

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 510 840**

51 Int. Cl.:

C07K 5/087 (2006.01)

C07K 5/08 (2006.01)

A61K 38/06 (2006.01)

C07K 5/062 (2006.01)

C07K 5/078 (2006.01)

C07D 303/32 (2006.01)

C07D 409/12 (2006.01)

C07K 5/027 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

A61K 31/335 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.05.2005 E 08164241 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.07.2014 EP 2030981**

54 Título: **Compuestos para la inhibición enzimática del proteosoma**

30 Prioridad:

10.05.2004 US 569885 P

14.09.2004 US 610040 P

07.12.2004 US 634366 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.10.2014

73 Titular/es:

ONYX THERAPEUTICS, INC. (100.0%)

249 East Grand Avenue

South San Francisco, CA 94080, US

72 Inventor/es:

SMYTH, MARK S.;

LAIDIG, GUY J.;

BORCHARDT, RONALD T.;

BUNIN, BARRY A.;

CREWS, CRAIG M.;

MUSSER, JOHN H.;

SHENK, KEVIN D. y

RADEL, PEGGY A.

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 510 840 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos para la inhibición enzimática del proteosoma

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a compuestos y a métodos de inhibición enzimática. En particular, la invención se refiere a métodos terapéuticos basados en la inhibición enzimática.

10 **Antecedentes de la invención**

En eucariotas, la degradación de las proteínas está mediada predominantemente por la ruta de la ubiquitina, en la que las proteínas objeto de la destrucción están ligadas al polipéptido ubiquitina de 76 aminoácidos. Una vez atacadas, las proteínas ubiquitinadas sirven después como sustratos para el proteosoma 26S, una proteasa multicatalítica, que escinde las proteínas en péptidos cortos mediante la acción de sus tres actividades proteolíticas principales. Aunque tiene una función general en el recambio de las proteínas intracelulares, la degradación mediada por el proteosoma también desempeña un papel clave en muchos procesos tales como la presentación del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de clase I, la apoptosis, la división celular y activación de NF- κ B.

20 El proteosoma 20S es un complejo proteasa multicatalítico de forma cilíndrica de 700 kDa compuesto de 28 subunidades organizadas en cuatro anillos que desempeña importantes papeles en la regulación del crecimiento celular, la presentación del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de clase I, la apoptosis, el procesamiento de antígenos, la activación de NF- κ B y la transducción de las señales proinflamatorias. En levaduras y otros eucariotas, 7 subunidades α diferentes forman los anillos exteriores y 7 subunidades β diferentes comprenden los anillos interiores. Las subunidades α sirven como sitios de unión para los complejos reguladores 19S (PA700) y 11S (PA28), así como sirven como una barrera física para la cámara proteolítica interior formada por los dos anillos de subunidades β . Así pues, *in vivo*, se cree que el proteosoma existe como una partícula 26S ("el proteosoma 26S"). Los experimentos *in vivo* han demostrado que la inhibición de la forma 20S del proteosoma se puede correlacionar muy fácilmente con la inhibición del proteosoma 26S. La escisión de las prosequencias aminoterminales de las subunidades β durante la formación de las partículas expone los restos de treonina aminoterminales, que sirven como nucleófilos catalíticos. Las subunidades responsables de la actividad catalítica en el proteosoma poseen, por tanto, un resto nucleófilo aminoterminal, y estas subunidades pertenecen a la familia de las hidrolasas nucleófilas N-terminales (Ntn) (donde el resto nucleófilo N-terminal es, por ejemplo, Cys, Ser, Thr y otros restos nucleófilos). Esta familia incluye, por ejemplo, penicilina G acilasa (PGA), penicilina V acilasa (PVA), glutamina PRP amidotransferasa y glicosilasparraginasas bacterianas. Además de las subunidades β expresadas ubicuamente, los vertebrados superiores también poseen tres subunidades β inducibles por el interferón γ (LMP7, LMP2 y MECL1), que reemplazan a sus homólogos normales, X, Y y Z respectivamente, modificando así las actividades catalíticas del proteosoma. Mediante el uso de diferentes sustratos peptídicos, se han definido tres actividades proteolíticas principales para el proteosoma 20S eucariota: la actividad de tipo quimiotripsina (CT-L), que escinde detrás de los grandes restos hidrófobos; la actividad de tipo tripsina (T-L), que escinde detrás de los restos básicos; y la actividad que hidroliza el péptido peptidilglutamilo (PGPH), que escinde detrás de los restos ácidos. También se han atribuido al proteosoma dos actividades menos caracterizadas adicionales: la actividad BrAAP, que escinde detrás de aminoácidos de cadena ramificada; y la actividad SNAAP, que escinde detrás de aminoácidos neutros pequeños. Las principales actividades proteolíticas del proteosoma parecen estar asistidas por diferentes sitios catalíticos, dado que los inhibidores, las mutaciones puntuales en las subunidades β y el intercambio de subunidades β que inducen el interferón γ alteran estas actividades en diversos grados.

Hay varios ejemplos de moléculas pequeñas que se han usado para inhibir la actividad del proteosoma; sin embargo, en general, estos compuestos carecen de la especificidad, la estabilidad o la potencia necesarias para explorar y aprovechar los papeles del proteosoma a nivel celular y molecular. Por lo tanto, se requiere la síntesis de inhibidor(es) de molécula pequeña con mayor especificidad de sitio, mejor estabilidad y solubilidad, y mayor potencia para permitir la exploración de los papeles del proteosoma al nivel celular y molecular.

55 En *Chem. Biol.* Vol. 6, 1999, 811-822; *Mol. Cell.*, Vol. 7, 2001, 45 411-420; *Tetrahedron letters*, vol. 41, 2000, 6005-6009; *Medicinal Research Reviews*, Vol. 21, 2001, 245-273 y el documento WO-A-0128579, se desvelan epoxicetonas inhibitoras del proteosoma.

Sumario de la invención

60 La invención se refiere a clases de moléculas conocidas como péptidos α',β' -epóxidos. Se entiende que las moléculas precursoras se unen eficaz, irreversible y selectivamente a la hidrolasa nucleófila N-terminal (Ntn), y pueden inhibir específicamente determinadas actividades de enzimas que tienen actividad catalítica múltiple.

65 Antes se pensaba que simplemente disponía de proteínas desnaturalizadas y mal plegadas, pero hoy en día se admite que el proteosoma constituye una maquinaria proteolítica que regula los niveles de diversas proteínas

intracelulares a través de su degradación de una manera dependiente de la señal. Por consiguiente, hay un gran interés en identificar los reactivos que pueden perturbar específicamente las actividades del proteosoma y otras hidrolasas Ntn y, por lo tanto, que se puedan usar como sondas para estudiar el papel de estas enzimas en los procesos biológicos. En el presente documento, se describen, sintetizan e investigan compuestos dirigidos a las hidrolasas Ntn. Se desvelan y reivindican epóxidos peptídicos que pueden inhibir determinadas actividades del proteosoma de manera potente, selectiva e irreversible.

A diferencia de otros varios inhibidores basados en péptidos, no se espera que los epóxidos peptídicos descritos en el presente documento inhiban sustancialmente las proteasas no proteosómicas tales como la tripsina, la quimiotripsina, la catepsina B, la papaína y la calpaína a concentraciones de hasta 50 μM . A concentraciones superiores, se puede observar la inhibición, pero cabría esperar que fuera competitiva y no irreversible si el inhibidor simplemente compite con el sustrato. También se espera que los epóxidos peptídicos y las aziridinas peptídicas novedosos inhiban la activación de NF- κ B y estabilicen los niveles de p53 en cultivo celular. Además, cabría esperar que estos compuestos tuvieran actividad antiinflamatoria. Así pues, estos compuestos pueden ser sondas moleculares únicas, que tienen la versatilidad de explorar la función de enzimas Ntn en procesos biológicos y patológicos normales.

En un aspecto, la invención proporciona inhibidores que comprenden un anillo de tres miembros que contiene heteroátomos como se define en las reivindicaciones anexas. Estos inhibidores pueden inhibir la actividad catalítica de las enzimas hidrolasas nucleófilas N-terminales (por ejemplo, el proteosoma 20S o el proteosoma 26S) cuando dicho inhibidor está presente a concentraciones inferiores a aproximadamente 50 μM . Con respecto al proteosoma 20S, determinados inhibidores de hidrolasa inhiben la actividad de tipo quimiotripsina del proteosoma 20S cuando el inhibidor está presente a concentraciones inferiores a aproximadamente 5 μM , y no inhiben la actividad de tipo tripsina ni la actividad PGPH del proteosoma 20S cuando el inhibidor está presente a concentraciones inferiores a aproximadamente 5 μM .

En otro aspecto, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que incluyen un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad farmacéuticamente eficaz del inhibidor de hidrolasa, que mejoran los efectos de la enfermedad neurodegenerativa (tal como la enfermedad de Alzheimer), las enfermedades de atrofia muscular, el cáncer, las enfermedades infecciosas crónicas, la fiebre, la inactividad muscular, la denervación, la lesión nerviosa, el ayuno y las afecciones relacionadas con el sistema inmune, entre otras.

En otro aspecto, la invención proporciona composiciones antiinflamatorias.

En otro aspecto, la invención proporciona compuestos para su uso en lo siguiente: inhibir o reducir la infección por VIH en un sujeto; afectar al nivel de expresión génica viral en un sujeto; alterar la variedad de péptidos antigénicos producidos por el proteosoma en un organismo; determinar si un proceso celular, del desarrollo, o fisiológico o de producción en un organismo está regulado por la actividad proteolítica de una determinada hidrolasa Ntn; tratar la enfermedad de Alzheimer en un sujeto; reducir la velocidad de la degradación proteica muscular en una célula; reducir la velocidad de la degradación proteica intracelular; reducir la velocidad de la degradación proteica de p53 en una célula; inhibir el crecimiento de los cánceres relacionados con p53 en un sujeto; inhibir la presentación antigénica en una célula; suprimir el sistema inmune de un sujeto; inhibir la degradación de I κ B- α en un organismo; reducir el contenido de NF- κ B en una célula, músculo, órgano o sujeto; afectar a ciclos celulares eucariotas dependientes de la ciclina; tratar la enfermedad proliferativa en un sujeto; afectar a la regulación dependiente del proteosoma de oncoproteínas en una célula; tratar el crecimiento del cáncer en un sujeto; tratar la apoptosis relacionada con p53 en un sujeto; y rastrear proteínas procesadas por las hidrolasas nucleófilas N-terminales en una célula. Los métodos en los que se usan estas composiciones implican la administración o la puesta en contacto de una cantidad eficaz de una composición que comprende los inhibidores de hidrolasa desvelados en el presente documento, a un sujeto, una célula, un tejido, un órgano o un organismo.

Otras características y ventajas de la invención se harán patentes a partir de la siguiente descripción detallada y de las reivindicaciones.

Descripción detallada de la invención

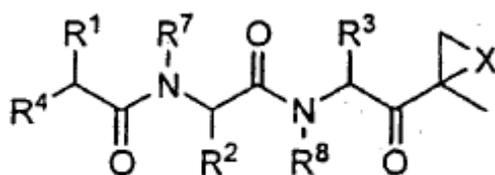
La invención implica compuestos útiles como inhibidores enzimáticos según lo definido en las reivindicaciones anexas. Estos compuestos son generalmente útiles para inhibir enzimas que tienen un grupo nucleófilo en el extremo N-terminal. Los inhibidores enzimáticos descritos en el presente documento pueden inhibir satisfactoriamente, por ejemplo, actividades de enzimas o subunidades enzimáticas que tengan aminoácidos N-terminales con nucleófilos en sus cadenas laterales, tales como treonina, serina o cisteína. Las actividades de enzimas o de subunidades enzimáticas que no tienen ningún grupo nucleófilo aminoácido en sus extremos N-terminales, tales como, por ejemplo, grupos protectores o carbohidratos, también pueden ser inhibidas satisfactoriamente por los inhibidores enzimáticos descritos en el presente documento.

Sin el deseo de quedar vinculados a ninguna teoría de actuación en particular, se cree que dichos nucleófilos N-terminales de Ntn forman aductos covalentes con el grupo funcional epóxido de los inhibidores enzimáticos descritos en el presente documento. Por ejemplo, en la subunidad $\beta 35/\text{Pre}2$ del proteosoma 20S, se cree que la treonina N-terminal forma irreversiblemente un aducto de morfolino o piperazino tras la reacción con un péptido epóxido o aziridina tal como aquellos descritos más adelante. Dicha formación del aducto implicaría la escisión de apertura de anillo del epóxido o de la aziridina.

En realizaciones que incluyen dichos grupos enlazados a carbonos α' , la estereoquímica del carbono α' (formando ese carbono una parte del anillo epóxido o aziridina) puede ser (R) o (S). La invención se basa, en parte, en la información de estructura-función desvelada en el presente documento, que sugiere las siguientes relaciones estereoquímicas preferidas. Cabe señalar que un compuesto preferido puede tener un número de estereocentros que tenga la relación arriba-abajo indicada (o β - α , donde β como se dibuja en el presente documento está por encima del plano de la página) o (R)-(S) (es decir, no es necesario cada estereocentro del compuesto conforme a las preferencias establecidas). En algunas realizaciones preferidas, la estereoquímica del carbono α' es (R), es decir, el átomo X es β , o está por encima del plano de la molécula.

Con respecto a la estereoquímica, se siguen las reglas de Cahn-Ingold-Prelog para determinar la estereoquímica absoluta. Estas reglas se describen, por ejemplo, en "Organic Chemistry", Fox y Whitesell; Jones and Bartlett Publishers, Boston, MA (1994); Sección 5-6, pág. 177-178.

Los compuestos de acuerdo con la invención son aquellos de fórmula (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos:



(III)

en la que

cada Ar es, de manera independiente, un grupo aromático o heteroaromático opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes;

L se selecciona entre C=O, C=S y SO₂, preferentemente SO₂ o C=O;

X es O;

Y está ausente o se selecciona entre C=O y SO₂;

R¹, R² y R³ se seleccionan, cada uno de manera independiente, entre alquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, alcoxialquilo C₁₋₆, arilo y aralquilo C₁₋₆, estando cada uno de los cuales opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes amida, amina, ácido carboxílico (o una sal del mismo), éster (incluyendo alquil C₁₋₆-éster, alquil C₁₋₅-éster y ariléster), tiol o tioéter;

R⁴ es N(R⁵)L-R⁶;

R⁵ es hidrógeno,

R⁶ se selecciona entre OR⁷, alquenilo C₁₋₆, Ar-Y-, carbociclilo y heterociclilo; y

R⁷ y R⁸ son hidrógeno. En los que "alquilo" consiste en grupos alquilo o haloalquilo no sustituidos.

En ciertas realizaciones, L es preferentemente SO₂ o C=O.

En ciertas realizaciones, R⁵ se selecciona entre hidrógeno, OH, aralquilo C₁₋₆ y alquilo C₁₋₆, preferentemente hidrógeno.

En ciertas realizaciones, R⁶ se selecciona entre alquenilo C₁₋₆, Ar-Y-, carbociclilo y heterociclilo.

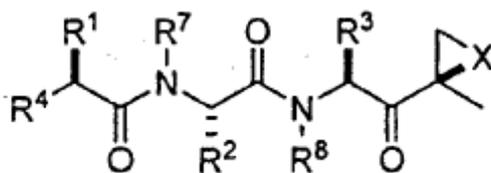
En ciertas realizaciones, X es O, y R¹, R² y R³ se seleccionan, cada uno de manera independiente, entre alquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆ y aralquilo C₁₋₆. En realizaciones preferidas de este tipo, R¹ y R³ son, de manera independiente, alquilo C₁₋₆ y R² es aralquilo C₁₋₆. En realizaciones más preferidas de este tipo, R¹ y R³ son ambos isobutilo y R² es fenilmetilo.

5 En ciertas realizaciones, R⁵ es hidrógeno, L es C=O o SO₂, R⁶ es Ar-Y- y cada Ar se selecciona, de manera independiente, entre fenilo, indolilo, benzofuranilo, naftilo, quinolinilo, quinolonilo, tienilo, piridilo, pirazilo y similares. En ciertas realizaciones de este tipo, Ar puede estar sustituido con Ar-Q-, donde Q se selecciona entre un enlace directo, -O- y alquilo C₁₋₆.

10 En ciertas realizaciones, R⁵ es hidrógeno, L es C=O o SO₂ y R⁶ se selecciona entre Ar-Y y heterociclilo. En ciertas realizaciones preferidas de este tipo, heterociclilo se selecciona entre cromonilo, cromanilo, morfolino y piperidinilo. En otras ciertas realizaciones de este tipo, Ar se selecciona entre fenilo, indolilo, benzofuranilo, naftilo, quinolinilo, quinolonilo, tienilo, piridilo, pirazilo y similares.

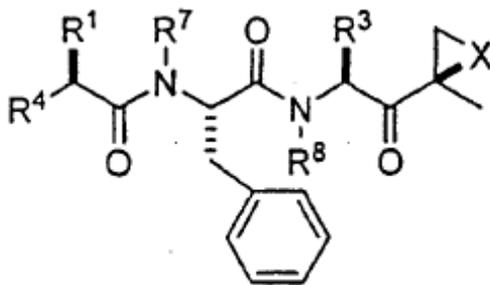
15 En ciertas realizaciones, R⁵ es hidrógeno, L es C=O o SO₂ y R⁶ es alquenilo C₁₋₆, donde alquenilo C₁₋₆ es un grupo vinilo sustituido donde el sustituyente es preferentemente un grupo arilo o heteroarilo, más preferentemente un grupo fenilo opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes.

20 En ciertas realizaciones, un compuesto de fórmula (III) tiene la siguiente estereoquímica:



(III)

En realizaciones preferidas, el inhibidor tiene una estructura de fórmula (V) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma,



(V)

25 en la que

cada Ar es, de manera independiente, un grupo aromático o heteroaromático opcionalmente sustituido con 1-4 sustituyentes;

30 L se selecciona entre C=O, C=S y SO₂, preferentemente SO₂ o C=O;

X es O;

Y está ausente o se selecciona entre C=O y SO₂;

35 R¹ y R³ se seleccionan, cada uno de manera independiente, entre alquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, alcoxialquilo C₁₋₆, arilo y aralquilo C₁₋₆, estando cada uno de los cuales opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes amida, amina, ácido carboxílico (o una sal del mismo), éster (incluyendo alquil C₁₋₅-éster y ariléster), tiol o tioéter;

40 R⁴ es N(R⁵)L-R⁶;

R⁵ es hidrógeno,

R⁶ se selecciona entre, OR⁷, alqueno C₁₋₆, Ar-Y-, carbociclilo y heterociclilo; y

5 R⁷ y R⁸ son hidrógeno.

En ciertas realizaciones, L es preferentemente SO₂ o C=O.

10 En ciertas realizaciones, R⁵ se selecciona entre hidrógeno, OH, aralquilo C₁₋₆ y alquilo C₁₋₆, preferentemente hidrógeno.

En ciertas realizaciones, R⁶ se selecciona entre alqueno C₁₋₆, Ar-Y-, carbociclilo y heterociclilo.

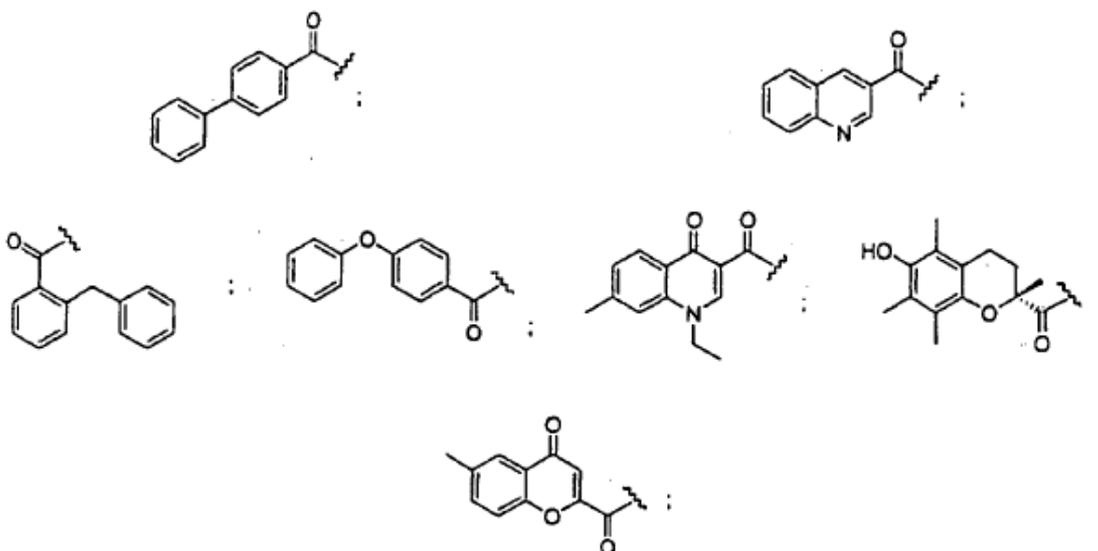
15 En ciertas realizaciones, R¹ y R³ se seleccionan, cada uno de manera independiente, entre alquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆ y aralquilo C₁₋₆. En realizaciones preferidas de este tipo, R¹ y R³ son, de manera independiente, alquilo C₁₋₆. En realizaciones más preferidas de este tipo, R¹ y R³ son isobutilo.

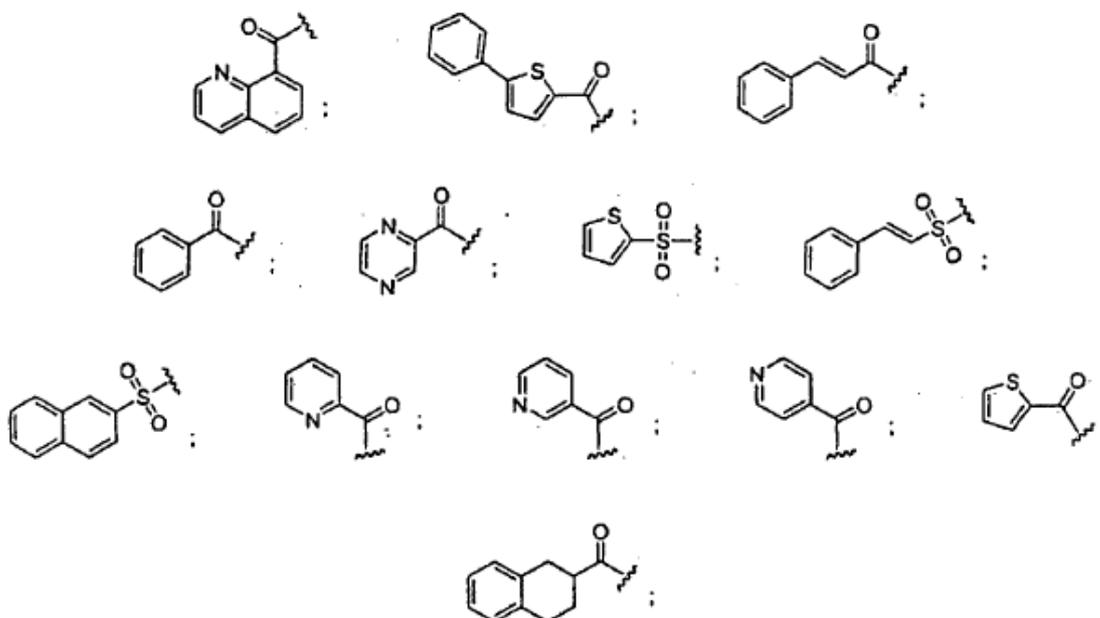
20 En ciertas realizaciones, R⁵ es hidrógeno, L es C=O o SO₂ y R⁶ es Ar-Y-, cada Ar se selecciona, de manera independiente, entre fenilo, indolilo, benzofuranilo, naftilo, quinolinilo, quinolonilo, tienilo, piridilo, pirazilo y similares. En ciertas realizaciones de este tipo, Ar puede estar sustituido con Ar-Q-, donde Q se selecciona entre un enlace directo, -O- y alquilo C₁₋₆.

25 En ciertas realizaciones, R⁵ es hidrógeno, L es C=O o SO₂ y R⁶ se selecciona entre Ar-Y y heterociclilo. En ciertas realizaciones preferidas de este tipo, heterociclilo se selecciona entre cromonilo, cromanilo, morfolino y piperidinilo. En ciertas realizaciones preferidas de este tipo, Ar se selecciona entre fenilo, indolilo, benzofuranilo, naftilo, quinolinilo, quinolonilo, tienilo, piridilo, pirazilo y similares.

30 En ciertas realizaciones, R⁵ es hidrógeno, L es C=O o SO₂ y R⁶ es alqueno C₁₋₆, donde alqueno C₁₋₆ es un grupo vinilo sustituido donde el sustituyente es preferentemente un grupo arilo o heteroarilo, más preferentemente el sustituyente es un grupo fenilo opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes.

En ciertas realizaciones, -L-R⁶ se selecciona entre:





Un aspecto de la invención se refiere a un dispositivo médico que incluye una composición desvelada en el presente documento que incluye un inhibidor que tiene la estructura de una cualquiera de las fórmulas III o V. En una realización, la composición se incorpora dentro de un dispositivo médico. En ciertas realizaciones, el dispositivo médico es un gel que comprende una matriz polimérica o una matriz cerámica y un inhibidor. Dicho polímero puede ser natural o sintético. En otra realización, dicho gel sirve como una reserva de fármaco, un adhesivo, una sutura, una barrera o un sellador.

Otro aspecto de la invención se refiere a un dispositivo médico que comprende un sustrato que tiene una superficie sobre la que se dispone un inhibidor que tiene una estructura de una cualquiera de las fórmulas III o V. En una realización, el inhibidor se dispone directamente sobre un dispositivo médico. En otra realización, se dispone así un recubrimiento, comprendiendo el recubrimiento una matriz polimérica o una matriz cerámica con un inhibidor que tiene una estructura de una cualquiera de las fórmulas III o V dispersa o disuelta en ella.

En una realización, el dispositivo médico es una endoprótesis coronaria, vascular, periférica o biliar. Más particularmente, la endoprótesis de la presente invención es una endoprótesis expandible. Cuando se recubre con una matriz que contiene un inhibidor que tiene una estructura de una cualquiera de las fórmulas III o V, la matriz es flexible para adaptarse a estados comprimidos y expandidos de dicha endoprótesis expandible. En otra realización de la presente invención, la endoprótesis tiene al menos una parte que es insertable o implantable dentro del cuerpo de un paciente, teniendo la parte una superficie que se adapta a la exposición al tejido corporal y estando al menos una parte de la superficie recubierta con un inhibidor que tiene una estructura de una cualquiera de las fórmulas III o V, o tiene disperso o disuelto en ella un recubrimiento que comprende una matriz que tiene un inhibidor que tiene una estructura de una cualquiera de las fórmulas III o V. En la patente de Estados Unidos N° 4.733.665, se desvela un ejemplo de una endoprótesis adecuada.

En otra realización, el dispositivo médico de la presente invención es un instrumento quirúrgico tal como un implante vascular, un dispositivo intraluminal, un sellador quirúrgico o un soporte vascular. Más concretamente, el dispositivo médico de la presente invención es un catéter, un puerto de acceso vascular implantable, un catéter venoso central, un catéter arterial, un injerto vascular, un balón intraaórtico de contrapulsación, una sutura, un dispositivo de asistencia ventricular, una barrera de elución de fármaco, un adhesivo, un revestimiento vascular, un soporte extra/perivascular, un filtro de sangre, o un filtro adaptado a la utilización en un vaso sanguíneo, recubierto con un inhibidor que tiene una estructura de una cualquiera de las fórmulas III o V, bien directamente o mediante una matriz que contiene un inhibidor que tiene una estructura de una cualquiera de las fórmulas III o V.

En ciertas realizaciones, el dispositivo médico intraluminal está recubierto con un inhibidor que tiene una estructura de una cualquiera de las fórmulas III o V, o un recubrimiento que comprende matriz biológicamente tolerada y un inhibidor que tiene una estructura de una cualquiera de las fórmulas III o V dispersa en el polímero, teniendo dicho dispositivo una superficie interior y una superficie exterior, y teniendo el recubrimiento aplicado en al menos una parte de la superficie interior, la superficie exterior, o ambas.

En ciertas realizaciones, el dispositivo médico puede ser útil para prevenir la reestenosis después de la angioplastia. El dispositivo médico también puede ser útil para el tratamiento de diversas enfermedades y afecciones, proporcionando la administración localizada de un inhibidor que tenga una estructura de una cualquiera de las fórmulas III o V. Dichas enfermedades y afecciones incluyen reestenosis, inflamación, artritis reumatoide, daño tisular debido a inflamación, enfermedades hiperproliferativas, soriasis grave o artrítica, enfermedades amiotróficas, enfermedades infecciosas crónicas, respuesta inmune anormal, afecciones que implican placas vulnerables, lesiones relacionadas con afecciones isquémicas y proliferación e infección viral. Los ejemplos de enfermedades y afecciones que están sometidas a un tratamiento que incluye los dispositivos médicos recubiertos de fármacos de la presente invención incluyen aterosclerosis, síndrome coronario agudo, enfermedad de Alzheimer, cáncer, fiebre, inactividad muscular (atrofia), denervación, oclusiones vasculares, apoplejía, infección por VIH, lesión nerviosa, insuficiencia renal asociada con acidosis e insuficiencia hepática. Véase, por ejemplo, Goldberg, patente de EE.UU. N° 5.340.736.

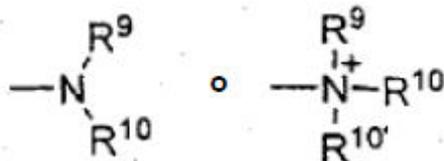
El término "alquilo C_{x-y}" se refiere a grupos hidrocarburo saturados sustituidos o no sustituidos, incluyendo grupos alquilo de cadena lineal y grupos alquilo de cadena ramificada que contienen de x a y átomos de carbono en la cadena, incluyendo grupos haloalquilo tales como trifluorometilo y 2,2,2-trifluoroetilo, etc. Alquilo C₀ indica un hidrógeno donde el grupo está en una posición terminal, un enlace si es interno. Los términos "alqueno C_{2-y}" y "alquino C_{2-y}" se refieren a grupos alifáticos insaturados sustituidos o no sustituidos análogos en longitud y sustitución posible a los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un enlace doble o triple respectivamente.

El término "alcoxi" se refiere a un grupo alquilo que tiene un oxígeno unido al mismo. Los grupos alcoxi representativos incluyen metoxi, etoxi, propoxi, *tert*-butoxi y similares. Un "éter" es dos hidrocarburos unidos covalentemente por un oxígeno. Por consiguiente, el sustituyente de un alquilo que vuelve a ese alquilo un éter es o se asemeja a un alcoxi.

El término "alcoxialquilo C₁₋₆" se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ sustituido con un grupo alcoxi, formándose de este modo un éter.

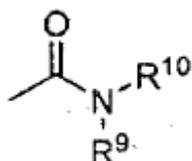
El término "aralquilo C₁₋₆", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ sustituido con un grupo arilo.

Los términos "amina" y "amino" están reconocidos por la técnica y se refieren tanto a aminas sustituidas y no sustituidas como a sales de las mismas, por ejemplo, un resto que puede representarse por las fórmulas generales:



en las que R⁹, R¹⁰ y R^{10'} representan cada uno, de manera independiente, un hidrógeno, un alquilo, un alqueno, -(CH₂)_mR⁸, o R⁹ y R¹⁰, tomados junto con el átomo de N al que están unidos, completan un heterociclo que tiene de 4 a 8 átomos en la estructura de anillo; R⁸ representa un arilo, un cicloalquilo, un cicloalqueno, un heterociclilo o un policiclilo; y m es cero o un número entero de 1 a 8. En realizaciones preferidas, solo uno de R⁹ o R¹⁰ puede ser un carbonilo, por ejemplo, R⁹, R¹⁰ y el nitrógeno conjuntamente no forman una imida. En realizaciones aún más preferidas, R⁹ y R¹⁰ (y opcionalmente R^{10'}) representan, cada uno de manera independiente, un hidrógeno, un alquilo, un alqueno o -(CH₂)_m-R⁸. En ciertas realizaciones, el grupo amino es básico, lo que significa que la forma protonada tiene una pK_a ≥ 7,00.

Los términos "amida" y "amido" están reconocidos en la técnica como un carbonilo sustituido con amino e incluyen un resto que puede representarse mediante la fórmula general:



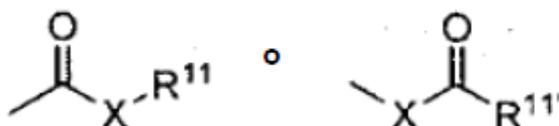
en la que R⁹, R¹⁰ son como se han definido anteriormente. Las realizaciones preferidas de la amida no incluirán imidas que puedan ser inestables.

El término "arilo", como se usa en el presente documento, incluye grupos aromáticos de un solo anillo sustituidos y no sustituidos de 5, 6 y 7 miembros, en los que cada átomo del anillo es carbono. El término "arilo" también incluye sistemas anulares policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adjuntos, siendo al menos uno de los anillos aromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser

cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclilos. Los grupos arilo incluyen benceno, naftaleno, fenantreno, fenol, anilina y similares.

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

10 El término "carbonilo" está reconocido en la técnica e incluye restos tales como los que se pueden representar por la fórmula general:



15 en la que X es un enlace o representa un oxígeno o un azufre y R¹¹ representa un hidrógeno, un alquilo, un alqueno, -(CH₂)_m-R⁸ o una sal farmacéuticamente aceptable, R¹¹ representa un hidrógeno, un alquilo, un alqueno o -(CH₂)_m-R⁸, donde m y R⁸ son como se han definido anteriormente. Donde X es un oxígeno y R¹¹ o R¹¹ no es hidrógeno, la fórmula representa un "éster". Cuando X es un oxígeno y R¹¹ es un hidrógeno, la fórmula representa un "ácido carboxílico".

20 Como se usa en el presente documento, "enzima" puede ser cualquier molécula parcial o totalmente proteica que lleva a cabo una reacción química de una manera catalítica. Dichas enzimas pueden ser enzimas nativas, enzimas de condensación, proenzimas, apoenzimas, enzimas desnaturalizadas, enzimas farnesiladas, enzimas ubiquitinadas, enzimas aciladas grasas, enzimas gerangeraniladas, enzimas unidas a GPI, enzimas unidas a lípidos, enzimas preniladas, enzimas mutantes naturales o generadas artificialmente, enzimas con modificaciones de las cadenas laterales o del armazón, enzimas que tienen secuencias líderes y enzimas que forman complejos con material no proteico, tales como proteoglucanos, proteoliposomas. Las enzimas se pueden crear mediante cualquier medio, incluyendo la expresión natural, expresión potenciada, clonación, diversas síntesis de péptidos basadas en soluciones y basadas en sólidos, y métodos similares conocidos por los expertos en la materia.

30 El término "heteroalquilo C₁₋₆", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ sustituido con un grupo heteroarilo.

35 El término "heteroarilo" incluye estructuras de anillos de 5 a 7 miembros sustituidos o no sustituidos aromáticos, más preferentemente anillos de 5 a 6 miembros, cuyas estructuras de anillo incluyen de uno a cuatro heteroátomos. El término "heteroarilo" incluye también sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos contiguos, siendo al menos uno de los anillos heteroaromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclilos. Los grupos heteroarilo incluyen, por ejemplo, pirrolo, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, triazol, pirazol, piridina, pirazina, piridazina y pirimidina y similares.

40 El término "heteroátomo", como se usa en el presente documento, significa un átomo de cualquier elemento diferente de carbono o hidrógeno. Los heteroátomos preferidos son nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre.

45 El término "heterociclilo" o la expresión "grupo heterocíclico" se refieren a estructuras de anillo de 3 a 10 miembros no aromáticas, sustituidas o insustituidas, más preferentemente anillos de 3 a 7 miembros, estructuras de anillo que incluyen de uno a cuatro heteroátomos. El término "heterociclilo" o la expresión "grupo heterocíclico" también incluyen sistemas de anillo policíclico que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos contiguos, siendo al menos uno de los anillos heterocíclico, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclilos. Los grupos heterociclilo incluyen, por ejemplo, piperidina, piperazina, pirrolidina, morfolina, lactonas, lactamas y similares.

50 El término "hidroxialquilo C₁₋₆" se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ sustituido con un grupo hidroxilo.

55 Como se usa en el presente documento, el término "inhibidor" pretende describir un compuesto que bloquea o reduce una actividad de una enzima (por ejemplo, inhibición de la escisión proteolítica de sustratos peptídicos fluorogénicos convencionales tales como suc-LLVY-AIVTC, Box-LLR-AMC y Z-LLE-AMC, inhibición de diversas actividades catalíticas del proteosoma 24S). Un inhibidor puede actuar con inhibición competitiva, incompetitiva o no competitiva. Un inhibidor puede unirse reversible o irreversiblemente y, por lo tanto, el término incluye compuestos que son sustratos suicidas de una enzima. Un inhibidor puede modificar uno o más sitios en o cerca del sitio activo de la enzima, o puede provocar un cambio conformacional en cualquier otra parte en la enzima.

60

Como se usa en el presente documento, el término "péptido" no solo incluye el enlace amida convencional con sustituyentes α convencionales, sino también peptidomiméticos utilizados comúnmente, otros enlaces no modificados, cadenas laterales no naturales y modificaciones de cadenas laterales, como se detalla más adelante.

5 Los términos "policíclico" o "policíclico" se refieren a dos o más anillos (por ejemplo, cicloalquilos, cicloalquenos, cicloalquinos, arilos, heteroarilos y/o heterocíclicos) en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos contiguos, por ejemplo, los anillos son "anillos condensados". Cada uno de los anillos del policíclico puede estar sustituido o no sustituido.

10 El término "prevención" está reconocido en la técnica y, cuando se usa en relación con una afección, tal como una recurrencia local (por ejemplo, dolor), una enfermedad tal como el cáncer, un síndrome complejo tal como una insuficiencia cardíaca o cualquier otra afección médica, se entiende bien en la técnica e incluye la administración de una composición que reduce la frecuencia o retrasa la aparición de síntomas de una afección médica en un sujeto en comparación con un sujeto que no recibe la composición. Así pues, la prevención del cáncer incluye, por ejemplo, reducir el número de crecimientos cancerosos detectables en una población de pacientes que reciben un tratamiento profiláctico con respecto a una población control no tratada y/o retrasar la aparición de crecimientos cancerosos detectables en una población tratada frente a una población control no tratada, por ejemplo, en una cantidad estadística y/o clínicamente significativa. La prevención de una infección incluye, por ejemplo, reducir el número de diagnósticos de la infección en una población tratada frente a una población control no tratada, y/o retrasar la aparición de los síntomas de la infección en una población tratada frente a una población control no tratada. La prevención del dolor incluye, por ejemplo, reducir la magnitud de, o alternativamente retrasar, sensaciones de dolor experimentadas por sujetos en una población tratada frente a una población control no tratada.

25 El término "profármaco" comprende compuestos que, en condiciones fisiológicas, se convierten en agentes terapéuticamente activos. Un método común para elaborar un profármaco consiste en incluir restos seleccionados que se hidrolizan en condiciones fisiológicas para revelar la molécula deseada. En otras realizaciones, el profármaco es convertido por una actividad enzimática del animal huésped.

30 La expresión tratamiento "profiláctico o terapéutico" está reconocida en la técnica e incluye la administración al huésped de una o más de las presentes composiciones. Si se administra antes de la manifestación clínica de la afección no deseada (por ejemplo, enfermedad u otro estado no deseado del animal huésped), entonces el tratamiento es profiláctico (es decir, protege al huésped contra el desarrollo de una afección no deseada), mientras que si se administra después de la manifestación de la afección no deseada, el tratamiento es terapéutico, (es decir, pretende disminuir, mejorar o estabilizar la afección no deseada existente o los efectos secundarios de la misma).

35 El término "proteosoma", como se usa en el presente documento, pretende incluir inmuno-proteosomas y proteosomas constitutivos.

40 El término "sustituido" se refiere a restos que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno en uno o más carbonos del armazón. Se entenderá que "sustitución" o "sustituido con" incluye la condición implícita de que dicha sustitución sea conforme a la valencia permitida del átomo sustituido y del sustituyente, y de que la sustitución dé como resultado un compuesto estable, por ejemplo, que no sufra espontáneamente transformación tal como por transposición, ciclación, eliminación, etc. Como se usa en el presente documento, el término "sustituido" se contempla para que incluya también todos los sustituyentes admisibles de compuestos orgánicos. En un aspecto amplio, los sustituyentes admisibles incluyen sustituyentes acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos de compuestos orgánicos. Los sustituyentes admisibles pueden ser uno o más y el mismo o diferentes para compuestos orgánicos apropiados. Para los fines de la presente invención, los heteroátomos tales como de nitrógeno pueden tener sustituyentes de hidrógeno y/o cualquier sustituyente admisible de compuestos orgánicos descritos en el presente documento que satisfaga las valencias de los heteroátomos. Los sustituyentes puede incluir, por ejemplo, un halógeno, un hidroxilo, un carbonilo (tal como un carboxilo, un alcóxicarbonilo, un formilo o un acilo), un tiocarbonilo (tal como un tioéster, un tioacetato o un tioformiato), un alcóxido, un fosforilo, un fosfato, un fosfonato, un fosfinato, un amino, un amido, una amidina, una imina, un ciano, un nitro, un azido, un sulfhidrilo, un alquiltio, un sulfato, un sulfonato, un sulfamoilo, un sulfonamido, un sulfonilo, un heterocíclico, un aralquilo, o un resto aromático o heteroaromático. Los expertos en la materia entenderán que, si es apropiado, se pueden sustituir los propios restos sustituidos de la cadena de hidrocarburos.

50 Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto, con respecto a un método de tratamiento en cuestión, se refiere a una cantidad del/ de los compuesto/s en una preparación que, cuando se administra como parte de una pauta de dosificación deseada (a un mamífero, preferentemente un ser humano), alivia un síntoma, mejora una afección o ralentiza la aparición de afecciones patológicas de acuerdo con patrones clínicamente aceptables para el trastorno o la afección que se vaya a tratar o para el fin cosmético, por ejemplo, a una proporción beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico.

65 El término "tioéter" se refiere a un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, que tiene un resto de azufre unido al mismo. En realizaciones preferidas, el "tioéter" está representado por -S-alquilo. Los grupos tioéter representativos incluyen metiltio, etiltio y similares.

Como se usa en el presente documento, el término “tratar” o “tratamiento” incluye revertir, reducir o detener los síntomas, los signos clínicos y la patología subyacente de una afección de manera que se mejore o establezca la afección de un sujeto.

5 Selectividad por el proteosoma 20S

Los inhibidores enzimáticos desvelados en el presente documento son útiles en parte debido a que inhiben la acción del proteosoma 20S. Además, a diferencia de otros inhibidores del proteosoma 20S, los compuestos desvelados en el presente documento son muy selectivos hacia el proteosoma 20S, con respecto a otras enzimas proteasas. Es decir, los presentes compuestos muestran selectividades por el proteosoma 20S por encima de otras proteasas tales como catepsinas, calpaínas, papaína, quimiotripsina, tripsina, tripeptidilpeptidasa II. Las selectividades de los inhibidores enzimáticos hacia el proteosoma 20S son tales que a concentraciones inferiores a aproximadamente 50 μM , los inhibidores enzimáticos muestran inhibición de la actividad catalítica del proteosoma 20S, mientras que no muestran inhibición de la actividad catalítica de otras proteasas tales como catepsinas, calpaínas, papaína, quimiotripsina, tripsina, tripeptidilpeptidasa II. En realizaciones preferidas, los inhibidores enzimáticos muestran inhibición de la actividad catalítica del proteosoma 20S a concentraciones inferiores a aproximadamente 10 μM , mientras que no muestran inhibición de la actividad catalítica de otras proteasas a estas concentraciones. En realizaciones incluso más preferidas, los inhibidores enzimáticos muestran inhibición de la actividad catalítica del proteosoma 20S a concentraciones inferiores a aproximadamente 1 μM , mientras que no muestran inhibición de la actividad catalítica de otras proteasas a estas concentraciones. En la solicitud de EE.UU. N° de serie 09/569748, Ejemplo 2 y en Stein *et al.*, *Biochem.* (1996), 35, 3899-3908, se desvelan ensayos cinéticos de enzimas.

Selectividad por la actividad de tipo quimiotripsina

25 Determinadas realizaciones de los compuestos de inhibición enzimática descritos en el presente documento son útiles además porque pueden inhibir eficaz y selectivamente la actividad de tipo quimiotripsina del proteosoma 20S, en comparación con las actividades de tipo tripsina y de PGPH. La actividad de tipo quimiotripsina del proteosoma 20S se caracteriza por la escisión de péptidos en las proximidades inmediatas de restos hidrófobos de gran tamaño. En particular, la actividad de tipo quimiotripsina de las hidrolasas Ntn se puede determinar mediante la escisión de un sustrato convencional. Se conocen ejemplos de dichos sustratos en la técnica. Por ejemplo, se puede usar un derivado de leucilvaliniltirosina. En la solicitud de EE.UU. N° de serie 09/569748, Ejemplo 2 y en Stein *et al.*, *Biochem.* (1996), 35, 3899-3908, se desvelan ensayos cinéticos de enzimas.

Usos de inhibidores enzimáticos

35 Las consecuencias biológicas de la inhibición del proteosoma son numerosas. Al nivel celular, se ha informado sobre la acumulación de proteínas poliubiquitinadas, los cambios morfológicos celulares y la apoptosis tras el tratamiento de células con diversos inhibidores proteosómicos. También se ha sugerido la inhibición proteosómica como una posible estrategia terapéutica antitumoral. El hecho de que la epoxomicina se identificara inicialmente en un rastreo para compuestos antitumorales valida al proteosoma como diana quimioterapéutica antitumoral. Por consiguiente, estos compuestos son útiles para tratar el cáncer. La inhibición del proteosoma también se ha asociado con la inhibición de la activación de NF- κB y la estabilización de los niveles de p53. Así pues, los compuestos de la invención también se pueden usar para inhibir la activación de NF- κB y para estabilizar los niveles de p53 en el cultivo celular. Dado que NF- κB es un regulador clave de la inflamación, es una atractiva diana para la intervención terapéutica antiinflamatoria. Por lo tanto, los compuestos de la invención pueden ser útiles para el tratamiento de afecciones asociadas con la inflamación crónica, incluyendo, pero sin limitación, EPOC, soriasis, bronquitis, enfisema y fibrosis cística.

50 Los compuestos desvelados se pueden usar para tratar afecciones mediadas directamente por la función proteolítica del proteosoma tales como la atrofia muscular, o mediadas indirectamente por proteínas que son procesadas por el proteosoma tales como NF- κB . El proteosoma participa en la eliminación rápida y en el procedimiento postraducciona de las proteínas (por ejemplo, enzimas) implicadas en la regulación celular (por ejemplo, ciclo celular, transcripción génica y rutas metabólicas), la comunicación intercelular y la respuesta inmune (por ejemplo, presentación antigénica). Los ejemplos específicos tratados más adelante incluyen proteína β -amiloides y proteínas reguladoras tales como ciclinas, TGF- β y factor de transcripción NF- κB .

Otra realización de la invención son los compuestos desvelados en el presente documento para su uso en el tratamiento de enfermedades y afecciones neurodegenerativas, incluyendo, pero sin limitación, apoplejía, lesión isquémica del sistema nervioso, traumatismo neural (por ejemplo, daño cerebral percusivo, lesión de la médula espinal y lesión traumática al sistema nervioso), esclerosis múltiple y otras neuropatías mediadas por el sistema inmune (por ejemplo, síndrome de Guillain-Barre y sus variantes, neuropatía axonal motora aguda, polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda y Síndrome de Fisher), complejo de demencia de VIH/SIDA, axonomía, neuropatía diabética, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, meningitis bacteriana, meningitis parasitaria, meningitis fúngica y meningitis viral, encefalitis, demencia vascular, demencia multiinfarto, demencia de cuerpos de Lewy, demencia de lóbulo frontal tal como enfermedad de Pick, demencias

subcorticales (tales como Huntington o parálisis supranuclear progresiva), síndromes de atrofia cortical focal (tales como afasia primaria), demencias de síndromes metabólicos (tales como hipotiroidismo crónico o deficiencia de B12) y demencias causadas por infecciones (tales como sífilis o meningitis crónica).

5 La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por depósitos extracelulares de proteína β -amiloide (β -AP) en placas seniles y vasos cerebrales. β -AP es un fragmento peptídico de 39 a 42 aminoácidos derivados de un precursor de proteína amiloide (APP). Se conocen al menos tres isoformas de APP (de 695, 751 y 770 aminoácidos). El corte y empalme alternativo de ARNm genera las isoformas; el procesamiento normal afecta a una parte de la secuencia β -AP, evitando así la generación de β -AP. Se cree que el procesamiento anómalo de proteínas por el proteosoma contribuye a la abundancia de β -AP en el cerebro con Alzheimer. La enzima de procesamiento de APP en ratas
10 contiene aproximadamente diez subunidades diferentes (22 kDa-32 kDa). La subunidad de 25 kDa tiene una secuencia N-terminal de X-Gln-Asn-Pro-Met-X-Thr-Gly-Thr-Ser, que es idéntica a la subunidad β de la macropaína humana (Kojima, S. *et al.*, *Fed. Eur. Biochem. Soc.*, (1992) 304: 57-60). La enzima de procesamiento de APP escinde en el enlace Gln¹⁵-Lys¹⁶; en presencia de ión calcio, la enzima también escinde en el enlace Met¹-Asp¹ y los
15 enlaces Asp¹-Ala² para liberar el dominio extracelular de β -AP.

Por lo tanto, una realización se refiere a los compuestos desvelados para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, incluyendo la administración a un sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto (por ejemplo, composición farmacéutica) desvelado en el presente documento. Dicho tratamiento incluye reducir la velocidad de
20 procesamiento de β -AP, reducir la velocidad de formación de placas de β -AP, reducir la velocidad de generación de β -AP y reducir los signos clínicos de la enfermedad de Alzheimer.

Otras realizaciones de la invención se refieren a caquexia y a enfermedades de atrofia muscular. El proteosoma degrada muchas proteínas en reticulocitos en maduración y fibroblastos en crecimiento. En células desprovistas de insulina o suero, la velocidad de proteólisis casi se duplica. La inhibición del proteosoma reduce la proteólisis, reduciendo de ese modo tanto la pérdida de proteínas musculares como la carga de nitrógeno en los riñones o el hígado. Los inhibidores de la invención son útiles para tratar afecciones tales como cáncer, enfermedades infecciosas crónicas, fiebre, inactividad muscular (atrofia) y denervación, lesión nerviosa, ayuno, insuficiencia renal asociada con acidosis, diabetes e insuficiencia hepática. Véase, por ejemplo, Goldberg, patente de EE.UU. N°
30 5.340.736. Por lo tanto, las realizaciones de la invención engloban los compuestos desvelados para su uso en: la reducción de la velocidad de degradación de las proteínas musculares en una célula; la reducción de la velocidad de degradación de las proteínas intracelulares; la reducción de la velocidad de degradación de la proteína p53 en una célula; y la inhibición del crecimiento de los cánceres relacionados con p53. Cada uno de estos métodos incluye poner en contacto una célula (*in vivo* o *in vitro*, por ejemplo, un músculo en un sujeto) con una cantidad eficaz de un
35 compuesto (por ejemplo, composición farmacéutica) desvelado en el presente documento.

La fibrosis es la formación excesiva y persistente de tejido cicatricial como resultado del crecimiento hiperproliferativo de fibroblastos, y está asociada con la activación de la ruta de señalización de TGF- β . La fibrosis implica la deposición extensa de matriz extracelular y puede producirse casi en cualquier tejido o a través de varios tejidos diferentes. Normalmente, el nivel de proteína de señalización intracelular (Smad) que activa la transcripción de los genes diana tras la estimulación de TGF- β está regulado por la actividad del proteosoma (Xu *et al.*, 2000). Sin embargo, se ha observado la degradación acelerada de los componentes de señalización de TGF- β en cánceres y otras afecciones hiperproliferativas. Así pues, ciertas realizaciones de la invención se refieren a los compuestos desvelados para su uso en el tratamiento de afecciones hiperproliferativas tales como retinopatía diabética, degeneración macular, nefropatía diabética, glomerulosclerosis, nefropatía de IgA, cirrosis, atresia biliar, insuficiencia cardíaca congénita, escleroderma, fibrosis inducida por radiación y fibrosis pulmonar (fibrosis pulmonar idiopática, enfermedad vascular de colágeno, sarcoidosis, enfermedades pulmonares intersticiales y trastornos pulmonares extrínsecos). El tratamiento de las víctimas de quemaduras a menudo se ve entorpecido por la fibrosis, por lo que una realización adicional de la invención es la administración tópica y sistémica de los inhibidores para
45 tratar quemaduras. El cierre de heridas tras la cirugía normalmente se asocia con cicatrices desfigurantes, que se pueden evitar mediante la inhibición de la fibrosis. Así pues, en ciertas realizaciones, la invención se refiere a los compuestos desvelados para su uso en la prevención o en la reducción de la formación de cicatrices.

Otra proteína procesada por el proteosoma es NF- κ B, un miembro de la familia Rel de proteínas. La familia Rel de proteínas activadoras transcripcionales se puede dividir en dos grupos. El primer grupo requiere el procesamiento proteolítico, e incluye p50 (NF- κ B1, 105 kDa) y p52 (NF- κ 2, 100 kDa). El segundo grupo no requiere procesamiento proteolítico, e incluye p65 (RelA, Rel (c-Rel) y RelB). Los miembros de la familia Rel pueden formar tanto homodímeros; NF- κ B, por ejemplo, es un heterodímero p50-p65. Tras la fosforilación y la ubiquitinación de I κ B y p105, las dos proteínas se degradan y se procesan, respectivamente, para producir NF- κ B activa que se transloca del citoplasma al núcleo. La p105 ubiquitinada también es procesada por proteosomas purificados (Palombella *et al.*, *Cell* (1994) 78: 773-785). La NF- κ B activa forma un complejo potenciador estereoespecífico con otros activadores transcripcionales y, por ejemplo, HMG I (Y), que induce la expresión selectiva de un determinado gen en particular.
60

65

NF- κ B regula los genes implicados en la respuesta inmune e inflamatoria, y en los eventos mitóticos. Por ejemplo, se requiere NF- κ B para la expresión del gen κ de la cadena ligera de las inmunoglobulinas, del gen de la cadena α del receptor IL-2, del gen del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I y de una serie de genes de citocinas que codifican, por ejemplo, IL-2, IL-6, factor estimulador de colonias de granulocitos e IFN- β (Palombella *et al.*, *Cell* (1994) 78: 773-785). Algunas realizaciones de la invención incluyen métodos para afectar al nivel de expresión de IL-2, MHC-I, IL-6, TNF- α , IFN- β o cualquiera de las otras proteínas mencionadas anteriormente, incluyendo cada método la administración a un sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto desvelado en el presente documento. Los complejos que incluyen p50 son mediadores rápidos de respuestas inflamatorias e inmunes agudas (Thanos, D. y Maniatis, T., *Cell* (1995) 80: 529-532).

NF- κ B también participa en la expresión de los genes de adhesión celular que codifican la E-selectina, P-selectina, ICAM y VCAM-1 (Collins, T., *Lab. Invest.* (1993) 68: 499-508). Una realización de la invención se refiere a compuestos desvelados en el presente documento para su uso en la inhibición de adhesión celular (por ejemplo, de la adhesión celular mediada por la E-selectina, P-selectina, ICAM, o VCAM-1), incluyendo poner en contacto una célula con (o administrar a un sujeto) una cantidad eficaz de un compuesto (o una composición farmacéutica) desvelado en el presente documento.

La isquemia y la lesión por reperfusión generan una hipoxia, una afección en la que hay una deficiencia del oxígeno que llega a los tejidos del organismo. Esta afección provoca un aumento de la degradación de I κ -B α , produciendo así la activación de NF- κ B (Koong *et al.*, 1994). Se ha demostrado que es posible reducir la gravedad del daño producido como consecuencia de la hipoxia con la administración de un inhibidor del proteosoma (Gao *et al.*, 2000; Bao *et al.*, 2001; Pye *et al.*, 2003). Por lo tanto, ciertas realizaciones de la invención se refieren a los compuestos desvelados en el presente documento para su uso en el tratamiento de una afección isquémica o una lesión por reperfusión que comprenden administrar a un sujeto en necesidad de dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto desvelado en el presente documento. Los ejemplos de dichas afecciones o daños incluyen, pero sin limitación, síndrome coronario agudo (placas vulnerables), enfermedad arterial oclusiva (oclusiones cardiacas, cerebrales, arteriales periféricas y vasculares), aterosclerosis (esclerosis coronaria, enfermedad arterial coronaria), infartos, insuficiencia cardiaca, pancreatitis, hipertrofia miocárdica, estenosis y reestenosis.

NF- κ B también se une específicamente al promotor/potenciador del VIH. Cuando se comparó con la Nef de mac239, la proteína reguladora Nef del VIH de pbj14 difiere en dos aminoácidos de la región que controla la unión a la proteína quinasa. Se cree que la proteína quinasa señala la fosforilación de I κ B, desencadenando la degradación de I κ B a través de la ruta de la ubiquitina del proteosoma. Tras la degradación, NF- κ B se libera dentro del núcleo, potenciando así la transcripción del VIH (Cohen, J., *Science*, (1995) 267: 960). Dos realizaciones de la invención son los compuestos desvelados en el presente documento para su uso en la inhibición o reducción de la infección por VIH en un sujeto y los compuestos desvelados en el presente documento para su uso en la reducción del nivel de expresión de genes virales, incluyendo cada método administrar al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto desvelado en el presente documento.

La sobreproducción de citocinas inducidas por lipopolisacáridos (LPS) tales como TNF α se considera que es fundamental para los procesos asociados con el choque séptico. Además, es una admisión general que la primera etapa en la activación de células por los LPS es la unión de los LPS a receptores específicos de membrana. Las subunidades α y β del complejo del proteosoma 20S se han identificado como proteínas de unión a LPS, sugiriendo que la transducción de señales inducida por LPS puede ser una diana terapéutica importante en el tratamiento o la prevención de la sepsis (Qureshi, N. *et al.*, *J. Immun.* (2003) 171: 1515-1525). Por lo tanto, en ciertas realizaciones, los compuestos de la invención se pueden usar para la inhibición de TNF α con el fin de evitar y/o tratar el choque séptico.

La proteólisis intracelular genera péptidos pequeños para la presentación a linfocitos T con el fin de inducir respuestas inmunes mediadas por el MHC de clase I. El sistema inmune rastrea en busca de células autólogas que estén infectadas víricamente o que hayan sufrido transformación oncogénica. Una realización se refiere a los compuestos desvelados en el presente documento para su uso en la inhibición de la presentación de antígenos en una célula, incluyendo la exposición de la célula a un compuesto descrito en el presente documento. Un compuesto de la invención se puede usar para tratar afecciones relacionadas con el sistema inmune tales como alergia, asma, rechazo de órganos/tejidos (enfermedad del injerto frente al hospedador) y enfermedades autoinmunes, incluyendo, pero sin limitación, lupus, artritis reumatoide, soriasis, esclerosis múltiple y enfermedades inflamatorias del intestino (tales como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn). Así pues, una realización adicional se refiere a los compuestos desvelados en el presente documento para su uso en la supresión del sistema inmune de un sujeto (por ejemplo, la inhibición del rechazo de un trasplante, alergias, enfermedades autoinmunes y asma), incluyendo la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto descrito en el presente documento.

Otra realización adicional se refiere a los compuestos desvelados en el presente documento para su uso en la alteración del repertorio de péptidos antigénicos producidos por el proteosoma u otros Ntn con actividad multicatalítica. Por ejemplo, si la actividad de PGPH del proteosoma 20S se inhibe selectivamente, el proteosoma producirá un grupo diferente de péptidos antigénicos que se presentará en moléculas de MHC sobre la superficie de

las células al que se produciría y se presentaría bien sin ninguna inhibición enzimática o con, por ejemplo, la inhibición selectiva de actividad de tipo quimiotripsina del proteosoma.

5 Ciertos inhibidores del proteosoma bloquean tanto la degradación como el procesamiento de NF- κ B ubiquitinada *in vitro* e *in vivo*. Los inhibidores del proteosoma también bloquean la degradación de I κ B- α y la activación de NF- κ B (Palombella, *et al. Cell* (1994) 78: 773-785; y Traenckner, *et al., EMBO J.* (1994) 13: 5433-5441). Una realización de la invención se refiere a los compuestos desvelados en el presente documento para su uso en la inhibición de la degradación de I κ B- α , incluyendo la puesta en contacto de la célula con un compuesto descrito en el presente documento. Una realización adicional se refiere a los compuestos desvelados en el presente documento para su uso en la reducción del contenido celular de NF- κ B en una célula, músculo, órgano o sujeto, incluyendo la puesta en contacto de la célula, el músculo, el órgano o el sujeto con un compuesto descrito en el presente documento.

10 Otros factores de transcripción eucariotas que requieren el procesamiento proteolítico incluyen el factor de transcripción general TFIIA, la proteína accesoria VP16 del virus herpes simplex (factor celular del huésped), proteína del factor 2 regulador del IFN inducible por virus y la proteína 1 de unión al elemento regulador de esteroides unida a la membrana.

15 Otras realizaciones de la invención son los compuestos desvelados en el presente documento para su uso en la alteración de los ciclos celulares eucariotas dependientes de la ciclina, incluyendo la exposición de una célula (*in vitro* o *in vivo*) a un compuesto desvelado en el presente documento. Las ciclinas son proteínas implicadas en el control del ciclo celular. El proteosoma participa en la degradación de las ciclinas. Los ejemplos de ciclinas incluyen células mitóticas, ciclinas G1 y ciclina B. La degradación de las ciclinas permite a una célula salir de una fase del ciclo celular (por ejemplo, mitosis) y entrar en otra (por ejemplo, división). Se cree que todas las ciclinas están asociadas con la proteína quinasa p34.^{sup.cdc2} o con quinasas relacionadas. La señal dirigida a la proteólisis se localiza en los aminoácidos 42-RAALGNISEN-50 (caja de destrucción). Hay pruebas de que la ciclina se convierte en una forma vulnerable a una ubiquitina ligasa o de que una ligasa específica de la ciclina se activa durante la mitosis (Ciechanover, A., *Cell*, (1994) 79: 13-21). La inhibición del proteosoma inhibe la degradación de la ciclina y, por lo tanto, inhibe la proliferación celular, por ejemplo, en cánceres relacionados con la ciclina (Kumatori *et al., Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* (1990) 87: 7071-7075). Una realización de la invención se refiere a los compuestos desvelados en el presente documento para su uso en el tratamiento de una enfermedad proliferativa en un sujeto (por ejemplo, cáncer, soriasis o reestenosis), incluyendo la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto desvelado en el presente documento. La invención también engloba los compuestos desvelados en el presente documento para su uso en el tratamiento de la inflamación relacionada con la ciclina en un sujeto, incluyendo la administración a un sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en el presente documento.

20 Son realizaciones adicionales los compuestos desvelados en el presente documento para su uso en la alteración de la regulación dependiente del proteosoma de oncoproteínas y métodos de tratamiento o inhibición del crecimiento del cáncer, incluyendo cada método la exposición de una célula (*in vivo*, por ejemplo, en un sujeto, o *in vitro*) a un compuesto desvelado en el presente documento. Las proteínas E6 derivadas del HPV-16 y de HPV-18 estimulan la conjugación dependiente de ATP y ubiquitina y la degradación de p53 en lisados de reticulocitos en bruto. Se ha observado que el oncogén recesivo p53 se acumula a la temperatura no admisible en una línea celular con una E1 termolábil mutada. Los niveles elevados de p53 pueden conducir a la apoptosis. Los ejemplos de proto-oncoproteínas degradadas por el sistema de ubiquitina incluyen c-Mos, c-Fos y c-Jun. Una realización se refiere a los compuestos desvelados en el presente documento para su uso en el tratamiento de la apoptosis relacionada con p53; incluyendo la administración a un sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto desvelado en el presente documento.

25 En otra realización, los compuestos desvelados son útiles para el tratamiento de una infección parasitaria, tal como infecciones causadas por protozoos parasitarios. Se considera que el proteosoma de estos parásitos participa principalmente en las actividades de diferenciación y replicación celular (Paugam *et al., Trends Parasitol.* 2003, 19(2): 5559). Además, las especies del género *Entamoeba* han demostrado perder capacidad de enquistamiento cuando se exponen a inhibidores del proteosoma (Gonzales, *et al., Arch. Med. Res.* 1997, 28, N° de memoria descriptiva: 139-140). En ciertas realizaciones de este tipo, los compuestos desvelados son útiles para el tratamiento de infecciones parasitarias en seres humanos causadas por un protozoo parasitario seleccionado entre *Plasmodium* sp. (incluyendo *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale*, causantes de la malaria), *Trypanosoma* sp. (incluyendo *T. cruzi*, causante de la enfermedad de Chagas, y *T. brucei*, causante de la enfermedad del sueño africana), *Leishmania* sp. (incluyendo *L. amazonensis*, *L. donovani*, *L. infantum*, *L. mexicana*, etc.), *Pneumocystis carinii* (un protozoo conocido por causar neumonía en pacientes de SIDA y otros pacientes inmunodeprimidos), *Toxoplasma gondii*, *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba invadens* y *Giardia lamblia*. En ciertas realizaciones, los compuestos desvelados son útiles para el tratamiento de infecciones parasitarias en animales y ganado causadas por un protozoo parasitario seleccionado entre *Plasmodium hermani*, *Cryptosporidium* sp., *Echinococcus granulosus*, *Eimeria tenella*, *Sarcocystis neurona* y *Neurospora crassa*. En el documento WO 98/10779, que se incorpora en el presente documento en su totalidad, se describen otros compuestos útiles como inhibidores del proteosoma en el tratamiento de enfermedades parasitarias.

En ciertas realizaciones, los compuestos desvelados inhiben la actividad del proteosoma irreversiblemente en un parásito. Dicha inhibición irreversible ha demostrado inducir la inactivación de la actividad enzimática sin recuperación en los glóbulos rojos y glóbulos blancos. En ciertas realizaciones de este tipo, la larga semivida de las células sanguíneas puede proporcionar una protección prolongada con respecto a la terapia contra las exposiciones recurrentes a parásitos. En ciertas realizaciones, la larga semivida de las células sanguíneas puede proporcionar una protección prolongada en relación con la quimioprofilaxis frente a una futura infección.

También se ha demostrado que los inhibidores que se unen al proteosoma 20S estimulan la formación de hueso en cultivos de órganos óseos. Además, cuando se han administrado dichos inhibidores sistémicamente a ratones, ciertos inhibidores del proteosoma aumentaron el volumen óseo y la velocidad de formación ósea por encima del 70 % (Garrett, I. R. *et al.*, *J. Clin. Invest.* (2003) 111: 1771-1782), sugiriendo, por lo tanto, que la maquinaria proteosómica de la ubiquitina regula la diferenciación de los osteoblastos y la formación de hueso. Por lo tanto, los compuestos desvelados pueden ser útiles en el tratamiento y/o en la prevención de enfermedades asociadas con la pérdida de hueso, tales como la osteoporosis.

El tejido óseo es una fuente excelente de factores que tienen la capacidad de estimular las células óseas. Así pues, los extractos de tejido óseo bovino no solo contienen proteínas estructurales que son responsables de mantener la integridad estructural del hueso, sino además los factores de crecimiento óseo biológicamente activos que pueden estimular la proliferación de las células óseas. Entre estos últimos factores se encuentra una familia de proteínas recientemente descubierta denominada proteínas morfogenéticas óseas (BMP). Todos estos factores de crecimiento tienen efectos en otros tipos de células, así como en las células óseas, incluyendo Hardy, M. H., *et al.*, *Trans Genet* (1992) 8: 55-61, que describe pruebas de que las proteínas morfogenéticas óseas (BMP) se expresan diferencialmente en los folículos pilosos durante el desarrollo. Harris, S. E., *et al.*, *J. Bone Miner Res* (1994) 9: 855-863 describe los efectos de TGF- β en la expresión de BMP-2 y otras sustancias en células óseas. La expresión de BMP-2 en folículos maduros también tiene lugar durante la maduración y tras el período de proliferación celular (Hardy, *et al.* (1992) *supra*). Así pues, los compuestos de la invención también pueden ser útiles para la estimulación del crecimiento de los folículos pilosos.

Finalmente, los compuestos desvelados también son útiles como agentes diagnósticos (por ejemplo, en kit de diagnóstico o para su uso en laboratorios clínicos) para rastrear en busca de proteínas (por ejemplo, enzimas, factores de transcripción) procesadas por las hidrolasas Ntn, incluyendo el proteosoma. Los compuestos desvelados también son útiles como agentes de investigación para unirse específicamente a la subunidad X/MB1 o la cadena α e inhibir las actividades proteolíticas asociadas con las mismas. Por ejemplo, se puede determinar la actividad de (y los inhibidores específicos de) otras subunidades del proteosoma.

La mayoría de las proteínas celulares se somete al procesamiento proteolítico durante la maduración o la activación. Los inhibidores enzimáticos desvelados en el presente documento se pueden usar para determinar si un proceso o una producción celular, de desarrollo o fisiológico están regulados por la actividad proteolítica de una determinada hidrolasa Ntn. Uno de dichos métodos incluye la obtención de un organismo, una preparación celular intacta o un extracto celular; la exposición del organismo, de la preparación celular o del extracto celular a un compuesto desvelado en el presente documento; la exposición del organismo, de la preparación celular o del extracto celular expuestos al compuesto a una señal, y el seguimiento del proceso o de la producción. La alta selectividad de los compuestos desvelados en el presente documento permite la eliminación o implicación rápida y segura de la Ntn (por ejemplo, el proteosoma 20S) en un proceso celular, de desarrollo o fisiológico dado.

Administración

Los compuestos preparados como se describe en el presente documento se pueden administrar en diversas formas, dependiendo del trastorno que se vaya a tratar y de la edad, el estado y el peso corporal del paciente, como se conoce bien en la técnica. Por ejemplo, cuando los compuestos se van a administrar oralmente, se pueden formular en forma de comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos o jarabes; o para la administración parenteral, se pueden formular en forma de inyecciones (intravenosas, intramusculares o subcutáneas), preparaciones de infusión gota a gota o supositorios. Para la aplicación por la vía de la membrana mucosa oftálmica, se pueden formular en forma de gotas para los ojos o pomadas para los ojos. Estas formulaciones se pueden preparar por medios convencionales, y si se desea, el principio activo se puede mezclar con cualquier aditivo o excipiente convencional, tal como un aglutinante, un agente disgregante, un lubricante, un correctivo, un agente solubilizante, un adyuvante de la suspensión, un agente emulsionante, un agente de recubrimiento, una ciclodextrina y/o un tampón. Aunque la dosis variará dependiendo de los síntomas, de la edad y del peso corporal del paciente, de la naturaleza y gravedad del trastorno que se vaya a tratar o prevenir, de la vía de administración y de la forma del fármaco, en general, se recomienda una dosis diaria de 0,01 hasta 2.000 mg del compuesto para un paciente humano adulto, pudiéndose administrar en una sola dosis o en dosis divididas. La cantidad de principio activo que se puede combinar con un material de vehículo para producir una forma de dosificación individual será generalmente aquella cantidad del compuesto que produzca un efecto terapéutico.

El tiempo exacto de administración y/o la cantidad de la composición que producirá los resultados más eficaces en términos de eficacia del tratamiento en un paciente dado dependerá de la actividad, las propiedades

farmacocinéticas y la biodisponibilidad de un determinado compuesto, la afección fisiológica del paciente (incluyendo edad, sexo, tipo y fase de enfermedad, estado físico general, respuesta a una dosis dada y tipo de medicación), vía de administración, etc. Sin embargo, las directrices anteriores se pueden usar como la base para el ajuste del tratamiento, por ejemplo, para determinar el tiempo óptimo y/o la cantidad de administración, que no requerirán más que la experimentación rutinaria que consistirá en realizar un seguimiento del sujeto y ajustar la dosis y/o la distribución temporal.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse a aquellos ligandos, materiales, composiciones y/o formas farmacéuticas que son, según el juicio médico razonable, adecuados para usar en contacto con los tejidos de los seres humanos y animales sin provocar excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, que correspondan a una relación razonable entre beneficio y riesgo.

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" como se usa en el presente documento significa un material, una composición o un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como una carga líquida o sólida, diluyente, excipiente, disolvente o material encapsulante. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de que sea compatible con los otros ingredientes de la formulación y no dañino para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones tales como almidón de maíz, almidón de patata y β -ciclodextrina sustituida o insustituida; (3) celulosa y sus derivados tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) goma de tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes tales como manteca de cacao y ceras de supositorios; (9) aceites tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles tales como propilenglicol; (11) polioles tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes de tamponamiento tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua apirógena, (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones de tampón fosfato; y (21) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas. En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención son apirógenas, es decir, no provocan elevaciones de temperatura significativas cuando se administran a un paciente.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales de adición de ácidos inorgánicos y orgánicos relativamente no tóxicos del/de los inhibidor/es. Estas sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales del/de los inhibidor/es, o haciendo reaccionar por separado uno o varios inhibidores purificados en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y aislando la sal así formada. Las sales representativas incluyen las sales bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato, laurilsulfonato, y las sales de aminoácidos y similares. (Véase, por ejemplo, Berge *et al.* (1977) "Pharmaceutical Salts", *J. Pharm. Sci.* 66: 1-19.)

En otros casos, los inhibidores útiles en los métodos de la presente invención pueden contener uno o más grupos con funcionalidad de ácido y, por tanto, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con bases farmacéuticamente aceptables. La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" en estos casos se refiere a las sales de adición de bases inorgánicas y orgánicas relativamente no tóxicas del/de los inhibidor/es. Estas sales se pueden preparar asimismo *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales del/de los inhibidor/es, o haciendo reaccionar por separado el/los inhibidor/es) purificado/s en su forma de ácido libre con una base adecuada, tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de una catión metálico farmacéuticamente aceptable, con amoníaco, o con una amina primaria, secundaria o terciaria orgánica farmacéuticamente aceptable. Las sales alcalinas o alcalinotérricas representativas incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio, y similares. Las aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de bases incluyen etilamina, dietilamina, etilenodiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina y similares (véase, por ejemplo, Berge *et al.*, *supra*).

En las composiciones, también puede haber agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como laurilsulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes.

Los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) antioxidantes hidrosolubles tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio y similares; (2) antioxidantes liposolubles tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, propilgalato, α -tocoferol y similares; y (3) agentes quelantes de metales tales como ácido nítrico, ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares.

Las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden estar en la forma de cápsulas, obleas, píldoras, comprimidos, pastillas (usando una base aromatizada, habitualmente, sacarosa y goma arábiga o goma de tragacanto), polvos, gránulos, o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión de aceite en agua o de agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (usando una matriz

inerte, tal como gelatina o glicerina, o sacarosa y goma arábica) y/o como enjuagues bucales, y similares, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada de uno o varios inhibidores como un principio activo. Una composición también se puede administrar en forma de bolo, electuario o pasta.

5 En las formas de dosificación sólidas para la administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el principio activo se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico, y/o cualquiera de los siguientes: (1) cargas o expansores tales como almidones, ciclodextrinas, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o goma arábica; (3) humectantes tales como glicerol; (4) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o de tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato de sodio; (5) agentes de solución retardante tales como parafina; (6) aceleradores de absorción tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes humectantes tales como, por ejemplo, alcohol acetílico y monoestearato de glicerol; (8) absorbentes tales como arcilla de caolín y arcilla de bentonina; (9) lubricantes tales como un talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato sódico y mezclas de los mismos; y (10) agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes tampón. También se pueden emplear composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcares de leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular, y similares.

20 Un comprimido se puede preparar por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes auxiliares. Los comprimidos prensados se pueden preparar usando aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, glicolato de almidón sódico o carboximetilcelulosa de sodio reticulada), agente tensioactivo o agente dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden fabricar mediante moldeo en un máquina adecuada de una mezcla del/de los inhibidor/es en polvo humedecida con un diluyente líquido inerte.

25 Los comprimidos, y otras formas de dosificación sólidas, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, se pueden marcar o preparar opcionalmente con recubrimientos y cubiertas tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. También se pueden formular para proporcionar liberación lenta o controlada del principio activo de las mismas usando, por ejemplo, hidroxipropilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microsferas. Se pueden esterilizar mediante, por ejemplo, filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o mediante la incorporación de agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en agua estéril, o en algunos otros medios inyectables estériles inmediatamente antes de su uso. Estas composiciones pueden contener opcionalmente agentes opacificadores y también pueden ser de una composición que solo libere el/los principio/s activo/s, o preferentemente, en una cierta parte del tracto gastrointestinal, opcionalmente, en una manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El principio activo también puede estar en forma microencapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

30 Las formas de dosificación líquidas para la administración oral incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del principio activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizadores y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen de trigo, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos.

35 Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir coadyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, aromatizantes, colorantes, perfumantes y conservantes.

40 Las suspensiones, además del/de los inhibidor/es activo/s pueden contener agentes de suspensión tales como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, ésteres de polioxietileno sorbitol y de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto y mezclas de los mismos.

45 Las formulaciones para la administración rectal o vaginal se pueden presentar en forma de supositorio, que se puede preparar mezclando uno o más inhibidor/es con uno o más excipientes o vehículos no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera de supositorios o un salicilato, que sea sólido a temperatura ambiente, pero líquido a la temperatura corporal y que, por lo tanto, se fundirá en el recto o en la cavidad vaginal y liberará el principio activo.

50 Las formulaciones que son adecuadas para la administración vaginal también incluyen formulaciones de pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o pulverizados que contienen dichos vehículos cuya idoneidad se

conoce en la técnica.

Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de uno o varios inhibidores incluyen polvos, pulverizados, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. El componente activo se puede mezclar en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y con cualquier conservante, tampón o propulsor que pueda ser necesario.

Las pomadas, pastas, cremas y geles pueden contener, además de inhibidor(es), excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, goma de tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de cinc, o mezclas de los mismos.

Los polvos y los pulverizados pueden contener, además de uno o varios inhibidores, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamina, o mezclas de estas sustancias. Los pulverizados pueden contener además propulsores habituales tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos no sustituidos volátiles, tales como butano y propano.

Como alternativa, el/los inhibidor/es se pueden administrar por aerosol. Esto se logra preparando un aerosol acuoso, una preparación liposomal, o partículas sólidas o líquidas que contengan la composición. Se puede usar una suspensión no acuosa (por ejemplo, propulsor de fluorocarbono). Se prefieren los nebulizadores sónicos, porque reducen al mínimo la exposición del agente a la cizalla, lo que puede generar la degradación del compuesto.

Habitualmente, un aerosol acuoso se prepara formulando una solución o suspensión acuosa del agente junto con vehículos y estabilizadores farmacéuticamente aceptables convencionales. Los vehículos y estabilizadores varían con los requerimientos de la composición en particular, pero normalmente incluyen tensioactivos no iónicos (Tweens, Plurónicos, ésteres de sorbitán, lecitina, Cremóforos), codisolventes farmacéuticamente aceptables tales como polietilenglicol, proteínas inocuas tales como seroalbúmina, ácido oleico, aminoácidos tales como glicina, tampones, sales, azúcares o alcoholes de azúcares. Los aerosoles se preparan generalmente a partir de soluciones isotónicas.

Los parches transdérmicos tienen la ventaja adicional de proporcionar la administración controlada de uno o varios inhibidores al organismo. Dichas formas de dosificación se pueden elaborar disolviendo o dispersando el agente en el medio apropiado. También se pueden usar potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del/de los inhibidor/es a través de la piel. La velocidad de dicho flujo se puede controlar bien proporcionando una membrana que controle la velocidad o dispersando el/los inhibidor/es en una matriz o un gel poliméricos.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para la administración parenteral comprenden uno o más inhibidores en combinación con una o más soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que se pueden reconstituir en soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos, solutos que vuelven la formulación isotónica con la sangre del receptor deseado, o agentes de suspensión o espesantes.

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

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. Se puede garantizar la prevención de la acción de los microorganismos mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. También se puede desear la inclusión de agentes que ajusten la tonicidad tales como azúcares, cloruro de sodio y similares en las composiciones. Además, se puede lograr la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable mediante la inclusión de agentes que retarden la absorción tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

En algunos casos, para prolongar el efecto de un fármaco, es deseable ralentizar la absorción del fármaco a partir de la inyección subcutánea o intramuscular. Por ejemplo, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada parenteralmente se logra disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo aceitoso.

Las formas de liberación prolongada inyectables se preparan formando matrices microencapsuladas de inhibidor/es en polímeros biodegradables tales como poliláctida-poliglicólido. Dependiendo de la proporción del fármaco con respecto al polímero y de la naturaleza del polímero empleado en particular, se puede controlar la velocidad de liberación del fármaco. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de liberación prolongada también se pueden preparar atrapando el fármaco en

liposomas o microemulsiones que sean compatibles con el tejido corporal.

Las preparaciones de agentes se pueden administrar oral, parenteral, tópica o rectalmente. Como es obvio, se administran mediante formas adecuadas para cada vía de administración. Por ejemplo, se administran en forma de comprimidos o cápsulas, por inyección, inhalación, loción ocular, pomada, supositorio, infusión; tópicamente por loción o por pomada; y rectalmente por supositorios. Se prefiere la administración oral.

Las expresiones "administración parenteral" y "administrado parenteralmente", como se usan en el presente documento, significan modos de administración distintos de la administración enteral y de la administración tópica, habitualmente por inyección, e incluyen, sin limitación, inyección intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal, e infusión.

Las expresiones "administración sistémica", "administrado sistémicamente", "administración periférica" y "administrado periféricamente", como se usan en el presente documento, significan la administración de un ligando, fármaco u otro material distinto directamente en el sistema nervioso central, de manera que entra en el sistema del paciente y se somete, por tanto, al metabolismo y a otros procesos similares, por ejemplo, administración subcutánea.

Este uno o varios inhibidores se pueden administrar a seres humanos y a otros animales por terapia por cualquier vía de administración adecuada, incluyendo oral y nasalmente, como mediante, por ejemplo, un pulverizado, rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal y tópicamente, como por polvos, pomadas o gotas, incluyendo bucal y sublingualmente.

Independientemente de la vía de administración seleccionada, el/los inhibidor/es, que se puede/n usar en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables mediante métodos convencionales para los expertos en la materia.

Los niveles de dosis reales de los principios activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden variar para obtenerse una cantidad del principio activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un determinado paciente, una determinada composición y un determinado modo de administración, sin que sea tóxica para el paciente.

La concentración de un compuesto desvelado en una mezcla farmacéuticamente aceptable variará dependiendo de varios factores, incluyendo la dosis del compuesto que se vaya a administrar, las características farmacocinéticas del/de los compuesto/s empleado/s y la vía de administración. En general, las composiciones de la presente invención se pueden proporcionar en una solución acuosa que contiene aproximadamente del 0,1 al 10 % p/v de un compuesto desvelado en el presente documento, entre otras sustancias, para la administración parenteral. Los intervalos de dosis típicos son de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal al día, administrados en 1-4 dosis divididas. Cada una de las dosis divididas puede contener el mismo o diferentes compuestos de la invención. La dosis será una cantidad eficaz dependiendo de varios factores incluyendo la salud general de un paciente, y la formulación y la vía de administración del/de los compuesto/s deseado/s.

Otro aspecto de la invención proporciona los compuestos desvelados en el presente documento para su uso en una terapia conjunta en la que se administran uno o más agentes terapéuticos con el inhibidor del proteosoma. Dicho tratamiento conjunto se puede realizar mediante la dosificación simultánea, secuencial o separada de los componentes individuales del tratamiento.

En ciertas realizaciones, se administra un compuesto de la invención junto con uno o más inhibidores del proteosoma distintos.

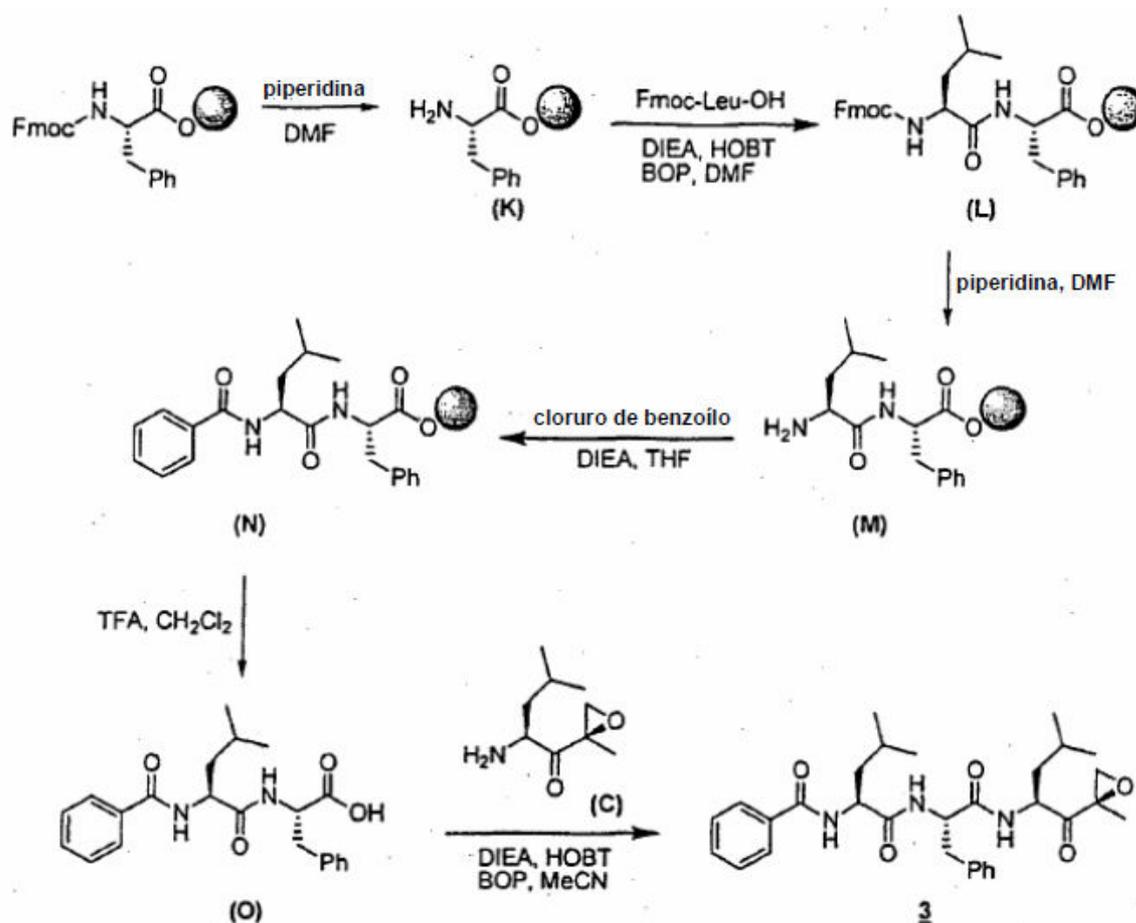
En ciertas realizaciones, un compuesto de la invención se administra en combinación con un agente quimioterapéutico. Los agentes quimioterapéuticos adecuados pueden incluir productos naturales tales como alcaloides de vinca (es decir, vinblastina, vincristina y vinorelbina), paclitaxel, epidipodofilotoxinas (es decir, etopósido, tenipósido), antibióticos (dactinomicina (actinomomicina D) daunorrubicina, doxorrubicina e idarrubicina), antraciclina, mitoxantrona, bleomicinas, plicamicina (mitramicina) y mitomicina, enzimas (L-asparaginasa que metaboliza sistémicamente L-asparagina y priva de ella a las células que no tienen la capacidad de sintetizar su propia asparagina); agentes antiplaquetarios; agentes alquilantes antiproliferativos/antimitóticos tales como mostazas de nitrógeno (mecloretamina, ciclofosfamida y análogos, melfalán, clorambucilo), etilenoiminas y metilmelaminas (hexametilmelamina y tiotepa), sulfonatos de alquilo (busulfán), nitrosoureas (carmustina (BCNU) y análogos, estreptozocina), trazenos-dacarbazina (DTIC); antimetabolitos antiproliferativos/antimitóticos tales como análogos de ácido fólico (metotrexato), análogos de pirimidina (fluorouracilo, floxuridina y citarabina), análogos de purina e inhibidores relacionados (mercaptopurina, tioguanina, pentostatina y 2-clorodeoxiadenosina); inhibidores de aromataza (anastrozol, exemestano y letrozol); y complejos de coordinación con platino (cisplatino, carboplatino), procarbazona, hidroxiaurea, mitotano, aminoglutetimida; hormonas (es decir, estrógeno) y agonistas de hormonas tales como agonistas de hormona de liberación de hormona luteinizante (LHRH) (goserelina, leuprolida y

triptorelina). Otros agentes quimioterapéuticos pueden incluir mecloretamina, camptotecina, ifosfamida, tamoxifeno, raloxifeno, gemcitabina, navelbina, o cualquier análogo o variante derivada de los anteriores.

En ciertas realizaciones, se administra un compuesto de la invención junto con un esteroide. Los esteroides adecuados pueden incluir así, pero sin limitación, 21-acetoxipregnenolona, alclometasona, algestona, amcinonida, beclometasona, betametasona, budesonida, cloroprednisona, clobetasol, clocortolona, cloprednol, corticosterona, cortisona, cortivazol, deflazacort, desonida, desoximetasona, dexametasona, diflorasona, diflucortolona, difuprednato, enoxolona, fluzacort, flucoronida, flumetasona, flunisolida, acetona de flucinolona, flucinonida, butilo de flucortina, flucortolona, fluorometolona, acetato de fluperolona, acetato de fluprednideno, fluprednisolona, flurandrenolida, propionato de fluticasona, formocortal, halcinonida, propionato de halobetasol, halometasona, hidrocortisona, etabonato de loteprednol, mazipredona, medrisona, meprednisona, metilprednisolona, furoato de mometasona, parametasona, prednicarbat, prednisolona, 25-dietilaminoacetato de prednisolona, fosfato de prednisolona sódica, prednisona, prednival, prednilideno, rimexolona, tixocortol, triamcinolona, acetona de triamcinolona, benetonida de triamcinolona, hexacetona de triamcinolona y sales y/o derivados de los mismos.

En ciertas realizaciones, un compuesto de la invención se administra junto con un agente inmunoterapéutico. Los agentes inmunoterapéuticos adecuados pueden incluir, pero sin limitación, ciclosporina, talidomida y anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos monoclonales pueden estar bien al desnudo o conjugados tal como rituximab, tositumomab, alemtuzumab, epratuzumab, ibritumomab tiuxetano, gemtuzumab, ozogamicina, bevacizumab, cetuximab, erlotinib y trastuzumab.

Esquema 1: Síntesis del Ejemplo 1



25 Síntesis de (K)

A Fmoc-Fe-resina de Wang (4,0 mmol, 5,0 g), se añadió una mezcla de piperidina al 20 %/DMF (50 ml). Se dejó agitar la mezcla heterogénea durante 20 minutos y se filtró, y se lavó la resina con DMF (100 ml), MeOH (100 ml) y DCM (100 ml), y se dejó secar al aire. Se sometió la resina una segunda vez a las anteriores condiciones de reacción, proporcionando (K).

Síntesis de (L)

5 A una mezcla de (K) (4,0 mmol) y DMF (40 ml), se añadieron, por orden, Fmoc-Leu-OH (7,9 mmol, 2,82 g), DIEA (13,3 mmol, 2,23 ml) y HOBt (8,10 mmol, 1,24 g). A la mezcla anterior, se añadió lentamente BOP (7,98 mmol, 3,53 g) y se diluyó en DMF (40 ml). Se dejó agitar la mezcla de reacción durante una noche. Se filtró la mezcla de reacción y se lavó la resina con DMF (150 ml), MeOH (150 ml), DCM (150 ml) y se dejó secar al aire, proporcionando (L).

Síntesis de (M)

10 A (L) (4,0 mmol), se añadió una mezcla de piperidina al 20 %/DMF (50 ml). Se dejó agitar la mezcla heterogénea durante 20 minutos. Se filtró la solución y se lavó la resina con DMF (100 ml), MeOH (100 ml) y DCM (100 ml), y se dejó secar al aire. A continuación, se sometió la resina una segunda vez a las anteriores condiciones de reacción, proporcionando (M).

Síntesis de (N)

15 A (M) (0,10 mmol, 0,130 g), se añadió THF (2 ml), DIEA (0,40 mmol, 0,08 ml) y cloruro de benzoílo (0,34 mmol, 0,04 ml). Se dejó agitar la mezcla resultante durante 30 minutos. Se filtró la reacción y se lavó la resina con DMF (20 ml), agua (20 ml), MeOH (20 ml) y DCM (20 ml), y se dejó secar al aire, proporcionando (N).

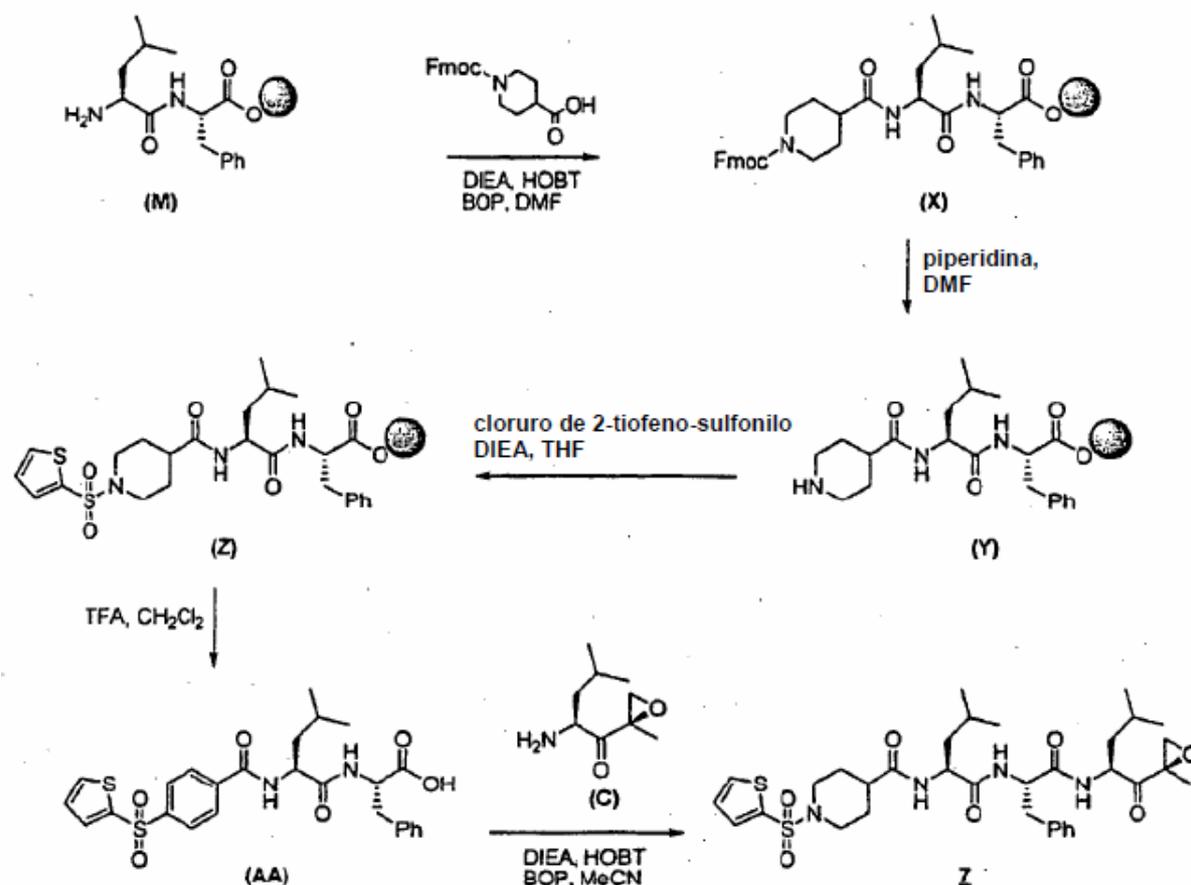
Síntesis de (O)

20 A (N) (0,10 mmol), se añadió TFA al 50 %/DCM (2 ml) y se dejó agitar la mezcla durante 20 minutos (la resina se volvió de color morado). Se filtró la mezcla y se lavó la resina con DCM (10 ml). Se retiraron las sustancias volátiles a presión reducida, y se diluyó el aceite resultante con DCM (10 ml) y se evaporó un total de tres veces, proporcionando (O).

Síntesis del Compuesto 3

30 A solución agitada de (C) [véase: *Bioorg. Med. Chem. Letter* 1999, 9, 2283-88] (19 mg, 0,11 mmol) en MeCN (2 ml), se añadieron (O) (0,1 mmol), DIEA (2,9 mmol, 0,5 ml), HOBt (0,2 mmol, 0,032 g) y BOP (0,23 mmol, 0,103 g). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche. A continuación, se diluyó la reacción con salmuera (15 ml) y se extrajo con EtOAc. Se lavó la capa orgánica con agua, solución saturada de NaHCO₃ y salmuera, y se secó sobre MgSO₄ anhidro. Se retiró el MgSO₄ por filtración y se retiraron las sustancias volátiles a presión reducida. El material en bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida usando EtOAc del 20 al 40 %/hexanos como eluyente, proporcionando 3 (13,8 mg). CT-L de 20S, Cl₅₀ < 50 nM, CT-L basada en células, Cl₅₀ < 50 nM.

Esquema 2: Síntesis del Ejemplo 2



Síntesis de (X)

A (M) (0,8 mmol, 1,0 g), se añadió DMF (20 ml), Fmoc-ácido isonipecótico (2,8 mmol, 0,320 g), DIEA (4,8 mmol, 0,445 ml), HOBT (0,9 mmol, 0,140 g) y BOP (1,0 mmol, 0,450 g), y se dejó agitar la mezcla de reacción durante una noche. Se filtró la mezcla de reacción y se lavó la resina con DMF (150 ml), MeOH (150 ml) y DCM (150 ml), y se dejó secar al aire, proporcionando (X).

Síntesis de (Y)

A (X) (0,8 mmol, 1,0 g), se añadió piperidina al 20 %/DMF (30 ml) y se dejó agitar la mezcla heterogénea resultante durante 20 minutos. Se filtró la solución y se lavó la resina con DMF (150 ml), MeOH (150 ml) y DCM (150 ml), y se dejó secar al aire. Se sometió la resina una segunda vez a las anteriores condiciones de reacción proporcionando (Y).

Síntesis de (Z)

A (Y) (0,10 mmol, 0,130 g), se añadió THF (2 ml), DIEA (0,40 mmol, 0,08 ml) y cloruro de 2-tiufenosulfonilo (0,34 mmol, 0,064 g), y se dejó agitar la mezcla de reacción durante 30 minutos. Se filtró la reacción y se lavó la resina con DMF (20 ml), agua (20 ml), MeOH (20 ml) y DCM (20 ml), y se dejó secar al aire, proporcionando (Z).

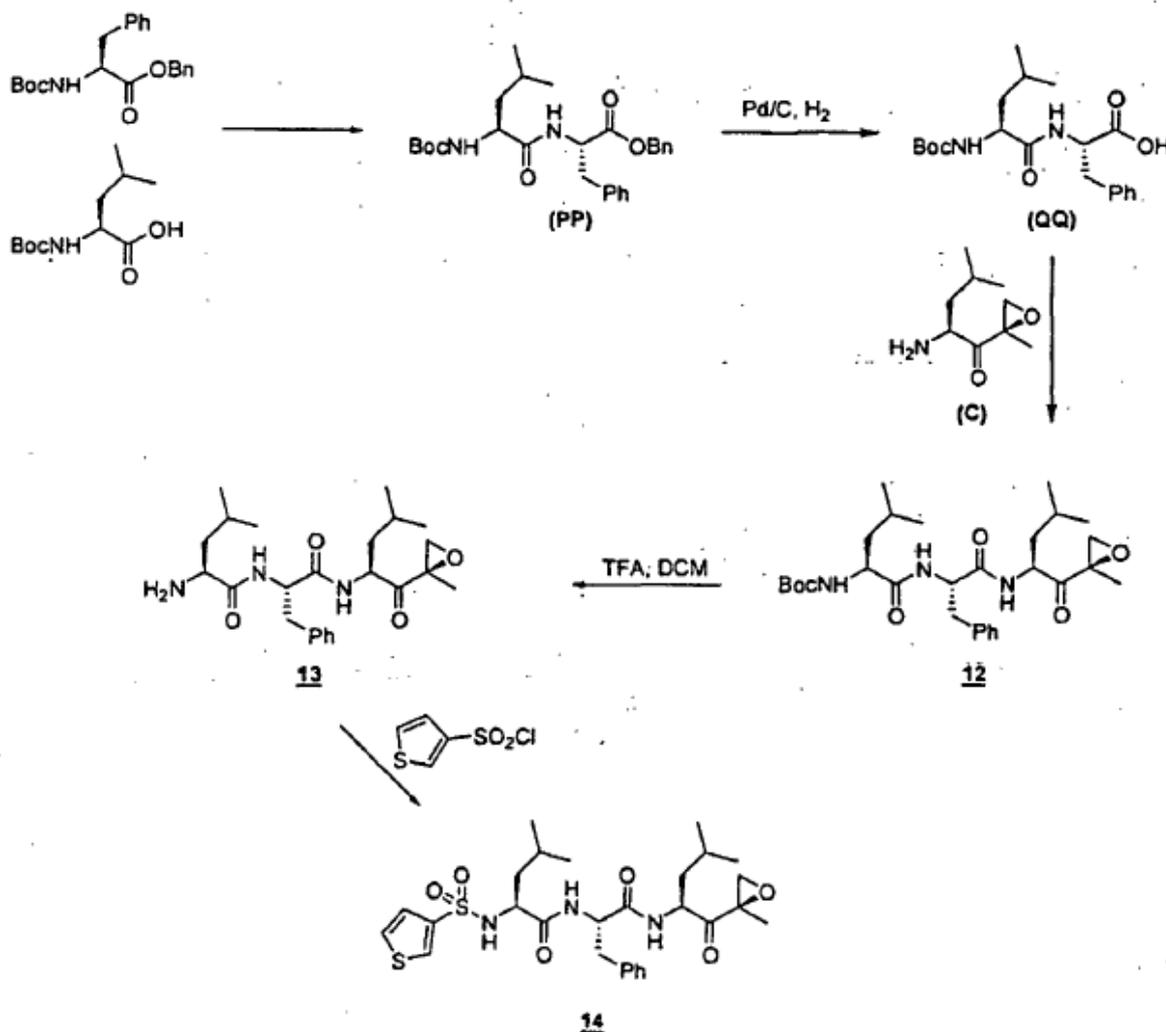
Síntesis de (AA)

A (Z) (0,10 mmol), se añadió TFA al 50 %/DCM (2 ml) y se dejó agitar la mezcla durante 20 minutos (la resina se volvió de color morado). Se filtró la reacción y se lavó la resina con DCM (10 ml). Se retiraron las sustancias volátiles a presión reducida y se diluyó el aceite resultante con DCM (10 ml) y se evaporó un total de tres veces, proporcionando (AA).

Síntesis del Compuesto 7

A una solución agitada de (C) [véase: *Bioorg. Med. Chem. Letter* 1999, 9, 2283-88] (0,11 mmol, 0,019 g) en MeCN (2 ml), se añadieron (AA) (0,1 mmol), DIEA (2,9 mmol, 0,5 ml), HOBT (0,2 mmol, 0,032 g) y BOP (0,23 mmol, 0,103 g), y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche. Se diluyó la reacción con salmuera (15 ml) y se extrajo con EtOAc. Se lavó la capa orgánica con agua, solución saturada de NaHCO₃ y salmuera, y se secó sobre MgSO₄ anhidro. Se retiró el MgSO₄ por filtración y se retiraron las sustancias volátiles a presión reducida. El material en bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida usando EtOAc del 20 al 40 %/hexanos como eluyente, proporcionando 7 (18,2 mg). CT-L de 20S, Cl₅₀ < 500 nM, CT-L basada en células, Cl₅₀ < 500 nM.

Esquema 3: Síntesis de los Ejemplo 3, 4 y 5



Síntesis de (PP)

A una solución de N^{tert}-boc-leucina (85,67 mmol, 19,81 g, 1,0 eq) y benciléster de fenilalanina (85,67 mmol, 25,0 g, 1,0 eq.) en 900 ml de MeCN, se añadió DIEA (342,68 mmol, 44,29 g, 60 ml, 4,0 eq.) y se enfrió la mezcla hasta 0 °C en un baño de hielo. A la mezcla, se añadió HOBT (137,08 mmol, 18,52 g, 1,6 eq) seguido de PyBOP (137,08 mmol, 71,33 g, 1,6 eq), que se añadió en varias porciones durante cinco minutos. Se dispuso la reacción bajo una atmósfera de argón y se agitó durante una noche. Se retiraron las sustancias volátiles a presión reducida y se extrajo el resto del material en 500 ml de EtOAc y se lavó con solución saturada de NaHCO₃, H₂O y salmuera, y se secó sobre MgSO₄. Se retiró el MgSO₄ por filtración y se retiraron las sustancias volátiles a presión reducida, dando (PP) (37,3 g).

Síntesis de (QQ)

Se disolvió el Compuesto (PP) (4,27mmol, 2,0 g) en MeOH/EtOAc (1:1, 40 ml) y se añadió Pd-C (5 %, 800 mg). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente bajo 1 atmósfera de hidrógeno durante 2 horas, y luego se filtró a través de Celite y se concentró, dando (QQ).

Síntesis del Compuesto 12 (Referencia)

5 A una solución agitada de (C) [véase: *Bioorg. Med. Chem. Letter* 1999, 9, 2283-88] (6,0 mmol, 1,8 g, 1,4 eq) en DMF (50ml), se añadieron (QQ) (4,27 mmol, 2,0 g, 1 eq.), DIEA (0,02 mol, 3,5 ml, 4eq.) y luego HOBt (32 mmol, 4,3 g, 1,6 eq.). Se enfrió la mezcla hasta 0 °C en un baño de hielo, y se añadió PyBOP (32 mmol, 16,6 g, 1,6 eq.) en varias porciones. Se agitó la mezcla a 5 °C bajo una atmósfera de nitrógeno durante una noche. Se diluyó la reacción con solución saturada de NaCl y se extrajo con EtOAc. Se lavó la capa orgánica con agua y salmuera, y se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y se concentró hasta obtenerse un aceite que se purificó mediante cromatografía ultrarrápida, proporcionando **12** (0,50 g).

Síntesis del Compuesto 13 (Referencia)

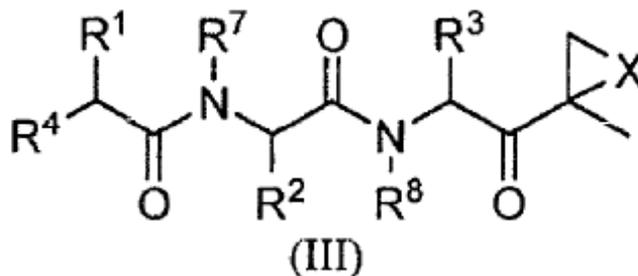
10 Se mezcló el Compuesto **12** (0,046 mmol, 24,5 mg) con TFA/DCM (80 %) y se agitó a temperatura ambiente durante una hora, momento en el que la mezcla se concentró y se colocó bajo un alto vacío durante 2 horas, dando **13**.

Síntesis del Compuesto 14

15 A una solución de DCM (10 ml) de **13**, se añadió cloruro de 3-tiofenosulfonilo (0,055 mmol 0,012 g, 1,2 eq.) y TEA (0,184 mmol, 0,026 ml, 4,0 eq.). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas y luego se concentró a sequedad. Se extrajo el residuo en EtOAc, se lavó con agua y salmuera, y se secó con MgSO₄ anhidro, se filtró y se concentró hasta obtenerse un aceite que se purificó mediante HPLC preparativa, proporcionando **14** (1 mg). CT-L de 20S, Cl₅₀ < 50 nM, CT-L basada en células, Cl₅₀ < 50 nM.

REIVINDICACIONES

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



5 en la que:

cada Ar es, de manera independiente, un grupo aromático o heteroaromático opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes;

L se selecciona entre C=O, C=S y SO₂;

10 X es O;

Y está ausente o se selecciona entre C=O y SO₂;

R¹, R² y R³ se seleccionan, cada uno de manera independiente, entre alquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, alcoxialquilo C₁₋₆, arilo y aralquilo C₁₋₆, estando cada uno de los cuales opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes amida, amina, ácido carboxílico (o una sal del mismo), éster, tiol o tioéter;

15 R⁴ es N(R⁵)L-R⁶;

R⁵ es hidrógeno,

R⁶ se selecciona entre Ar-Y-, carbociclilo y heterociclilo; y

R⁷ y R⁸ son hidrógeno;

en donde "alquilo" consiste en grupos alquilo o haloalquilo no sustituidos.

20 2. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que R¹, R² y R³ se seleccionan, de manera independiente, entre alcoxialquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆, arilo y aralquilo C₁₋₆.

25 3. Un compuesto de la reivindicación 2, en el que R¹ y R² son alcoxialquilo C₁₋₆ o alquilo C₁₋₆; y R³ es alquilo C₁₋₆ o aralquilo C₁₋₆.

4. Un compuesto de la reivindicación 2, en el que R¹ y R³ son ambos isobutilo y R² es fenilmetilo.

30 5. Un compuesto de la reivindicación 3, en el que L es C=O o SO₂ y R⁶ es Ar-Y o heterociclilo.

6. Un compuesto de la reivindicación 5, en el que cada Ar se selecciona, de manera independiente, entre fenilo, indolilo, benzofuranilo, naftilo, quinolinilo, quinolonilo, tienilo, piridilo, pirazilo, pirrolilo, furanilo, tiofenilo, imidazolilo, oxazolilo, tiazolilo, triazolilo, pirazolilo, piridazilo y pirimidilo, o en el que heterociclilo se selecciona entre cromonilo, cromanilo, morfolino y piperidinilo.

35 7. Un compuesto de la reivindicación 6, en el que Ar está sustituido con Ar-Q-, en donde Q se selecciona entre un enlace directo, -O- y alquilo C₁₋₆.

40 8. Un compuesto de la reivindicación 4, en el que L es C=O o SO₂ y R⁶ se selecciona entre Ar-Y y heterociclilo.

9. Un compuesto de la reivindicación 8, en el que R⁶ se selecciona entre cromonilo, cromanilo, morfolino y piperidinilo.

45 10. Un compuesto de la reivindicación 8, en el que R⁶ es Ar-Y y Ar se selecciona entre fenilo, indolilo, benzofuranilo, naftilo, quinolinilo, quinolonilo, tienilo, piridilo y pirazilo.

11. Un compuesto de la reivindicación 4, en el que L es C=O o SO₂.

50 12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

13. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en la inhibición de una hidrolasa nucleófila N-terminal, en el que dicho inhibidor inhibe una actividad de tipo quimiotripsina de dicho proteosoma 20S cuando dicho inhibidor está presente a concentraciones inferiores a aproximadamente 5 μM y no inhibe la actividad

de tipo tripsina ni la actividad de PGPH de dicho proteosoma 20S cuando dicho inhibidor está presente a concentraciones inferiores a aproximadamente 5 μ M.

- 5 14. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en el tratamiento de la inflamación.
15. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en la inhibición o la reducción de la infección por VIH.
- 10 16. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en el tratamiento de la enfermedad neurodegenerativa.
17. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en el tratamiento de las enfermedades de atrofia muscular.
- 15 18. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en el tratamiento del cáncer.
19. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en el tratamiento de las enfermedades infecciosas crónicas.
- 20 20. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en el tratamiento de una afección hiperproliferativa.
21. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en el tratamiento de la inactividad muscular.
- 25 22. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en el tratamiento de afecciones relacionadas con el sistema inmune.
- 30 23. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en la alteración del nivel de expresión génica viral en un sujeto.
24. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en la alteración de la variedad de péptidos antigénicos producidos por el proteosoma en un organismo.