c) también incluyen todas las realizaciones, subgrupos,

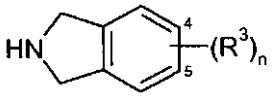
subconjuntos de los mismos a menos que el contexto requiera lo contrario.

Los compuestos de las fórmulas (1 a), (1 b) y (1c) pueden prepararse mediante la reacción de un compuesto de la fórmula (10):



(10)

o un derivado reactivo del mismo (tal como un cloruro de ácido),
con un compuesto de la fórmula (11):



(11)

en condiciones de formación de amida.

Por ejemplo, el compuesto de fórmula (10) puede hacerse reaccionar con el compuesto de fórmula (11) en presencia de amida reactivos de acoplamiento de amida del timo que se usa comúnmente en la formación de engarces de amida o péptido. Los ejemplos de dichos reactivos incluyen 1,1'-carbonildiimidazol (CDI), 1,3-diciclohexilcarbodiimida (DCC) (Sheehan et al, J. Amer. Chem Soc. 1955, 77, 1067), 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)-carbodiimida (denominado en el presente documento como EDC o EDAC pero también conocidos en la técnica como EDCI y WSCDI) (Sheehan et al, J. Org. Chem., 1961, 26, 2525), agentes de acoplamiento basados en uronio, tales como hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HATU) y agentes de acoplamiento basados en fosfonio, tales como hexafluorofosfato de 1-benzo-triazoliloxitris-(pirrolidino)fosfonio (PyBOP) (Castro et al, Tetrahedron Letters, 1990, 31, 205). Pueden usarse ventajosamente agentes de acoplamiento basados en carbodiimida junto con 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAt) (L. A. Carpino, J. Amer. Chem. Soc., 1993, 115, 4397) o 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) (Konig et al, Chem. Ber., 103, 708, 2024-2034). Los reactivos de acoplamiento preferidos incluyen EDC (EDAC) y DCC junto con HOAt o HOBt.

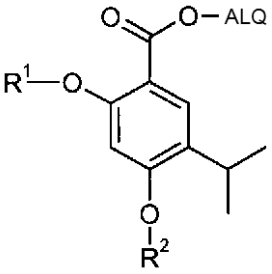
Un reactivo de acoplamiento particular comprende EDC junto con HOBt.

La reacción de acoplamiento se realiza típicamente en un disolvente no acuoso, no prótico, tal como acetonitrilo, dioxano, dimetilsulfóxido, diclorometano, dimetilformamida o N-metilpirrolidina, o en un disolvente acuoso, opcionalmente, junto con uno o más co-disolventes miscibles. La reacción puede realizarse a temperatura ambiente o, cuando los reactantes sean menos reactivos a cualquier temperatura adecuadamente elevada, por ejemplo una temperatura de hasta 100 ºC, más típicamente hasta aproximadamente 80 ºC. La reacción puede realizarse en presencia de una base no interferente, por ejemplo una amina terciaria, tal como trietilamina o *N,N*-diisopropiletilamina.

Como alternativa, el ácido carboxílico (10) puede convertirse en primer lugar en un derivado reactivo, tal como el cloruro de ácido y después hacerse reaccionar con el compuesto de isoindolina de fórmula (11). El cloruro de ácido puede prepararse por tratamiento del ácido carboxílico con cloruro de tionilo, o por reacción con cloruro de oxalilo en presencia de una cantidad catalítica de dimetilformamida, o por reacción de una sal potásica del ácido con cloruro de oxalilo. Después, el cloruro de ácido puede hacerse reaccionar con el compuesto de fórmula (11) en presencia de una base no interferente, tal como trietilamina. La reacción puede realizarse a aproximadamente temperatura ambiente en un disolvente polar, tal como dioxano.

Los compuestos de la fórmula (11) pueden prepararse por los métodos descritos en el documento WO 2006/109085 o métodos análogos al mismo.

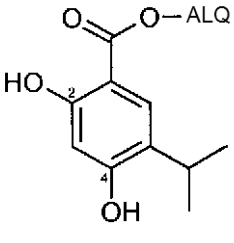
Los compuestos de la fórmula (10) pueden prepararse mediante la hidrólisis de un compuesto de éster de la fórmula (12):



(12)

donde ALQ Es un grupo metilo o etilo y preferiblemente un grupo metilo. L hidrólisis del éster (12) puede realizarse usando un hidróxido de metal alcalino, tal como hidróxido potásico o hidróxido sódico en una solución acuosa o solución alcohólica acuosa (por ejemplo, metanolica). La hidrólisis se realiza típicamente con calentamiento, por ejemplo a la temperatura de reflujo de la solución acuosa.

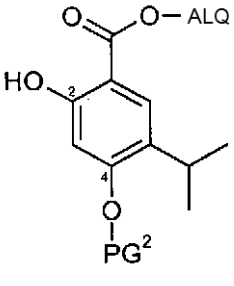
Los compuestos de la fórmula (12) pueden prepararse a partir de derivados de resorcinol de la fórmula (13):



(13)

por diversas reacciones de alquilación y acilación como se describen en los ejemplos de la sección experimental de la presente solicitud.

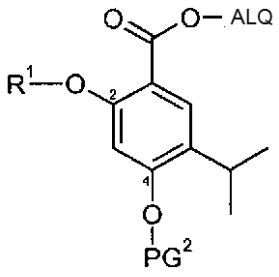
Por ejemplo, para dar compuestos de la fórmula (12) donde R^1 es hidrógeno, el grupo 4-hidroxilo en el compuesto de la fórmula (13) puede protegerse selectivamente por reacción con un compuesto de la fórmula PG^2-L^1 donde PG^2 es un grupo protector retirable y L^1 es un grupo saliente, tal como halógeno, en presencia de una base para dar el intermedio (14):



(14)

Un grupo protector PG^2 preferidos es bencilo. La protección del grupo 4-hidroxilo como un grupo benciloxi puede conseguirse haciendo reaccionar el compuesto de fórmula (13) justo un equivalente por encima de bromuro de bencilo en presencia de una base carbonato de metal alcalino, tal como carbonato potásico en un disolvente aprótico polar, tal como acetonitrilo. La reacción puede realizarse a temperatura ambiente. Como alternativa a un grupo protector de bencilo, el grupo 4-hidroxi puede protegerse como un grupo metoximetoxi por reacción del compuesto de fórmula (13) con aproximadamente un equivalente de cloruro de metoximetilo en acetonitrilo, en presencia de carbonato potásico.

Después, el compuesto de fórmula (14) puede hacerse reaccionar con un compuesto de la fórmula R^2-L^2 donde L^2 es un grupo saliente, tal como un halógeno, o puede hacerse reaccionar con un agente de alquilación, para dar un compuesto de fórmula (15):



(15)

La reacción del compuesto de fórmula (14) puede hacerse reaccionar con el compuesto de la fórmula R^1-L^2 o el agente de alquilación, en presencia de una base, tal como carbonato potásico en un disolvente aprótico polar, tal como acetonitrilo.

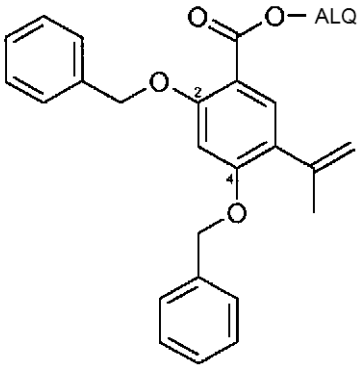
Después, el grupo protector PG^2 puede retirarse (por ejemplo, en el caso de un grupo bencilo por hidrogenación en paladio sobre carbón) para dar un compuesto de la fórmula (12) donde R^2 es hidrógeno.

Cuando PG^2 es un grupo metoximetilo, puede dejarse en su lugar (dando por tanto un compuesto intermedio (12) donde R^1 y R^2 son diferentes), o puede retirarse por reacción con un ácido, tal como ácido clorhídrico en un disolvente alcohólico acuoso, tal como metanol.

Para obtener compuestos de la fórmula (12) donde R^1 es hidrógeno, un compuesto de la fórmula (13) puede hacerse reaccionar con aproximadamente un equivalente de un compuesto de fórmula R^2-L^2 donde L^2 es un grupo saliente, tal como un halógeno, o puede hacerse reaccionar con aproximadamente un equivalente de un agente de alquilación. La reacción puede realizarse en condiciones análogas a las usadas descritas anteriormente junto con la preparación de los compuestos de fórmula (14).

Para preparar compuestos de la fórmula (12) donde $R^1 = R^2$ y son ambos distintos de hidrógeno, un compuesto de la fórmula (13) puede hacerse reaccionar con aproximadamente dos equivalentes de un compuesto de fórmula R-L^2 donde $R = R^1 = R^2$ y L^2 es un grupo saliente, tal como un halógeno, o puede hacerse reaccionar con aproximadamente un equivalente de un agente de alquilación.

Los compuestos de la fórmula (13) pueden prepararse por hidrogenación de compuestos de la fórmula (16):

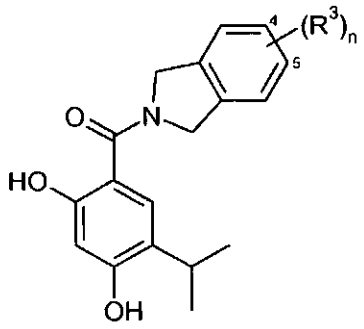


(16)

en paladio sobre carbono en un disolvente alcohólico, tal como etanol, metanol o mezclas de los mismos. Los compuestos de la fórmula (16) pueden prepararse de acuerdo con el método que se describe en el documento WO 2006/109085, véase, en particular la Preparación B5 en la página 84 del documento WO 2006/109085.

Los métodos siguientes pueden ser particularmente adecuados para la preparación de compuestos donde R^1 y/o R^2 con grupo alquilo o alquenilo opcionalmente sustituidos.

Los compuestos de las fórmulas (1 a), (1 b) y (1 c) pueden prepararse por la reacción de un compuesto de la fórmula (17):



(17)

con un reactivo o Reactivos adecuados para la introducción de los grupos R^1 y/o R^2.

Por ejemplo, para preparar compuestos de las fórmulas (1 a), (1 b) y (1 c) donde R^1 y/o R^2 son $C(O)NR^4R^5$ donde R^4 y R^5 son ambos alquilo C_{1-4}, o NR^4R^5 forma un un anillo heterocíclico saturado de 4 a 7 miembros, el compuesto de fórmula (17) puede hacerse reaccionar con un compuesto de fórmula $Cl\text{-}C(O)NR^4R^5$ en un disolvente aprótico polar, tal como tetrahidrofurano (THF) en presencia de una base no interferente, tal como trietilamina o *N,N*-4-dimetilamino-piridina. La reacción puede realizarse con calentamiento moderado (por ejemplo, a una temperatura entre 50 ºC y 100 ºC. Si se usan dos o más equivalentes del compuesto de fórmula $Cl\text{-}C(O)NR^4R^5$, se forma el compuesto de fórmula (1 a), (1 b) o (1 c) en donde R^1 y R^2 son $C(O)NR^4R^5$.

Si se desea, uno de los dos grupos $C(O)NR^4R^5$ puede retirarse calentando con un hidróxido de metal alcalino, tal como hidróxido sódico metanólico acuoso para dar una mezcla de regioisómeros mono-hidroxi que puede separarse por HPLC preparativa. Después, los compuestos mono-hidroxi resultantes pueden tratarse con un reactivo o Reactivos adecuados para introducir un grupo R^1 o R^2 diferentes. Por ejemplo, un compuesto donde uno de R^1 y R^2 es un grupo $C(O)NR^4R^5$ y el otro es hidrógeno, puede hacerse reaccionar con un carbonato de dialquilo de la fórmula $R^6OC(O)OR^6$ (tal como di-*terc*-butil-carbonato) para dar un compuesto de la fórmula (1a), (1b) o (1c) donde uno de R^1 y R^2 es $C(O)NR^4R^5$ y el otro es C(O)ORs, donde R^6 es alquilo C_{1-4} (por ejemplo, *terc*-butilo). La reacción con el carbonato de dialquilo se realiza típicamente en un disolvente aprótico polar, tal como THF, en presencia de una base no interferente, tal como *N,N*-4-dimetilaminopiridina, normalmente con calentamiento, por ejemplo a una temperatura entre 50 ºC y 100 ºC.

Los compuestos en donde R^1 y R^2 son $C(O)OR^6$ pueden prepararse a partir de compuestos de la fórmula (17) por reacción con al menos dos equivalentes de $R^6OC(O)OR^6$ en condiciones similares o análogos a los descritos anteriormente.

Los compuestos donde R^1 y R^2 son $C(O)R^6$ pueden prepararse a partir de compuestos de la fórmula (17) por reacción con al menos dos equivalentes de $Cl\text{-}C(O)R^6$ en un disolvente aprótico polar, tal como THF en presencia de una base no interferente, tal como trietilamina y/o *N,N*-4-dimetilaminopiridina. La reacción se realiza típicamente a temperatura ambiente.

Los compuestos de la fórmula (17) pueden prepararse por los métodos descritos en el documento WO 2006/109085 (PCT/GB2006/001382), véase, en particular el Ejemplo 36 en la página 123, el Ejemplo 42 en la página 125, el Ejemplo 50 en la página 128, el Ejemplo 55 e la página 137, el Ejemplo 61 en la página 143, el Ejemplo 63 en la página 143 y el Ejemplo 68 en la página 145.

Muchos de los procedimientos descritos anteriormente son bien conocidos para los expertos en la materia, y pueden encontrarse ejemplos de alquilaciones, acilaciones, interconversiones de grupo funcional y Reactivos y condiciones para realizar dichas conversiones en, por ejemplo, Advanced Organic Chemistry, por Jerry March, 4ª edición, 119, Wiley Interscience, Nueva York; Fiesers' Reagents for Organic Synthesis, Voúmenes 1-17, John Wiley, editado por Mary Fieser (ISBN: 0-471-58283-2); y Organic Syntheses, Volúmenes 1-8, John Wiley, editado por Jeremiah P. Freeman (ISBN: 0-471-31192-8).

En algunas de las reacciones descritas anteriormente, puede ser necesario proteger uno o más grupos para para prevenir que se produzca una reacción en un sitio indeseable de la molécula. Pueden encontrarse ejemplos de grupos protectores, y métodos de protección y desprotección de grupos funcionales, en Protective Groups in Organic Synthesis (T. Green y P. Wuts; 3ª Edición; John Wiley y Sons, 1999).

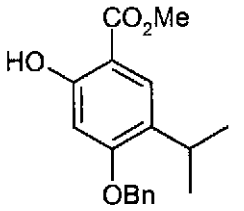
Nuevos intermedios

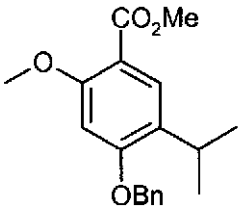
Muchos de los intermedios de procesos (10), (12), (14) y (15) son nuevos.

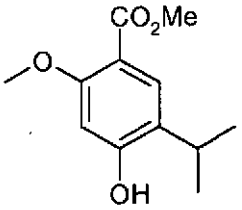
En consecuencia, la invención también desvela un nuevo intermedio de proceso que es un compuesto de la fórmula (10) o la fórmula (12) o la fórmula (14) o la fórmula (15) como se definen en el presente documento, pero excluyendo

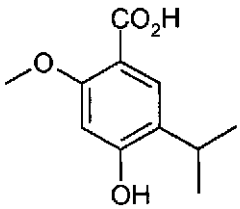
los compuestos éster metílico del ácido 2,4-dimetoxi-5-isopropilbenzoico y ácido 2,4-dimetoxi-5-isopropilbenzoico.

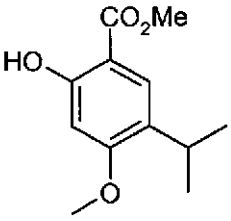
A continuación, se exponen nuevos compuestos intermedios de proceso particulares:

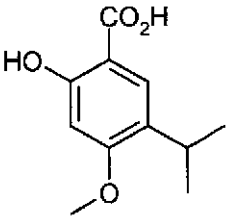


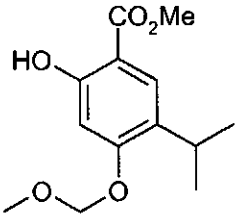


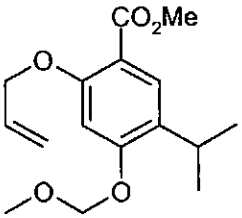


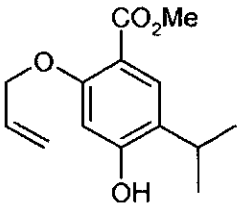


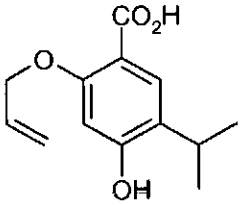


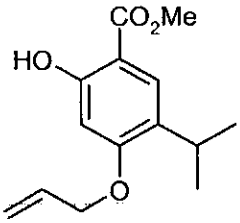


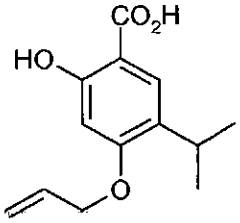


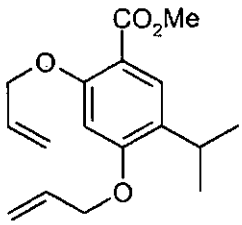


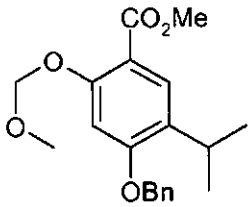


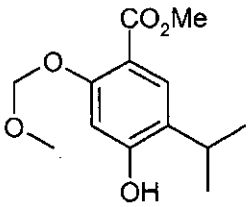


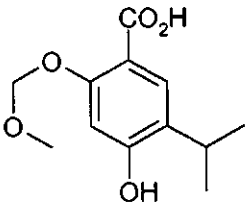


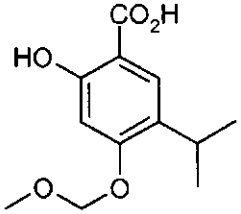


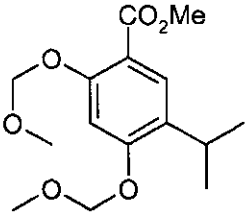












Métodos de purificación

Los compuestos de la invención pueden aislarse y purificarse por una diversidad de métodos bien conocidos para los expertos en la materia y los ejemplos de dichos métodos incluyen técnicas cromatográficas, tales como cromatografía en columna (por ejemplo, cromatografía ultrarrápida) y HPLC. La CL-EN preparativa es un método convencional y eficaz usado en la purificación de moléculas orgánicas pequeñas, tales como los compuestos que se describen en el presente documento. Los métodos para la cromatografía líquida (CL) y espectrometría de masas (EM) pueden variarse para proporcionar una mejor separación de los materiales en bruto y detección mejorada de las muestras por EM. La optimización del método de CL preparativa de gradiente implicará variar columnas, eluyentes volátiles y modificadores, y gradientes. En la técnica, se conocen bien métodos para optimizar métodos de CL preparativa-EM y después usarlos para purificar compuestos. Dichos métodos se describen en Rosentreter U, Huber U.; Optimal fraction collecting en preparative LC/MS; J Comb Chem.; 2004; 6(2), 159-64 y Leister W, Strauss K, Wisnoski D, Zhao Z, Lindsley C., Development of a custom high-throughput preparative liquid chromatography/mass spectrometer platform for the preparative purification and analytical analysis of compound libraries; J Comb Chem.; 2003; 5(3); 322-9.

Como alternativa, pueden usarse métodos basados en CL preparativa de fase normal en lugar de métodos de fase inversa. Los sistemas de CL-EM más preparativos utilizan CL de fase inversa y modificadores ácidos volátiles, puesto que el enfoque es muy eficaz para la purificación de moléculas pequeñas y porque los eluyentes son compatibles con espectrometría de masas de electronebulización iónica positiva. Como alternativa, puede usarse el empleo de otras soluciones cromatográficas, por ejemplo, CL de fase normal, como alternativa fase móvil tamponada, modificadores básicos, etc, como se indica en los métodos analíticos descritos anteriormente para purificar los compuestos.

Formulaciones Farmacéuticas

Aunque es posible que el compuesto pro-fármaco se administre solo, es preferible que se presente como una composición farmacéutica (por ejemplo, una formulación) que comprenda al menos un principio activo de la invención junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, vehículos, adyuvantes, diluyentes, cargas, tampones, estabilizantes, conservantes, lubricantes, u otros materiales bien conocidos por los expertos en la técnica) y opcionalmente otros agentes terapéuticos o profilácticos; por ejemplo agentes que reducen o alivian alguno de los efectos secundarios asociados con la quimioterapia. Ejemplos particulares de tales agentes incluyen agentes anti-eméticos, agentes para evitar el descenso o la duración de la neutropenia asociada a la quimioterapia y que evitan las complicaciones que aparecen de los niveles reducidos de glóbulos rojos o glóbulos blancos, por ejemplo, eritropoyetina (EPO), factor estimulante de colonias de granulocitos macrófagos (GM-CSF), y factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), y agentes que minimizan la toxicidad gastrointestinal.

Por lo tanto, la presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas, como se define anteriormente, y métodos para fabricar una composición farmacéutica que comprende poner en asociación (por ejemplo mezclando) al menos un compuesto activo, como se ha definido anteriormente, junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables tales como vehículos, tampones, adyuvantes, estabilizantes, u otros materiales, como se ha descrito anteriormente.

El término “excipiente” como se utiliza en el presente documento se refiere a cualquier componente de la composición farmacéutica distinto del principio activo (es decir, en el presente caso el compuesto pro-fármaco).

La expresión “farmacéuticamente aceptable” como se utiliza en el presente documento pertenece a compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, en el ámbito del sano juicio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de un sujeto (por ejemplo, un ser humano) sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, proporcional con una relación riesgo/beneficio razonable. Cada excipiente (por ejemplo un vehículo, etc.) debe ser también “aceptable” en el sentido de que sea compatible con los otros ingredientes de la formulación.

En consecuencia, en un aspecto más, la invención proporciona compuestos de la invención y subgrupos de los mismos definidos en el presente documento en forma de composiciones farmacéuticas.

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en cualquier forma adecuada para su administración por vía oral, parenteral, tópica, intranasal, oftálmica, ótica, rectal, intravaginal, o transdérmica. Cuando las composiciones se pretenden administrar por vía parenteral, pueden formularse para su administración por vía intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea o para suministro directo en el órgano o tejido diana por inyección, infusión u otros medios de suministro. El suministro puede ser por inyección en embolada, infusión a corto término o infusión a término más largo y puede ser por medio de suministro pasivo o por la utilización de una bomba de infusión adecuada.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen soluciones inyectables estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que dan lugar a una formulación isotónica con la sangre del pretendido receptor; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Ejemplos de estos se han descrito en R. G. Strickly, Solubilizing Excipients in oral and injectable formulations, Pharmaceutical Research, Vol. 21(2) 2004, p 201-230.

Además, pueden contener co-solventes, mezclas de disolventes orgánicos, agentes de formación de complejos de ciclodextrina, agentes emulsionantes (para formar y estabilizar formulaciones en emulsión), componentes liposomales para formar liposomas, polímeros en gel para formar geles poliméricos, protectores de liofilización y combinaciones de agentes para, entre ellos, establecer el principio activo en una forma soluble y dar lugar a una formulación isotónica con la sangre del pretendido receptor. Las formulaciones pueden presentarse en envases de dosis unitaria o multidosis, por ejemplo ampollas selladas y viales, y pueden almacenarse en condiciones de secado por congelación (liofilización) que necesitan solamente la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso.

Una molécula de fármaco que es ionizable se puede solubilizar a la concentración deseada por ajuste del pH si la pK_a del fármaco está suficientemente lejos del valor del pH de la formulación. El intervalo aceptable de pH es de 2-12 para administración vía intravenosa e intramuscular, pero por vía subcutánea el intervalo de pH es de 2,7-9,0. El pH de la solución se controla por la forma en sal del fármaco, ácidos/bases fuertes tales como el ácido clorhídrico o el hidróxido sódico, o por soluciones de tampones que incluyen pero sin limitarse a soluciones tampón formadas con glicina, citrato, acetato, maleato, succinato, histidina, fosfato, tris (hidroximetil)-aminometano (TRIS), o carbonato.

La combinación de una solución acuosa y un disolvente/tensioactivo orgánico hidrosoluble (es decir un cosolvente) a menudo se utiliza en las formulaciones inyectables. Los disolventes y tensioactivos orgánicos hidrosolubles utilizados en las formulaciones inyectables incluyen pero sin limitarse a, propilenglicol, etanol, polietilen glicol 300, polietilen glicol 400, glicerina, dimetilacetoamida (DMA), N-metil-2-pirrolidona (NMP; Pharmasolve), dimetilsulfóxido (DMSO), Solutol HS 15, Cremophor EL, Cremophor RH 60, y polisorbato 80. Tales formulaciones pueden ser normalmente, pero no siempre, diluidos antes de la inyección.
El propilenglicol, PEG 300, etanol, Cremophor EL, Cremophor RH 60, y polisorbato 80 son disolventes y surfactantes orgánicos completamente hidrosolubles que se utilizan en formulaciones inyectables disponibles comercialmente y se pueden utilizar en combinaciones entre ellos. Las formulaciones orgánicas resultantes se diluyen normalmente al menos 2 veces antes de la inyección en embolada IV, o infusión IV.

De manera alternativa, se puede conseguir un aumento de la hidrosolubilidad por medio de formación molecular de complejos con ciclodextrinas.

Los liposomas son vesículas esféricas cerradas compuestas por membranas lipídicas bicapa externas y un centro acuoso interno y con diámetros totales de <100 μm. Dependiendo del nivel de hidrofobicidad, los fármacos moderadamente hidrofóbicos pueden solubilizarse con los liposomas si el fármaco llega a encapsularse o intercalarse con el liposoma. Los fármacos hidrofóbicos también se pueden solubilizar con los liposomas si la molécula de fármaco se convierte en una parte integral de la membrana lipídica bicapa y en este caso, el fármaco hidrofóbico se disuelve en la parte lipídica de la bicapa lipídica. Una típica formulación en liposomas contiene agua con un fosfolípido a 5-20 mg/ml, un isotonificante, un tampón de pH 5-8, y opcionalmente colesterol.

Las formulaciones se pueden presentar en envases de dosis unitaria o multidosis, por ejemplo en ampollas selladas, viales o jeringas precargadas, y puede almacenarse en condiciones de secado en congelación (liofilizado) que solo necesita la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso.

La formulación farmacéutica se puede preparar por liofilización de un compuesto de Fórmula (I) o la adición ácida de una sal del mismo. Liofilización se refiere al procedimiento de secar por congelación una composición. El secado por congelación y la liofilización se utilizan por tanto en el presente documento como sinónimos. Un proceso típico es solubilizar el compuesto y la formulación resultante se clarifica, se esteriliza por filtración y se transfiere asépticamente a un envase apropiado para la liofilización (por ejemplo, viales). En el caso de los viales, están parcialmente tapados con lio-tapones. La formulación se puede enfriar hasta la congelación y someterla a la liofilización bajo condiciónese de referencia y luego se tapa herméticamente formando una formulación estable, seca liofilizada. La composición tendrá típicamente un bajo contenido en agua residual, por ejemplo menos de un 5% por ejemplo menos del 1% por peso basándose en el peso del liofilizado.

La formulación de liofilización puede contener otros excipientes, por ejemplo, agentes espesantes, agentes dispersantes, tampones, antioxidantes, conservantes y ajustadores de tonicidad. Los tampones típicos incluyen los de fosfato, acetato, citrato, y glicina. Ejemplos de antioxidantes incluyen ácido ascórbico, bisulfito sódico, metabisulfito sódico, monotioglicerilo, tiourea, hidroxitolueno butilado, hidroxil anisol butilado, y las sales del ácido etilendiaminotetraacético. Los conservantes pueden incluir el ácido benzoico y sus sales, el ácido sórbico y sus sales, alquilésteres del ácido parahidroxibenzoico, fenol, clorbutanol, alcohol bencílico, timerosal, cloruro de benzalconio y cloruro de cetilpiridinio. Los tampones mencionados previamente, así como la dextrosa y el cloruro sódico, se pueden utilizar para ajustar la tonicidad, si es necesario.

Los agentes de volumen se utilizan generalmente en la tecnología de liofilización para facilitar el proceso y/o proporcionar volumen y/o integridad mecánica al aglutinado. El agente de volumen significa un diluyente particulado sólido, libremente soluble en agua que cuando se co-liofiliza con el compuesto o la sal del mismo, proporciona un aglomerado liofilizado físicamente estable, un proceso de secado por congelación más óptimo y una reconstitución rápida y completa. El agente de volumen también se puede utilizar para hacer una solución isotónica.

El agente de volumen hidrosoluble puede ser cualquiera de los materiales sólidos inertes farmacéuticamente aceptables utilizados típicamente para liofilización. Tales agentes de volumen incluyen, por ejemplo, azúcares tales como glucosa, maltosa, sacarosa y lactosa; polialcoholes tales como el sorbitol, o manitol; aminoácidos tales como la glicina; polímeros tales como la polivinilpirrolidona; y polisacáridos tales como dextrano.

La relación de peso del agente de volumen con respecto al peso del principio activo típicamente está en el intervalo desde aproximadamente 1 a aproximadamente 5, por ejemplo de aproximadamente 1 a aproximadamente 3, por ejemplo en el intervalo de aproximadamente 1 a 2.

De manera alternativa se pueden proporcionar en forma de solución que puede concentrarse y se sella en un vial apropiado. La esterilización de las formas de dosificación se puede hacer por filtración o por esterilización en autoclave de los viales y sus contenidos en etapas apropiadas para el proceso de formulación. La formulación suministrada puede necesitar una dilución más o una preparación antes del suministro por ejemplo la dilución en envases adecuados de infusión estéril.

Las soluciones extemporáneas de soluciones y suspensiones en inyección se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos.

En una realización de la invención, la composición farmacéutica está en una forma adecuada para administración i.v., por ejemplo por inyección o infusión.

En otra realización, la composición farmacéutica está en una forma adecuada para administración subcutánea (s.c.)

En una realización preferida de la invención, las composiciones farmacéuticas son adecuadas para la administración vía oral.

Las formas farmacéuticas adecuadas para la administración vía oral incluyen comprimidos, cápsulas (de cubierta dura o blanda), comprimidos encapsulados, píldoras, grageas, jarabes, soluciones, polvos, gránulos, elixires y suspensiones, comprimidos sublinguales, obleas o parches (tales como parches bucales).

Las composiciones farmacéuticas que contienen compuestos de la invención se pueden formular de acuerdo con las técnicas conocidas, véase por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA, EE. UU.

Por tanto, las composiciones en comprimidos pueden contener una dosificación unitaria del principio activo junto con un diluyente o vehículo inerte tal como un azúcar o azúcar alcohol, por ejemplo; lactosa, sacarosa, sorbitol, manitol; y/o un diluyente derivado no de azúcar tales como carbonato sódico, fosfato cálcico, carbonato cálcico o una celulosa o derivado de la misma tales como la metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxipropil metil celulosa, celulosa microcristalina (MCC), y almidones tales como almidón de maíz. Los comprimidos pueden contener también ingredientes de referencia tales como agentes aglutinantes y granulantes tales como la polivinilpirrolidona, desintegrantes (por ejemplo polímeros reticulados hinchables tales como la carboximetilcelulosa reticulada), agentes lubricantes (por ejemplo, estearatos), conservantes (por ejemplo, parabenos), antioxidantes (por ejemplo, BHT), agentes tamponantes (por ejemplo tampones de fosfato o citrato), y agentes efervescentes tales como mezclas de citrato/carbonato. Tales excipientes se conocen bien y no es necesario tratarlos en detalle en el presente documento.

Las formulaciones en cápsulas pueden ser de la variedad de gelatina dura o gelatina blanda y pueden contener el principio activo en forma sólida, semi-sólida, o líquida. Las cápsulas de gelatina se pueden formar a partir de gelatina animal o sintética o derivados vegetales equivalentes de la misma.

Las composiciones farmacéuticas (por ejemplo, comprimidos o cápsulas) se pueden diseñar para liberar el fármaco en contacto con los fluidos del estómago (composiciones de liberación inmediata) o para liberarse de manera controlada (composiciones de liberación controlada) durante un periodo de tiempo prolongado o en una región específica del tracto GI.

Las formas de dosificación sólidas (por ejemplo; comprimidos, cápsulas, etc.) pueden estar revestidas o no revestidas, pero típicamente tienen un revestimiento por ejemplo una película de revestimiento (por ejemplo, un polímero, cera o barniz) o un revestimiento de liberación controlada. El revestimiento (por ejemplo, un polímero de tipo Eudragit™) puede diseñarse para liberar el principio activo en la localización deseada dentro del tracto gastrointestinal. Por tanto, el revestimiento se puede seleccionar de forma que se degrade bajo ciertas condiciones de pH en el tracto gastrointestinal, liberando selectivamente de esta manera el compuesto en el estómago o en el íleon, duodeno o colon. De manera alternativa o adicionalmente, el revestimiento se puede utilizar como un agente saborizante de enmascarado para enmascarar sabores desagradables tales como los sabores amargos de ciertos fármacos. El revestimiento puede contener azúcar u otros agentes que ayuden a enmascarar sabores desagradables.

En vez de, o además de, un revestimiento, el fármaco puede presentarse en una matriz sólida que comprende un agente de liberación controlada, por ejemplo un agente de liberación retardada que se puede adaptar a la liberación selectiva del compuesto bajo condiciones de variación de acidez o alcalinidad en el tracto gastrointestinal. De manera alternativa, el material de la matriz o el revestimiento retardante puede estar en forma de un polímero que se puede descomponer (por ejemplo un polímero de anhídrido maleico) que se descompone sustancialmente de manera continua según pasa la forma de dosificación a través del tracto gastrointestinal. Como una alternativa más, el principio activo se puede formular en un sistema de suministro que proporciona un control osmótico de liberación del compuesto. La liberación osmótica y otra liberación retardada o formulaciones de liberación sostenida se pueden preparar según métodos bien conocidos por los expertos en la técnica.

Las composiciones farmacéuticas comprenden desde aproximadamente el 1% a aproximadamente el 95%, preferentemente de aproximadamente el 20% a aproximadamente el 90%, de principio activo. Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden estar, por ejemplo, en forma de dosis unitaria, tales como en forma de ampollas, viales, supositorios, grageas, comprimidos o cápsulas, y en particular en forma de comprimidos y cápsulas.

El experto tendrá la experiencia para seleccionar las cantidades adecuadas de ingredientes para su uso en las formulaciones. Por ejemplo los comprimidos y las cápsulas contienen típicamente del 0-20% de desintegrantes, del 0-5% de lubricantes, del 0-5% de auxiliares de flujo y/o del 0-100% de cargas/o agentes de volumen (dependiendo de la dosis del fármaco). Pueden contener también del 0-10% de polímeros aglutinantes, del 0-5% de antioxidantes, del 0-5% de pigmentos. Los comprimidos de liberación lenta contendrían además del 0-100% de polímeros (dependiendo de la dosis). Los revestimientos en película del comprimido o la cápsula contienen típicamente del 0-10% de polímeros, del 0-3% de pigmentos, y/o del 0-2% de plastificantes.
Las formulaciones parenterales contienen típicamente del 0-20% de tampones, del 0-50% de codisolventes, y/o del 0-100% de agua para inyección (WFI) (dependiendo de la dosis y si se ha secado por congelación). Las formulaciones para depósito intramuscular pueden contener del 0-100% de aceites.

Las composiciones farmacéuticas para administración vía oral se pueden obtener por combinación del principio activo con vehículos sólidos, si se desea se granula la mezcla resultante, y si se desea o es necesario, se procesa la mezcla después de la adición de excipientes apropiados en comprimidos, centros de grageas o cápsulas. También es posible que se incorporen en vehículos plásticos que permitan difundir o liberar los principios activos en cantidades determinadas.

Las formulaciones farmacéuticas se pueden presentar al paciente en “envases para el paciente” que contienen un ciclo de tratamiento entero en un solo envase, normalmente en un envase en blíster. Los envases para el paciente tienen la ventaja sobre las prescripciones tradicionales, en las que el farmacéutico divide el suministro del paciente de un fármaco a partir de un volumen de suministro, en que el paciente tiene siempre acceso al prospecto contenido en el envase para el paciente, que normalmente se omite en las prescripciones para el paciente. La inclusión de un prospecto ha demostrado que mejora el cumplimiento por el paciente de las instrucciones del médico.

Las composiciones para uso tópico incluyen los ungüentos, cremas, aerosoles, parches, geles, gotas líquidas e inserciones (por ejemplo inserciones oculares). Tales composiciones se pueden formular según métodos conocidos.

Las composiciones para administración parenteral se presentan típicamente como soluciones estériles acuosas u oleosas, o suspensiones finas, o se pueden proporcionar en forma de polvo estéril finamente dividido para reconstituirse extemporáneamente con agua para inyección estéril.

Ejemplos de formulaciones para administración rectal o intravaginal incluyen supositorios vaginales y supositorios que se pueden formar, por ejemplo, a partir de una forma moldeable o un material ceroso que contiene el principio activo. Por lo tanto se pueden preparar supositorios o supositorios vaginales de dosis única por la mezcla del principio activo con uno o más vehículos sólidos convencionales, por ejemplo, manteca de coco, y dando forma a la mezcla resultante. Otros ejemplos de materiales cerosos moldeables incluyen polímeros tales como polialquilenglicoles de alto peso molecular, por ejemplo, polietilenglicoles de alto peso molecular.

De manera alternativa, en el caso de la administración vaginal, la formulación puede presentarse como un tampón impregnado con los principios activos y opcionalmente uno o más excipientes o diluyentes. Otras formulaciones adecuadas para la administración vaginal y rectal incluyen cremas, geles, espumas, pastas y aerosoles.

Más ejemplos de composiciones tópicas incluyen apósitos tales como vendajes y apósitos adhesivos impregnados con principios activos y opcionalmente uno o más excipientes o diluyentes. Los vehículos que se pueden utilizar incluyen por ejemplo, alcoholes polihídricos tales como polietilenglicoles, propilenglicol o glicerol. Excipientes adecuados que se conocen en la técnica que son apropiados.

Las composiciones para la administración por inhalación pueden tener forma de composiciones en polvo inhalable o aerosoles líquidos o en polvo, y se pueden administrar de forma estándar utilizando dispositivos inhaladores dispensadores de polvos. Tales dispositivos se conocen bien. Para la administración por inhalación, las formulaciones

en polvo comprenden típicamente el principio activo junto con un diluyente sólido en polvo inerte tal como la lactosa.

Los compuestos de la invención generalmente se presentarán en forma de dosificación unitaria, y como tales, contendrán típicamente suficiente compuesto para proporcionar un nivel deseado de actividad biológica. Por ejemplo, una formulación puede contener desde 1 nanogramo a 2 gramos del principio activo. En este intervalo, sub-intervalos particulares del compuesto son de 1 microgramo a 2 gramos, o 1 microgramo a 1 gramo, o 0,1 miligramo a 2 gramos de principio activo (más comúnmente desde 10 miligramos a 1 gramo, por ejemplo, 50 miligramos a 500 miligramos), o de 1 microgramo a 20 miligramos (por ejemplo, de 1 microgramo a 10 miligramo, por ejemplo de 0,1 miligramos a 2 miligramos de ingrediente activo).

Para las composiciones por vía oral, una forma de dosificación unitaria puede contener de 1 miligramo a 2 gramos, más típicamente de 10 miligramos a 1 gramo, por ejemplo 50 miligramos a 1 gramo, por ejemplo de 100 miligramos a 1 gramo, de principio activo.

El principio activo se administrará a un paciente que necesite del mismo (por ejemplo un paciente humano o animal) en una cantidad suficiente para conseguir el efecto terapéutico deseado.

Métodos de tratamiento

Se piensa que los compuestos de la invención y los sub-grupos como se definen en el presente documento serán útiles en la profilaxis o el tratamiento de una variedad de estados de enfermedad o afecciones mediados por proteínas clientes de Hsp90. Los ejemplos de tales estados de enfermedad y afecciones se han expuesto anteriormente.

Una ventaja de los compuestos pro-fármacos de la presente invención es que se pueden administrar por vía oral. Los compuestos pro-fármacos preferidos de la presente invención proporcionan el aumento de biodisponibilidad (al compararse con el principio activo parental) cuando se administran por vía oral.

Los compuestos generalmente se administran a un sujeto que necesita tal administración, por ejemplo un paciente animal, preferentemente un ser humano.

Los compuestos típicamente se administrarán en cantidades que sean útiles terapéutica o profilácticamente y que generalmente no sean tóxicas. Sin embargo, en ciertas situaciones (por ejemplo, en el caso de enfermedades que ponen en peligro la vida) los beneficios de la administración de un compuesto de la invención puede sobre pasar las desventajas de cualquier efecto tóxico o efecto secundario, en cuyo caso se puede considerar deseable administrar los compuestos en cantidades que se asocian con cierto grado de toxicidad.

Los compuestos se pueden administrar durante un tiempo prolongado para mantener los efectos terapéuticos beneficiosos o se pueden administrar solamente durante un corto periodo de tiempo. De manera alternativa se pueden administrar de manera continua o de manera que proporcione una dosificación persistente intermitente (por ejemplo, de manera pulsátil).

Una dosis diaria típica del compuesto de la fórmula (I) puede estar en el intervalo desde 100 picogramos a 100 miligramos por kilogramo de peso corporal, más típicamente de 5 nanogramos a 25 miligramos por kilogramo de peso corporal, y más normalmente de 10 nanogramos a 15 miligramos por kilogramo de peso corporal (por ejemplo, de 10 nanogramos a 10 miligramos, y más típicamente de 1 microgramo por kilogramo a 20 miligramos por kilogramo, por ejemplo 1 microgramo a 10 miligramos por kilogramo) aunque se pueden administrar dosis mayores y menores si así se requiere. El compuesto se puede administrar en una base diaria o en una base de repetición cada 2, o 3, o 4, o 5, o 6, o 7, o 10, o 14, o 21, o 28 días, por ejemplo.

En una pauta de dosificación, se le puede administrar a un paciente la infusión de un compuesto por periodos de una hora a 4 horas diariamente durante diez días en particular durante 2 días a la semana, cada dos semanas en tres, y el tratamiento se repite a intervalos deseados tal como cada tres a seis semanas, en particular cada tres semanas.

Más particularmente, se le puede administrar a un paciente una infusión de un compuesto por periodos de una hora diaria dos veces a la semana, durante tres semanas y el tratamiento se repite cada tres semanas.

De manera alternativa, se le puede dar a una paciente una infusión de un compuesto por periodos de una hora diaria dos veces a la semana durante 3 semanas en cuatro semanas y repetir el tratamiento cada cuatro semanas.

En otra pauta de dosificación particular, se le dará a un paciente una infusión de un compuesto por periodos de una hora diaria durante diez días en particular durante cinco días durante una semana, y el tratamiento se repite a intervalos deseados tales como cada dos a cuatro semanas, en particular cada tres semanas.

Más particularmente, se le puede dar a un paciente una infusión de un compuesto por periodos de una hora diaria durante 5 días y el tratamiento se repite cada tres semanas.

En otra pauta de dosificación particular, se le da a un paciente una infusión durante 30 minutos a 1 hora, seguida por infusiones de mantenimiento de duración variable, por ejemplo de 1 a 5 horas, por ejemplo 3 horas.

En una pauta de dosificación particular más, se le da a un paciente una infusión durante un periodo de 12 horas a 5 días, en particular una infusión continua de 24 horas a 72 horas.

En último término, sin embargo, la cantidad del compuesto que se administra y el tipo de composición utilizada será proporcional a la naturaleza de la enfermedad o la afección fisiológica que se va a tratar y será a discreción del médico.

Los compuestos como se definen en el presente documento se pueden administrar como agente terapéutico único o se pueden administrar en una terapia de combinación con uno o más de otros compuestos para el tratamiento de un particular estado de enfermedad, por ejemplo una enfermedad neoplásica tal como un cáncer como los que se han definido anteriormente.

Ejemplos de otros agentes terapéuticos o tratamientos que se pueden administrar juntos (sea concurrentemente o en intervalos de tiempo diferentes) con los compuestos de la invención incluyen pero sin limitarse a:

- Inhibidores de la Topoisomerasa I
- Antimetabolitos
- Agentes dirigidos a la Tubulina
- Aglutinantes de ADN e inhibidores de la topoisomerasa I
- Agentes alquilantes
- Anticuerpos monoclonales
- Anti-hormonas
- Inhibidores de la transducción de la señal
- Inhibidores de proteosomas
- Metil transferasas de ADN
- Citoquinas y retinoides
- Terapias dirigidas a la cromatina, por ejemplo modulador HDAC o HAT
- Radioterapia; y
- Otros agentes terapéuticos o profilácticos; por ejemplo agentes que reducen o alivian algunos de los efectos secundarios asociados con la quimioterapia. Ejemplos particulares de tales agentes incluyen agentes anti-eméticos, agentes que evitan o disminuyen la duración de la neutropenia asociada a quimioterapia y evitan las complicaciones que derivan de los niveles reducidos de glóbulos rojos o glóbulos blancos, por ejemplo la eritropoyetina (EPO), factor estimulante de colonias de granulocitos macrófagos (GM-CSF), y factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), y agentes que minimizan la toxicidad gastrointestinal que la acompaña. También se incluyen agentes que inhiben la resorción ósea tales como agentes bifosfonados por ejemplo zoledronato, pamidronato e ibandronato, agentes que suprimen las respuestas inflamatorias (tal como dexametasona, prednisona, y prednisolona) y agentes utilizados para reducir los niveles sanguíneos de hormona de crecimiento e IGF-I en pacientes con acromegalia tales como formas sintéticas de la hormona somatostatina cerebral, que incluye el acetato octreotida que es un octapéptido de acción prolongada con propiedades farmacológicas miméticas de la hormona somatostatina natural. Además se incluyen agentes tales como la leucovorina, que se utiliza con antídoto de fármacos que disminuyen los niveles de ácido fólico, o ácido folínico por sí mismo y agentes tales como el acetato de megestrol.

Otros agentes terapéuticos que se pueden administrar en combinación con los compuestos pro-fármacos de la presente invención incluyen los agentes descritos en el documento PCT/GB2007/003864 (número de publicación WO/2008/044029), divulgación que se incorpora aquí por referencia.

Preferentemente, los otros agentes terapéuticos para su uso en las combinaciones de la invención se seleccionan entre las siguientes clases:

1. hormonas, agonistas de hormonas, antagonistas de hormonas y agentes moduladores de hormonas (incluyendo corticosteroides, antiandrógenos, antiestrógenos y GNRA);

2. citoquinas y agentes activadores de citoquinas;

3. retinoides y rexinoides

4. anticuerpos monoclonales (incluyendo anticuerpos monoclonales para antígenos de superficie celular);

5. compuestos de camptotecina y otros inhibidores de la topoisomerasa I;

6. antimetabolitos;

7. alcaloides de la vinca y otros agentes dirigidos a la tubulina;

8. taxanos;

9. epotilones;

10. compuestos de platino;

11. Aglutinantes de ADN e inhibidores de Topo II (incluyendo los derivados de la antraciclina);

12. Agentes alquilantes (incluyendo aziridina, mostaza nitrogenada y agentes alquilantes de nitrosourea);

13. Inhibidores de CDK;

14. Inhibidores de COX-2;

15. Inhibidores de HDAC;

16. Moduladores específicos de la inmunorrespuesta;

17. Inhibidores se la ADN metil transferasa;

18. Inhibidores del proteosoma;

19. Inhibidores de Aurora;

20. Inhibidores de Hsp90 (incluyendo inhibidores auxiliares de Hsp90);

21. Agentes dirigidos a puntos de control;

22. Inhibidores de la reparación de ADN;

23. Inhibidores de inhibidores del receptor acoplado a la proteína G;

24. Inhibidores de la señalización;

25. Otros agentes terapéuticos o profilácticos; por ejemplo, agentes que reducen o alivian algunos de los efectos secundarios asociados con la quimioterapia. Ejemplos particulares de tales agentes incluyen agentes anti-eméticos, agentes que evitan o disminuyen la duración de la neutropenia asociada a quimioterapia y evitan las complicaciones que derivan de los niveles reducidos de glóbulos rojos o glóbulos blancos, por ejemplo la eritropoyetina (EPO), factor estimulante de colonias de granulocitos macrófagos (GM-CSF), y factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), y agentes que minimizan la toxicidad gastrointestinal que la acompaña. También se incluyen agentes que inhiben la resorción ósea tales como agentes bifosfonados por ejemplo zoledronato, pamidronato e ibandronato, agentes que suprimen las respuestas inflamatorias (tal como dexametasona, prednisona, y prednisolona) y agentes utilizados para reducir los niveles sanguíneos de hormona de crecimiento e IGF-I en pacientes con acromegalia tales como formas sintéticas de la hormona cerebral somatostatina, que incluye el acetato octreotida que es un octapéptido de acción prolongada con propiedades farmacológicas miméticas de la hormona somatostatina natural. Además se incluyen agentes tales como la leucovorina, que se utiliza con antídoto de fármacos que descienden los niveles de ácido fólico, o ácido folínico por sí mismo y agentes tales como el acetato de megestrol.

En esta solicitud, los “otros agentes terapéuticos” (1) a (24) que pueden utilizarse en combinación con los productos pro-fármacos de la invención se pueden referir por conveniencia como “compuestos auxiliares”.

Las definiciones, actividades biológicas, preferencias, realizaciones específicas y posologías de cada uno de los tipos de agente terapéutico (compuesto auxiliar) (1) a (24) anteriores se definieron en la anterior solicitud de patente internacional PCT/GB 2007/003864 (número de publicación WO 2008/044029).

En realizaciones de la invención en donde una combinación comprende uno o más compuestos auxiliares, los dichos compuestos auxiliares se seleccionan independientemente de las clases (1) (en particular, los corticosteroides), (4), (6), (7), (8), (10), (11), (12), (16), (17), (18), (22) y (23). Preferentemente, el compuesto(s) auxiliar se selecciona independientemente de las clases (1) a (24) (por ejemplo las clases (1) a (23)) expuestos anteriormente. Más preferentemente, el uno o más compuestos auxiliares se seleccionan independientemente de las clases (1) en particular los corticosteroides, (4), (6), (8), (10), (11), (12), (17), (18), y (23).

En realizaciones de la invención donde una combinación comprende dos o más compuestos auxiliares, entonces los dos o más compuestos auxiliares se seleccionan independientemente preferentemente de las clases (1) a (24) (por

ejemplo las clases (1) a (23)) expuestos anteriormente.

Otras realizaciones de la invención en donde la combinación comprende dos o más compuestos auxiliares (además de los compuestos pro-fármacos de la invención) incluyen:

- una combinación de lenolidamida y talidomida;
- una combinación de dos o más de las clases anteriores seleccionadas independientemente de (1), preferentemente corticosteroides, (12) y (16), preferentemente lenolidamida o talidomida;
- una combinación de dos o más de las clases anteriores seleccionadas independientemente de (1), preferentemente los corticosteroides, (7) y (11).
- una combinación de dos de las clases anteriores (1), preferentemente corticosteroides y (18);
- una combinación de dos de las clases anteriores (17) y (22);
- una combinación de dos de las clases anteriores (10) y (22);
- una combinación de dos o más de las clases anteriores seleccionadas independientemente de (1), preferentemente corticosteroides, (4), (6), (7), (8), (10), (11), (12), (16), (17), (18), (22) y/o (23);
- una combinación de dos o más de las clases anteriores seleccionadas independientemente de (1), preferentemente corticosteroides (4), (6), (8), (10), (11), (12), (17), (18) y/o (23); y
- una combinación de dos o más de las anteriores clases seleccionadas independientemente de (1), preferentemente corticosteroides, (11), (12), (16) y/o (18);

Las combinaciones de un compuesto pro-fármaco de la invención con agentes de platino, taxol, taxotere, gemcitabina, pemetrexed, mitomicina, ifosfamida, vinorelbina, erlotinib, y bevacizumab o combinaciones de un compuesto de la fórmula (I) con carboplatino y taxol o cisplatino y gemcitabina son particularmente adecuados para tratar el cáncer pulmonar de células no pequeñas.

Las combinaciones de un compuesto pro-fármaco de la invención con 5-FU, leucovorin y CPT 11 o una combinación de un compuesto de la fórmula (I) con 5-FU, leucovorin y oxaliplatino, cada uno con bevacizumab son particularmente adecuados para tratar el cáncer de colon.

Son particularmente adecuados para tratar el cáncer de mama las combinaciones de un compuesto pro-fármaco de la invención con (a) anticuerpos monoclonales (por ejemplo, trastuzumab y bevacizumab); (b) anticuerpos monoclonales (por ejemplo, trastuzumab y bevacizumab) y taxanos; y (c) antimetabolitos (por ejemplo, capecitabina) e inhibidores de señalización (por ejemplo lapatinib).

Otras combinaciones adecuadas para tratar el cáncer de mama son las combinaciones de un compuesto pro-fármaco de la invención con 5-FU, doxorubicina y ciclofosfamida, o particularmente, combinaciones de un pro-fármaco de la invención con doxorubicina y ciclofosfamida.

Una combinación particular para su uso en el tratamiento del cáncer de mama HER2 comprende un compuesto pro-fármaco de la invención y lapatinib.

Las combinaciones de un compuesto pro-fármaco de la invención con ciclofosfamida, doxorrubicina (hidroxidaunorrubicina), vincristina, rituximab y prednisona son particularmente adecuadas para tratar el linfoma no Hodgkin (y en particular el linfoma no Hodgkin de alto grado).

Las combinaciones de un compuesto pro-fármaco de la invención con ciclofosfamida, vincristina, rituximab y prednisona son particularmente adecuadas para tratar el linfoma no Hodgkin (y en particular el linfoma no Hodgkin de bajo grado).

Son particularmente adecuadas para el tratamiento del mieloma múltiple las combinaciones de un compuesto pro-fármaco de la invención con (a) anticuerpos monoclonales (por ejemplo, los dirigidos contra interleucina 6); (b) inhibidores del proteosoma (por ejemplo, bortezomib); (c) inhibidores del proteosoma y corticosteroides (por ejemplo, velcade y dexametasona); y (d) corticosteroides, agentes alquilantes y lenalidomida/talidomida (por ejemplo, prednisolona, melfalán y talidomida).

Son combinaciones específicas adecuadas para el tratamiento del mieloma múltiple, las combinaciones de un compuesto pro-fármaco de la invención con vincristina, doxorrubicina, talidomida y dexametasona.

Las combinaciones de un compuesto pro-fármaco de la invención con fludarabina y rituximab son particularmente adecuadas para tratar la leucemia linfocítica crónica.
Son particularmente adecuadas para tratar el melanoma las combinaciones de un compuesto pro-fármaco de la invención con (a) inhibidores de la ADN metilasa/agentes hipometilantes (por ejemplo temozolamida); (b) agentes alquilantes (por ejemplo, dacarbazina o fotemustina); y (c) inhibidores de la ADN metilasa/ agentes hipometilantes (por ejemplo, temozolamida) e inhibidores de reparación de ADN/ inhibidores PARP.

Son particularmente adecuadas para tratar los tumores del estroma gastrointestinal (GIST) las combinaciones de los compuestos pro-fármacos de la invención con un agente auxiliar seleccionado de entre imatinib, nilotinib, dasatinib y sunitinib.

Son particularmente adecuadas para tratar el cáncer de próstata las combinaciones de un compuesto pro-fármaco de la invención con hormonas e inhibidores del receptor acoplado a proteína G.

Son particularmente adecuadas para tratar el cáncer pulmonar de células no pequeñas (NSCLC) las combinaciones de un compuesto pro-fármaco de la invención con (a) compuestos de platino y taxanos; (b) compuestos de platino y antimetabolitos; (c) gefitinib y/o cetuximab.

Una combinación particular para su uso en el tratamiento de NSCLC comprende un pro-fármaco de la invención y gefitinib y/o cetuximab.

Para el tratamiento del cáncer (y en particular la leucemia mieloide aguda), se pueden utilizar dos o más agentes anti-cáncer seleccionados independientemente de dos o más de entre antracina, AraC (también denominada Citarabina), 6-mercaptopurina, tiopurina, metotrexato, mitoxantrona, daunorrubicina, idarrubicina, gemtuzumab, ozogamicina y factores estimulantes de colonias de granulocitos en combinación con los compuestos pro-fármacos de la invención. De manera alternativa, los dos o más agentes anticáncer se pueden seleccionar independientemente de dos o más de entre antracina, Ara C (también denominada Citarabina), daunorrubicina, idarrubicina, gemtuzumab ozogamicina y factores estimulantes de colonias de granulocitos.

Para el tratamiento del cáncer (y en particular el cáncer de mama) se pueden utilizar dos o más agentes anticáncer seleccionados independientemente de entre bevacizumab, taxanos, metotrexato, paclitaxel, docetaxel, gemcitabina, anastrozol, exemestano, letrozol, tamoxifeno, doxorrubicina, herceptina, 5-fluorouracilo, ciclofosfamida, epirrubicina y capecitabina, particularmente 5-FU, metotrexato y ciclofosfamida; se pueden utilizar 5FU, doxorrubicina y ciclofosfamida; o doxorrubicina y ciclofosfamida en combinación con los compuestos pro-fármacos de la invención. Preferentemente, para el tratamiento del cáncer (y en particular el cáncer de mama) los dos o más agentes anticáncer se pueden seleccionar también independientemente de entre taxanos, metotrexato, paclitaxel, docetaxel, gemcitabina, anastrozol, exemestano, letrozol, tamoxifeno, doxorrubicina, Herceptin, 5-fluorouracilo, ciclofosfamida, epirrubicina, y capecitabina, particularmente 5-FU, metotrexato, y ciclofosfamida; 5-FU, doxorrubicina y ciclofosfamida; o doxorrubicina y ciclofosfamida.

Para el tratamiento del cáncer (y en particular la leucemia linfocítica crónica (CLL)), se pueden utilizar dos o más agentes anticáncer seleccionados independientemente de alemtuzumab, clorambucilo, ciclofosfamida, almentuzumab, vincristina, prednisolona, fludarabina, mitoxantrona y rituximab/rituxamab, particularmente fludarabina y rituximab, en combinación con los compuestos pro-fármacos de la invención. Preferentemente, para el tratamiento del cáncer (y en particular la leucemia linfocítica crónica (CLL)), los dos o más agentes anticáncer se seleccionan independientemente de entre clorambucilo, ciclofosfamida, vincristina, prednisolona, fludarabina, mitoxantrona y rituximab/rituxamab.

Para el tratamiento del cáncer (y en particular la leucemia mieloide crónica (CML)) se pueden utilizar dos o más agentes anticáncer seleccionados independientemente de entre hidroxiurea, citarabina, dasatinib, nilotinib e imatinib en combinación con los compuestos pro-fármacos de la invención.

Para el cáncer (y en particular el tratamiento del cáncer de colon), se pueden utilizar dos o más agentes anticáncer seleccionados independientemente de entre cetuximab, 5-Fluorouracilo, pantumab, leucovorin, irinotecan, oxaliplatino, raltitrexed, capecitabina, bevacizumab, oxaliplatino, CPT 11, particularmente 5-Fluorouracil, Leucovorin y CPT 11 o Fluorouracilo, Leucovorin y Oxaliplatino en combinación con compuestos pro-fármacos de la invención.

De manera alternativa, para el cáncer (y en particular el tratamiento del cáncer de colon), se pueden utilizar dos o más agentes anticáncer seleccionados independientemente de entre 5-Fluorouracilo, leucovorin, irinotecan, oxaliplatino, raltitrexed, capecitabina, bevacizumab, oxaliplatino, CPT 11 y particularmente 5-Fluorouracilo, Leucovorin y CPT 11 o Fluorouracilo, Leucovorin y Oxaliplatino en combinación con compuestos pro-fármacos de la invención.

Para el cáncer (y en particular el tratamiento del mieloma múltiple), se pueden utilizar dos o más agentes anticáncer seleccionados independientemente de entre vincristina, doxorrubicina, dexametasona, melfalán, prednisona, ciclofosfamida, etopósido, pamidronato, talidomida, zoledronato y bortezomib, particularmente vincristina, doxorrubicina y dexametasona en combinación con compuestos pro-fármacos de la invención.

Para el cáncer (y en particular el tratamiento del linfoma no Hodgkin), se pueden utilizar dos o más agentes anticáncer seleccionados independientemente de entre ciclofosfamida, doxorrubicina/hidroxidaunorrubicina, vincristina/Onco-TCS (V/O), prednisolona, metotrexato, citarabina, bleomicina, etopósido, rituximab/rituxamab, fludarabina, cisplatino, e ifosfamida, particularmente ciclofosfamida, doxorrubicina (hidroxidaunorrubicina), vincristina y prednisona para NHL de alto grado o ciclofosfamida, vincristina y prednisona para NHL de bajo grado en combinación con los compuestos pro-fármacos de la invención.

Para el tratamiento del cáncer (y en particular del cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)), se pueden utilizar dos o más agentes anticáncer seleccionados independientemente de entre bevacizumab, gefitinib, erlotinib, cisplatino, carboplatino, mitomicina, vinblastina, paclitaxel, docetaxel, gemcitabina y vinorelbina, especialmente taxol y carboplatino o gemcitabina and cisplatino, en combinación con los compuestos pro-fármacos de la invención.

Para el tratamiento del cáncer (y en particular el cáncer ovárico) se pueden utilizar dos o más agentes anticáncer seleccionados independientemente de entre compuestos de platino (por ejemplo, cisplatino, carboplatino), doxorrubicina, doxorrubicina liposomal, paclitaxel, docetaxel, gemcitabina, melfalán y mitoxantrona, en combinación con los compuestos pro-fármacos de la invención.

Para el tratamiento del cáncer (y en particular en el cáncer de próstata) se pueden utilizar dos o más agentes anticáncer seleccionados independientemente de entre mitoxantrona, prednisona, buserelina, goserelina, bicalutamida, nilutamida, flutamida, acetato de ciproterona, megestrol/megestrel, dietilestilbestrol, docetaxel, paclitaxel, ácido zolendrónico, prednisolona y taxotere en combinación con los compuestos pro-fármacos de la invención.

En una realización particularmente preferida, el compuesto pro-fármaco de la invención se administra en combinación con uno o más agentes auxiliares seleccionados de entre cisplatino, bortezomib, erlotinib, paclitaxel, trastuzumab, y citarabina.

Para el caso de los inhibidores de Hsp90 combinados con otras terapias, los dos o más tratamientos se pueden dar en pautas de dosis variables individualmente y por medio de diferentes vías.

Cuando el compuesto se administra en terapia de combinación con uno, dos, tres, cuatro o más agentes terapéuticos (preferentemente uno o dos, más preferentemente uno), los compuestos se pueden administrar simultáneamente o secuencialmente. Cuando se administran secuencialmente, se pueden administrar en intervalos espaciados por poco tiempo (por ejemplo en un periodo de 5-10 minutos) o en intervalos más largos (por ejemplo 1, 2, 3, 4, o más horas, o incluso periodos más largos si es necesario), el régimen de dosificación preciso será proporcional a las propiedades del agente(s) terapéutico.

Los compuestos de la invención también se pueden administrar en conjunción con tratamientos no quimioterápicos tales como radioterapia, terapia fotodinámica, terapia genética, cirugía y dietas controladas.

Para su uso en terapia de combinación con otro agente quimioterápico, el compuesto y uno, dos, tres, cuatro o más agentes terapéuticos pueden por ejemplo, formularse juntos en una forma de dosificación que contiene dos, tres, cuatro o más agentes terapéuticos, En una alternativa, los agentes terapéuticos individuales se pueden formular separadamente y presentarse juntos en forma de un kit, opcionalmente con instrucciones para su uso.

Un experto en la técnica sabría por medio de su conocimiento común general los regímenes de dosificación y las terapias de combinación a utilizar.

En otros aspectos más de la invención, se proporciona:

- una combinación (por ejemplo para su uso en el tratamiento de un cáncer pulmonar de células no pequeñas) que comprende (2,4-dihidroxi-5-isopropilfenil)-[5-(4-methil-piperazin-1-ilmetil)-1, 3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, L-lactato) y un agente auxiliar seleccionado de entre gefitinib y/o cetuximab;

- una combinación (por ejemplo para su uso en el tratamiento de tumores del estroma gastrointestinal (GIST)) que comprende (2,4-dihidroxi-5-isopropilfenil)-[5-(4-methil-piperazin-1-ilmetil)-1 ,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, L-lactato) y imatinib, nilotinib, dasatinib y sunitinib;

- una combinación (por ejemplo para su uso en el tratamiento del cáncer de mama HER2) que comprende (2,4-dihidroxi-5-isopropilfenil)-[5-(4-methil-piperazin-1-ilmetil)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, L-lactato) y lapatinib; y

- una combinación (por ejemplo para su uso en el tratamiento de leucemia mieloide aguda) que comprende (2,4-dihidroxi-5-isopropilfenil)-[5-(4-methil-piperazin-1-ilmetil)-1, 3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, L-lactato) y un agente auxiliar seleccionado de entre

daunorrubicina e idarrubicina.

Los regímenes de dosificación, formulaciones y protocolos de administración de las combinaciones anteriores que comprenden (2,4-dihidroxi-5-isopropilfenil)-[5-(4-methil-piperazin-1-ilmetil)-1, 3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, L-lactato) pueden ser, como lo que se ha expuesto anteriormente en cuanto a los regímenes de dosificación, formulaciones y protocolos de administración para los compuestos pro-fármacos, o como los que se exponen en el documento WO 2008/044027.

El compuesto (2,4-dihidroxi-5-isopropilfenil)-[5-(4-methil-piperazin-1-ilmetil)-1, 3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona se puede preparar como se describe en el documento WO 2006/1090985 y el L-lactato y otras sales se pueden preparar como se describe en el documento WO 2008/044034.

Métodos de diagnóstico

Antes de la administración de un compuesto, se tiene que explorar a un paciente para determinar si la enfermedad o afección que el paciente padece o puede estar padeciendo es susceptible al tratamiento con un compuesto que tenga actividad contra Hsp90.

Se puede analizar, por ejemplo, una muestra biológica tomada de un paciente para determinar si una afección o enfermedad, tal como un cáncer, que el paciente padece o puede estar padeciendo se caracteriza por una anormalidad o expresión anormal de una proteína que da lugar a la mutación o sobre-activación de una proteína cliente de la Hsp90. Ejemplos de tales anormalidades que dan como resultado la activación de proteínas clientes de la Hsp90 incluyen; translocación Bcr-ABL, duplicación interna Flt-3, y mutación de Braf o ErbB2.

Por lo tanto, el paciente puede someterse a ensayos diagnósticos para detectar una característica marcadora de regulación positiva. El término diagnóstico incluye el diagnóstico por imagen. Por marcador los inventores incluyen marcadores genéticos incluyendo, por ejemplo, la medición de la composición de ADN para identificar mutaciones de Braf, BCR-abl, y Flt3 u otras proteínas clientes. El término marcador también incluye proteínas tales como ErbB2, incluyendo niveles o concentraciones de proteínas o algunos fragmentos o productos de degradación y por las enzimas, la actividad enzimática. También pueden evaluarse la proteína (por ejemplo, si está fosforilada o no) y los niveles de ARNm de las proteínas mencionadas anteriormente para caracterizar un cambio de actividad. Por ejemplo, el nivel de AKT fosforilada puede ser un indicador de la sensibilidad a los inhibidores de HSP90. Los ensayos diagnósticos se llevan a cabo típicamente sobre una muestra biológica seleccionada de entre, por ejemplo, una muestra de biopsia tumoral, muestras de sangre (aislamiento y enriquecimiento de células tumorales desprendidas), biopsias de heces, esputos, análisis cromosómicos, fluido pleural, fluido peritoneal, biopsias o raspados bucales u orina.

El proceso de exploración implicará típicamente la secuenciación directa, análisis de micromatrices de oligonucleótidos o proteínas, análisis proteómico por espectrometría de masas, técnicas inmunohistoquímicas o detección utilizando un anticuerpo específico.

Los métodos de identificación y análisis de mutaciones y la regulación positiva de proteínas son bien conocidos por un experto en la técnica. Los métodos de exploración podían incluir, pero sin limitarse a, métodos de referencia tales como reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR), hibridación in-situ o inmunotransferencia.

En la exploración por RT-PCR, el nivel de ARNm en el tumor se evalúa creando una copia de ADNc del ARNm y a continuación se amplifica el ADNc por PCR. Los métodos de amplificación por PCR, la selección de cebadores, y las condiciones para la amplificación se conocen bien por los expertos en la técnica. Las manipulaciones y PCR se llevan a cabo por métodos de referencia como se describen por ejemplo en Ausubel, F.M. y col., eds. Current Protocols in Molecular Biology, 2004, John Wiley & Sons Inc., o Innis, M.A. y col., eds. PCR Protocols: a guide to methods and applications, 1990, Academic Press, San Diego. Las reacciones y manipulaciones que implican técnicas de ácido nucleico también se describen Sambrook y col., 2001, 3ª Ed, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press. De manera alternativa se puede utilizar un kit para RT-PCR disponible comercialmente (por ejemplo, Roche Molecular Biochemicals) o la metodología que se muestra en las patentes de Estados Unidos 4.666.828; 4.683.202; 4.801.531; 5.192.659. 5.272.057. 5.882.864 y 6.218.529 y que se incorporan en el presente documento por referencia.

Un ejemplo de una técnica de hibridación in situ para evaluar la expresión de ARNm sería la hibridación in situ fluorescente (FISH) (véase Angerer, 1987 Meth. Enzymol., 152: 649).

En general, la hibridación in situ comprende los siguientes etapas principales: (1) fijación del tejido que se va a analizar; (2) tratamiento de prehibridación de la muestra para aumentar la accesibilidad del ácido nucleico diana, y para reducir las uniones no específicas; (3) hibridación de la mezcla de ácidos nucleicos con el ácido nucleico en la estructura biológica o tejido; (4) lavado post-hibridación para eliminar los fragmentos de ácido nucleico no unidos en la hibridación, y (5) detección de los fragmentos de ácido nucleico hibridado. Las sondas que se utilizan en tales

aplicaciones típicamente están marcadas, por ejemplo, con radioisótopos o indicadores fluorescentes. Las sondas preferidas son suficientemente largas, por ejemplo desde aproximadamente 50, 100 o 200 nucleótidos a aproximadamente 1.000 o más nucleótidos, para permitir la hibridación específica con el ácido nucleico diana bajo condiciones estrictas. Las sondas FISH disponibles comercialmente también existen para la detección citogenética de reordenaciones cromosómicas, que se pueden utilizar para detectar productos de fusión Bcr-Abl en las poblaciones celulares de leucemia. Los métodos de referencia para llevar a cabo la FISH se describen en Ausubel, F.M. y col., eds. Current Protocols in Molecular Biology, 2004, John Wiley & Sons Inc y Fluorescence In Situ Hybridization: Technical Overview by John M. S. Bartlett in Molecular Diagnosis of Cancer, Methods and Protocols, 2ª ed.; ISBN: 1-59259-760-2; Marzo 2004, pps. 077-088; Serie: Methods in Molecular Medicine.

Los métodos para el perfil de la expresión génica se han descrito en DePrimo y col., BMC Cancer 2003, 3:3. Brevemente, el protocolo es el siguiente: el ADNc de doble cadena se sintetiza a partir del ARN total utilizando un oligómero (dT)24 para cebar la síntesis de la primera cadena de ADNc, y a continuación se sintetiza la segunda cadena del ADNc con cebadores hexámeros aleatorios. El ADNc de doble cadena se utiliza como matriz para la transcripción de ARNc in vitro utilizando ribonucleótidos biotinilados. El ARNc se fragmenta químicamente según los protocolos descritos por Affymetrix (Santa Clara, CA, EE. UU.), y luego se hibridan durante una noche en matrices de genoma humano.

De manera alternativa, los productos proteicos expresados por los ARNm pueden ensayarse por inmunohistoquímica de las muestras tumorales, inmunoensayo en fase sólida con placas microtiter, transferencia de Western, electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS bidimensional, ELISA, citometría de flujo y otros métodos conocidos en la técnica para detección de proteínas específicas. Los métodos de detección incluirían el uso de anticuerpos específicos del sitio. El experto reconocerá todas esas técnicas bien conocidas de detección del “cromosoma filadelfia” indicativas de translocación bcr-ABL.

Por lo tanto, todas estas técnicas podrían también utilizarse para identificar tumores particularmente adecuados para el tratamiento con los compuestos de la invención.

Ejemplos

La invención se ilustrará ahora, pero sin limitación, por referencia a las realizaciones específicas que se describen en los siguientes ejemplos.

En los ejemplos, pueden usarse las siguientes abreviaturas.

AcOH	Ácido acético
BOC	*terc*-butiloxicarbonilo
Bn	bencilo
CDI	1,1-carbonildiimidazol
DMAW90	Mezcla de disolventes: DCM: MeOH, AcOH, H_2O (90:18:3:2)
DMAW120	Mezcla de disolventes: DCM: MeOH, AcOH, H_2O (120:18:3:2)
DMAW240	Mezcla de disolventes: DCM: MeOH, AcOH, H_2O (240:20:3:2)
DCM	diclorometano
DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
EDC	1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)-carbodiimida
Et_3N	trietilamina
EtOAc	acetato de etilo
Et_2O	éter dietílico
h	hora u horas
HOAt	1-hidroxiazabenzotriazol
HOBt	1-hidroxibenzotriazol
MeCN	acetonitrilo
MeOH	metanol
min.	minutos
P.E.	éter de petróleo
t.a.	temperatura ambiente
SiO_2	sílice
TBTU	Tetrafluoroborato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(benzotriazol-1-il)uronio
THF	tetrahidrofurano

Se registraron espectros de resonancia magnética nuclear de protón (RMN ^{1}H) en un instrumento Bruker AV400 funcionando a 400,13 MHz, en DMSO-d_6 o MeOH-d_4 (según se indicó) a 27 ºC, a menos que se indique otra cosa y se indican de la siguiente manera: desplazamiento químico δ/ppm (número de protones, las multiplicidades fueron s = singlete, d = doblete, t = triplete, c = cuadruplete, m = multiplete, a = ancho). El disolvente prótico residual se usó como la referencia interna.

En los ejemplos, los compuestos preparados se caracterizaron por cromatografía líquida y espectroscopía de masas usando el sistema preparativo de CL-EM Agilent y las condiciones de funcionamiento que se exponen más adelante. Cuando se presentan átomos con isótopos diferentes y se indica una sola masa, la masa indicada para el compuesto es la masa monoisotópica (es decir ^{35}Cl; ^{79}Br etc.).

Sistema preparativo de CL-EM Agilent 1100:

Hardware:

Automuestreador: 1100 series "prepALS"

Bomba: 1100 series "PrepPump" para gradiente de flujo preparativo y 1100 series "QuatPump" para modificador de bombeo en flujo prep.

Detector UV: 1100 series "MWD" Multi Wavelength Detector (detector de longitudes de onda múltiple)
Detector EM: 1100 series "LC-MSD VL"

Recogedor de fracciones: 2 x "Prep-FC"

Bomba de preparación: "Waters RMA"

Agilent Active Splitter

Software:

Chemstation: Chem32

Condiciones de funcionamiento de EM Agilent:

Voltaje del capilar:	4000 V (3500 V en EN Negativa)
Fragmentador/Ganancia:	150/1
Flujo de gas de secado:	13,0 l/min
Temperatura del Gas:	350 ºC
Presión del nebulizador:	50 psig (0,34 MPa)
Rango de exploracion:	125-800 uma
Modo de ionización:	Electronebulización Positiva o Electronebulización negativa

Método de ácido:

Phenomenex Synergy MAX-RP, 10 µ, 100 x 21,2 mm

Disolvente A: H_2O + ácido trifluoroacético al 0,1 %,

Disolvente B: CH_3CN + ácido trifluoroacético al 0,1 %

Método básico:

Waters XBridge C18, 5 µ, 100 x 19 mm

Disolvente A: H_2O + NH_4HCO_3 10 mM + NH40H, pH = 9,2

Disolvente B: CH_3CN

Disolvente de preparación:

MeOH + Ácido fórmico al 0,2 % (para ambos tipos de cromatografía)

Métodos:

Para determinar las condiciones óptimas para HPLC preparativa, se realizó inicialmente CL-EM usando el tipo de cromatografía (pH bajo o alto) más adecuado para la estructura de compuesto en particular. Una vez se identificaron un conjunto de condiciones que dieron cromatografía, se seleccionó un método preparativo adecuado del mismo tipo. Las condiciones de funcionamiento típicas para los métodos de cromografía de pH bajo y alto fueron:

Caudal: 24 ml/min

Gradiente: Generalmente todos los gradientes tuvieron una etapa inicial de 0,4 min con A al 95 % + B al 5 %. Después, de acuerdo con una traza analítica, se seleccionó un gradiente de 3,6 min para conseguir una buena separación (por ejemplo, de B del 5 % al 50 % para compuestos de retención temprana; de B del 35 % al 80 % para compuestos de retención media y así sucesivamente)

Lavado: Al final del gradiente se realizó una etapa de lavado de 1,2 minutos

Reequilibrado: Se realizó una etapa de reequilibrado de 2,1 minutos para preparar el sistema para el siguiente ciclo

Caudal de preparación: 1 ml/min

Disolvente:

Todos los compuestos se disolvieron normalmente en MeOH al 100 % o DMSO al 100 %

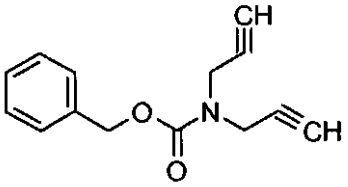
A partir de la información proporcionada un experto en la materia podría purificar los compuestos descritos en el presente documento por CL preparativa-EM.

Preparación de intermedios

Preparación A1

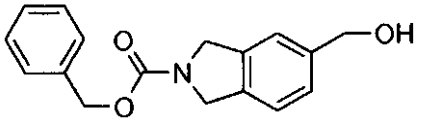
Triclorhidrato de 5-(4-metilpiperazin-1-ilmetilo)-2,3-dihidro-1H-isoindol

Etapa 1: Éster bencílico del ácido di-prop-2-inil-carbámico



A una solución enfriada (0 ºC) de dipropargilamina (46,7 g, 502 mmol) en EtOAc (200 ml) y K_2CO_s acuoso al 10 % (700 ml, 507 mmol) se le añadió lentamente una solución de N-(benciloxicarboniloxi)succinimida (125 g, 502 mmol) en EtOAc (500 ml) durante 20 min. La solución se agitó a 0 ºC durante 2 h, después a TA 16 h. Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con K_2CO_3 acuoso al 10 % (700 ml, 507 mmol) y después con salmuera saturada (500 ml) y se diluyó a 1000 ml con EtOAc para dar una solución 00,5 M.

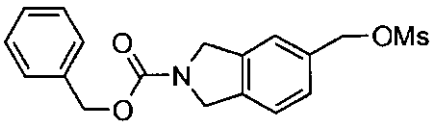
Etapa 2: Éster bencílico del ácido 5-hidroximetil-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico



Una solución de propargil alcohol (26,4 ml, 424 mmol) en tolueno (120 ml) se desgasificó. La solución 0,5 M de diina anterior (440 ml, 220 mmol) se evaporó y el residuo se disolvió en tolueno (80 ml). Esta solución de diina protegida y catalizador de Wilkinson (2,26 g, 2,44 mmol, 1,11 %) se añadieron en 14 porciones iguales durante un periodo de 2 h con supervisión constante de la temperatura interna de manera que la temperatura permaneció a 50-100 ºC. La solución se dejó enfriar a 50 ºC durante 30 min, momento en el que la solución se evaporó (para retirar exceso de propargil alcohol). El residuo se calentó con tolueno (500 ml) y carbón vegetal (Darco, malla 4-12, 20 g) a 100 ºC durante 30 min y después se filtró en caliente a través de un lecho de Celite y la solución de color pardo se evaporó. El residuo se disolvió en EtOAc (400 ml) a 80 ºC, momento en el que se añadió gel de sílice (calidad de cromatografía, 65

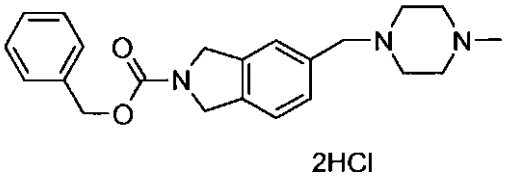
g) y se continuó calentando durante 20 min. La solución se filtró mientras estaba caliente y después se evaporó (con siembra) para dar un sólido de color pardo pálido. Se añadió EtOAc al 10 %/heptano (v/v, 100 ml) y el sólido se retiró por filtración. El sólido se lavó en el sinterizador con heptano (100 ml) y se secó (50 ºC, bomba de aceite, 16 h) para dar el compuesto del título 59,0 g (95 %). RMN ^{1}H (400 MHz, Me-d3-OD): 7,51-7,16 (m, 8H), 5,21 (s, 2H), 4,74 (s, 2H), 4,70 (s, 2H), 4,61 (s, 2H).

Etapa 3: Éster bencílico del ácido 5-metanosulfoniloximetil-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico



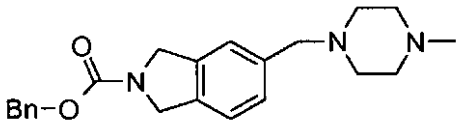
A una solución de éster bencílico del ácido 5-hidroximetil-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico (65,75 g, 0,232 mol) en THF (470 ml) y EtOAc (770 ml) se le añadió Et_3N (39 ml, 0,28 mol). La solución se enfrió en un baño de hielo y se añadió una solución de cloruro de metanosulfonilo (19 ml, 0,245 mol) disuelto en EtOAc (50 ml) (de manera que la temperatura interna <12 ºC). Después de agitar durante 2 h en el baño de hielo, se hicieron adiciones adicionales de cloruro de metanosulfonilo (1,9 ml y 0,95 ml) y Et_3N (3,9 ml) (de manera que según la tlc no quedaba material de partida después de 1 h más de agitación). Se añadió $NaHCO_3$ (550 ml) y la solución se agitó durante 20 min, después se añadió salmuera saturada (200 ml) y las fases se separaron. La fase orgánica se secó ($MgSO_4$) y se evaporó con sembrado para dar un sólido húmedo que se usó en la siguiente etapa sin secado minucioso.

Etapa 4: Sal diclorhidrato del éster bencílico del ácido 5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxílico



El sólido de la Etapa 3 (asumido 0,232 mol) se disolvió en acetona (700 ml) y esta solución se añadió durante 45 min a una suspensión enfriada (temp. interna 15-17 ºC) de K_2CO_3 (48 g) y N-metilpiperazina (50 ml, 0,45 mol) en acetona (330 ml). La suspensión se agitó a 15 ºC durante 3 h (la retirada completa del material de partida por tlc), momento en el que la solución se evaporó a un pequeño volumen y el residuo se repartió entre EtOAc (1000 ml) y una mezcla de agua (500 ml) y salmuera saturada (50 ml). La fase orgánica se lavó con una mezcla de agua (500 ml) y salmuera saturada (150 ml) y finalmente se lavó con salmuera saturada (300 ml). La solución se secó ($MgSO_4$) y se filtró y a esta solución se le añadió HCl 1 M en MeOH (430 ml, 0,43 mol). La suspensión se enfrió (0 ºC durante 30 min) y el sólido se retiró por filtración, se lavó con EtOAc y después heptano en el sinterizador, y el sólido se secó (bomba de aceite, TR 72 h) para dar el cultivo 1 del compuesto del título 66,34 g (65 %) en forma de un sólido incoloro. RMN ^{1}H (400 MHz, Me-d3-OD): 7,64-7,51 (m, 2H), 7,51-7,29 (m, 6H), 5,23 (s, 2H), 4,79 (dd, J = 16,2, 6,1 Hz, 4H), 4,49 (s, 2H), 3,66 (s, 8H), 3,03 (s, 3H).

Etapa alternativa 4A: Diclorhidrato de éster bencílico del ácido 5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-iso-indol-2-carboxílico

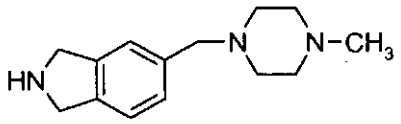


La Etapa 4A puede usarse como una ruta alternativa para reemplazar a las etapas 3 y 4 anteriores.

A una suspensión de dióxido de manganeso (15,5 g, 178 mmol) en DCM (100 ml) se le añadió éster bencílico del ácido 5-hidroximetil-1,3- dihidro-isoindol-2-carboxílico (3,35 g, 11,8 mmol) y después de 6 h de agitación a TA, se realizó una adición adicional de dióxido de manganeso (5 g, 57 mmol). Después de 1 h más de agitación a TA, Se añadió Celite (7 g) y la solución se filtró a través de un lecho de Celite™, dando una solución de color amarillo pálido transparente. El Celite™ se lavó con DCM y el volumen de la solución orgánica combinada se ajustó a 100 ml por evaporación. Se añadieron N-metilpiperazina (1,31 ml, 11,8 mmol) y ácido acético (0,68 ml), seguido de triacetoxiborohidruro sódico (4,98 g, 23,5 mmol). La solución de color amarillo se agitó durante 16 h, dando una solución incolora. A la solución se le añadió HCl 2 M (10 ml, 20 mmol), dando una efervescencia. Después de 30 min, se añadieron agua (10 ml) y K_2CO_3 (5,5 g, 39,8 mmol) y la fase orgánica se secó (Na_2SO_4). Después de la filtración, se añadió HCl 4 M en dioxano (6 ml)

con agitación y la suspensión se evaporó a sequedad. El residuo se disolvió en MeOH con calentamiento y después de la evaporación, el sólido se lavó en un sinterizador con EtOAc, después petróleo (pe 40-60 ºC), seguido de secado al vacío a 50 ºC para dar el compuesto del título 3,61 g (70 %). RMN ^{1}H (400 MHz, Me-d3- OD): 7,65-7,51 (2H, m), 7,51-7,27 (6H, m), 5,23 (2H, s), 4,83-4,69 (4H, m), 4,49 (2H, s), 3,66 (8H, d), 3,03 (3H, s)

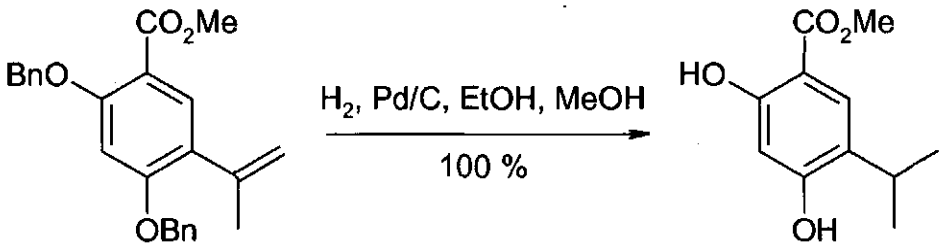
Etapa 5: Triclorhidrato de 5-(4-metilpiperazin-1-ilmetilo)-2,3-dihidro-1H-isoindol



Se añadió paladio al 10 % sobre carbono (300 mg) a una suspensión de 5-(4-metilpiperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carboxilato de bencilo (3,65 g, 10,0 mmol) en metanol (50 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de hidrógeno durante 5 horas. El catalizador se retiró por filtración, se aclaró con metanol (2 x 5 ml) y los filtrados combinados se trataron con una solución saturada de gas de cloruro de hidrógeno en acetato de etilo (20 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y el material volátil y el disolvente se retiraron al vacío para proporcionar triclorhidrato de 5-(4-metilpiperazin-1-ilmetilo)-2,3-dihidro-1H-isoindol (3,39 g, 99 %) en forma de un sólido de color blanquecino. RMN ^{1}H (MeOH-d_4) 7,73 (1H, s), 7,68 (1H, d), 7,57 (1H, d), 4,72 (2H, s), 4,70 (2H, s), 4,52 (2H, s), 3,70 (8H, s a), 3,02 (3H, s). EM: $[M+H]^+$ 232.

Preparación A2

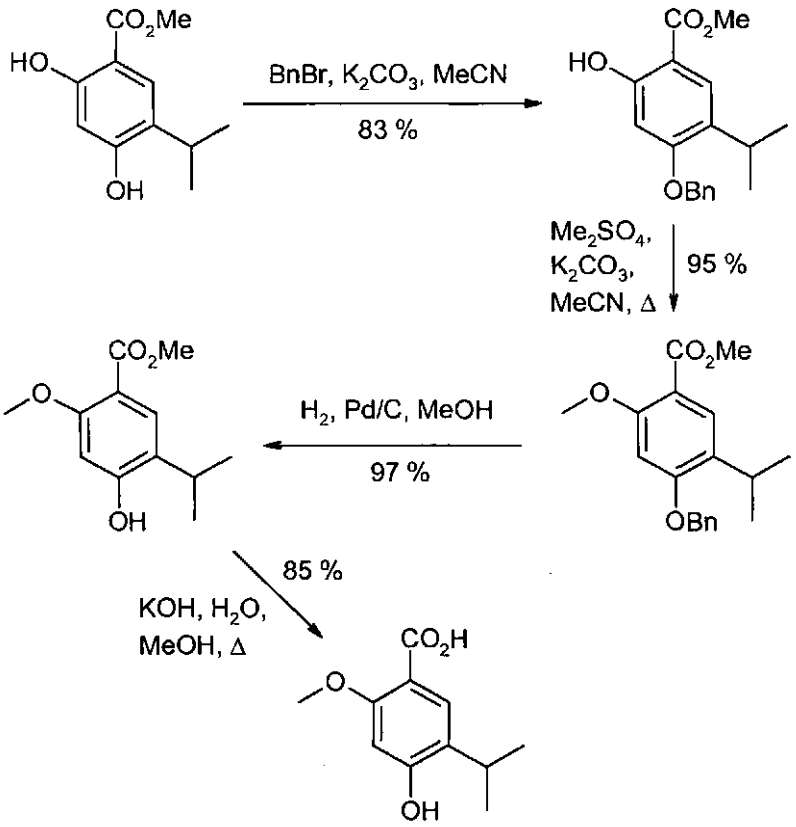
2,4-Dihidroxi-5-isopropilbenzoato de metilo



Se añadió paladio al 10 % sobre carbono (350 mg) a una suspensión de 2,4-bis-benciloxi-5-isopropenilbenzoato de metilo [preparada como por el documento WO 2006/109085 A1] (3,88 g, 10,0 mmol) en etanol (30 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de hidrógeno durante 1 hora. Se añadió metanol (20 ml) para ayudar a la disolución y la mezcla se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de hidrógeno durante 16 horas. La mezcla se filtró, el catalizador se aclaró con metanol (3 x 20 ml) y los filtrados combinados se evaporaron al vacío para proporcionar 2,4-dihidroxi- 5-isopropilbenzoato de metilo (2,10 g, 100 %) en forma de un sólido incoloro. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 10,54 (1 H, s), 10,44 (1 H, s a), 7,52 (1 H, s), 6,37 (1 H, s), 3,85 (3H, s), 3,08 (1 H, m), 1,13 (6H, d). EM: $[M+H]^+$ 211.

Preparación A3

Ácido 4-hidroxi-5-isopropil-2-metoxibenzoico



Una mezcla de 2,4-dihidroxi-5-isopropilbenzoato de metilo (1,05 g, 5,0 mmol) y carbonato potásico anhídrido (828 mg, 6,0 mmol) en acetonitrilo (25 ml) se trató con bromuro de bencilo (0,655 ml, 5,5 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se trató con agua (50 ml). El material sólido se recogió por filtración por succión, se aclaró con agua (2 x 50 ml) y se secó por succión a presión reducida para proporcionar 4-benciloxi-2-hidroxi-5-isopropilbenzoato de metilo (1,25 g, 83 %) en forma de agujas incoloras. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 10,68 (1 H, s a), 7,57 (1 H, s), 7,48-7,40 (4H, m), 7,34 (1 H, m), 6,64 (1 H, s), 5,20 (2H, s), 3,87 (3H, s), 3,18 (1 H, m), 1,17 (6H, d). EM: $[M+H]^+$ 301.

Se añadieron carbonato potásico anhidro (450 mg, 3,26 mmol) y dimetil sulfato (0,25 ml, 2,64 mmol) se añadieron a una suspensión de metil 4-benciloxi-2-hidroxi-5-isopropilbenzoato (650 mg, 2,17 mmol) en acetonitrilo (20 ml) y la mezcla se agitó y se mantuvo a reflujo durante 16 horas. Después de la refrigeración a temperatura ambiente el disolvente se retiró al vacío y el residuo se acidificó mediante la adición de 2 M ácido clorhídrico (20 ml). El material orgánico se extrajo con acetato de etilo (2 x 30 ml) y los extractos orgánicos combinados se evaporaron al vacío para proporcionar 4-benciloxi-5- isopropil-2-metoxibenzoato de metilo (644 mg, 95 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 7,56 (1H, s), 7,50 (2H, d), 7,43 (2H, t), 7,37 (1 H, t), 6,80 (1 H, s), 5,26 (2H, s), 3,83 (3H, s), 3,75 (3H, s), 3,19 (1 H, m), 1,17 (6H, d). EM: $[M+H]^+$ 315.

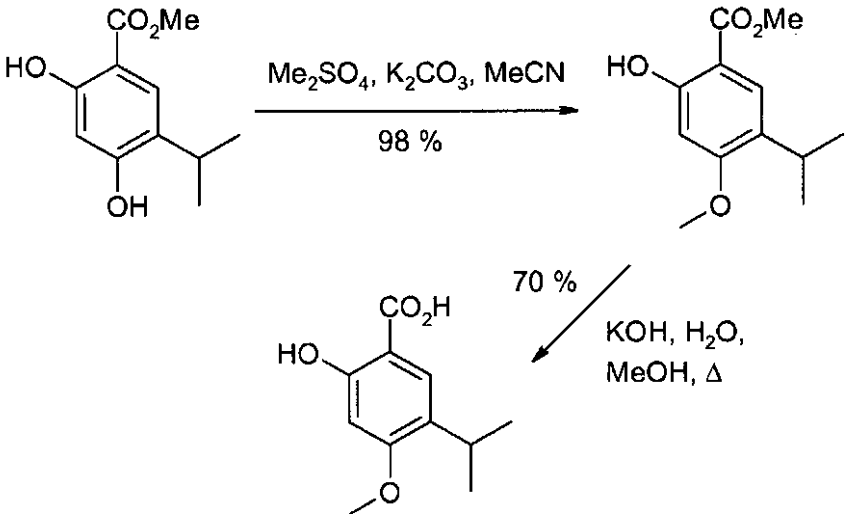
Se añadió paladio al 10 % sobre carbono (80 mg) a una suspensión de 4-benciloxi-5-isopropil-2-metoxi- benzoato de metilo (624 mg, 1,99 mmol) en metanol (16 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de hidrógeno durante 3 horas. La mezcla se filtró, el catalizador se aclaró con metanol (3 x 5 ml) y los filtrados combinados se evaporaron al vacío para proporcionar 4-hidroxi-5-isopropil-2-metoxibenzoato de metilo (432 mg, 97 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 10,18 (1 H, s a), 7,52 (1 H, s), 6,52 (1H, s), 3,73 (3H, s), 3,71 (3H, s), 3,11 (1 H, m), 1,14 (6H, d). EM: $[M+Na]^+$ 247.

Se añadió hidróxido potásico acuoso (50 % p/v, 0,5 ml) a una suspensión de 2-hidroxi-5-isopropil- 4-metoxibenzoato de metilo (418 mg, 1,87 mmol) en metanol (4 ml) y agua (2 ml), y la mezcla se agitó y se mantuvo a reflujo durante 4 horas. Después de la refrigeración a temperatura ambiente, el disolvente orgánico se retiró al vacío y el residuo se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico 2 M (10 ml). El material sólido se recogió por filtración por succión, se aclaró con agua (2 x 10 ml) y se secó por succión a presión reducida para proporcionar ácido 4-hidroxi-5-isopropil-2-metoxibenzoico (332 mg, 85 %) en forma de un sólido de color blanquecino. RMN ^{1}H

(DMSO-d_6) 11,88 (1 H, s a), 10,11 (1 H, s), 7,54 (1 H, s), 6,51 (1 H, s), 3,75 (3H, s), 3,11 (1H, m), 1,13 (6H, d). EM: $[M+Na]^+$ 233.

Preparación A4

Ácido 2-hidroxi-5-isopropil-4-metoxibenzoico

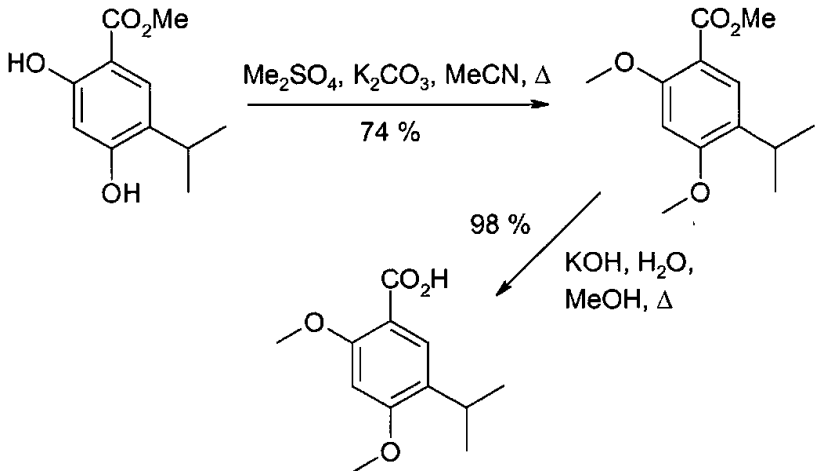


Una mezcla de 2,4-dihidroxi-5-isopropilbenzoato de metilo (420 mg, 2,0 mmol) y carbonato potásico anhidro (331 mg, 2,4 mmol) en acetonitrilo (10 ml) se trató con sulfato de dimetilo (0,2 ml, 2,1 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico 2 M (10 ml). El material sólido se recogió por filtración por succión, se aclaró con agua (2 x 10 ml) y se secó por succión a presión reducida para proporcionar 2-hidroxi-5-isopropil-4-metoxibenzoato de metilo (440 mg, 98 %) en forma de un sólido incoloro. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 10,70 (1 H, s a), 7,54 (1 H, s), 6,53 (1 H, s), 3,87 (3H, s), 3,84 (3H, s), 3,12 (1 H, m), 1,13 (6H, d). EM: $[M+H]^+$ 225.

Se añadió hidróxido potásico acuoso (50 % p/v, 0,2 ml) a una suspensión de 2-hidroxi-5-isopropil-4-metoxibenzoato de metilo (420 mg, 1,88 mmol) en metanol (5 ml) y agua (2 ml) y la mezcla se agitó y se mantuvo a reflujo durante 3 horas. Después de la refrigeración a temperatura ambiente el disolvente orgánico se retiró al vacío y el residuo se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico 2 M (10 ml). El material sólido se recogió por filtración por succión, se aclaró con agua (2 x 10 ml) y se secó por succión a presión reducida para proporcionar ácido 2-hidroxi-5-isopropil-4-metoxibenzoico (275 mg, 70 %) en forma de un sólido incoloro. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 13,50 (1 H, s a), 11,40 (1 H, s a), 7,53 (1 H, s), 6,51 (1 H, s), 3,83 (3H, s), 3,12 (1 H, m), 1,13 (6H, d). EM: $[M+H]^+$ 211.

Preparación A5

Ácido 5-isopropil-2,4-dimetoxibenzoico



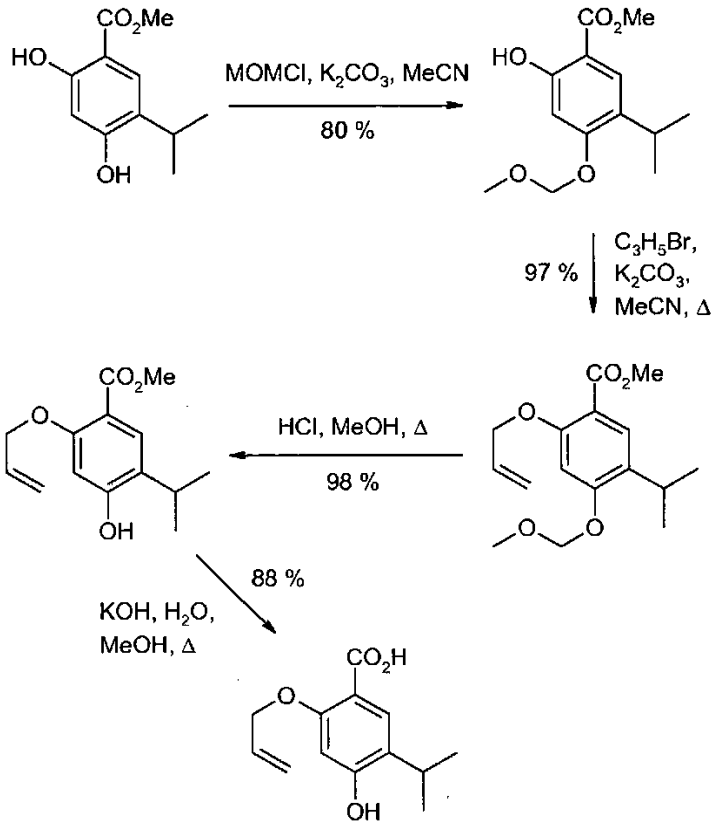
Una mezcla de 2,4-dihidroxi-5-isopropilbenzoato de metilo (420 mg, 2,0 mmol) y carbonato potásico anhidro (662 mg, 4,8 mmol) en acetonitrilo (10 ml) se trató con sulfato de dimetilo (0,4 ml, 4,2 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura

ambiente durante 16 horas y después se mantuvo a reflujo durante 6 horas. Después de la refrigeración a temperatura ambiente, el disolvente se retiró al vacío y el residuo se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico 2 M (10 ml). El material sólido se recogió por filtración por succión, se aclaró con agua (2 x 10 ml) y se secó por succión a presión reducida para proporcionar 5-isopropil-2,4-dimetoxibenzoato de metilo (350 mg, 74 %) en forma de un sólido incoloro. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 7,53 (1 H, s), 6,67 (1 H, s), 3,92 (3H, s), 3,86 (3H, s), 3,75 (3H, s), 3,13 (1 H, m), 1,14 (6H, d). EM: $[M+Na]^+$ 261.

Se añadió hidróxido potásico acuoso (50 % p/v, 0,2 ml) a una suspensión de 5-isopropil-2,4-dimetoxibenzoato de metilo (330 mg, 1,39 mmol) en metanol (5 ml) y agua (2 ml) y la mezcla se agitó y se mantuvo a reflujo durante 3 horas. Después de la refrigeración a temperatura ambiente el disolvente orgánico se retiró al vacío y el residuo se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico 2 M (10 ml). El material orgánico se extrajo con acetato de etilo (2 x 30 ml) y los extractos orgánicos combinados se evaporaron al vacío para proporcionar ácido 5-isopropil-2,4-dimetoxibenzoico (305 mg, 98 %) en forma de un sólido de color blanquecino. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 12,07 (1 H, s a), 7,57 (1 H, s), 6,64 (1 H, s), 3,90 (3H, s), 3,85 (3H, s), 3,13 (1H, m), 1,14 (6H, d). EM: $[M+H]^+$ 225.

Preparación A6

Ácido 2-aliloxi-4-hidroxi-5-isopropilbenzoico



Una mezcla de 2,4-dihidroxi-5-isopropilbenzoato de metilo (1,05 g, 5,0 mmol) y carbonato potásico anhídrido (828 mg, 6,0 mmol) en acetonitrilo (25 ml) se trató con clorometil metil éter (0,4 ml, 5,27 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se trató con agua (30 ml). El material sólido se recogió por filtración por succión, se aclaró con agua (2 x 20 ml) y se secó por succión a presión reducida para proporcionar 2-hidroxi-5-isopropil-4-(metoximetiloxi)benzoato de metilo (1,02 g, 80 %) en forma de un sólido incoloro. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 10,61 (1 H, s a), 7,58 (1 H, s), 6,62 (1 H, s), 5,30 (2H, s), 3,88 (3H, s), 3,42 (3H, s), 3,17 (1H, m), 1,17 (6H, d). EM: $[M+H]^+$ 255.

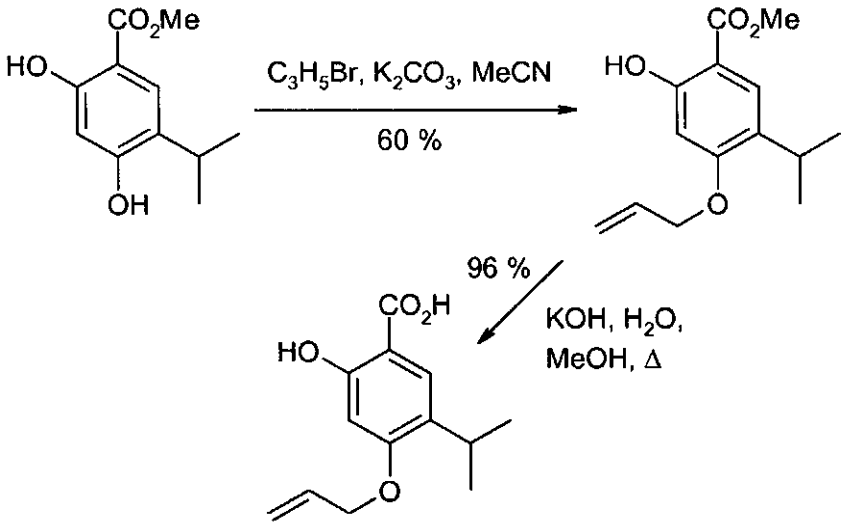
Una mezcla de 2-hidroxi-5-isopropil-4-(metoximetiloxi)benzoato de metilo (995 mg, 3,92 mmol) y carbonato potásico anhidro (650 mg, 4,71 mmol) en acetonitrilo (25 ml) se trató con bromuro de alilo (0,356 ml, 4,11 mmol) y la mezcla se agitó y se mantuvo a reflujo durante 16 horas. Después de la refrigeración a temperatura ambiente, el disolvente se retiró al vacío, se añadió agua (30 ml) y el material orgánico se extrajo con diclorometano (2 x 30 ml). Los extractos orgánicos combinados se evaporaron a sequedad al vacío para proporcionar 2-aliloxi-5-isopropil-4-(metoximetiloxi)benzoato de metilo (1125 mg, 97 %) en forma de un aceite de color amarillo pálido. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 7,58 (1H, s), 6,78 (1H, s), 6,03 (1H, m), 5,52 (1 H, dm), 5,33 (2H, s), 5,28 (1 H, dm), 4,61 (2H, m), 3,78 (3H, s), 3,42 (3H, s), 3,19 (1 H, m), 1,18 (6H, d). EM: $[M+Na]^+$ 317.

Se añadió ácido clorhídrico concentrado (0,4 ml) a una solución de 2-aliloxi-5-isopropil-4-(metoximetiloxi)benzoato de metilo (1049 mg, 3,57 mmol) en metanol (25 ml) y la mezcla se agitó y se mantuvo a reflujo durante 3 horas. Después de la refrigeración a temperatura ambiente, el material volátil y el disolvente se retiraron al vacío para proporcionar 2-aliloxi-4-hidroxi-5-isopropilbenzoato de metilo (880 mg, 98 %) en forma de un aceite de color verde pálido. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 10,18 (1H, s), 7,54 (1H, s), 6,51 (1H, s), 6,03 (1H, m), 5,51 (1H, dm), 5,27 (1H, dm), 4,52 (2H, m), 3,73 (3H, s), 3,10 (1H, m), 1,15 (6H, d). EM: [M+Na]+ 273.

Se añadió hidróxido potásico acuoso (50 % p/v, 2 ml) a una mezcla de 2-aliloxi-4-hidroxi-5-iso-propilbenzoato de metilo (860 mg, 3,44 mmol) en metanol (12 ml) y agua (4 ml), y la mezcla se agitó y se mantuvo a reflujo durante 5 horas. Después de la refrigeración a temperatura ambiente, el disolvente orgánico se retiró al vacío y el residuo se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico 2 M (30 ml). El material sólido se recogió por filtración por succión, se aclaró con agua (2 x 20 ml) y se secó por succión a presión reducida para proporcionar ácido 2-aliloxi-4-hidroxi-5-isopropilbenzoico (715 mg, 88 %) en forma de un sólido de color verde pálido. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 11,92 (1 H, s a), 10,08 (1 H, s), 7,56 (1 H, s), 6,48 (1 H, s), 6,03 (1 H, m), 5,50 (1 H, dm), 5,27 (1 H, dm), 4,53 (2H, m), 3,11 (1 H, m), 1,13 (6H, d). EM: [M+Na]+ 259.

Preparación A7

Ácido 4-aliloxi-2-hidroxi-5-isopropilbenzoico

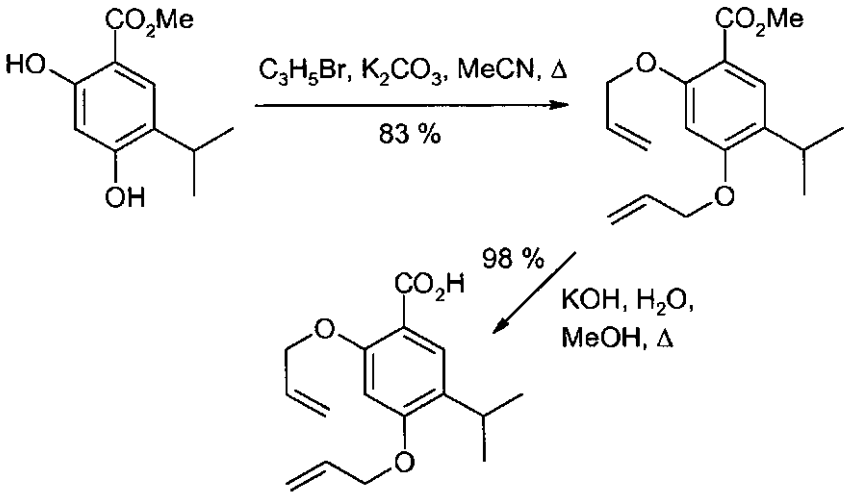


Una mezcla de 2,4-dihidroxi-5-isopropilbenzoato de metilo (420 mg, 2,0 mmol) y carbonato potásico anhídrido (662 mg, 4,8 mmol) en acetonitrilo (10 ml) se trató con bromuro de alilo (0,35 ml, 4,0 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico 2 M (10 ml). El material orgánico se extrajo con diclorometano (2 x 20 ml), los extractos orgánicos combinados se evaporaron al vacío y el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre sílice. La elusión con acetato de etilo al 2-10 % en éter de petróleo proporcionó 4-aliloxi-2-hidroxi-5-isopropilbenzoato de metilo (330 mg, 60 %) en forma de un sólido incoloro. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 10,68 (1 H, s), 7,55 (1 H, s), 6,54 (1 H, s), 6,06 (1 H, m), 5,42 (1 H, dm), 5,29 (1 H, dm), 4,65 (2H, m), 3,88 (3H, s), 3,16 (1 H, m), 1,16 (6H, d).

Se añadió hidróxido potásico acuoso (50 % p/v, 0,2 ml) a una suspensión de 4-aliloxi-2-hidroxi- 5-isopropilbenzoato de metilo (313 mg, 1,25 mmol) en metanol (6 ml) y agua (2 ml), y la mezcla se agitó y se mantuvo a reflujo durante 4 horas. Después de la refrigeración a temperatura ambiente, el disolvente orgánico se retiró al vacío y el residuo se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico 2 M (10 ml). El material sólido se recogió por filtración por succión, se aclaró con agua (2 x 10 ml) y se secó por succión a presión reducida para proporcionar ácido 4-aliloxi-2-hidroxi-5-isopropilbenzoico (285 mg, 96 %) en forma de un sólido incoloro. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 13,50 (1 H, s a), 11,40 (1 H, s), 7,55 (1 H, s), 6,51 (1 H, s), 6,06 (1 H, m), 5,42 (1 H, dm), 5,28 (1 H, dm), 4,64 (2H, m), 3,17 (1 H, m), 1,17 (6H, d). EM: $[M+H]^+$ 237.

Preparación A8

Ácido 2,4-bis-aliloxi-5-isopropilbenzoico

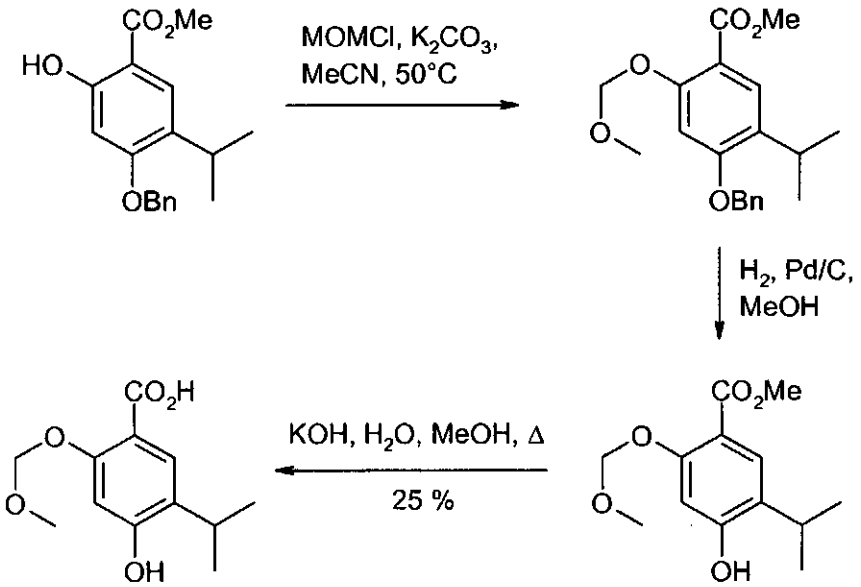


Una mezcla de 2,4-dihidroxi-5-isopropilbenzoato de metilo (420 mg, 2,0 mmol) y carbonato potásico anhídrido (662 mg, 4,8 mmol) en acetonitrilo (10 ml) se trató con bromuro de alilo (0,364 ml, 4,2 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. Se añadió una porción adicional de bromuro de alilo (0,364 ml, 4,2 mmol) y la mezcla se agitó y se mantuvo a reflujo durante 16 horas más. Después de la refrigeración a temperatura ambiente, el disolvente se retiró al vacío y el residuo se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico 2 M (20 ml). El material orgánico se extrajo con acetato de etilo (2 x 20 ml) y los extractos orgánicos combinados se evaporaron al vacío para proporcionar 2,4-bis-aliloxi-5-isopropilbenzoato de metilo (480 mg, 83 %) en forma de un aceite de color amarillo pálido. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 7,56 (1 H, s), 6,68 (1 H, s), 6,07 (2H, m), 5,51 (1 H, dm), 5,44 (1 H, dm), 5,28 (2H, m), 4,68 (2H, m), 4,64 (2H, m), 3,75 (3H, s), 3,18 (1H, m), 1,16 (6H, d). EM: $[M+Na]^+$ 313.

Se añadió hidróxido potásico acuoso (50 % p/v, 0,5 ml) a una mezcla de 2,4-bis-aliloxi-5-isopropilbenzoato de metilo (450 mg, 1,55 mmol) en metanol (6 ml) y agua (2 ml), y la mezcla se agitó y se mantuvo a reflujo durante 3 horas. Después de la refrigeración a temperatura ambiente, el disolvente orgánico se retiró al vacío y el residuo se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico 2 M (10 ml). El material sólido se recogió por filtración por succión, se aclaró con agua (2 x 10 ml) y se secó por succión a presión reducida para proporcionar ácido 2,4-bis-aliloxi-5-isopropilbenzoico (418 mg, 98 %) en forma de un sólido blanquecino. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 12,16 (1 H, s a), 7,58 (1 H, s), 6,66 (1 H, s), 6,07 (2H, m), 5,51 (1 H, dm), 5,44 (1H, dm), 5,28 (2H, m), 4,68 (2H, m), 4,64 (2H, m), 3,17 (1 H, m), 1,15 (6H, d). EM: [M+Na]+ 299.

Preparación A9

Ácido 4-hidroxi-5-isopropil-2-(metoximetiloxi)benzoico



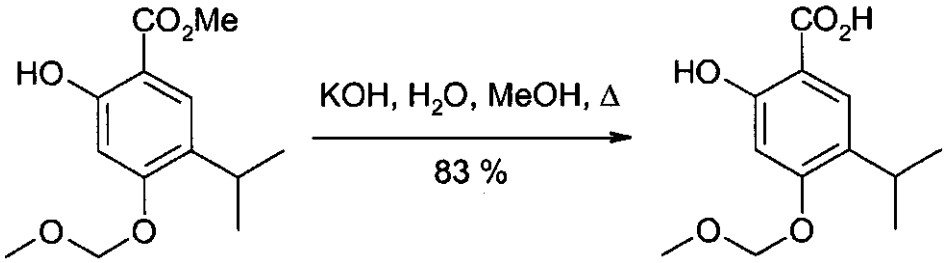
Una mezcla de 4-benciloxi-2-hidroxi-5-isopropilbenzoato de metilo (900 mg, 3,0 mmol) y carbonato potásico anhídrido (994 mg, 7,2 mmol) en acetonitrilo (20 ml) se trató con clorometil metil éter (0,24 ml, 6,6 mmol) y la mezcla se agitó y se mantuvo a 50 ºC durante 24 horas, después de lo cual se añadieron más cantidades de carbonato potásico anhídrido (994 mg, 7,2 mmol) y clorometil metil éter (0,96 ml, 26,4 mmol) y la mezcla se agitó y se mantuvo a 50 ºC durante 4 días más. Después de la refrigeración a temperatura ambiente, el disolvente se retiró al vacío y el residuo se trató con agua (30 ml). El material orgánico se extrajo con diclorometano (2 x 20 ml) y los extractos orgánicos combinados se evaporaron al vacío para proporcionar 4-benciloxi-5-isopropil-2-(metoximetiloxi)benzoato de metilo en bruto en forma de un aceite de color amarillo pálido que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 7,57 (1 H, s), 7,48 (2H, d), 7,44 (2H, t), 7,38 (1 H, t), 6,90 (1 H, s), 5,23 (4H, s), 3,78 (3H, s), 3,39 (3H, s), 3,21 (1 H, m), 1,17 (6H, d). EM: $[M+Na]^+$ 367.

EL 4-benciloxi-5-isopropil-2-(metoximetiloxi)benzoato de metilo en bruto se disolvió en metanol (20 ml), se añadió paladio al 10 % sobre carbono (160 mg) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de hidrógeno durante 16 horas. La mezcla se filtró, el catalizador se aclaró con metanol (3 x 5 ml) y los filtrados combinados se evaporaron al vacío para proporcionar 4-hidroxi-5-isopropil-2-(metoximetiloxi)benzoato de metilo en bruto en forma de un sólido oleoso incoloro que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 10,19 (1 H, s a), 7,52 (1 H, s), 6,57 (1 H, s), 5,13 (2H, s), 3,73 (3H, s), 3,40 (3H, s), 3,11 (1 H, m), 1,13 (6H, d). EM: $[M-H]^-$ 253.

El 4-hidroxi-5-isopropil-2-(metoximetiloxi)benzoato de metilo en bruto se disolvió en metanol (20 ml) y agua (8 ml), se añadió hidróxido potásico acuoso (50 % p/v, 5 ml) y la mezcla se agitó y se mantuvo a reflujo durante 16 horas. Después de la refrigeración a temperatura ambiente, el disolvente orgánico se retiró al vacío y el residuo se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico 2 M (30 ml). El material orgánico se extrajo con acetato de etilo (2 x 20 ml) y los extractos orgánicos combinados se evaporaron al vacío para proporcionar un aceite de color amarillo que se sometió a cromatografía en columna sobre un cartucho de Strata-NH_2. La elusión con amoniaco 2 M en metanol proporcionó ácido 4-hidroxi-5-isopropil-2-(metoximetiloxi)benzoico en bruto (180 mg, 25 %) en forma de un sólido de color gris pálido que se usó sin purificación adicional. EM: $[M+Na]^+$ 263.

Preparación A10

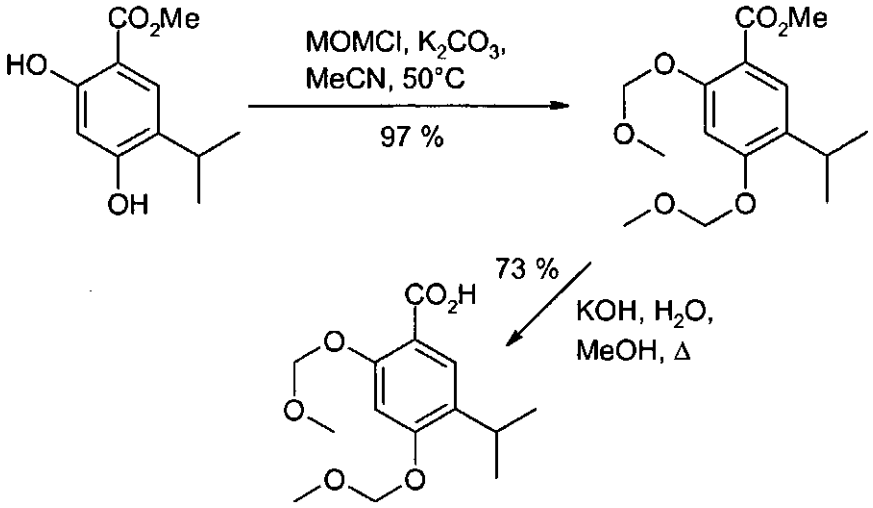
Ácido 2-hidroxi-5-isopropil-4-(metoximetiloxi)benzoico



Se añadió hidróxido potásico acuoso (50 % p/v, 1 ml) a una mezcla de 2-hidroxi-5-isopropil-4-(metoximetiloxi)benzoato de metilo (508 mg, 2,0 mmol) en metanol (10 ml) y agua (4 ml) y la mezcla se agitó y se mantuvo a reflujo durante 6 horas. Después de la refrigeración a temperatura ambiente, el disolvente orgánico se retiró al vacío y el residuo se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico 2 M (30 ml). El material sólido se recogió por filtración por succión, se aclaró con agua (2 x 20 ml) y se secó por succión a presión reducida para proporcionar ácido 2-hidroxi-5-isopropil-4-(metoximetiloxi)benzoico (400 mg, 83 %) en forma de un sólido incoloro. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 13,60 (1 H, s a), 11,30 (1 H, s a), 7,58 (1 H, s), 6,58 (1 H, s), 5,30 (2H, s), 3,42 (3H, s), 3,15 (1 H, m), 1,18 (6H, d). EM: $[M+H]^+$ 241.

Preparación A11

Ácido 2,4-bis-(metoximetiloxi)-5-isopropilbenzoico



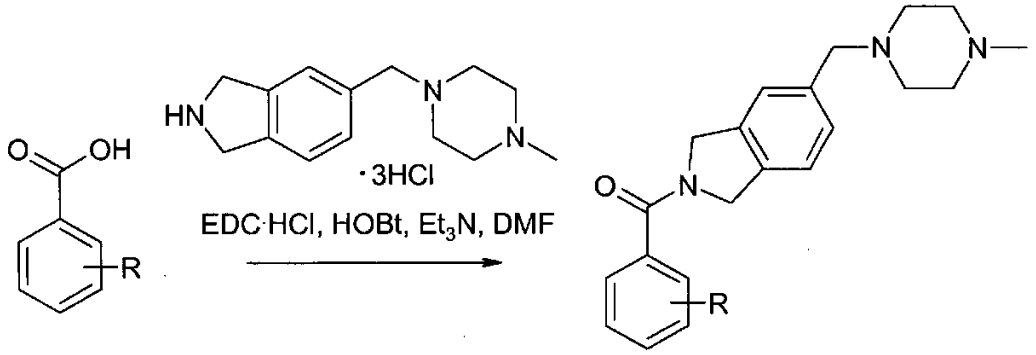
Una mezcla de 2,4-dihidroxi-5-isopropilbenzoato de metilo (420 mg, 2,0 mmol) y carbonato potásico anhidro (332 mg, 2,4 mmol) en acetonitrilo (12 ml) se trató con clorometil metil éter (0,16 ml, 2,1 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas, después de lo cual se añadieron cantidades adicionales de carbonato potásico anhidro (1,38 g, 10,0 mmol) y clorometil metil éter (0,76 ml, 10,0 mmol) y la mezcla se agitó y se mantuvo a 50 ºC durante 4 días más. Después de la refrigeración a temperatura ambiente, el disolvente se retiró al vacío y el residuo se trató con agua (30 ml). El material orgánico se extrajo con diclorometano (2 x 20 ml) y los extractos orgánicos combinados se evaporaron al vacío para proporcionar 2,4-bis-(metoximetiloxi)-5-isopropilbenzoato de metilo (580 mg, 97 %) en forma de un aceite de color amarillo pálido. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 7,57 (1 H, s), 6,88 (1 H, s), 5,32 (2H, s), 5,20 (2H, s), 3,78 (3H, s), 3,41 (6H, s), 3,21 (1 H, m), 1,17 (6H, d). EM: [M+Na]+ 321.

Se añadió hidróxido potásico acuoso (50 % p/v, 1,0 ml) a una mezcla de 2,4-bis-(metoximetiloxi)- 5-isopropilbenzoato de metilo (560 mg, 1,88 mmol) en metanol (12 ml) y agua (4 ml) y la mezcla se agitó y se mantuvo a reflujo durante 3 horas. Después de la refrigeración a temperatura ambiente, el disolvente orgánico se retiró al vacío y el residuo se diluyó con agua (20 ml) y se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico 2 M (10 ml). El material orgánico se extrajo con diclorometano (2 x 20 ml) y los extractos orgánicos combinados se evaporaron al vacío. El residuo se trituró

con una mezcla de éter de petróleo y éter dietílico para proporcionar ácido 2,4-bis-(metoximetiloxi)-5-isopropilbenzoico (392 mg, 73 %) en forma de un sólido incoloro. RMN ^{1}H (DMSO-d_6) 12,38 (1 H, s a), 7,59 (1 H, s), 6,84 (1 H, s), 5,31 (2H, s), 5,20 (2H, s), 3,41 (6H, s), 3,21 (1 H, m), 1,18 (6H, d). EM: $[M+Na]^+$ 307.

Preparación B1

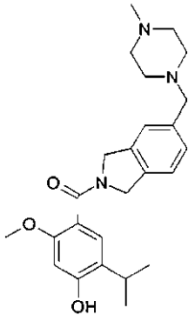
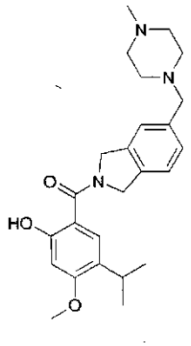
Método general para la síntesis de 5-(4-metilpiperazin-1-ilmetilo)-2,3-dihidro-1H-isoindoles sustituidos con N-benzoílo



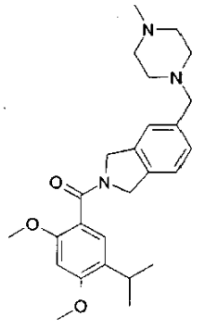
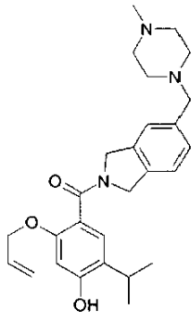
Se añadió triclorhidrato de 5-(4-metilpiperazin-1-ilmetilo)-2,3-dihidro-1H-isoindol (409 mg, 1,2 mmol) a una mezcla del ácido benzoico sustituido (1,0 mmol), clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (211 mg, 1,1 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (149 mg, 1,1 mmol) y trietilamina (606 mg, 6,0 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (8 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente o a 50-80 ºC durante 16 horas. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se trató con hidrogenocarbonato sódico acuoso y metanol. El disolvente orgánico se retiró al vacío y la capa acuosa se retiró por decantación. Los residuos oleosos oscuros se sometieron a cromatografía sobre sílice. La elusión con metanol al 5-10 % en diclorometano proporcionó el 5-(4-metilpiperazin-1-ilmetilo)-2,3-dihidro-1H-isoindol sustituido con N-benzoílo correspondiente. Si fue necesario, los compuestos se purificaron adicionalmente por cromatografía en columna en un cartucho SCX, eluyendo con amoniaco 2 M en metanol.

Ejemplos 1 a 9

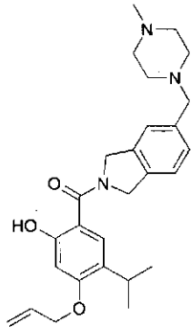
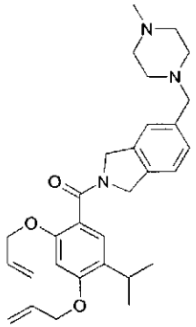
Siguiendo el método general descrito anteriormente, se prepararon los compuestos de los Ejemplos 1 a 9 que se exponen en la siguiente Tabla.

Ejemplo	Compuesto	Nombre Químico	Precursor de ácido benzoico sustituido	Datos de R.M.N.	E.M.
1*		(4-Hidroxi-5-isopropil-2-metoxi-fenil)-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidroisoindol-2-il]-metanona	Ácido 4-hidroxi-5-isopropil-2-metoxibenzoico	RMN ^{1}H (DMSO-d_6) [mezcla de rotámeros] 9,66 (1H, s), 7,32 (1H, m), 7,24-7,16 (2H, m), 6,97 (1H, s), 6,52 (1H, s), 4,75 (2H, s a), 4,51 y 4,49 (2H, 2 x s), 3,72 (3H, s), 3,44 y 3,41 (2H, 2 x s), 3,14(1 H, m),2,31 (8H, s a),2,14 y 2,12 (3H, 2 x s), 1,15 (6H, d)	EM: $[M+H]^+$ 424
2*		(2-Hidroxi-5-isopropil-4-metoxi-fenil)-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidroisoindol-2-il]-metanona	Ácido 2-hidroxi-5-isopropil-4-metoxi-benzoico	RMN ^{1}H (DMSO-d_6) [mezcla de rotámeros] 10,28 y 10,23 (1H, 2 x s a), 7,35-7,20 (3H, m a), 7,12 (1H, s), 6,50 (1H, s), 4,78 (4H, s a), 3,80 (3H, s), 3,43 (2H, s), 3,13 (1H, m), 2,33 (8H, s a), 2,15 (3H, s), 1,15 (6H, d)	EM: $[M+H]^+$ 424

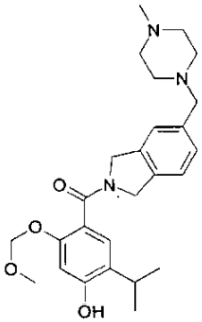
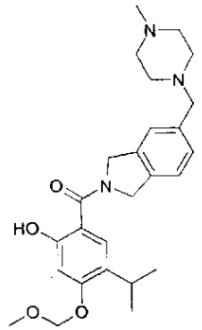
(Continuación)

Ejemplo	Compuesto	Nombre Químico	Precursor de ácido benzoico sustituido	Datos de R.M.N.	E.M.
3*		(5-Isopropil-2,4-dimetoxi-fenil)-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona	Ácido 5-isopropil-2,4-dimetoxi-benzoico	RMN ^{1}H (DMSO-d_6) [mezcla de rotámeros] 7,30 (1H, m), 7,24-7,16 (2H, m), 7,04 (1H, s), 6,71 (1H, s), 4,75 (2H, s a), 4,51 y 4,49 (2H, 2 x s), 3,90 (3H, s), 3,84 (3H, s), 3,44 y 3,41 (2H, 2 x s), 3,19 (1H, m),2,31 (8H, s a),2,14 y 2,12 (3H, 2 x s), 1,13 (6H, d)	EM: $[M+H]^+$ 438
4		(2-Aliloxi-4-hidroxi-5-isopropil-fenil)-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona	Ácido 2-aliloxi-4-hidroxi-5-isopropil-benzoico	RMN ^{1}H (DMSO-d_6) [mezcla de rotámeros] 9,64 (1H, s), 7,30 (1H, m), 7,24-7,16 (2H, m), 6,99 (1H, s), 6,53 (1H, s), 5,97 (1H, m), 5,32 (1 H, dm), 5,17 (1H, dm), 4,77 (2H, s a), 4,53 (4H, m), 3,44 y 3,41 (2H, 2 x s), 3,13 (1H, m), 2,34 (8H, s a), 2,14 y 2,12 (3H, 2 x s), 1,15 (6H, d)	EM: $[M+H]^+$ 450

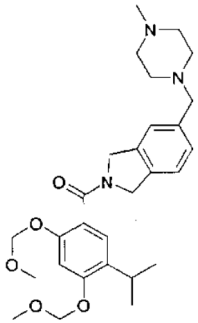
(Continuación)

Ejemplo	Compuesto	Nombre Químico	Precursor de ácido benzoico sustituido	Datos de R.M.N.	E.M.
5		(4-Aliloxi-2-hidroxi-5-isopropil-fenil)-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona	Ácido 4-aliloxi-2-hidroxi-5-isopropil-benzoico	RMN ^{1}H (DMSO-d_6) [mezcla de rotámeros] 10,28 y 10,23 (1H, 2 x s a), 7,35-7,18 (3H, m a), 7,13 (1H, s a), 6,50 (1H, s), 6,09 (1H, m), 5,44 (1H, dm), 5,30 (1H, dm), 4,78 (4H, s a), 4,58 (2H, m), 3,45 (2H, s a), 3,18 (1H, m), 2,40 (8H, s a), 2,21 (3H, s a), 1,18 (6H, d)	EM: $[M+H]^+$ 450
6		(2,4-Bis-aliloxi-5-isopropil-fenil)-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona	Ácido 2,4-bis-aliloxi-5-isopropil-benzoico	RMN ^{1}H (DMSO-d_6) [mezcla de rotámeros] 7,31 (1H, m), 7,24-7,17 (2H, m), 7,06 (1 H, s), 6,72 (1H, s), 6,11 (1H, m), 5,98 (1H, m), 5,47 (1H, dm), 5,35-5,28 (2H, m), 5,17 (1H, dm), 4,78 (2H, s a), 4,64 (4H, m), 4,52 y 4,50 (2H, 2 x s), 3,44 y 3,41 (2H, 2 x s), 3,21 (1H, m), 2,33 (8H, s a), 2,14 y 2,12 (3H, 2 x s), 1,17 (6H, d)	EM: $[M+H]^+$ 490

(Continuación)

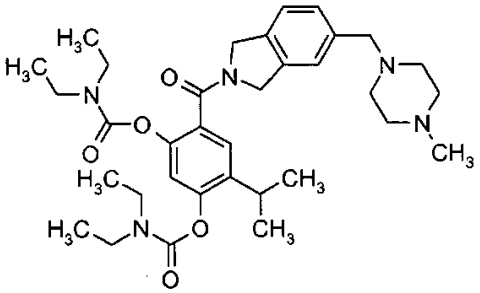
Ejemplo	Compuesto	Nombre Químico	Precursor de ácido benzoico sustituido	Datos de R.M.N.	E.M.
7		[4-Hidroxi-5-isopropil- 2-(metoximetiloxi) -fenil]-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona	Ácido 4-hidroxi-5-isopropil-2-(metoximetiloxi)-benzoico	RMN ^{1}H (DMSO-d_6) [mezcla de rotámeros] 9,68 (1H, s), 7,32 (1H, m), 7,24-7,17 (2H, m), 7,01 (1H, s), 6,69 (1H, s), 5,13 (2H, s), 4,77 (2H, s a), 4,54 y 4,53 (2H, 2 x s), 3,45 y 3,43 (2H, 2 x s), 3,34 (3H, s), 3,12 (1H, m), 2,31 (8H, s a), 2,14 y 2,12 (3H, 2 x s), 1,14 (6H, d)	EM: $[M+H]^+$ 454
8		[2-Hidroxi-5-isopropil-4-(metoximetiloxi) -fenil]-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona	Ácido 2-hidroxi-5-isopropil-4-(metoximetiloxi)-benzoico	RMN ^{1}H (DMSO-d_6) [mezcla de rotámeros] 10,12 y 10,07 (1H, 2 x s a), 7,35-7,20 (3H, m a), 7,12 (1H, s a), 6,67 (1H, s), 5,23 (2H, s), 4,80-4,65 (4H, m a), 3,42 (5H, s), 3,18 (1H, m), 2,36 (8H, s a), 2,15 (3H, s), 1,18 (6H, d)	EM: $[M+H]^+$ 454

(Continuación)

Ejemplo	Compuesto	Nombre Químico	Precursor de ácido benzoico sustituido	Datos de R.M.N.	E.M.
9		[5-Isopropil-2,4- bis-(metoximetiloxi) -fenil]-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona	Ácido 2,4-bis-(metoximetiloxi)-5-isopropil-benzoico	RMN ^{1}H (DMSO-d_6) [mezcla de rotámeros] 7,31 (1H, m), 7,24-7,16 (2H, m), 7,14(1H, s), 6,91 (1H, s), 5,27 (2H, s), 5,18 (2H, s), 4,78 (2H, s a), 4,55 y 4,53 (2H, 2 x s), 3,44 (6H, s), 3,44 y 3,41 (2H, 2 x s), 3,23 (1H, m), 2,34 (8H, s a), 2,16 y 2,14 (3H, 2 x s), 1,19 (6H, d)	EM: $[M+H]^+$ 498
4 = ejemplo comparativo					

Ejemplo 10

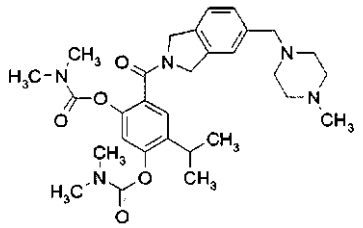
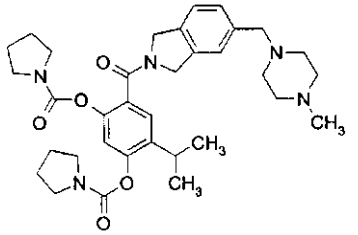
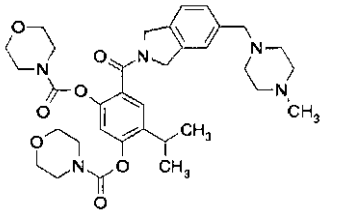
Preparación de 5-dietilcarbamoiloxi-2-isopropil-4-[5-(4-metilpiperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-ciclo-hexa-1,3-dienilo éster del ácido dietil-carbámico



A una solución de (2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona (1,0 g, 2,44 mmol) en THF (25 ml) que contenía Et_3N (0,68 ml, 4,88 mmol) y *N,N*-4-dimetilaminopiridina (5 mg, 0,41 mmol) se le añadió cloruro de *N,N*-dietilcarbamoílo (1,5 ml, 11,62 mmol). La solución se calentó a 60 ºC durante 18 h, momento en el que se le añadieron EtOAc (50 ml) y K_2CO_3 ac. al 10 % (50 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera saturada (30 ml) y la fase orgánica se separó y se evaporó a un pequeño volumen. Una solución del residuo en DCM se aplicó a una columna que contenía gel de sílice y el producto se eluyó sucesivamente con DCM seguido de amoniaco acuoso al 0,2 % en MeOH al 5 % en DCM. Las fracciones que contenían el producto se evaporaron en DCM, seguido de éter dietílico para dar el compuesto del título en forma de una espuma 1,07 g. RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d6): 7,44 (1 H, d), 7,37-7,30 (1 H, m), 7,30-7,15 (2H, m), 7,01 (1 H, s), 4,75 (2H, s), 4,61 (2H, d), 3,56-3,40 (4H, m), 3,33 (4H, d), 3,24 (3H, d), 3,19-3,09 (2H, m), 3,09-2,95 (2H, m), 2,85-2,56 (4H, m), 2,42 (3H, s), 1,38-0,76 (18H, m); m/z 608 (MH).

Ejemplos 11 a 13

Los ejemplos 11 a 13 se prepararon de una manera análoga a la descrita para el Ejemplo 10.

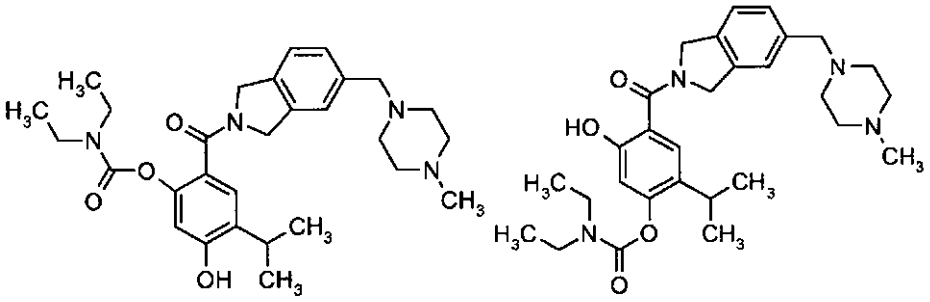
Número de Ejemplo	Estructura Química	m/z (MH)	RMN
11		552	RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d6): 7,43 (1H, d), 7,35-7,28 (1H, m), 7,26-7,16 (2H, m), 7,01 (1H, s), 4,77 (2H, d), 4,61 (2H, d), 3,43 (2H, d), 3,09 (3H, s), 3,08-3,02 (1H, m), 2,95 (3H, s), 2,88 (3H, s), 2,78 (3H, s), 2,44-2,21 (8H, m), 2,14 (3H, d), 1,20 (6H, dd).
12		604	RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d6): 7,42 (1H, d), 7,36-7,30 (1H, m), 7,25-7,15 (2H, m), 7,06 (1H, s), 4,76 (2H, s), 4,61 (2H, d), 3,58-3,50 (2H, m), 3,44 (2H, d), 3,41-3,34 (2H, m), 3,31 (1H, m), 3,28-3,23 (1H, m), 3,18 (2H, t), 3,12-3,01 (1H, m), 2,33 (8H, s), 2,15 (3H, d), 2,01-1,84 (4H, m), 1,80-1,70 (4H, m), 1,20 (6H, d).
13		636	RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d6): 7,47 (1H, d), 7,39-7,29 (1H, m), 7,28-7,16 (2H, m), 7,08 (1H, s), 4,78 (2H, s), 4,61 (2H, d), 3,67 (6H, s), 3,54-3,36 (10H, m), 3,36-3,21 (2H, m), 3,13-3,00 (1H, m), 2,33 (8H, s), 2,14 (3H, d), 1,27-1,16 (6H, m).

Ejemplo 14

5-Hidroxi-4-isopropil-2-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido dietil-carbámico y

Ejemplo 15

5-Hidroxi-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbon-carbonil]-fenil éster del ácido dietil-carbámico



Una solución del producto del Ejemplo 10 (0,826 g) disuelto en MeOH (36 ml) y NaOH ac. 2 M (4 ml) se calentó a 60 ºC durante 24 h. La solución se enfrió a TA y a esto se le añadió HCl 5 M (1,6 ml, a pH 6) y la solución se evaporó a un pequeño volumen. El residuo se repartió entre salmuera saturada y EtOAc, y la capa orgánica se evaporó hasta un aceite. El aceite se purificó por HPLC preparativa (método básico) para dar los dos derivados de mono-dietilcarbamoílo isoméricos separados:

5-Hidroxi-4-isopropil-2-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenilo éster del ácido dietil-carbámico (137 mg)

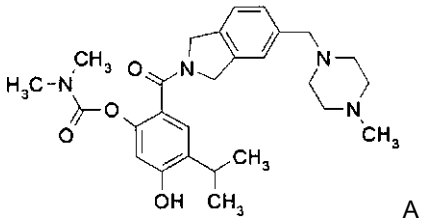
RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d6): 9,86 (1 H, s), 7,35-7,25 (1 H, m), 7,25-7,12 (3H, m), 6,65 (1 H, s), 4,71 (2H, s), 4,57 (2H, d), 3,43 (2H, d), 3,27-3,08 (5H, m), 2,32 (8H, s), 2,14 (3H, d), 1,18 (6H, d), 1,05-0,85 (6H, m), m/z 509 (MH)
y

5-Hidroxi-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenilo éster del ácido dietil-carbámico (292 mg)

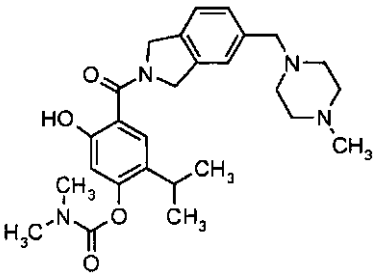
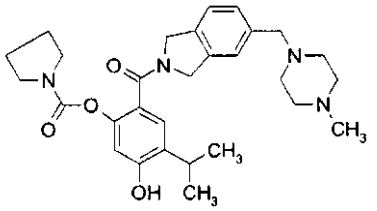
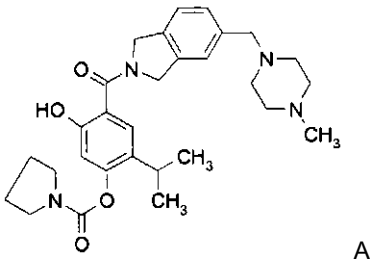
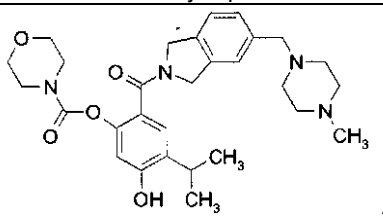
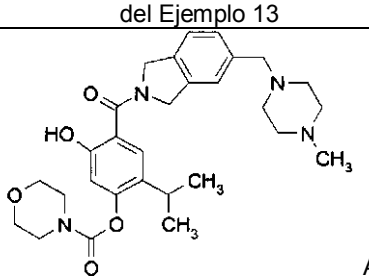
RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d6): 10,01 (1 H, s), 7,37-7,27 (1 H, m), 7,27-7,17 (2H, m), 7,15 (1 H, d), 6,60 (1 H, s), 4,79 (2H, s), 4,63 (2H, d), 3,44 (4H, m), 3,34 (2H, m), 3,01-2,87 (1 H, m), 2,32 (8H, s), 2,14 (3H, d), 1,22 (3H, s), 1,15 (9H, d), m/z 509 (MH).

Ejemplos 16 a 21

Los Ejemplos 16 a 21 se prepararon de manera análoga a la descrita en los Ejemplos 14 y 15 tratando los derivados diacilados (Ejemplos 11, 12 y 13) con NaOH en MeOH (60 ºC h, 3,5 h-24 h). La mezcla de productos se separó por HPLC preparativa.

Número de Ejemplo	Estructura Química	m/z (MH)	RMN	Condiciones de disolvente de HPLC preparativa
16	 A partir del Ejemplo 11	481	RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO- d6): 9,88 (1H, s), 7,36-7,27 (1H, m), 7,27-7,13 (3H, m), 6,64 (1H, s), 4,74 (2H, s), 4,57 (2H, d), 3,46 (2H, d), 3,24-3,13 (1H, m),2,85 (3H, s), 2,78 (3H, s), 2,61-2,30 (8H, m), 2,25 (3H, s), 1,18 (6H, d).	Ácido*

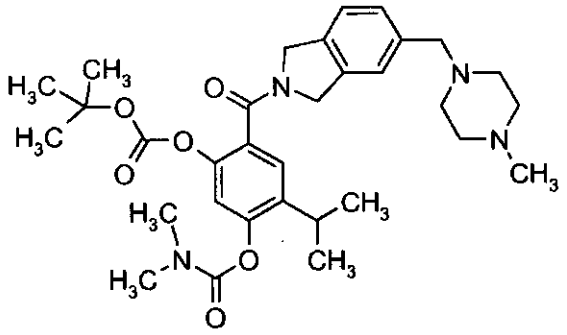
(Continuación)

Número de Ejemplo	Estructura Química	m/z (MH)	RMN	Condiciones de disolvente de HPLC preparativa
17	 A partir del Ejemplo 11	481	RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO- d6): 10,01 (1H, d), 7,37-7,27 (1H, m), 7,27-7,11 (3H, m), 6,61 (1H, s), 4,79 (2H, s), 4,63 (2H, d), 3,50-3,41 (2H, m), 3,08 (3H, s), 3,01-2,86 (4H, m), 2,35 (8H, s), 2,17 (3H, d), 1,14 (6H, d).	Ácido*
18	 A partir del Ejemplo 12	507	RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO- d6): 9,88 (1H, s), 7,36-7,27 (1H, m), 7,27-7,12 (3H, m), 6,67 (1H, s), 4,73 (2H, s), 4,57 (2H, d), 3,43 (2H, d), 3,27 (2H, t), 3,23-3,09 (3H, m), 2,32 (8H, s), 2,14 (3H, d), 1,72 (4H, s), 1,18 (6H, d)	Básico
19	 A partir del Ejemplo 12	507	RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO- d6): 9,95 (1H, s), 7,37-7,27 (1H, m), 7,27-7,17 (2H, m), 7,14 (1 H, d), 4,79 (2H, s), 4,64 (2H, d), 3,53 (2H, t), 3,43 (2H, d), 3,40-3,34 (2H, m), 3,04-2,90 (1 H, m), 2,32 (8H, s), 2,14 (3H, d), 1,98-1,81 (4H, m), 1,15 (6H, d).	Básico
20	 A partir del Ejemplo 13	523	RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO- d6): 9,93 (1H, s), 7,37-7,27 (1H, m), 7,26-7,14 (3H, m), 6,66 (1H, s), 4,74 (2H, s), 4,58 (2H, d), 3,53-3,25 (10H, m), 3,25-3,14 (1H, m), 2,32 (8H, s), 2,14 (3H, d), 1,19 (6H, d).	Básico
21	 A partir del Ejemplo 13	523	RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO- d6): 10,04 (1H, d), 7,37-7,26 (1H, m), 7,26-7,17 (2H, m), 7,16 (1H, d), 6,63 (1H, s); 4,79 (2H, s), 4,63 (2H, d), 3,65 (6H, d), 3,45 (4H, d), 3,00-2,88 (1H, m), 2,33 (8H, s), 2,14 (3H, d), 1,15 (6H, d).	Método básico seguido de ácido*

*El aislamiento de los picos del método de HPLC preparativa básica respectivos fue por evaporación de disolvente para dar la base libre. Cuando se usó el método de HPLC ácido, el aislamiento fue por evaporación seguido de adsorción sobre una columna de intercambio iónico SCX (2 g, Stata) y posterior elución con NH_3 2 M en MeOH.

Ejemplo 22

5-Dimetilcarbamoiloxi-4-isopropil-2-[5-(4-metilpiperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-iso-indol-2-carbonil]-fenil éster de *terc*-butil éster del ácido carbónico



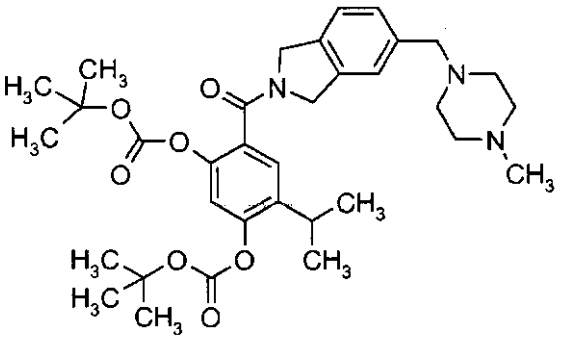
A una solución de 5-hidroxi-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenilo éster del ácido dimetil-carbámico (Ejemplo 17, 50 mg) en THF (10 ml) se le añadió di-*t*-butil-dicarbonato (54,5 mg) y *N,N*-4-dimetilaminopiridina (1,25 mg). La solución se calentó a 60 ºC durante 1 h, se enfrió a TA y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó sobre gel de sílice y se eluyó con amoniaco acuoso al 0,2 % en MeOH 5 % en DCM. Las fracciones que contenían el producto se evaporaron en DCM y éter dietílico para dar el compuesto del título en forma de una espuma (40 mg)

RMN 1H (400 MHz, DMSO-d6): 7,51 (1 H, d), 7,36-7,28 (1 H, m), 7,26-7,17 (2H, m), 7,08 (1 H, s), 4,77 (2H, s), 4,62 (2H, d), 3,44 (2H, d), 3,10 (3H, s), 3,05 (1 H, dd), 2,95 (3H, s), 2,32 (8H, d), 2,14 (3H, d), 1,34 (9H, s), 1,21 (6H, dd).

Las asignación estereoquímica se confirmó mediante la observación de un efecto nuclear Overhauser (nOe) entre el grupo butilo y la isoindolina CH_2N.

Ejemplo 23

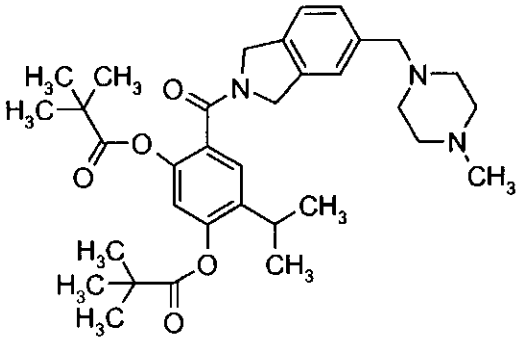
terc-Butil éster de 5-*terc*-butoxicarboniloxi-4-isopropil-2-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-iso-indol-2-carbonil]-fenil éster del ácido



A una solución de (2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona (1 g, 2,44 mmol) en THF (25 ml) se añadió di-t-butil-dicarbonato (1,17 g, 5,5 mmol) y *N,N*-4-dimetilaminopiridina (45 mg, 0,37 mmol). La solución se calentó a 60 ºC durante 3 h después se enfrió a TA y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó sobre gel de sílice eluyendo con DCM, seguido de amoniaco acuoso al 0,2 % en MeOH al 5 % en DCM. Las fracciones que contenían el producto se evaporaron a una espuma para dar el compuesto del título (1,52 g). RMN 1H (400 MHz, DMSO-d6): 7,58 (1 H, d), 7,38-7,28 (1 H, m), 7,28-7,15 (3H, m), 4,77 (2H, s), 4,61 (2H, d), 3,44 (2H, d), 3,09-2,96 (1 H, m), 2,47-2,17 (8H, m), 2,15 (3H, d), 1,52 (9H, s), 1,34 (9H, s), 1,21 (6H, dd); m/z 610 (MH)

Ejemplo 24

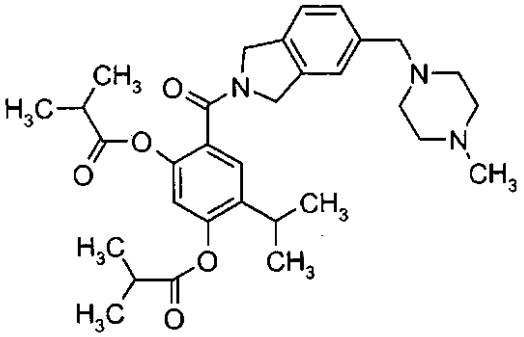
Diclorhidrato 5-(2,2-dimetil-propioniloxi)-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-iso-indol-2-carbonil]-fenil éster del ácido 2,2-dimetil-propiónico



A una solución de (2,4-dihidroxi-5-isopropil-fenil)-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona (0,546 g, 1,33 mmol) en THF (10 ml) se le añadió Et_3N (0,464 ml), cloruro de pivaloílo (0,492 ml, 3,99 mmol) y *N,N*-4-dimetilaminopiridina (15 mg, 0,123 mmol). La solución se agitó a TA durante 5 h, después el disolvente se retiró por evaporación. El residuo se repartió entre EtOAc y $NaHCO_3$ saturado y la fase orgánica se lavó con salmuera saturada y se secó (Na_2SO_4). El disolvente se evaporó para dar un aceite que se disolvió en éter dietílico y EtOAc y a esta solución se le añadió HCl 4 M en dioxano (0,67 ml, 2,68 mmol). La suspensión se evaporó y se secó al vacío para dar el compuesto del título en forma de una espuma (0,835 g). RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d6): 7,64-7,42 (3H, m), 7,39 (1 H, d), 7,06 (1 H, s), 4,78 (2H, s), 4,61 (2H, s), 3,44 (10H, s), 3,07-2,95 (1 H, m), 2,79 (3H, s), 1,35 (9H, s), 1,20 (6H, d), 1,18-1,15 (9H, m); m/z 578 (MH).

Ejemplo 25

5-Isobutiriloxi-2-isopiropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido isobutírico



El compuesto del título se preparó de manera análoga a la descrita para el Ejemplo 24 usando cloruro de isobutirilo. RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d6): 7,53 (1 H, d), 7,38-7,28 (1 H, m), 7,28-7,16 (2H, m), 7,07 (1 H, s), 4,75 (2H, s), 4,58 (2H, d), 3,44 (2H, d), 3,07-2,95 (1 H, m), 2,95-2,83 (1 H, m), 2,72-2,64 (1 H, m), 2,48-2,18 (8H, m), 2,15 (3H, d), 1,28 (6H, d), 1,23-1,17 (6H, m), 1,08 (6H, d); m/z 510 (MH).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Ejemplo 26

Calorimetría isotérmica de titulación

La capacidad de los compuestos fenólicos parentales de los compuestos pro-fármacos de la invención para unirse a la proteína Hsp90 puede determinarse utilizando la calorimetría de titulación isotérmica.

Los experimentos de calorimetría isotérmica de titulación (ITC) se llevaron a cabo con un calorímetro de titulación VP-ITC (Microcal Inc., Northampton, MA, EE.UU). Se llevó a cabo la clonación, expresión, y purificación del dominio del extremo N de la HSP90α humana según los métodos publicados (Jez, J. M. y col., Chem. Biol. 2003 Abr; 10 (4):

361-8). Se prepararon soluciones del dominio del extremo N de la Hsp90α humana y el compuesto en un tampón que comprendía Tris 25 mM, NaCl 100 mM, $MgCl_2$ 1 mM, TCEP 1 mM, un 5% de DMSO, pH 7,4. Todas las soluciones se filtraron y desgasificaron antes de llevarse a cabo la titulación. El cambio de entalpía resultante de cada inyección de ligando se obtuvo por medio de la integración de la señal calorimétrica. Los datos se analizaron utilizando Origin 7.0 (Microcal Software Inc., Northhampton, MA). Los calores de dilución se estimaron utilizando las inyecciones finales de cada titulación individual y se subdividieron en tramos antes de ajustar los datos. Se emplearon diferentes formatos experimentales de ITC con el fin de obtener las constantes de disociación (Kd) del compuesto sobre un amplio intervalo de afinidades. Para los compuestos con uniones débiles se utilizó un método ITC con valor c bajo (Turnbull W.B. & Daranas A.H. J. Am. Chem. Soc. 2003 Dic 3; 125 (48): 14859-66) en el que las proteínas se presentaron a 10-20 μM en la célula calorimétrica y la concentración del compuesto era de 1-20 μM en la jeringa de inyección. En este tipo de experimento el parámetro de estequiometria (N) se bloqueó a 1 para el ajuste de datos. Para las Kd en el intervalo de 20-0,004 μM el experimento se configuró tal que la concentración del sitio de unión dividido por la Kd (valor c) era entre 5 y 1.000. Para la mayoría de estos experimentos la concentración de proteína en la célula calorimétrica estaba en el intervalo 4-100 μM y la concentración de ligando en la jeringa de inyección variaba de 50-1.500 μM. En los raros casos en los que la solubilidad del compuesto era limitada, la solución del compuesto se colocó en la células calorimétrica y se tituló con la proteína de la jeringa de inyección, manteniendo un valor-c entre 5 y 1.000. Los experimentos de competición ITC se utilizaron para las Kd de acceso < 4 nM realizando la titulación en presencia de un competidor de enlace más débil de acuerdo con el método descrito en Sigurskjold B.W. Anal Biochem. Ene. 2000 15; 277(2):260-6.

Ejemplo 27

Actividad anti-proliferativa

Las actividades anti-proliferativas de los compuestos parentales de los pro-fármacos de la invención pueden determinarse midiendo la capacidad de los compuestos para inhibir el crecimiento celular en varias líneas celulares como la línea celular HCT116 de cáncer de colon. La inhibición del crecimiento celular se mide utilizando el ensayo Alamar Blue (Nociari, M. M. Shalev, A., Benias, P., Russo, C. Journal of Immunological Methods 1998, 213, 157 -167). El método se basa en la capacidad de células viables para reducir el resazurin a su producto fluorescente resorufin. Para cada ensayo de proliferación las células se colocan en placas de 96 pocillos y se les deja recuperarse durante 16 horas antes de añadirles los compuestos inhibidores durante 72 horas más. Al final del periodo de incubación se añade un 10% (v/v) de Alamar Blue y se incuba durante 6 horas más antes de la determinación del producto fluorescente a 535 nM ex/ 590 nM em. En el caso del ensayo de células no proliferativas las células se mantienen hasta la confluencia durante 96 horas antes de la adición de los compuestos inhibidores durante 72 horas más. El número de células viables se determina por el ensayo Alamar Blue como antes. Las líneas celulares se pueden obtener de ECACC (Colección Europea de Cultivos Celulares).

El compuesto parental de los pro-fármacos de los Ejemplos 1 a 25 es decir (2,4-dihidroxi-5-isopropilfenil)-[5-(4- metil -piperazin-1-ilmetil)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona en forma de su sal L-lactato, se ensayó en ensayos antiproliferativos contra cien líneas celulares de Oncodesign (Dijon, Francia). Los valores CI_{50} contra cada línea celular se muestran en la tabla siguiente y las cifras de la tabla se refieren a concentraciones nanomolares. Los compuestos se ensayaron a una concentración de 10.000 nanomolar.

N°	Líneas celulares	Concentración del compuesto de ensayo (nanomolar)
	SANGRE	
1	**ARH-77**	>10000
2	**BV-173**	73
3	**CCRF-CEM**	107
4	**CCRF-CEM/VLB**	>10000
5	**Daudi**	136
6	**EHEB**	>10000
7	**HL-60**	389
8	**HL-60/R10**	847
9	**K-562**	147
10	**K-562/Gleevec**	175
11	**KCL-22**	24

(Continuación)

N°	Líneas celulares	Concentración del compuesto de ensayo (nanomolar)
12	KG-1	>10000
13	LAMA-84	1098
14	MC90	93
15	NAMALWA	93
16	OCI-AML2	>10000
17	Raji	881
18	Ramos	46
19	RPMI 8226	10
20	RPMI 8226/Dox40	213
21	SUP-B15	37
22	U-937	104
CEREBRO		
23	CGL-1	>10000
24	CGL-3	75
25	CGL-9	161
MAMA		
26	CAMA-1	22
27	Evsa-T	168
28	HCC1954	28
29	MCF-7	>10000
30	MCF-7/ras	166
31	MDA-MB-435	122
32	MDA-MB-435S	26
33	ZR-75-1	131
COLON		
34	DLD-1	56
35	HCT 116	38
36	HCT-15	>10000
37	LoVo	51
38	LS 174T	159
TEJIDO CONECTIVO		
39	SW-872	>10000
CABEZA Y CUELLO		
40	BB30-HNSCC	273
41	BB49-HNSCC	146
42	FaDu	29

(Continuación)

N°	Líneas celulares	Concentración del compuesto de ensayo (nanomolar)
43	KB	48
44	KB3	48
45	LB1617-HNSCC	139
46	LB771-HNSCC	391
	RIÑÓN	
47	A-498	267
48	BB64-RCC	>10000
49	BB65-RCC	1251
50	Caki-1	>10000
51	LB1047-RCC	58
52	LB996-RCC	158
	HÍGADO	
53	Hep 3B2.1-7	95
54	SK-HEP-1	>10000
	PULMÓN	
55	A-427	130
56	Calu-1	270
57	Calu-3	>10000
58	Calu-6	32
59	LB11-SCLC/OC1	17
60	LB12-SCLC/OC2	52
61	LB13-SCLC/OC3	21
62	LB37-NSCLC	63
63	LB61-NSCLC	>10000
64	NCI-H1299	587
65	NCI-H460	118
66	NCI-H520	98
67	NCI-H596	84
68	NCI-H69	162
69	NCI-H82	>10000
70	SK-MES-1	270
	OVARIO	
71	Caov-3	94
72	IGROV-1	109
73	IGROV-1/CDDP	147
74	NIH:OVCAR-3	45
75	NIH: OVCAR-3/C PT20	>10000

(Continuación)

N°	Líneas celulares	Concentración del compuesto de ensayo (nanomolar)
76	PA-1	>10000
	PÁNCREAS	
77	BxPC-3	196
78	Capan-2	144
79	PANC-1	327
	PRÓSTATA	
80	DU 145	85
81	LNCaP-FGC	78
	PIEL	
82	A-375	1481
83	A-375-SM	340
84	A-431	3799
85	BB74-MEL	162
86	CMEL-5	130
87	Hs 294T	219
88	LB1319-MEL	35
89	Malme-3M	157
90	SK-MEL-2	138
91	SK-MEL-5	185
92	UZG4-MEL	180
	ESTÓMAGO	
93	AGS	66
94	Hs 746T	34
95	KATO III	162
96	FTC-238	26
	VEJIGA URINARIA	
97	J82	20
98	LB796-BLC	83
99	LB831-BLC	149
100	T24	852

Los resultados demuestran que el (2,4-dihidroxi-5-isopropilfenil)-[5-(4-methil-piperazin-1-ilmetil)-1,3-dihidro -isoindol-2 -il]-metanona tiene una potente actividad anti-proliferativa contra un amplio intervalo de diferentes líneas celulares.

FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

Ejemplo 28

(i) Formulación de un comprimido

Se prepara un comprimido de la composición que contiene el compuesto de la invención mezclando 50 mg del compuesto con 197 mg de lactosa (BP) como diluyente, y 3 mg de estearato magnésico como lubricante y se

comprime para formar un comprimido de una manera conocida.

(ii) Formulación de una cápsula

Se prepara una cápsula mezclando 100 mg de un compuesto de la invención con 100 mg de lactosa y cargando la mezcla resultante en cápsulas de gelatina duras opacas estándar.

(iii) Formulación inyectable I

Una composición parenteral para su administración por inyección se puede preparar disolviendo un compuesto de la invención (por ejemplo en forma de sal) en agua que contiene un 10% de propilenglicol para dar una concentración del compuesto activo del 1,5% por peso. La solución se esteriliza entonces por filtración, se mete en una ampolla y se sella

(iv) Formulación inyectable II

Una composición parenteral para inyección se prepara disolviendo en agua un compuesto de la invención (por ejemplo en forma de sal) (2 mg/ml) y manitol (50 mg/ml), se esteriliza filtrando la solución y se llenan viales o ampollas de 1 ml sellables.

(v) Formulación inyectable III

Una formulación para suministro i.v. por inyección o infusión se puede preparar disolviendo el compuesto de fórmula (I) (por ejemplo en forma de sal) en agua a 20 mg/ml. El vial se sella entonces y se esteriliza en un autoclave.

(vi) Formulación inyectable IV

Una formulación para suministro i.v. por inyección o infusión se puede preparar disolviendo el compuesto de fórmula (I) (por ejemplo en forma de sal) en agua que contiene un tampón (por ejemplo acetato 0,2 M pH 4,6) a 20 mg/ml. El vial entonces se sella y se esteriliza en autoclave.

(vii) Formulación de inyección subcutánea

Una composición para administración subcutánea se prepara mezclando un compuesto de la invención con aceite de maíz de calidad farmacéutica para dar una concentración de 5 mg/ml. La composición se esteriliza y se mete en un envase adecuado.

(viii) Formulación liofilizada

Se ponen alícuotas del compuesto formulado de fórmula (I) en viales de 50 ml y se liofilizan. Durante la liofilización, las composiciones se congelan utilizando un protocolo de congelación en una etapa a -45 ºC. La temperatura se sube a -10 ºC para la hibridación y luego se baja a congelación a -45 ºC, a continuación se realiza el secado primario a +25 ºC durante aproximadamente 3.400 minutos, a continuación se realiza un secado secundario con etapas crecientes de temperatura hasta los 50 ºC. La presión durante el secado primario y secundario se ajusta a 80 militorr.

(ix) Formulación tópica en gel al 2%

	% p/p
Compuesto	2,00
Hidroxipropil Metilcelulosa (Methocel F4M)	2,50
Óxido de Polietileno (Polyox WSR -205)	0,25
Propilenglicol	10,00
Metilparabeno	0,15
Propilparabeno	0,05
Agua purificada hasta	100,00

Ejemplo 29

Estudios de Estabilidad en el Plasma

La facilidad con la que los compuestos pro-fármacos de la invención se puede convertir en el residuo activo se puede evaluar midiendo in vitro la estabilidad de los compuestos en el plasma. El método se basa en la capacidad de las enzimas del plasma para metabolizar los compuestos en residuos activos. Los compuestos se añaden al plasma y se incuban a 37 ºC durante aproximadamente 1 hora. Se retiran alícuotas de plasma a intervalos de tiempo y el

compuesto se extrae por adición de acetonitrilo que contiene una referencia interna. Todos los extractos se analizan entonces para detectar compuestos parentales, el residuo activo y la referencia interna utilizando un ensayo LCMS-MS específico de cada compuesto. La estabilidad se mide por comparación de la relación entre el área del pico del compuesto parental y la referencia interna en un tiempo cero con la relación del área del pico entre el compuesto parental y la referencia interna en las muestras incubadas. También se evalúa la generación del residuo activo en las muestras.

Ejemplo 30

Investigación de la estabilidad en sangre entera y homogenado de hígado

La descomposición de un pro-fármaco *in vivo* podría ocurrir en uno o más de varios compartimentos diferentes incluyendo por ejemplo la sangre/plasma, hígado, estómago, un tejido diana (por ejemplo, un tumor). La localización preferida para la formación óptima del fármaco parental dependerá de la disponibilidad *in vivo* del pro-fármaco y el parental y el entendimiento de las concentraciones óptimas que se necesitan de cada uno en la circulación para maximizar la exposición del tejido diana al residuo activo. El potencial de las moléculas del pro-fármaco para suministrar el fármaco parental activo se puede evaluar in vitro midiendo la descomposición del pro-fármaco en presencia de fluidos corporales relevantes. Con el fin de adquirir una comprensión preliminar de la estabilidad de los compuestos de la invención a la hidrólisis enzimática en dos de los compartimentos corporales, se ha estudiado la conversión del compuesto tras la incubación en sangre completa y en homogenado hepático de ratones y seres humanos. Los datos obtenidos de estos estudios proporcionan una comprensión preliminar de cuáles de los pro-fármacos son más capaces para suministrar el compuesto parental (es decir el que se descompone más rápidamente en el compuesto parental) en estos compartimentos. Más estudios podrían también determinar la estabilidad en otros compartimentos (por ejemplo en tumores diana midiendo la estabilidad en lisados tumorales).

Para estos estudios, se recolectó sangre entera humana de 3 hombres voluntarios sanos en tubos con heparina de litio. La sangre se agrupó y se almacenó a temperatura ambiente durante un máximo de 2 horas antes de comenzar las incubaciones. Se recogió la sangre de ratón de 70 ratones macho, cepa: Balb/c en tubos de heparina de litio y se agruparon.

Se obtuvieron los hígados de 20 ratones machos, cepa Balb/c de animales del animalario. El tejido hepático humano se obtuvo de 3 individuos a partir de un banco de tejidos humanos del RU. Los hígados se almacenaron congelados. Los hígados se descongelaron y se homogenizaron para formar un homogenado de aproximadamente el 30% (p/v) en tampón fosfato 100 mM, pH 7,4 (al que se designa como “tampón”). Los homogenados se mantuvieron en hielo hasta su uso.

Cada incubación consistía en un volumen de 1 ml. Las soluciones de dosificación del compuesto de ensayo se añadieron en cada homogenado a una concentración final de compuesto a 1 μM. Las incubaciones se llevaron a cabo al aire en un baño con agitación a 37 ºC.

Se retiró una alícuota de las muestras de incubación y se puso con un nivel igual de acetonitrilo enfriado en hielo en varios puntos de tiempo. Las muestras (sangre entera/homogenado + acetonitrilo) se centrifugaron y se analizaron alícuotas del sobrenadante por UPLC-MS/MS.

El compuesto X ((2,4-dihidroxi-5-isopropilfenil)-[5-(4-methil-piperazin-1-ilmetil)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]- metanona) y los compuestos de los Ejemplos 1 a 24 se incubaron en la sangre entera y el homogenado de hígado en Quotient Bioresearch (Rushden, RU). El porcentaje de remanente de compuesto parental después de la incubación en sangre entera/ homogenado hepático de ser humano y de ratón se muestran en la tabla a continuación.

Número de Ejemplo	Porcentaje de remanente			
	Sangre de ratón	Sangre humana	Hígado de ratón	Hígado humano
X	102%	100%	112%	94%
1	104%	100%	104%	99%
2	129%	122%	100%	85%
3	100%	107%	93%	79%
4	106%	109%	63%	92%
5	124%	115%	86%	81%
6	125%	105%	75%	94%

(Continuación)

Número de Ejemplo	Porcentaje de remanente			
	Sangre de ratón	Sangre humana	Hígado de ratón	Hígado humano
7	104% *	109%	115%	92%
8	104%	114%	79%	102%
9	105% *	111%	82%	98%
10	93%	108%	60%	56%
11	38%	93%	1%	31%
12	37%	110%	1%	43%
13	0%	76%	0%	0%
14	94%	94%	89%	88%
15	58%	123%	26%	35%
16	91%	104%	82%	73%
17	24%	90%	0%	0%
18	103% *	110%	80%	65%
19	79% *	102%	0%	0%
20	16%	97%	45%	23%
21	0%	82%	0%	0%
22	0%	18%	0%	6%
23	0%	26%	0%	1%
24	0%	11%	0%	2%
*Para estas incubaciones el porcentaje de remanentes se establece a los 60 min., no a los 120 min.				

Ejemplo 31

Farmacocinética en Ratón

Se dosificaron los ratones Balb/c con un pro-fármaco por sonda oral. Se dio una sola administración de uno de los 24 ejemplos y se utilizó un volumen de dosis de 10 ml/kg para las dosis VO.

Las muestras de sangre se recogieron en tubos revestidos con heparina litio en tiempos determinados. Se aisló el plasma por centrifugación y se congelaron antes de los análisis.

Las muestras de plasma se prepararon por extracción líquido-líquido con acetonitrilo que contenía una referencia interna. La cuantificación se hizo por comparación con la línea de calibración de referencia construida con cada compuesto y utilizando un método LC-MS/MS específico para cada compuesto. Los animales que se habían dosificado con cada uno de los 24 ejemplos se analizaron para detectar el pro-fármaco y el compuesto X (2,4-dihidroxi -5-isopropilfenil)-[5-(4-methil-piperazin-1-ilmetil)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona. Los parámetros farmacocinéticos se calcularon utilizando el análisis con el software WinNonLin® no compartimental.

El $AUC_{0,\ 25\text{-}2\ h.}$ tras la administración VO de los ejemplos seleccionados se exponen en la tabla a continuación. Para los ejemplos 16, 17 y 11, el $AUC_{0,\ 25\text{-}2\ h.}$ se determinó después de una dosis única de 120 mmoles/kg o 240 mmoles/kg. En consecuencia, el compuesto del ejemplo 17 produjo la exposición óptima del agente farmacéutico activo con respecto a la dosis de partida.

Ejemplo	Nivel de dosis (mmoles/kg)	$AUC_{0.25\text{-}2hrs}$	
		Ejemplo	Compuesto X
16	120	280	73
17	120	1.534	298
11	240	13.512	247

En estudios separados se demostró que, los ejemplos 17 y 11 se toleraban bien en la administración de cuatro dosis diarias consecutivas a 120 mmoles /kg o 240 mmoles/kg respectivamente.

Ejemplo 32

Determinación de la actividad antifúngica

La actividad antifúngica de los compuestos parentales activos de los compuestos pro-fármacos de la invención se determina utilizando el siguiente protocolo.

Los compuestos se ensayaron contra un panel de hongos incluyendo Candida parapsilosis, Candida tropicalis, Candida albicans-ATCC36082 y Cryptococcus neoformans. Los organismos de ensayo se mantuvieron en medios Sabour y Agar dextrosa inclinados a 4 ºC. Se prepararon suspensiones únicas de cada organismo cultivando la levadura durante una noche a 27 ºC en una batería rotatoria en un caldo para levaduras con base de nitrógeno (YNB) con aminoácidos (Difco, Detroit, Mich.), pH 7,0 con 0,05 de ácido morfolino pro-pansulfónico (MOPS). Luego la suspensión se centrifugó y se lavó dos veces con NaCl 0,85% antes de sonicar la suspensión celular lavada durante 4 segundos (Branson Sonifier, model 350, Danbury, Conn.). Los blastóporos únicos se contaron en un hemocitómetro y se ajustó a la concentración deseada de ClNa al 0,85%.

La actividad de los compuestos de ensayo se determinó utilizando una modificación de una técnica de microdilución del caldo. Los compuestos de ensayo se diluyeron en DMSO hasta una relación de 1,0 mg/ml y luego se diluyó hasta 64 mg/ml en caldo YNB, pH 7,0 con MOPS (Se utilizó Fluconazol como control) para proporcionar una solución de trabajo para cada compuesto. Utilizando placas de 96 pocillos, los pocillos 1 y 3 hasta el 12 se prepararon con caldo YNB, se hicieron diluciones de 10 veces de la solución del compuesto en los pocillos 2 a 11 (intervalos de concentraciones de 64 a 0,125 mg/ml). El pocillo 1 sirve como un control de esterilidad y como blanco para los ensayos espectrofotométricos. El pocillo 12 sirve como control de crecimiento. Se inocularon placas microtiter con 10 ml en cada pocillo 2 a 11 (tamaño final del inóculo 10^4 organismos/ml). Las placas inoculadas se incubaron durante 48 horas a 35 ºC. Se determinaron los valores de la MIC espectrofotométricamente midiendo la absorbancia a 420 nm (Lector automático de microplacas, DuPont Instruments, Wilmington, Del.) después de agitar las placas durante 2 minutos con un mezclador agitador (Vorte-Genie 2 Mixer, Scientific Industries Inc., Bolemia, N.Y). El valor MIC se define como la concentración de fármaco más baja que muestra aproximadamente el 50% (o más) de reducción del crecimiento al compararse con el pocillo control. Esta se determina con el ensayo de turbidez como la concentración más baja de fármaco a cuya turbidez en el pocillo es < 50% del control (CI_{50}). Las Concentraciones Citolíticas Mínimas (MCC) se determinan subcultivando todos los pocillos de la placa de 96 pocillos en una placa Sabouraud dextrosa Agar (SDA), incubándola durante 1 o 2 días a 35 ºC y luego comprobando su viabilidad.

Ejemplo 33

Métodos de Ensayo de actividad de reducción del dolor o evitación del dolor

(I) ensayo de hiperalgesia inflamatoria

Se puede examinar la hiperalgesia mecánica en un modelo de rata de dolor inflamatorio. Los umbrales de retirado de la garra a un estímulo de presión en aumento se midió por la técnica de Randal-Sellito utilizando un analgesímetro (Ugo Basile, Milán), en animales sin contacto a tratamiento antes de la inyección con adyuvante completo de Freund (FCA) en la garra de la pata trasera izquierda. Se miden los umbrales de retirada de la garra de nuevo antes de (predosis) y luego de 10 minutos a 6 h después de la administración del fármaco o el vehículo. La reversión de la hiperalgesia en la garra ipsilateral se calcula de acuerdo con la fórmula:

$$\%\ reversión = \frac{umbral\ postdosis - umbral\ predosis}{umbral\ \text{sin}\ tratar - umbral\ predosis} \times 100$$

(ii) Ensayo de hiperalgesia neuropática

Se puede examinar la hiperalgesia mecánica en un modelo de rata de dolor neuropático inducido por ligadura parcial del nervio ciático izquierdo. Aproximadamente 14 días después de la cirugía, se miden los umbrales de retirada mecánica de ambas garras ligada (ipsilateral) y no ligada (contralateral) antes de (predosis) y luego desde 10 min a 6 h después de la administración del fármaco o el vehículo. La reversión de la hiperalgesia de cada punto temporal se calcula de acuerdo con la fórmula:

$$\%\,reversión = \frac{umbral\ ipsilateral\ postdosis - umbral\ ipsilateral\ predosis}{umbral\,\mathrm{contralateral}\ predosis - umbral\ ipsilateral\ predosis} \times 100$$

Todos los experimentos se llevaron a cabo utilizando grupos de 6 animales. Las concentraciones madre de fármacos se disolvieron en agua destilada y se hicieron posteriormente las diluciones en solución salina al 0,9% para la administración subcutánea en un volumen de 4 ml/kg. Todos los fármacos se fabricaron en viales plásticos y se mantuvieron en oscuridad.

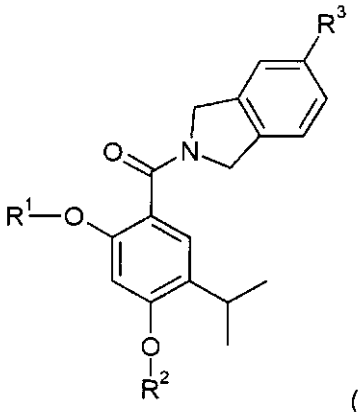
Los análisis estadísticos se llevaron a cabo sobre lecturas de umbral de retirada (g) utilizando ANOVA con mediciones repetidas y a continuación por ensayo de Tukey. La eficacia se refiere a la máxima reversión de la hiperalgesia observada a las dosis utilizadas.

(iii) Ensayo de los efectos de los compuestos parentales activos de los compuestos pro-fármacos de la invención en un modelo de rata de dolor de cáncer de huesos

Se les pusieron inyecciones intratibiales de células de carcinoma de la glándula mamaria MRMZ-1 (3 ml, 10^7 células/ml) a ratas hembras adultas. Los animales típicamente desarrollaron hiperalgesia mecánica gradualmente, alodinia mecánica (sensibilidad de la piel a estímulos no noxales) y retracción de la pata trasera, empezando el día 12-14 después de la inyección celular. Se les administró un compuesto de la fórmula (0) (por ejemplo a una dosis de 10 a 30 mg/kg s.c.) 3 veces por semana desde el día de la inyección celular, y se determinó la extensión de la inhibición de la retracción de la pata trasera y la alodinia mecánica en comparación con los controles tratados con el vehículo.

REIVINDICACIONES

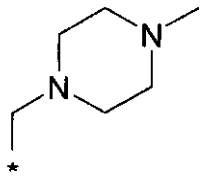
1. Un compuesto de la fórmula (1a):



(1a)

una sal, solvato, N-óxido o tautómero del mismo;

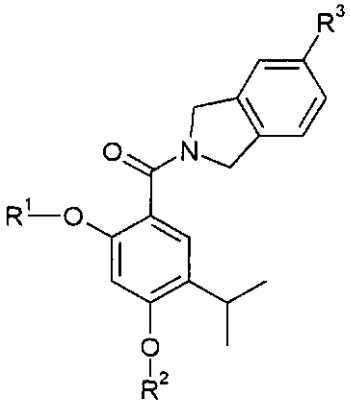
donde R^1 es R^{1a} y R^2 es R^{2a}; o R^1 es R^{1b} y R^2 es R^{2b}; con la condición de que en cada caso al menos uno de R^1 y R^2 sea distinto de hidrógeno;
R^{1a} y R^{2a} son iguales o diferentes y cada uno se selecciona entre hidrógeno, alquilo C_{1-4}, alquenilo C_{2-4}, y alquinilo C_{2-4}, donde el alquilo C_{1-4} está sustituido con alcoxi C_{1-2};
R^{1b} y R^{2b} son iguales o diferentes y se seleccionan entre hidrógeno, $C(O)NR^4R^5$, $C(O)R^6$ y $C(O)OR^6$, donde R^6 es alquilo C_{1-4}, R^4 y R^5 son ambos alquilo C_{1-4}, o NR^4R^5 forma un un anillo heterocíclico saturado de 4 a 7 miembros que contiene opcionalmente un segundo miembro de anillo heteroaromático seleccionado entre O, N o S y formas oxidadas de N y S, estando el anillo heterocíclico opcionalmente sustituido con uno o dos grupos alquilo C_{1-4} y/o uno o dos grupos oxo; y
R^3 es un grupo D:



D

donde el asterisco indica el punto de unión al anillo isoindolina; pero excluyendo el compuesto 5-acetoxi-4-isopropil-2-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenilo éster del ácido acético.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 de la fórmula (1 b):

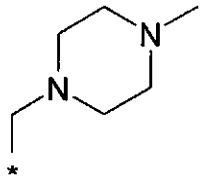


(1b)

o una sal, solvato, N-óxido o tautómero del mismo;

donde R^1 es R^{1a} y R^2 es R^{2a} ; o R^1 es R^{1b} y R^2 es R^{2b}; con la condición de que en cada caso al menos uno de R^1 y R^2 sea distinto de hidrógeno;
R^{1a} y R^{2a} son iguales o diferentes y cada uno se selecciona entre hidrógeno, alquilo C_{1-2}, alquenilo C_{2-3} y alquinilo

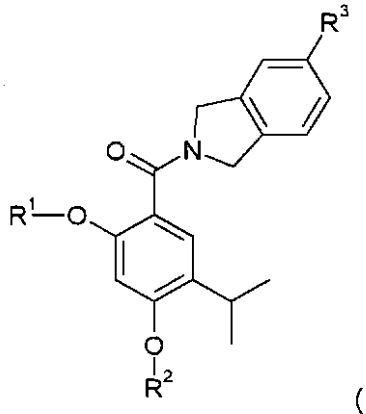
C_{2-3}, donde el alquilo C_{1-2} está sustituido con metoxi;
R^{1b} y R^{2b} son iguales o diferentes y se seleccionan entre hidrógeno y $C(O)NR^4R^5$, donde R^4 y R^5 son ambos alquilo C_{1-4}; o NR^4R^5 forma un un anillo heterocíclico saturado de 4 a 7 miembros que contiene opcionalmente un segundo miembro de anillo heteroaromático seleccionado entre O, N o S y formas oxidadas de N y S, estando el anillo heterocíclico opcionalmente sustituido con uno o dos grupos alquilo C_{1-4} y/o uno o dos grupos oxo; o
R^{1b} y R^{2b} son iguales o diferentes y se seleccionan entre hidrógeno y $C(O)R^{6a}$, donde R^{6a} es alquilo C_{2-4}; o
R^{1b} y R^{2b} son iguales o diferentes y se seleccionan entre hidrógeno y $C(O)R^6$ donde R^6 se selecciona entre metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, 1-metilpropilo, 2-metilpropilo y *terc*-butilo; o
uno de R^{1b} y R^{2b} es $C(O)NR^{4a}R^{5a}$ donde R^{4a} y R^{5a} son ambos alquilo C_{1-4}, y el otro de R^{1b} y R^{2b} se selecciona entre $C(O)R^6$ y $C(O)OR^6$; y R^3 es un grupo D:



D

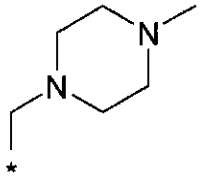
donde el asterisco indica el punto de unión al anillo isoindolina.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2 de la fórmula (1c):



(1c)

o una sal, solvato, N-óxido o tautómero del mismo;
donde R^1 es R^{1b} y R^2 es R^{2b}; con la condición de que al menos uno de R^1 y R^2 sea distinto de hidrógeno;
R^{1b} y R^{2b} son iguales o diferentes y se seleccionan entre hidrógeno y $C(O)NR^4R^5$, donde R^4 y R^5 son ambos alquilo C_{1-4}; o NR^4R^5 forma un un anillo heterocíclico saturado de 4 a 7 miembros que contiene opcionalmente que contiene opcionalmente un O, N o S y formas oxidadas de N y S, estando el anillo heterocíclico opcionalmente sustituido con uno o dos alquilo C_{1-4} y/o uno o dos grupos oxo; y
R^3 es un grupo D:



D

donde el asterisco indica el punto de unión al anillo isoindolina.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde R^1 es R^{1a} y R^2 es R^{2a} y cada uno de R^{1a} y R^{2a} se seleccionan entre hidrógeno, metilo, metoximetilo y alilo.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde R^1 es R^{1b} y R^2 es R^{2b} y R^{1b} y R^{2b} son iguales o diferentes y se seleccionan entre hidrógeno, $C(O)NR^4R^5$, $C(O)R^6$ y $C(O)OR^6$, donde R^6 es alquilo C_{1-4}, R^4 y R^5 son ambos alquilo C_{1-4}.

6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde R^6 se selecciona entre metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, 1-metilpropilo, 2-metilpropilo y *terc*-butilo.

7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 6 donde R^6 es alquilo C_{2-4}.

8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, donde:

- R^{1b} y R^{2b} son iguales o diferentes y se seleccionan entre hidrógeno y $C(O)OR^6$; y
- R^6 es *terc*-butilo o isopropilo.

9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3 o la reivindicación 5 donde R^{1b} y R^{2b} son iguales o diferentes y cada uno es hidrógeno o un grupo $C(O)NR^4R^5$, donde NR^4R^5 forma un un anillo heterocíclico saturado de 4 a 7 miembros que contiene opcionalmente un segundo miembro de anillo heteroaromático seleccionado entre O, N o S y formas oxidadas de N y S, estando el anillo heterocíclico opcionalmente sustituido con uno o dos grupos alquilo C_{1-4} y/o uno o dos grupos oxo.

10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 8, donde el anillo heterocíclico saturado se selecciona entre pirrolidina, piperidina, piperazina, 4-metilpiperazina y morfolina.

11. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que se selecciona entre:

(2-aliloxi-4-hidroxi-5-isopropil-fenil)-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona;
(4-aliloxi-2-hidroxi-5-isopropil-fenil)-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona;
(2,4-bis-aliloxi-5-isopropil-fenil)-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona;
[4-hidroxi-5-isopropil-2-(metoximetiloxi)-fenil]-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona;
[2-hidroxi-5-isopropil-4-(metoximetiloxi)-fenil]-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona;
[5-isopropil-2,4-bis-(metoximetiloxi)-fenil]-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona;
5-dietilcarbamoiloxi-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido dietil-carbámico;
5-dimetilcarbamoiloxi-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidroisoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido dimetil-carbámico;
2-[2,4-bis-(pirrolidin-1-ilcarboniloxi)-5-isopropil-benzoil]-5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol;
2-[2,4-bis-(morfolin-4-ilcarboniloxi)-5-isopropil-benzoil]-5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidroisoindol;
5-hidroxi-4-isopropil-2-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido dietil-carbámico;
5-hidroxi-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido dietil-carbámico;
5-hidroxi-4-isopropil-2-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido dimetil-carbámico;
5-hidroxi-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido dimetil-carbámico;
2-[2-(pirrolidin-1-ilcarboniloxi)-4-hidroxi-5-isopropil-benzoil]-5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol;
2-[4-(pirrolidin-1-ilcarboniloxi)-2-hidroxi-5-isopropil-benzoil]-5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol;
2-[2-(morfolin-4-ilcarboniloxi)-4-hidroxi-5-isopropil-benzoil]-5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol;
2-[4-(morfolin-4-ilcarboniloxi)-2-hidroxi-5-isopropil-benzoil]-5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol;
5-dimetilcarbamoiloxi-4-isopropil-2-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-di-hidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster de *terc*-butil éster del ácido carbónico;
terc-butilo éster de 5-*terc*-butoxicarboniloxi-4-isopropil-2-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido carbónico;
5-(2,2-dimetil-propioniloxi)-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido 2,2-dimetil-propiónico;
5-isobutiriloxi-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenil éster del ácido isobutírico;

y sales, solvatos, tautómeros y N-óxidos de los mismos.

12. 5-Hidroxi-2-isopropil-4-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetilo)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-fenilo éster del ácido Dimetil-carbámico.

13. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

14. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 13 para su uso:

(i) como un inhibidor de la Hsp90; o
(ii) en la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección mediada por la Hsp90; o
(iii) en el tratamiento de una enfermedad o afección que comprende o se produce por el crecimiento celular anormal en un mamífero; o
(iv) en el tratamiento del cáncer; o
(v) en el tratamiento de un carcinoma de vejiga, mama, colon (por ejemplo carcinomas colorrectales tales como

adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), riñón, epidermis, hígado, pulmón, por ejemplo adenocarcinoma, carcinoma pulmonar de células pequeñas y células no pequeñas, esófago, vesícula, ovario, páncreas por ejemplo carcinoma pancreático exocrino, estómago, cérvix, tiroides, próstata, sistema gastrointestinal, por ejemplo tumores del estroma gastrointestinal, o piel, por ejemplo, carcinoma de células escamosas; un tumor hematopoyético de linaje linfoide, por ejemplo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, linfoma de células B (tales como linfoma difuso de células B grandes), linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas, o linfoma de Burkitt; un tumor hematopoyético de linaje mieloide, incluyendo leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemias mielógenas, y leucemias mielógenas crónicas sensibles y refractarias al Imatinib, síndrome mielodisplásico, mieloma múltiple sensible y refractario a Bortezomib, enfermedad mieloproliferativa o leucemia promielocítica; cáncer folicular tiroideo; un tumor de origen mesenquimal, por ejemplo fibrosarcoma o rabdomiosarcoma; un tumor del sistema nervioso central o periférico, por ejemplo astrocitoma, neuroblastoma, glioma (un glioma de alto grado) o schwanoma; melanoma (por ejemplo melanoma maligno o metastático); seminoma; teratocarcinoma; osteosarcoma; queratoacantoma; cáncer folicular tiroideo; o sarcoma de Kaposi. Un ejemplo más de un tumor de origen mesenquimático es el sarcoma de Ewing; o

(vi) en el tratamiento de un carcinoma de la vejiga, mama, colon (por ejemplo carcinomas colorrectales tales como adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), riñón, epidermis, hígado, pulmón, por ejemplo adenocarcinoma, carcinomas pulmonares de células pequeñas y no pequeñas, vesícula, ovario, páncreas por ejemplo carcinoma pancreático exocrino, estómago, tiroides, próstata, sistema gastrointestinal, por ejemplo tumores del estroma gastrointestinal, o piel, por ejemplo carcinoma de células escamosas; un tumor hematopoyético de linaje linfoide, por ejemplo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, linfoma de células B (tal como el linfoma difuso de células B grandes), linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas, o linfoma de Burkitt; un tumor hematopoyético de linaje mieloide, incluyendo leucemia mieloide aguda, leucemias mieloides crónicas, leucemias mielógenas, y leucemias mielógenas crónicas sensibles y refractarias al Imatinib, síndrome mielodisplásico, mieloma múltiple sensible y refractario al Bortezomib, enfermedad mieloproliferativa o leucemia promielocítica; cáncer tiroideo folicular; un tumor de origen mesenquimático, por ejemplo fibrosarcoma o rabdomiosarcoma; un tumor del sistema nervioso central o periférico, por ejemplo un astrocitoma, glioma (glioma de alto grado); melanoma (por ejemplo, melanoma maligno o metastático); osteosarcoma; o cáncer tiroideo folicular. Un ejemplo más de un tumor de origen mesenquimático es el sarcoma de Ewing; o

(vii) en el tratamiento de un cáncer seleccionado de entre cáncer metastático de mama que es HER2 positivo; adenocarcinoma de próstata; melanoma metastático; carcinoma de pulmón de células no pequeñas (NSCLC); carcinoma de pulmón de células pequeñas (SCLC); gliomas de alto grado; tumores del estroma gastrointestinal (GIST); cáncer colorrectal, glioblastoma; melanoma; cáncer tiroideo metastático, cáncer de próstata, y cáncer rectal; o

(viii) el tratamiento de un cáncer seleccionado de entre cáncer colorrectal; glioblastoma; melanoma; cáncer tiroideo metastático; cáncer de próstata; y cáncer rectal; o

(ix) en medicina.

15. El uso de un compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 13 para la fabricación de un medicamento para uno cualquiera o más de los usos que se definen en la reivindicación 14.