

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 523 945**

51 Int. Cl.:

A61K 31/00 (2006.01)

A61K 31/395 (2006.01)

A61K 31/165 (2006.01)

A61P 7/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.06.2004 E 10182249 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.08.2014 EP 2322155**

54 Título: **Uso de estabilizadores de HIF alfa para mejorar la eritropoyesis**

30 Prioridad:

06.06.2003 US 476704 P

29.04.2004 US 566488 P

29.04.2004 US 566237 P

10.05.2004 US 569797 P

03.06.2004 US 861590

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

02.12.2014

73 Titular/es:

**FIBROGEN, INC. (100.0%)
409 Illinois Street
San Francisco, CA 94158, US**

72 Inventor/es:

**KLAUS, STEPHEN J.;
MOLINEAUX, CHRISTOPHER J.;
NEFF, THOMAS B.;
GUENZLER-PUKALL, VOLKMAR;
LANSETMO PAROBOK, INGRID;
SEELEY, TODD W. y
STEPHENSON, ROBERT C.**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO FACES, José

ES 2 523 945 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).

Uso de estabilizadores de HIF alfa para mejorar la eritropoyesis**Descripción****5 ÁMBITO DEL INVENTO**

[0001] El presente documento trata de métodos y compuestos para regular o mejorar la eritropoyesis y metabolismo de hierro y para tratar o evitar deficiencias de hierro y anemia de enfermedad crónica.

10 CONTEXTO DEL INVENTO

[0002] En general, la anemia se refiere a cualquier situación anormal de la hemoglobina o los eritrocitos que conduce a niveles reducidos de oxígeno en la sangre. La anemia también puede desarrollarse en combinación con enfermedades crónicas, como por ejemplo infección crónica, trastornos neoplásicos, trastornos inflamatorios crónicos, incluidos desórdenes con la consecuencia de supresión inflamatoria de médula, etc. La anemia de enfermedad crónica es uno de los síndromes crónicos más habituales de la medicina.

[0003] La anemia de enfermedad crónica (ACD, según sus siglas en inglés) con frecuencia se asocia con déficit de hierro. La ACD puede desarrollarse a partir de una cantidad inadecuada de hierro (por ejemplo, anemia por deficiencia de hierro) o, en los casos en los que la cantidad de hierro es adecuada pero las necesidades para la producción de hemoglobina no funcionan adecuadamente (por ejemplo, déficit funcional de hierro). El hierro es necesario para la producción de hemoglobina de glóbulos rojos en células precursoras eritopoyéticas de la médula ósea.

[0004] Se observan numerosas deficiencias fisiológicas en pacientes con anemia de enfermedad crónica, incluida la producción reducida de eritropoyetina (EPO), respuesta reducida de EPO de la médula ósea y hierro reducido en el metabolismo, incluida la absorción reducida de hierro en el intestino, reducción en el transporte de trans-enterocito de hierro, reducción en la oxidación de hierro al estado férrico por hefaestina o ceruloplasmina, reducción de la fijación y retención del hierro por transferrina y receptor de transferrina y reducción de transporte de hierro a la médula donde se da la utilización del hierro, incluida la síntesis del heme. De forma individual y conjuntamente, esos déficits fisiológicos contribuyen a la eritropoyesis ineficaz o deteriorada, lo que puede llevar a una anemia microcítica y glóbulos rojos hipocrómicos asociado con una reducción de la producción de hemoglobina y del transporte de oxígeno.

[0005] La Anemia de enfermedad crónica se asocia con el aumento de la producción de citocinas inflamatorias (Means (1995) Stem cells 13:32-37 y Means (1999) Int J Hematol 70:7-12), incluido, por ejemplo, el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), interleucina-1 β (IL-1 β), IL-6, e interferón- γ (IFN- γ). En varios sistemas de modelos animales *in vitro* e *in vivo*, las citocinas inflamatorias afectaron negativamente a la capacidad de mediar la producción de EPO, la respuesta a EPO y la regulación coordinada del metabolismo férrico (Roodman et al. (1989) Adv Exp Med Biol 271:185-196; Fuchs et al. (1991) Eur J Hematol 46:65-70; Jelkmann et al. (1994) Ann NY Acad Sci 718:300-311; Vannucchi et al. (1994) Br J Hematol 87:18-23; y Oldenburg et al. (2001) Aliment Pharmacol Ther 15:429-438). La administración de eritropoyetina no consiguió revertir la anemia en ratones expuestos continuamente a TNF- α (Clibon et al. (1990) Exp Hematol 18:438-441). El aumento en los niveles de citocinas inflamatorias, como TNF- α , IL-1 β , y INF- γ , contribuyen a la producción de EPO defectuoso y resistencia a EPO que se han observado en pacientes con anemia de enfermedad crónica (Jelkmann et al. (1991) Ann NY Acad Sci 718:300-31 y Macdougall y Cooper (2002) Neprol Dial Transplant 17(11):39-43). Por lo tanto, varias citocinas, como por ejemplo las citocinas inflamatorias y las citocinas asociadas con la inflamación, están implicadas en muchos aspectos de la patogénesis de la anemia de enfermedad crónica, incluida la inhibición de progenitores eritroides, la inhibición de la producción de EPO y el deterioro de la liberación de hierro y de la disponibilidad de hierro para la eritropoyesis.

[0006] Por lo tanto, existe una necesidad en esta materia de métodos para tratar o prevenir la anemia de enfermedad crónica. Existe una necesidad en este ámbito de métodos para superar las deficiencias en el uso actual de EPO recombinante para tratar la anemia de enfermedad crónica. En concreto, se sigue necesitando encontrar métodos y compuestos eficaces para superar la producción suprimida de EPO y la respuesta a la disminución de EPO asociada con la anemia de enfermedad crónica, de métodos y compuestos eficaces en la mejora de la regulación del metabolismo férrico y para superar déficits de metabolismo férrico modificado o anómalo y su utilización y de métodos y compuestos eficaces en la mejora de eritropoyesis total o completa, mejorando las vías metabólicas en relación con la producción de EPO, respuesta y señales de EPO y disponibilidad, uso, retención, transporte, procesamiento, etc, del hierro. En este ámbito son necesarios métodos de superar o mitigar las consecuencias de los efectos de la inducción de citocina en sujetos con anemia de enfermedad crónica.

[0007] El déficit de hierro es uno de los déficits nutricionales más habituales en el mundo y es la primera causa mundial de anemia. El equilibrio de hierro se regula fundamentalmente por la tasa de eritropoyesis y el tamaño de los depósitos de hierro. El déficit de hierro puede darse con o sin anemia y se ha asociado con daños en el desarrollo cognitivo.

5 [0008] El déficit de hierro se define como un suministro inadecuado de hierro (de niveles o depósitos) o como una disponibilidad o uso inadecuado de hierro en el cuerpo. Puede deberse a carencias nutricionales, como por ejemplo, la falta de hierro en la dieta; a una mala absorción del hierro, debida, por ejemplo, a una cirugía (post-gastrectomía) o enfermedad (enfermedad de Crohn); o a disminución en el suministro de hierro o una un aumento en las pérdidas de hierro debido a una pérdida de sangre crónica o aguda como resultado de una herida o un trauma, menstruación, donación de sangre, flebotomía (como la debida a varios procedimientos, cirugías); a partir de un aumento de la necesidad de hierro, por ejemplo debida al rápido crecimiento en la infancia o la adolescencia, embarazo, terapia de eritropoyetina, etc.

10 [0009] El déficit de hierro también puede ser un déficit funcional de hierro, como por ejemplo, el déficit de hierro caracterizado por la disminución de la capacidad del sujeto para acceder y utilizar los depósitos de hierro. El hierro no está disponible en una tasa suficiente para permitir la hemoglobinización normal de eritrocitos, que provoca un contenido de reticulocito y hemoglobina celular de eritrocito reducidos. El déficit funcional de hierro con frecuencia se ve en individuos sanos con depósitos de hierro aparentemente normales o incluso que hayan aumentado pero con una disponibilidad de hierro reducida, como la medida, por ejemplo, por niveles bajos de porcentaje de saturación de transferrina. Este tipo de déficit de hierro se asocia con frecuencia con inflamación aguda o crónica.

20 [0010] El déficit de hierro de cualquier tipo puede provocar la eritropoyesis con déficit de hierro o restricción de hierro, en la que los números de glóbulos rojos disminuyen y los glóbulos rojos circulantes son más pequeños de lo normal (microcíticos) y carecen de hemoglobina adecuada, por lo que tienen un color pálido (hipocrómicos).

25 [0011] Los sujetos con déficit de hierro, incluido el déficit funcional de hierro, pueden desarrollar un deterioro de la síntesis hemoglobina, reducir el % de saturación de transferrina y disminuir los niveles de hemoglobina y hematocrito, provocando una anemia por déficit de hierro. La anemia ferropénica es la anemia más habitual en todo el mundo. El hierro es un componente esencial de la hemoglobina; sin hierro, la médula no puede producir hemoglobina de una forma eficaz. La anemia ferropénica puede darse en sujetos con suministros de hierro escasos o deteriorados o en sujetos que tengan un déficit funcional de hierro, cuando el hierro está presente en depósito, pero no disponible, por ejemplo, para la producción de hemoglobina.

30 [0012] En vista de lo anterior, en este ámbito se necesitan métodos para tratar o prevenir los trastornos asociados con el metabolismo férrico y métodos para mejorar el metabolismo férrico. Se necesitan métodos para tratar o prevenir el déficit de hierro, incluido el déficit funcional de hierro y para tratar o prevenir afecciones asociadas como la microcitosis y la anemia ferropénica.

35 [0013] El presente documento proporciona métodos y compuestos para mejorar la trayectorias metabólicas y fisiológicas que contribuyen a la eritropoyesis completa y eficaz y en concreto, para tratar la anemia de enfermedad crónica. También se presentan métodos y compuestos para superar los efectos supresores de las citocinas inflamatorias sobre la producción y respuesta de EPO. Además, el presente documento proporciona métodos para mejorar el metabolismo férrico y para tratar o evitar las afecciones asociadas con el deterioro del metabolismo férrico, como el déficit de hierro, incluyendo el déficit funcional de hierro, la anemia ferropénica, microcitosis, eritropoyesis ferropénica, etc.

RESUMEN DEL INVENTO

45 [0014] El presente documento trata sobre métodos y compuestos para inducir la eritropoyesis mejorada o completa en un sujeto. En concreto, los métodos comprenden la inducción de eritropoyesis mejorada o completa por medio de la estabilización de HIF α en un sujeto. Se presentan específicamente métodos para inducir la eritropoyesis mejorada inhibiendo la HIF proлил hidroxilasa. En representaciones concretas, los métodos comprenden la administración a un sujeto de un compuesto del invento. En varias representaciones, el sujeto puede ser una célula, tejido, órgano, sistema de órganos u organismo completo.

50 [0015] El sujeto es, en varias representaciones, una célula, tejido, órgano, sistema de órganos u organismo completo. En ciertas representaciones, el organismo es un mamífero, preferiblemente un humano.

55 [0016] En un aspecto, el método aumenta la producción de factores necesarios para la diferenciación de eritrocitos de células progenitoras hematopoyéticas incluidas, por ejemplo, células madre hematopoyéticas (HSCs, en sus siglas en inglés), células CFU-GEMM (unidad formadora de colonias de gran ulocito/eritroide/monocito/megacariocito), etc. Entre los factores que estimulan la eritropoyesis se incluyen, entre otros, la eritropoyetina. En otro aspecto, los métodos aumentan la producción de factores necesarios para la retención, transporte y utilización del hierro. Dichos factores incluyen, entre otros, la sintasa aminolevulinada eritroide, transferrina, receptores de transferrina, ceruloplasmina, etc. En otro aspecto, el método aumenta los factores necesarios para la diferenciación de eritrocitos y además los factores necesarios para la retención, transporte y uso del hierro.

65 [0017] En otra representación, los métodos mejoran la respuesta de los precursores hematopoyéticos a la eritropoyetina. Tal y como se ha descrito anteriormente, entre dichos precursores se incluyen los HSCs, CFU-GEMMs, etc. La respuesta de las células precursoras puede aumentarse, por ejemplo, por la alteración de la

expresión de los receptores de eritropoyetina, factores intracelulares implicados en los indicadores de eritropoyetina y por la segregación de factores que facilitan la interacción de la eritropoyetina con los receptores.

5 **[0018]** En otro aspecto, los métodos que se presentan pueden usarse para superar la inhibición de la eritropoyesis inducida por citocinas inflamatorias como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), interleucina-1 β (IL-1 β) y similares. En algunos aspectos concretos de la presentación, los métodos pueden usarse para tratar la anemia refractiva al tratamiento con eritropoyetina administrada de forma exógena. Dicha anemia puede ser causada, por ejemplo, por alteraciones crónicas inflamatorias o autoinmunes entre las que se incluyen, entre otras, la endocarditis bacteriana crónica, osteomielitis, artritis reumatoide, fiebre reumática, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa.

10 **[0019]** Los compuestos del invento están pensados para su uso en métodos para tratar la anemia en un sujeto que tiene un porcentaje de saturación de transferrina de menos del 20%. En algunos aspectos específicos, los métodos tratan de inducir eritropoyesis mejorada o completa en pacientes con anemia de enfermedad crónica. En representaciones concretas, los métodos aumentan la cantidad de hierro disponible para crear nuevos glóbulos rojos.

15 **[0020]** De forma más específica, los métodos tratan de mejorar la respuesta EPO de la médula ósea.

20 **[0021]** De forma más específica, los métodos tratan de inhibir la supresión TNF α de EPO para inhibir la supresión IL-1 β de EPO.

25 **[0022]** El presente documento trata de métodos para el tratamiento/prevención de la anemia de enfermedad crónica y métodos para la regulación del procesamiento de hierro y el tratamiento/prevención de las afecciones asociadas con déficits de hierro y/o del procesamiento de hierro.

30 **[0023]** El invento proporciona un compuesto para su uso en métodos para el tratamiento de anemia en un sujeto que tenga un porcentaje de saturación de transferrina de menos del 20%. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza la subunidad alfa del factor inducible de hipoxia (HIF), tratando así la anemia de enfermedad crónica en el sujeto, donde el compuesto es una estructura mimética de 2-oxoglutarate que inhibe la proil hidroxilasa de HIF. De forma más específica, los métodos tratan de conseguir efectos fisiológicos específicos en un sujeto con anemia de enfermedad crónica; en concreto, los métodos para el aumento de reticulocitos, aumento del volumen globular medio, aumento de la hemoglobina corpuscular media, aumento del hematocrito, aumento de la hemoglobina, aumento de los glóbulos rojos, etc., en un sujeto que tenga anemia de enfermedad crónica. Cada uno de los métodos comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice la subunidad alfa de factor inducible de hipoxia (HIF), consiguiendo así el efecto fisiológico deseado. En varios aspectos, la anemia de enfermedad crónica se asocia con, por ejemplo, inflamación, enfermedad autoinmune, déficit de hierro, microcitosis, neoplasia, etc.

35 **[0024]** En varias representaciones, el sujeto es una célula, tejido u órgano. En otras representaciones, el sujeto es un animal, preferentemente un mamífero, preferentemente un humano. Cuando el sujeto sea una célula, el invento contempla específicamente que la célula puede ser una célula aislada, procariótica o eucariótica. En el caso de que el sujeto sea un tejido, el invento contempla específicamente tanto tejidos endógenos como in vitro, por ejemplo, tejidos desarrollados en cultivo. En las representaciones preferidas, el sujeto es un animal, concretamente un animal de especies mamíferas entre las que se incluyen ratas, conejos, especies bovinas, ovinas, porcinas, murinos, equinos y primates. En la mejor representación, el sujeto es humano.

40 **[0025]** La estabilización de HIF α puede conseguirse por medio de cualquiera de los métodos disponibles y conocidos por los expertos en la materia y pueden implicar el uso de cualquier agente que interactúe con, se una a, o modifique los factores HIF α que interactúen con HIF α , incluyendo, por ejemplo, las enzimas para las que HIF α sea un sustrato. En ciertos aspectos, el presente documento contempla el suministro de una variante constitutivamente estable de HIF α , por ejemplo, muteínas estables de HIF, etc, o un polinucleótido que codifique una variante de ese tipo. En otros aspectos, el presente documento contempla que la estabilización de HIF α comprende la administración de un agente que estabiliza HIF α . El agente puede estar compuesto de polinucleótidos, por ejemplo secuencias anti sentido; polipéptidos; anticuerpos; otras proteínas; carbohidratos; grasas; lípidos; y sustancias orgánicas e inorgánicas, por ejemplo, pequeñas moléculas, etc. En una de las representaciones preferidas, el presente documento contempla la estabilización de HIF α , por ejemplo, en un sujeto, por medio de la administración al sujeto de un agente que estabilice HIF α donde el agente sea un compuesto, por ejemplo, compuesto de pequeñas moléculas, que estabilice HIF α .

45 **[0026]** En varios aspectos, HIF α es HIF1 α , HIF2 α o HIF3 α . En uno de los aspectos, la estabilización de HIF α comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que inhiba la actividad de hidroxilasa HIF. En ciertos aspectos, la hidroxilasa HIF se selecciona entre el grupo que consiste de EGLN1, EGLN2 y EGLN3.

50 **[0027]** En otra representación, el invento proporciona un método para el aumento del volumen medio corpuscular en un sujeto. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice la subunidad alfa del factor inducible de hipoxia (HIF). En otra representación, el invento proporciona un método para

5 aumentar los niveles medios de hemoglobina en un sujeto. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que establezca la subunidad alfa de factor inducible de hipoxia (HIF). En otra representación, el presente invento incluye un método para reducir la microcitosis en un sujeto. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que establezca la subunidad alfa de factor inducible de hipoxia (HIF).

10 **[0028]** El documento también proporciona un método para tratar o prevenir la anemia microcítica. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza la subunidad alfa de factor inducible de hipoxia (HIF).

15 **[0029]** En un aspecto, el documento trata de un método para el tratamiento o prevención de una afección asociada con el déficit de hierro en un sujeto. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza la subunidad alfa de factor inducible de hipoxia (HIF). En un aspecto concreto, el invento proporciona un método para mejorar el procesamiento de hierro en un sujeto. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que establezca la subunidad alfa de factor inducible de hipoxia (HIF). También se presenta un método para tratar o prevenir la afección asociada con una disponibilidad de hierro reducida en un sujeto. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza la subunidad alfa de factor inducible de hipoxia (HIF).

20 **[0030]** En otras representaciones, el documento trata de un método para superar los efectos de inducción de citoquina en un sujeto. En concreto, el documento proporciona en un aspecto un método para superar la producción de supresión de citocina de EPO en un sujeto. El método comprende la administración a un sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza la subunidad alfa de factor inducible de hipoxia (HIF). El documento también proporciona un método para superar la supresión de citocina de hierro disponible en un sujeto. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza la subunidad alfa de factor inducible de hipoxia (HIF). En otro aspecto, el presente invento logra un método para tratar o prevenir la anemia asociada a la citocina en un sujeto. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza la subunidad alfa del factor inducible de hipoxia (HIF). También se presentan métodos para aumentar la presencia de EPO en presencia de una citocina en un sujeto. Los métodos comprenden la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza la subunidad alfa de factor inducible de hipoxia (HIF). En ciertas representaciones específicas, la citocina se selecciona del grupo que consiste en TNF- α y IL-1 β .

35 **[0031]** En otro aspecto, el invento proporciona un método para la reducción de la expresión de VCAM inducido por la citocina en un sujeto. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que establezca la subunidad alfa de factor inducible por hipoxia (HIF). En un aspecto concreto, la citocina es TNF- α o IL-1 β . En otro aspecto, el método se aplica a la reducción de la expresión de VCAM inducida por la citocina en las células endoteliales del sujeto. En otro aspecto, el sujeto tiene una afección del grupo que comprende enfermedad inflamatoria, enfermedad autoinmune y la anemia de enfermedad crónica.

40 **[0032]** En otro aspecto, el documento proporciona un método para la reducción de la expresión de E-selectina inducida por citocina en un sujeto. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que establezca la subunidad alfa del factor inducible por hipoxia. En un aspecto específico, la citocina es TNF- α o IL-1 β . En un aspecto, el método se aplica a la reducción de la expresión de E-selectina inducida por citocina en las células endoteliales del sujeto. En otro aspecto, el sujeto tiene una de las afecciones del grupo que incluye enfermedad inflamatoria, enfermedad autoinmune y anemia de enfermedad crónica.

50 **[0033]** El documento proporciona varios métodos para regular/mejorar el procesamiento de hierro y el metabolismo férrico. En un aspecto, el documento proporciona métodos para aumentar el transporte, retención y absorción de hierro en un sujeto. Cada uno de los métodos incluye la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que establezca la subunidad alfa del factor inducible por hipoxia (HIF). En representaciones concretas, el invento proporciona métodos para el aumento de la expresión de transferrina, la expresión de receptores de transferrina, la expresión de IRP-2, la expresión de ferritina, la expresión de ceruloplasmina, la expresión de NRAMP2, la expresión de esproutina y la expresión de ALAS-2 en un sujeto. Todos los métodos incluyen la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza la subunidad alfa del factor inducible por hipoxia (HIF). En otras representaciones, el invento proporciona métodos para reducir la expresión de hepcidina. El método incluye la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza la subunidad alfa del factor inducible por hipoxia (HIF). También se proporcionan métodos para aumentar la síntesis de heme en un sujeto por la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que establezca la subunidad alfa del factor inducible por hipoxia (HIF).

60 **[0034]** En algunos aspectos, el invento contempla métodos para el aumento de hierro en suero, aumentando la saturación de transferrina, aumentando los niveles de receptores de transferrina soluble y aumentando los niveles de ferritina en suero de un sujeto. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que establezca la subunidad alfa del factor inducible por hipoxia (HIF). En otro aspecto, el invento proporciona un método para el aumento del transporte de hierro a la médula ósea en un sujeto. El método incluye la

administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que establezca la subunidad alfa del factor inducible por hipoxia (HIF).

5 **[0035]** En uno de los aspectos, los métodos presentados se aplican en el tratamiento o en la fabricación de un medicamento para un sujeto, preferentemente un sujeto humano que tenga algunas de los trastornos o afecciones que se tratan en este documento. Debe entenderse que los parámetros asociados con las situaciones clínicas varían con arreglo a la edad, sexo, etc. En uno de los aspectos, el sujeto tiene un nivel de ferritina en suero por debajo del rango normal, por ejemplo, por debajo de 50-200 mg/L; de esa forma, un sujeto que tenga un nivel de ferritina en suero por debajo de 200 ng/ml, por debajo de 150 ng/ml, por debajo de 100 ng/ml, por debajo de 75 ng/ml y por
10 debajo de 50 ng/ml podría ser un sujeto adecuado para el tratamiento con los métodos o el uso los medicamentos que proporciona el presente invento. De forma alternativa, un sujeto apropiado podría identificarse al demostrar una capacidad total de fijación de hierro (TIBC, de acuerdo con sus siglas en inglés) menor del rango normal, por ejemplo, menos de TIBC 300-360 mg/dL.

15 **[0036]** En otra representación, el sujeto tiene un nivel de hierro en suero por debajo del rango normal, por ejemplo, niveles de hierro en suero por debajo de 50-150 mg/dL. Otros parámetros adecuados para identificar sujetos aptos incluyen las medidas de saturación de transferrina por debajo del 30-50%, medidas de sideroblasto de la médula por debajo del 40-60% y niveles de hemoglobina por debajo de 10 a 11 g/dL. Cualquiera de los parámetros anteriores se miden, por ejemplo, como en las pruebas hematológicas estándar, análisis de química sanguínea y conteo
20 sanguíneo completo (CBC, según sus siglas en inglés), que normalmente se presentan como mediciones de varios parámetros de la sangre y se obtienen, por ejemplo, por medio del análisis de la sangre por parte de un instrumento automático que mide, por ejemplo, el conteo de glóbulos rojos, conteo de glóbulos blancos, conteo de plaquetas e índice de erocitos. La medición podría hacerse por cualquier medio estándar de medición de análisis hematológico o bioquímico de la sangre incluyendo, por ejemplo, sistemas automáticos como el analizador CELL DYN 4000 (Abbott
25 Laboratories, Abbott Park IL), el analizador Coulter GenS (Beckman Coulter, Inc., Fullerton CA), el analizador Bayer ADVIA 120 (Bayer Healthcare AG, Leverkusen, Alemania), etc.

30 **[0037]** En un aspecto, la presentación abarca un método para tratar o prevenir el déficit de hierro en un sujeto. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , tratando o previniendo así el déficit de hierro en el sujeto. En otros aspectos, el déficit de hierro es un déficit funcional de hierro; se asocia con la anemia; se asocia con un trastorno del grupo que consta de inflamación, infección, trastorno por inmunodeficiencia y trastorno neoplásico; o se asocia con un trastorno seleccionado del grupo que consta de anemia de enfermedad crónica, anemia de déficit de hierro (IDA) y anemia microcítica.

35 **[0038]** Un sujeto del invento podría ser un sujeto con cualquier indicador estándar clínicamente aceptado para la medición de déficit de hierro o con riesgo de desarrollar déficit de hierro. Por ejemplo, en algunas representaciones, el sujeto tiene niveles bajos de ferritina en suero (<20 ng/ml) o % reducido de saturación de transferrina, por ejemplo, de menos del 16% (en adultos). Los niveles de ferritina en suero de menos de 50 ng/ml, por debajo de 40 ng/ml, por debajo de 30 ng/ml y por debajo de 20 ng/ml se contemplan específicamente. Nótese que si el sujeto tiene o está en
40 riesgo de tener déficit de hierro que es déficit de hierro funcional, los niveles de ferritina en suero podrían aumentar por encima del rango normal, por ejemplo, 200 ng/ml y mayores. El déficit de hierro puede observarse a través de la aparición de eritropoyesis de restricción de hierro/déficit de hierro (daños en la síntesis de hemoglobina que se observa normalmente cuando el % de saturación de transferrina caiga por debajo del 15 al 20%). Esos parámetros de hierro pueden medirse usando cualquier CBC estándar o los análisis bioquímicos que se han descrito
45 anteriormente y/o por el uso de dispositivos automatizados dirigidos más específicamente al análisis del hierro, por ejemplo, los kits Unimate 5 Iron y Unimate 7 UIBC (Roche, Suiza).

50 **[0039]** Un ejemplo de sujeto que podría beneficiarse de los métodos que se presentan para tratar o prevenir podría ser un sujeto que tiene o están en riesgo de tener anemia ferropénica; por ejemplo, un sujeto que tiene un % de saturación de transferrina del 10-15% o de menos del 10%.

55 **[0040]** En un aspecto, el sujeto que tiene o está en riesgo de tener déficit de hierro tiene o está en riesgo de tener déficit funcional de hierro. Un contenido de hemoglobina reticulocitaria de menos de 28 picogramas/célula podría ser indicativo de dicho tipo de afección. En otro aspecto, el sujeto que tiene o está en riesgo de tener déficit de hierro muestra un nivel mayor del 5% de glóbulos rojos hipocrómicos.

60 **[0041]** En ciertas representaciones, el sujeto tiene o está en riesgo de tener anemia de enfermedad crónica. Dicho sujeto podría mostrar anemia leve o moderada, por ejemplo, niveles de hemoglobina de aproximadamente 10-13 g/dL, o, en particular, 10-11 g/dL. En otras representaciones, se muestra anemia más aguda, por ejemplo, niveles de hemoglobina por debajo de 10 g/dL, incluyendo niveles por debajo de 5 g/dL y niveles por debajo de 3 g/dL. En algunas representaciones, el sujeto que tiene o está en riesgo de tener anemia de enfermedad crónica muestra anomalías en la distribución de hierro. Dichas anomalías podrían ser, por ejemplo, niveles de hierro en suero por debajo de unos 60 mg/dL, o niveles de ferritina en suero por encima del rango normal, por ejemplo, por encima de 200 ng/ml, por encima de 300 ng/ml o por encima de 400 ng/ml.

65 **[0042]** En ciertos aspectos, el sujeto podría tener o estar en riesgo de tener anemia microcítica. Dicho sujeto podría,

por ejemplo, mostrar un volumen corpuscular medio de menos de 80 femtolitros medidos, por ejemplo, como parte del análisis del conteo completo de la sangre. En otros aspectos, el sujeto tiene un volumen corpuscular medio de menos del valor normal de 90 +/- 8 femtolitros. El sujeto puede tener, en varios aspectos, una reducción del conteo medio de hemoglobina, por ejemplo, un conteo de hemoglobina medio de menos de 30 +/- 3 picogramas por hemoglobina/célula; o una reducción de la concentración media de células de hemoglobina, por ejemplo, una concentración media de células de hemoglobina de menos de 33 +/- 2%.

[0043] También se presenta un método para tratar o evitar el déficit funcional de hierro en un sujeto. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , tratando o previniendo el déficit funcional de hierro.

[0044] En una de las representaciones, el presente documento proporciona un método para regular o mejorar el metabolismo férrico de un proceso de metabolización de hierro en un sujeto. El método trata de administrar al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice el HIF α ; de esa forma regula o mejora el metabolismo férrico del proceso de metabolización del hierro en el sujeto. En otra representación, el invento proporciona un método para regular o mejorar un proceso metabólico de hierro de entre el grupo que consta de retención de hierro, absorción de hierro, transporte de hierro, almacenamiento de hierro, procesamiento de hierro, movilización de hierro y utilización de hierro. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza la HIF α , regulando o mejorando el proceso de metabolización del hierro en el sujeto.

[0045] El presente documento también muestra un método para aumentar la absorción de hierro en un sujeto. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando la absorción de hierro en el sujeto. En ciertos aspectos, la absorción de hierro se da en el intestino; se trata de absorción de hierro procedente de la dieta; o está en enterocitos duodenales.

[0046] Los siguientes métodos también se presentan en este documento: un método para aumentar el transporte de hierro en un sujeto, que consiste en la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando el transporte de hierro en el sujeto; un método para aumentar el depósito de hierro en un sujeto, que consiste en la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando el depósito de hierro en el sujeto; un método para aumentar la retención de hierro en un sujeto, que consiste en la administración a un sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando la retención de hierro por el sujeto; un método para aumentar el procesamiento de hierro en un sujeto, que consiste en la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice HIF α , aumentando el procesamiento de hierro en el sujeto; un método para aumentar la movilización de hierro en un sujeto, que consiste en la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando la movilización de hierro en el sujeto; y un método para aumentar la utilización de hierro de un sujeto, que consiste en administrar al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando el uso de hierro por parte del sujeto.

[0047] En una representación, el documento contempla un método para aumentar la disponibilidad de hierro para la eritropoyesis en un sujeto, que incluye la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice el HIF α , aumentando la disponibilidad de hierro para la eritropoyesis en el sujeto. En varias representaciones, el aumento de disponibilidad de hierro para la eritropoyesis implica un aumento en la disponibilidad de hierro para la síntesis de heme; aumenta la disponibilidad de hierro para la producción de glóbulos rojos.

[0048] El documento también proporciona métodos para regular la expresión de factores reguladores del hierro en un sujeto. El método incluye la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice HIF α regulando la expresión de factores metabólicos de hierro en el sujeto.

[0049] En el presente documento se detallan métodos para aumentar la expresión de ciertos factores reguladores del hierro, entre los que se incluyen: un método para el aumento de la expresión de receptores de transferrina, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice la HIF α , aumentando la expresión de receptores de transferrina en el sujeto; un método para aumentar la expresión de transferrina en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice la HIF α , aumentando la expresión de transferrina en el sujeto; un método para aumentar la expresión de ceruloplasmina en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice HIF α , aumentando la expresión de ceruloplasmina en el sujeto; un método para aumentar la expresión de NRAMP2 (slc 11a2) en un sujeto, que incluye la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice HIF α , aumentando la expresión de NRAMP2 en el sujeto; un método para aumentar la expresión de citocromo duodenal b de reductasa 1 en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando la expresión de citocromo duodenal b de reductasa 1 en el sujeto; y un método para aumentar la expresión de sintasa de 5-aminolevulinata en un sujeto, el método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α aumentando la expresión de sintasa de 5-aminolevulinata en el sujeto.

5 [0050] En una de las representaciones, este documento proporciona un método para aumentar el hierro en suero de un sujeto, que consiste en la administración de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando el hierro en suero del sujeto. En algunas representaciones, el sujeto es un humano y los niveles de hierro en suero aumentan hasta un valor entre 50 y 150 ug/dL.

10 [0051] En otro aspecto, el presente documento proporciona métodos para aumentar la capacidad total de fijación de hierro (TIBC, según sus siglas en inglés) en un sujeto. El método implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando TIBC en el sujeto. En uno de los aspectos, el sujeto es un humano y la capacidad total de fijación del hierro aumenta hasta un valor entre 300 y 360 mg/dL.

15 [0052] Se presentan métodos y compuestos para modular los niveles de ferritina en suero de un sujeto. En una representación, el sujeto es un humano, y los niveles de ferritina en suero aumentan por encima de 15 mg/L. En otra representación, el sujeto es un hombre adulto y el nivel de ferritina aumenta hasta aproximadamente 100 mg/L. En otra representación, el sujeto es una mujer adulta y el nivel de ferritina en suero aumenta a un nivel de aproximadamente 30 mg/L.

20 [0053] En un aspecto, el invento incluye un método para aumentar la saturación de transferrina en un sujeto, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice HIF α , aumentando la saturación de transferrina en el sujeto. En un aspecto, la saturación de transferrina aumenta por encima de un nivel seleccionado de entre 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, y 50%. El presente documento comprende métodos para aumentar el porcentaje de saturación de transferrina en un sujeto. En una representación, el sujeto es un humano y el porcentaje de saturación de transferrina aumenta a un valor por encima del 18%. En otra representación, el porcentaje de saturación de transferrina aumenta a un valor entre 25 y 50%. El porcentaje de transferrina normalmente se calcula usando la fórmula: (hierro en suero)(100)/(TIBC).

25 [0054] También se presentan métodos para aumentar los niveles de receptores de transferrina soluble en un sujeto, que incluyen la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice HIF α , aumentando los niveles de receptores de transferrina soluble en el sujeto. El documento también proporciona métodos para aumentar la masa eritroidal ósea total medida por medio de, por ejemplo, niveles de receptores de transferrina en suero. En un aspecto, el sujeto es un humano y el nivel de receptores de transferrina en suero se aumenta a 4 a 9 mg/L determinado por inmunoensayo.

30 [0055] Se muestra un método para disminuir la expresión de hepcidina en un sujeto, que comprende la administración a un sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , reduciendo la expresión de hepcidina en el sujeto.

35 [0056] En una representación, los compuestos del invento se van a usar en un método para tratar o prevenir la anemia de enfermedad crónica asociada con déficit de hierro en un sujeto. El método incluye la administración al sujeto de un compuesto del invento que trata o previene la enfermedad asociada con el déficit de hierro en el sujeto. En una representación, el déficit de hierro es un déficit funcional de hierro.

40 [0057] El invento proporciona un método para mejorar la eritropoyesis en un sujeto que tiene o está en riesgo de tener un déficit de hierro. El método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , mejorando la eritropoyesis en el sujeto. En cierto aspecto, se contempla que el déficit de hierro es un déficit funcional de hierro.

45 [0058] El invento también incluye un método para mejorar la eritropoyesis en un sujeto, donde el sujeto tiene o está en riesgo de tener un déficit funcional de hierro. El método implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice HIF α , mejorando la eritropoyesis en el sujeto. En varios aspectos, la enfermedad crónica se selecciona del grupo que consta de una inflamación, una infección, un trastorno de la inmunodeficiencia y un trastorno neoplásico.

50 [0059] Además, se presenta un método para mejorar la eritropoyesis en un sujeto, donde el sujeto tiene o está en riesgo de tener anemia de enfermedad crónica. El método implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , mejorando la eritropoyesis en el sujeto.

55 [0060] En una representación, el invento incluye un método para mejorar la eritropoyesis en un sujeto donde el sujeto es refractario a la terapia con EPO. El método implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice HIF α , mejorando la eritropoyesis en el sujeto.

60 [0061] También se proporciona un compuesto para su uso en un método para tratar o prevenir la anemia de enfermedad crónica en un sujeto. El método implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice HIF α , tratando o previniendo la anemia de enfermedad crónica en el sujeto, donde el compuesto es una estructura mimética de 2-oxoglutarato. En ciertos aspectos se contempla que la anemia de enfermedad crónica se asocia con una afección del grupo que comprende una inflamación, una infección, un trastorno de la inmunodeficiencia y un trastorno neoplásico.

5 **[0062]** La presentación contempla, de forma específica, lo siguiente: un método para aumentar los reticulocitos en un sujeto que tiene una enfermedad crónica, el método que comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando los reticulocitos en el sujeto; un método para aumentar el hematocrito en un sujeto que tiene una enfermedad crónica. El método implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando el hematocrito en el sujeto; un método para aumentar la hemoglobina en un sujeto que tenga una enfermedad crónica, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando la hemoglobina en el sujeto; un método para aumentar el conteo de glóbulos rojos en un sujeto que tiene una enfermedad crónica, que implica administrar al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando el conteo de glóbulos rojos en el sujeto; un método para aumentar el volumen medio corpuscular en un sujeto con enfermedad crónica, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando el volumen corpuscular medio en el sujeto; un método para aumentar la hemoglobina corpuscular media en un sujeto que tiene una enfermedad crónica, que comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando la hemoglobina corpuscular media en el sujeto; un método para aumentar el hierro en suero en un sujeto que tiene una enfermedad crónica, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando el hierro en suero en el sujeto; y un método para aumentar la saturación de transferrina en un sujeto que tenga una enfermedad crónica, que incluye la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando la saturación de transferrina en el sujeto. En cualquiera de esos métodos, la enfermedad crónica se selecciona en algunas representaciones del grupo que consta de una inflamación, una infección, un trastorno de la inmunodeficiencia y un trastorno neoplásico; se selecciona del grupo que consta de anemia de enfermedad crónica, anemia ferropénica, déficit de hierro, déficit de hierro funcional y anemia microcítica.

25 **[0063]** Los compuestos también se presentan para su uso en: un método para aumentar los reticulocitos en un sujeto con déficit de hierro, que incluye la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando los reticulocitos del sujeto; un método para aumentar el hematocrito de un sujeto que tiene déficit de hierro, que incluye la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando el hematocrito en el sujeto; un método para aumentar la hemoglobina en un sujeto que tiene déficit de hierro, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α aumentando la hemoglobina del sujeto; un método para aumentar el conteo de los glóbulos rojos en un sujeto que tiene déficit de hierro, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando el conteo de glóbulos rojos del sujeto; un método para aumentar el volumen corpuscular medio en un sujeto con déficit de hierro, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α aumentando el volumen corpuscular medio del sujeto; un método para aumentar la hemoglobina corpuscular media de un sujeto que tiene déficit de hierro, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando la hemoglobina corpuscular media en el sujeto; un método para aumentar el hierro en suero de un sujeto que tiene déficit de hierro, que comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α aumentando el hierro en suero del sujeto; y un método para aumentar la saturación de transferrina en un sujeto que tiene déficit de hierro, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando la saturación de transferrina en el sujeto. En cualquiera de esos métodos, el déficit de hierro en ciertas representaciones es déficit funcional de hierro.

45 **[0064]** También se presentan compuestos para su uso en: un método para aumentar los reticulocitos en un sujeto con déficit funcional de hierro, que incluye la administración al sujeto de una cantidad eficaz de compuesto que estabiliza HIF α , aumentando los reticulocitos en el sujeto; un método para aumentar el hematocrito en un sujeto que tiene déficit funcional de hierro, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice HIF α , aumentando el hematocrito en el sujeto; un método para aumentar la hemoglobina en un sujeto con déficit funcional de hierro, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α aumentando la hemoglobina en el sujeto; un método para aumentar el conteo de glóbulos rojos en un sujeto con déficit funcional de hierro, que implica la administración al sujeto de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando el conteo de glóbulos rojos en el sujeto; un método para aumentar el volumen corpuscular medio en un sujeto con déficit funcional de hierro, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando el volumen corpuscular medio en el sujeto; un método para aumentar la hemoglobina corpuscular media en un sujeto con déficit funcional de hierro, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α aumentando la hemoglobina corpuscular media en el sujeto; un método para aumentar el hierro en suero en un sujeto con déficit funcional de hierro, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando el hierro en suero en el sujeto; y un método para aumentar la saturación de transferrina en un sujeto con déficit funcional de hierro, que comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando la saturación de transferrina en el sujeto.

65 **[0065]** En un aspecto, el invento incluye un método para superar o corregir las consecuencias de un trastorno de la eritropoyesis inducido por citocina en un sujeto, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que establezca HIF α , superando o corrigiendo las consecuencias del trastorno de la eritropoyesis inducido por citocina en el sujeto. En varios aspectos, el trastorno de la eritropoyesis inducido por citocina es una supresión de la producción de EPO; o un trastorno del metabolismo férrico. En cualquiera de los métodos anteriormente

mencionados, la citocina es una citocina inflamatoria. En otras representaciones, la citocina se selecciona del grupo que consta de TNF- α IL-1 β y IFN- γ .

5 **[0066]** Se presentan métodos para reducir la expresión de la inducción de citocina de VCAM-1 o/y expresión de E-selectina, que implica la administración a un sujeto que necesita una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice HIF α aumentando la inducción de citocina de VCAM-1 o/y expresión de E-selectina.

10 **[0067]** En cualquiera de los métodos anteriormente descritos, la citocina es una citocina inflamatoria. En otras representaciones, la citocina se selecciona del grupo que consta de TNF- α , IL-1 β y IFN- γ .

15 **[0068]** Para los compuestos definidos en las reivindicaciones adjuntas para tratar o prevenir una afección relacionada con la actividad de la citocina en un sujeto, donde la afección se selecciona del grupo que comprende déficit de hierro, déficit funcional de hierro, anemia ferropénica, anemia de enfermedad crónica y anemia microcítica, se presentan los métodos que comprenden la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α tratando o previniendo la afección asociada con la actividad de la citocina. En cualquiera de los métodos anteriormente descritos, la citocina es una citocina inflamatoria. En otras representaciones, la citocina se selecciona de un grupo que consta de TNF- α , IL-1 β y IFN- γ .

20 **[0069]** También se presentan los métodos para tratar o prevenir un trastorno asociado con la actividad de la citocina en un sujeto, donde el trastorno está asociado con una afección del grupo que consta de una inflamación, una infección, una inmunodeficiencia y un trastorno neoplásico. Los métodos implican la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α tratando o previniendo el trastorno asociado con la actividad de citocina. En cualquiera de los métodos anteriormente mencionados, la citocina es una inflamatoria de citocina. En otras representaciones, la citocina se selecciona del grupo que comprende TNF- α IL-1 β y IFN- γ .

25 **[0070]** En un aspecto, el documento comprende un método para aumentar la producción de EPO en la presencia de una citocina en un sujeto. El método implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando la producción de EPO en el sujeto. También se presenta un método para tratar o prevenir la microcitosiis en un sujeto, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , tratando o previniendo la microcitosiis en un sujeto. En otro aspecto, la microcitosiis se asocia con un trastorno seleccionado del grupo que consta de enfermedad crónica, anemia de enfermedad crónica, déficit de hierro, déficit funcional de hierro y anemia de déficit de hierro. En cualquiera de los métodos anteriormente descritos, la citocina es una citocina inflamatoria. En otras representaciones, la citocina se selecciona del grupo que consta de TNF- α , IL-1 β y IFN- γ .

30 **[0071]** En cualquiera de los métodos presentes para tratar o prevenir, se contempla que un compuesto del invento pueda administrarse como parte de un tratamiento combinado, y además implica la administración de otro agente terapéutico, por ejemplo, EPO, hierro y vitaminas, por ejemplo, vitaminas B, etc.

35 **[0072]** Se presenta un kit, que comprende un compuesto que estabilice HIF α y por lo menos otro suplemento. En un aspecto, el suplemento se selecciona del grupo que consta de eritropoyetina, hierro, y vitaminas B, ya que se trata de una composición farmacéutica que comprende un compuesto que estabiliza HIF α y por lo menos un suplemento de entre el grupo que consta de eritropoyetina, hierro y vitaminas B.

40 **[0073]** El presente invento proporciona compuestos para su uso en métodos para tratar o prevenir la anemia de enfermedad crónica, donde la anemia de enfermedad crónica se asocia con un aumento de los niveles de citocina donde el compuesto es una estructura mimética de 2-oxoglutarato, en concreto, compuestos para su uso para superar o corregir las consecuencias de los efectos de la inducción de la citocina en un sujeto que tiene un aumento de los niveles de citocina, por ejemplo, la supresión por citocina de la producción de EPO, la expresión inducida por la citocina de varios factores de adhesión celular, etc.

45 **[0074]** En una representación, el documento presenta métodos y compuestos para superar la supresión por citocina de la producción de EPO. Estos métodos y compuestos son útiles para superar TN3; supresión IL-1 β de la producción de EPO, como la que se puede medir, por ejemplo, por la capacidad para superar TNF α y/o la supresión de IL-1 β de la producción de EPO en las células Hep3B de cultivo.

50 **[0075]** En una representación, el documento proporciona métodos y compuestos para reducir el aumento inducido por citocina de la expresión de varios factores de adhesión celular. Los métodos y compuestos pueden usarse para superar los aumentos inducidos de TNF α , IL-1 β y IFN- γ en la expresión de factores de adhesión de células endoteliales, por ejemplo, VCAM-1 y E-selectina, como los medidos por medio de, por ejemplo, una disminución en el nivel de expresión de VCAM-1 o E-selectina en las células endoteliales (HUVEC, etc).

55 **[0076]** El presente documento proporciona métodos y compuestos para tratar o prevenir el déficit de hierro en un sujeto. En concreto, estos métodos y compuestos pueden usarse para mejorar el metabolismo férrico o para tratar o prevenir enfermedades y trastornos asociados con el deterioro del metabolismo férrico, por ejemplo, el deterioro de la retención, el almacenamiento, procesamiento, transporte, movilización y uso, etc.

5 [0077] En un aspecto, los métodos y compuestos que se presentan modulan la expresión de los factores implicados en el metabolismo férrico, por ejemplo, el transporte, uso, depósitos, etc. Por ejemplo, los métodos y compuestos aumentan la expresión de receptores de transferrina, como los medidos por medio de, por ejemplo, el aumento de la expresión de receptores de transferrina en las células hepáticas (por ejemplo, Hep3B, HepG2), células renales (por ejemplo, HK-2), o los linfocitos (por ejemplo, THP-1) o por el aumento de los niveles de receptores de transferrina soluble en sujetos humanos. Los métodos y compuestos presentados aumentan la expresión genética de ceruloplasmina, como la medida, por ejemplo, por el aumento de la expresión genética en un riñón de ratón y en células de Hep3B. En un aspecto, el documento presenta métodos y compuestos que disminuyen la expresión genética de hepcidina, por ejemplo, como la medida por medio de la expresión genética reducida de hepcidina en hígado de ratón. En otro aspecto, los métodos y compuestos del presente documento se usan para aumentar la expresión de factores entre los que se incluyen NRAMP2, reductasa 1 del citocromo duodenal, etc., como los medidos, por ejemplo, por el aumento de la expresión genética en el intestino de un ratón. Los presentes métodos y compuestos aumentan la expresión de la sintasa de 5-aminolevulinato, la primera enzima del itinerario sintético del heme y la enzima de limitación de tasa de síntesis del heme, como los medidos, por ejemplo, por medio del aumento en la expresión genética del intestino de un ratón.

20 [0078] Los métodos y compuestos que se presentan pueden usarse para mejorar el metabolismo férrico. En concreto, estos métodos y compuestos mejoran el metabolismo férrico, como los medidos por medio de, por ejemplo, el aumento de los niveles de hierro en suero, aumento del porcentaje de saturación de transferrina y la reducción de microcitos en una rata con metabolismo férrico deteriorado.

25 [0079] El presente invento proporciona métodos y compuestos para inducir la eritropoyesis mejorada. En concreto, los presentes métodos y compuestos mejoran la eritropoyesis, por ejemplo, como los medidos por aumentos en el conteo de reticulocito, hematocrito, y conteo de glóbulos rojos en una rata con deterioro de la eritropoyesis y en sujetos humanos o como los medidos por medio de, por ejemplo, aumento en los niveles de hemoglobina de una rata con deterioro de la eritropoyesis.

30 [0080] Los métodos y compuestos que se presentan reducen la microcitos como la medida, por ejemplo, por medio del aumento de los niveles medios de hemoglobina corpuscular y el aumento del volumen corpuscular medio en una rata con deterioro de la eritropoyesis.

35 [0081] Los presentes compuestos estabilizan HIF α a través de la inhibición de la actividad de hidroxilasa proil HIF. La inhibición puede ser directa o indirecta, puede ser competitiva o no competitiva, etc. Un compuesto del invento es un 2-oxoglutarato mimético. En un aspecto, un 2-oxoglutarato mimético es una glicina de carbonilo heterocíclico de Formula I, Ia, o Ib. En otro aspecto de la presentación, un quelador de hierro es un ácido hidroxámico de Formula III. En ciertas representaciones del documento, como se muestra, el compuesto es el Compuesto D.

40 [0082] Entre los compuestos a modo de ejemplo del invento se incluyen [(1-Cloro-4-hidroxi-isoquinolina-3-carbonil)-amino]-ácido acético (compuesto A), [(4-Hidroxi-7-fenoxi-isoquinolina-3-carbonil)-amino]-ácido acético (compuesto B), [(4-Hidroxi-7-fenilsulfanil-isoquinolina-3-carbonil)-amino]-ácido acético (compuesto C) y 3-[[4-(3,3-Dibenzilureido)-benzenesulfonyl]-[2-(4-metoxifenil)etil]-amino]-N-hidroxi-propionamida (compuesto D).

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS ESQUEMAS

45 [0083] Las Figuras 1A y 1B muestran datos sobre los métodos y compuestos del presente invento para superar los efectos supresores de TNF- α sobre la producción de EPO.

50 [0084] Las Figuras 2A y 2B muestran datos del presente invento para superar los efectos supresores de TNF- α sobre la producción de EPO en células pre-tratadas con TNF- α .

[0085] Las Figuras 3A y 3B muestran datos del presente invento para superar los efectos supresores de IL- β sobre la producción de EPO.

55 [0086] Las Figuras 4A y 4B muestran datos de compuestos del presente invento para superar los efectos supresores de IL-1 β sobre la producción EPO en células pre-tratadas con IL-1 β .

[0087] La Figura 5 muestra datos de compuestos del presente invento para reducir la expresión de VCAM-1 asociada con TNF- α .

60 [0088] Las Figuras 6A, 6B y 6C muestran datos del aumento de la expresión de receptores de transferrina y transportador de hierro (Figura 6A), proteína de transporte de hierro intestinal (Figura 6B), y sintasa de 5-aminolevulinato (Figura 6C) que sigue al tratamiento de ratones con compuestos del presente invento.

65 [0089] La Figura 7 muestra datos de compuestos del presente invento para el aumento del conteo de reticulocito en modelos animales de anemia de enfermedad crónica.

- 5 [0090] La Figura 8 muestra datos de compuestos del presente invento para el aumento de hematocrito en un modelo animal de anemia de enfermedad crónica.
- [0091] La Figura 9 muestra datos de compuestos del presente invento para el aumento de los niveles de hemoglobina en un modelo animal de anemia de enfermedad crónica.
- 10 [0092] La Figura 10 muestra datos de compuestos del presente invento para el aumento del conteo de glóbulos rojos en un modelo animal de anemia de enfermedad crónica.
- [0093] La Figura 11 muestra datos del presente invento para la reducción de microcitosis en un modelo animal de anemia de enfermedad crónica.
- 15 [0094] La Figura 12 muestra datos de compuestos del presente invento para el aumento de hemoglobina corpuscular media y mejora de la hipocromía en un modelo animal de anemia de enfermedad crónica.
- [0095] La Figura 13 muestra datos de compuestos del presente invento para el aumento del hematocrito en animales normales y en un modelo animal de anemia de enfermedad crónica.
- 20 [0096] La Figura 14 muestra datos de compuestos del presente invento para el aumento de los niveles de hemoglobina en animales normales y en un modelo animal de anemia de enfermedad crónica.
- [0097] La Figura 15 muestra datos de compuestos del presente invento para el aumento del conteo de glóbulos rojos en animales normales y en un modelo animal de anemia de enfermedad crónica.
- 25 [0098] La Figura 16 muestra datos de compuestos del presente invento para la mejora del volumen corpuscular medio en animales normales y en un modelo animal de anemia de enfermedad crónica.
- [0099] La Figura 17 muestra datos de compuestos del presente invento para la mejora de los niveles medios de hemoglobina corpuscular en animales normales y en un modelo animal de anemia de enfermedad crónica.
- 30 [0100] Las Figuras 18A y 18B muestran datos de compuestos del presente invento para el aumento de los niveles de hierro en suero (Figura 18A) y de saturación de transferrina (Figura 18B) en animales normales y en un modelo animal de anemia de enfermedad crónica.
- 35 [0101] La Figura 19 muestra datos de compuestos del presente invento para el aumento de la expresión genética de NRAMP2 (slc112a) y esproutina (CYBRD1, citocromo duodenal b reductasa 1) en animales normales y en un modelo animal de anemia de enfermedad crónica.
- 40 [0102] La Figura 20 muestra datos de aumento de reticulocitos tras la administración de un compuesto del presente invento a sujetos humanos sanos.
- [0103] La Figura 21 muestra datos de aumento de conteo de glóbulos rojos en sujetos humanos sanos a los que se les ha administrado un compuesto del presente invento.
- 45 [0104] La Figura 22 muestra datos del aumento de niveles de receptores de transferrina soluble tras la administración de un compuesto del presente invento a sujetos humanos sanos.
- [0105] La Figura 23 muestra datos de la disminución de los niveles de ferritina en suero en sujetos humanos sanos a los que se les ha administrado un compuesto del presente invento.
- 50 [0106] Las Figuras 24A y 24B muestran datos de compuestos del presente invento para la reducción de la expresión de VCAM-1 y E-selectina asociada con TNF- α .
- [0107] La Figura 25 muestra datos de compuestos del presente invento para la reducción de la expresión de VCAM-1 asociada con TNF- α y IL-1 β .
- 55 [0108] La Figura 26 muestra datos de compuestos del presente invento para la reducción de la expresión de E-selectina asociada con TNF- α , IL-1 β y IFN- γ .
- 60 [0109] Las Figuras 27A y 27B muestran datos de compuestos del presente invento y niveles de IL-6 con aumento sinérgico de niveles de EPO en hepatocitos.

DESCRIPCIÓN DEL INVENTO

- 65 [0110] Antes de la descripción de los compuestos y los métodos, debe entenderse que el presente documento no se limita a los métodos, protocolos, células, ensayos y reactivos concretos que se describen, pues pueden variar.

[0111] Debe tenerse en cuenta que en el presente documento y las reivindicaciones anexas, las formas singulares "un", "una", "el" y "la" incluyen también el plural excepto cuando el contexto claramente indique lo contrario. Así, por ejemplo, una referencia a "un fragmento" incluye también a una pluralidad de dichos fragmentos; una referencia a un "compuesto" es una referencia a uno o más compuestos de los descritos en el presente documento.

[0112] A no ser que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos que se usan en este documento tienen los significados comunes que comprendería un entendido en la materia a la que corresponde el invento. Aunque muchos métodos y materiales semejantes o equivalentes a los descritos en este documento pueden usarse en la práctica o en las pruebas del invento, se describen los métodos, instrumentos y materiales preferibles. Todas las publicaciones que aquí se citan se incorporan por referencia en su totalidad con el objeto de describir y presentar las metodologías, reactivos y herramientas indicados en las publicaciones que podrían usarse en relación con el invento. Ningún elemento del presente documento puede interpretarse como una admisión de que el invento no tuviese derecho a fechar con anterioridad dicha presentación por virtud de un invento previo.

[0113] En la práctica del presente invento se usarán, a no ser que se indique lo contrario, métodos convencionales de química, bioquímica, biología molecular, biología celular, genética, inmunología y farmacología, con las habilidades conocidas en la técnica. Dichas técnicas se explican extensamente en diversas publicaciones. Véase, por ejemplo, Gennaro, A.R., ed. (1990) Remington's Pharmaceutical Sciences (Ciencia Farmacéutica de Remington), 18th ed., Mack Publishing Co.; Hardman, J.G., Limbird, L.E., and Gilman, A.G., eds. (2001) The Pharmacological Basis of Therapeutics (La base farmacológica de las técnicas terapéuticas), 10th ed., McGraw-Hill Co.; Colowick, S. et al, eds., Methods In Enzymology (Métodos de enzimología), Academic Press, Inc.; Weir, D.M., and Blackwell, C.C., eds. (1986) Handbook of Experimental Immunology (Manual de Inmunología Experimental), Vols. I-IV, Blackwell Scientific Publications; Maniatis, T. et al., eds. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd edition (Clonación molecular, manual de laboratorio, 2ª edición), Vols. I-III, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Ausubel, F.M. et al., eds. (1999) Short Protocols in Molecular Biology, 4th edition (Protocolos breves de biología molecular, 4ª edición), John Wiley & Sons; Ream et al., eds. (1998) Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course (Técnicas de biología molecular: un curso intensivo de laboratorio), Academic Press; Newton, C.R., and Graham, A., eds. (1997) PCR (Introduction to Biotechniques Series) (PCR (Serie de introducción a las biotécnicas), 2nd ed., Springer Verlag.

DEFINICIONES

[0114] El término "anemia de enfermedad crónica" hace referencia a cualquier anemia que se desarrolle como resultado de, por ejemplo, la extensión de una infección, inflamación, trastorno neoplásico, etc. La anemia que se desarrolla con frecuencia se caracteriza por una reducción del ciclo de vida de los glóbulos rojos y la retención de hierro en macrófagos, que tiene como resultado una disminución de la cantidad de hierro disponible para crear nuevos glóbulos rojos. Las afecciones asociadas a la anemia de enfermedad crónica incluyen, entre otras, endocarditis bacteriana crónica, osteomielitis, fiebre reumática, colitis ulcerosa y trastornos neoplásicos. Otras afecciones incluyen otras enfermedades y afecciones asociados con la infección, inflamación y neoplasmas incluyendo, por ejemplo, infecciones inflamatorias (por ejemplo, absceso pulmonar, tuberculosis, osteomielitis, etc), trastornos inflamatorios no infecciosos (por ejemplo, artritis reumatoide, lupus sistémico eritematoso, enfermedad de Crohn, hepatitis, enfermedad intestinal inflamatoria, etc) y varios cánceres, tumores y neoplasias (por ejemplo, carcinoma, sarcoma, linfoma, etc).

[0115] Los términos "trastornos", "enfermedades" y "afecciones" se usan de forma inclusiva y se refieren a cualquier situación distinta de la normal.

[0116] El término "eritropoyetina" hace referencia a cualquier eritropoyetina recombinante o de producción natural, incluida, por ejemplo, la eritropoyetina humana (Entrada del GenBank nº AAA52400; Lin et al. (1985) Proc Natl Acad Sci USA 82:7580-7584), eritropoyetina humana recombinante EPOETIN (Amgen, Inc., Thousand Oaks CA), eritropoyetina humana recombinante (Amgen) ARANESP, eritropoyetina humana recombinante PROCRT (Ortho Biotech Products, L.P., Raritan NJ), etc.

[0117] El término "HIF α " hace referencia a la subunidad alfa del factor inducible por proteína de hipoxia. HIF α puede ser una proteína humana o de cualquier otro mamífero o un fragmento suyo, incluida la HIF-1 α humana (Entrada del Genbank nº Q 16665), HIF-2 α (Entrada del Genbank nº AAB41495) y HIF-3 α (Entrada del Genbank nº AAD22668); murina HIF-1 α (Entrada del Genbank nº Q61221), HIF-2 α (Entradas del Genbank nº BAA20130 y AAD41496) y HIF-3 α (Entrada del Genbank nº AAC72734); HIF-1 α de rata (Entrada del Genbank nº CAA70701), HIF-2 α (Entrada del Genbank nº CAB96612) y HIF-3 α (Entrada del Genbank nº CAB96611) y HIF-1 α bovina (Entrada del Genbank nº BAA78675). HIF α podría ser también cualquier proteína no mamífera o un fragmento suyo, incluyendo *Xenopus laevis* HIF-1 α (Entrada del Genbank nº CAB96628), *Drosophila melanogaster* HIF-1 α (Entrada del Genbank nº J4851), y HIF-1 α de pollo (Entrada del Genbank nº BAA34234). Las secuencias genéticas de HIF α pueden obtenerse también por medio de técnicas habituales de clonación, por ejemplo usando total o parcialmente una secuencia genética de HIF α descrita anteriormente como prueba para recuperar y determinar la secuencia de un gen HIF α en otras especies.

5 **[0118]** Los fragmentos de HIF α incluyen las áreas definidas por HIF-1 α humano a partir de amino ácidos humanos de 401 a 603 (Huang et al., *supra*), amino ácidos 531 a 575 (Jiang et al. (1997) J Biol Chem 272:19253-19260), amino ácidos 556 a 575 (Tanimoto et al., *supra*), amino ácidos 557 a 571 (Srinivas et al. (1999) Biochem Biophys Res Commun 260:557-561) y amino ácidos 556 a 575 (Ivan y Kaelin (2001) Science 292:464-468). Además, un fragmento de HIF α incluye cualquier fragmento que contenga como mínimo una incidencia del motivo LXXLAP, por ejemplo, de la forma que se da en la secuencia nativa de HIF α en L₃₉₇TLLAP y L₅₅₉EMLAP. Además, un fragmento de HIF α incluye cualquier fragmento que retenga como mínimo una característica funcional o estructural de HIF α .

10 **[0119]** Los términos "hidroxilasa prolil HIF" y "HIF PH" hacen referencia a cualquier enzima que pueda hidroxilar un residuo de prolina en la proteína HIF. Preferiblemente, el residuo de prolina hidroxilado por HIF PH incluye la prolina que se encuentra dentro del motivo LXXLAP, por ejemplo, como sucede en la secuencia nativa humana de HIF-1 α en L₃₉₇TLLAP y L₅₅₉EMLAP. HIF PH incluye miembros de la familia genética Egl-Nine (EGLN) descrita por Taylor (2001, Gene 275:125-132) y ha sido caracterizada por Aravind y Koonin (2001, Genome Biol 2:RESEARCH0007), Epstein et al. (2001, Cell 107:43-54), y Bruick y McKnight (2001, Science 294:1337-1340). Entre los ejemplos de enzimas de hidroxilasa prolil HIF se incluyen SM-20 (EGLN1) humana (Entrada del GenBank n° AAG33965; Dupuy et al. (2000) Genomics 69:348-54), EGLN2 isoforma 1 (Entrada del Genbank n° CAC42510; Taylor, *supra*), EGLN2 isoforma 2 (Entrada del Genbank n° NP_060025), y EGLN3 (Entrada del Genbank n° CAC42511; Taylor, *supra*); EGLN1 de ratón (Entrada del Genbank n° CAC42515), EGLN2 (Entrada del Genbank n° CAC42511) y EGLN3 (SM-20) (Entrada del Genbank n° CAC42517) y SM-20 de rata (Entrada del Genbank n° AAA19321). Además, HIF PH podría incluir *Caenorhabditis elegans* EGL-9 (Entrada del Genbank n° AAD56365) y producto genético de *Drosophila melanogaster* CG1114 (Entrada del Genbank n° AAFS2050). La hidroxilasa prolil HIF también incluye cualquier fragmento de las anteriores proteínas completas que retienen como mínimo una característica estructural o funcional.

25 **[0120]** El término "inhibidor de hidroxilasa prolil " o "PHI," como se ha usado en este documento, hace referencia a cualquier compuesto que reduzca o module de otra forma la actividad de una enzima que hidroxile los residuos de amino ácidos. Aunque se prefiere la actividad enzimática en la que se hidroxilen los residuos de prolina, también se contempla la hidroxilación de otros amino ácidos, entre otros, la arginina. Los compuestos del invento incluyen, por ejemplo, miméticos de 2-oxoglutarato.

30 **[0121]** El presente invento miméticos estructurales de 2-oxoglutarato. Dichos compuestos pueden inhibir la familia de dianas de dioxigenasa de 2-oxoglutarato de forma competitiva a respecto de 2-oxoglutarato y no competitiva a respecto del hierro. (Majamaa et al. (1984) Eur J Biochem 138:239-245; and Majamaa et al. (1985) Biochem J 229:127-133). Los PHIs que se contemplan específicamente para su uso en los presentes métodos se describen, por ejemplo, en Majamaa et al., *supra*; Kivirikko y Myllyharju (1998) Matrix Biol 16:357-368; Bickel et al. (1998) Hepatology 28:404-411; Friedman et al. (2000) Proc Natl Acad Sci USA 97:4736-4741; Franklin (1991) Biochem Soc Trans 19:812 815; Franklin et al. (2001) Biochem J 353:333-338 y las Publicaciones Internacionales n° WO 03/053997 y WO 03/049686. Los PHIs a modo de ejemplo, entre los que se incluyen [(1-Cloro-4-hidroxi-isoquinolina-3-carbonil)-amino]-ácido acético (compuesto A), [(4-Hidroxi-7-fenoxi-isoqui-nolina-3-carbonil)-ainino]-ácido acético (compuesto B) y [(4-Hidroxi-7-fenilsulfanil-isoquinolina-3-carbonil)-ami-no]-ácido acético (compuesto C) que se usan en los ejemplos presentes para demostrar la invención que se describe en este documento.

INVENTO

45 **[0122]** El presente documento trata sobre métodos y compuestos para inducir la eritropoyesis mejorada o completa en un sujeto. En concreto, los métodos implican la inducción de eritropoyesis mejorada o completa por medio de la estabilización de HIF α en un sujeto. Se contemplan métodos para inducir la eritropoyesis mejorada inhibiendo la hidroxilasa prolil de HIF. En representaciones específicas, los métodos comprenden la administración a un sujeto de un compuesto del invento. En varias representaciones, el sujeto puede ser una célula, un tejido, un órgano, un sistema orgánico o un organismo completo.

55 **[0123]** La anemia de enfermedad crónica es la forma de anemia más habitual en pacientes hospitalizados. La anemia de enfermedad crónica se da en pacientes con trastornos inflamatorios o malignos, como infecciones inflamatorias (por ejemplo, absceso pulmonar, tuberculosis, osteomielitis, etc), trastornos inflamatorios no infecciosos (por ejemplo, artritis reumatoide, lupus sistémico eritematoso, enfermedad de Crohn, hepatitis, enfermedad intestinal inflamatoria, etc), y varios tipos de cáncer, tumores y neoplastias (por ejemplo, carcinoma, sarcoma, linfoma, etc), endocarditis bacteriana crónica, osteomielitis, fiebre reumática, colitis ulcerosa y trastornos neoplásicos.

60 **[0124]** En un aspecto, el invento proporciona compuestos para su uso en métodos para inducir la eritropoyesis mejorada o completa para tratar la anemia de enfermedad crónica. La anemia de enfermedad crónica se asocia con numerosos trastornos crónicos, entre ellos la artritis reumatoide, fiebre reumática, enfermedad intestinal inflamatoria, colitis ulcerosa, lupus sistémico eritematoso, vasculitis, trastornos neoplásicos, etc., así como infección crónica e inflamación crónica. La eritropoyesis reducida o ineficaz es una patología común en pacientes con anemia de enfermedad crónica. La eritropoyesis reducida o ineficaz puede ser resultado de varias anomalías metabólicas en la vía eritropoyética, incluyendo, por ejemplo, la producción de EPO suprimida, la respuesta a la disminución de la EPO en la médula ósea y un procesamiento de hierro anormal, incluidos, por ejemplo, la retención, la movilización, el

depósito y la absorción anormal o ineficaz.

5 **[0125]** Una característica fisiológica de los trastornos asociados con la anemia de enfermedad crónica es el aumento de la producción de citocinas inflamatorias (Means (1995) Stem Cells (Células madre) 13:32-37 and Means (1999) Int J Hematol 70:7-12), entre los que se incluye, por ejemplo, el factor- α de necrosis tumoral (TNF- α), interleukina-1 β (IL-1 β) e interferón- γ (IFN- γ), que afectan negativamente a la capacidad de mediar la producción de EPO, la respuesta a EPO y la regulación coordinada del metabolismo férrico. (Ver, por ejemplo, Roodman et al. (1989) Adv Exp Med Biol 271:185-196; Fuchs et al. (1991) Eur J Hematol 46:65-70; Jelkmann et al. (1991) Ann NY Acad Sci 718:300-311; Vannucchi et al. (1994) Br J Hematol 87:18-23 y Oldenburg et al. (2001) Aliment Pharmacol Ther 15:429-438) El presente invento proporciona compuestos para su uso en métodos para mejorar las vías metabólica y fisiológica relacionadas con la producción de EPO, señales de EPO y utilización de hierro, lo que tiene como resultado una eritropoyesis completa o mejorada y la reducción o corrección de la anemia de enfermedad crónica.

15 **[0126]** El presente invento presenta ventajas a respecto de las terapias existentes para la anemia de enfermedad crónica, como, por ejemplo, la administración de EPO recombinante. La producción reducida de EPO es solo un aspecto de la reducción de la eritropoyesis y se reconoce que la administración de EPO recombinante no implica otros déficits asociados con la reducción de eritropoyesis que se dan en pacientes con anemia de enfermedad crónica. (Ver, por ejemplo, Clibon et al. (1990) Exp Hematol 18:438-441 y Macdougall y Cooper (2002) Neprol Dial Transplant 17(11):39-43) Estos déficits incluyen, por ejemplo, la reducción de la respuesta a EPO de la médula ósea, así como numerosos aspectos de metabolismo férrico que contribuyen a la eritropoyesis completa o total, incluida la absorción de hierro por el intestino, el transporte trans-enterocito, la oxidación de hierro a estado férrico por hefaestina o ceruloplasmina, retención y fijación del hierro por transferrina y receptores de transferrina y el transporte de hierro a la médula donde se da la utilización del hierro, incluida la síntesis de heme. Muchos pacientes son refractarios a la administración de EPO recombinante por los motivos antes descritos, en cuyas respuestas a la administración de EPO recombinante se reducen o están ausentes, incluso ante dosis elevadas de EPO recombinante.

30 **[0127]** La prevalencia de citocinas inflamatorias en la anemia de enfermedad crónica lleva a, por ejemplo, la reducción de niveles de hierro en suero y aumento de depósitos de hierro, principalmente en macrófagos macrófagos, dentro de un compartimento celular no fácilmente accesible para los progenitores eritroides emergentes, que necesitan de hierro para la adecuada síntesis de heme. Este documento proporciona métodos para la mejora de las vías metabólicas, contribuyendo a la eritropoyesis completa y total. En una representación, la terapia se administra en combinación con suplementos que también mejoren su eficacia, por ejemplo hierro y vitaminas B.

40 **[0128]** La anemia de enfermedad crónica se asocia con el aumento de los niveles de ferritina. A pesar de los elevados niveles de ferritina, los sujetos con anemia de enfermedad crónica no pueden usar el hierro de forma eficaz. Los niveles elevados de ferritina son un indicador de una reducción del reciclaje de hierro a la médula y una mejora del depósito de hierro, un déficit funcional de hierro que con frecuencia se asocia con la anemia de enfermedad crónica y un estado pseudo-inflamatorio que con frecuencia se da en pacientes con enfermedad urémica crónica del riñón. Al disminuir los niveles de ferritina, los compuestos del presente invento disminuyen el hierro almacenado y mejoran el reciclaje de hierro a través de la transferrina y receptores de transferrina. La reducción de los niveles de ferritina en suero indicaría la mejora de la utilización de hierro y del reciclaje de hierro a la médula, aumentando la disponibilidad de hierro para producción de heme y eritropoyesis.

55 **[0129]** La respuesta genómica a la hipoxia incluye cambios en la expresión genética y la fisiología celular para corregir los efectos agudos y crónicos de la carencia de oxígeno. El factor inducible por hipoxia (HIF) es un factor de transcripción compuesto de una subunidad alfa regulada por oxígeno (HIF α) y una subunidad beta expresada constitutivamente (HIF β). HIF α se desestabiliza en entornos normóxicos debido a la hidroxilación de residuos específicos de prolina por medio de hidroxilasas de prolina específica de HIF (HIF-PHs). Sin embargo, cuando el oxígeno se convierte en limitación, por ejemplo, en entornos hipóxicos, HIF-PH no puede hidroxilar HIF α , la subunidad no se degrada y se forman complejos activos de HIF, se trasladan al núcleo y activan la transcripción genética.

60 **[0130]** En algunos aspectos, el presente invento proporciona compuestos para su uso en métodos para tratar la anemia de enfermedad crónica por hipoxia imitada con fármacos. En algunos aspectos, los métodos mejoran la producción de EPO de forma que se vuelve resistente a los efectos supresores de las citocinas inflamatorias. La producción de EPO normalmente es inducida por hipoxia o bajo nivel de oxígeno pero la expresión y la secreción siguen deprimidas en presencia de citocinas inflamatorias, como TNF- α , TL-1 (3) e IFN- γ , prevalente en pacientes de enfermedades crónicas. (Ver, por ejemplo, Means (1995) Stem Cells 13:32-37; Means (1999) Int J Hematol 70:7-12; Roodman et al. (1989) Adv Exp Med Biol 271:185-196; Fuchs et al. (1991) Eur J Hematol 46:65-70; Jelkmann et al. (1991) Ann NY Acad Sci 718:300-311 y Vannucchi et al. (1994) Br J Hematol 87:18-23) Los inhibidores de la hidroxilasa proliil superan los efectos supresores de las citocinas inflamatorias sobre la producción de EPO, al menos parcialmente, como demuestra la capacidad de las células Hep3B de segregar EPO a niveles por encima de los que se observan en presencia de citocinas inflamatorias. (Ver, por ejemplo, las Figuras 1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 3B, 4A y 4B).

Los agentes como el quelador de hierro o la desferrioxamina también han mostrado cierta eficacia en estudios de anemia resistente a la eritropoyetina, por ejemplo, anemia de enfermedad crónica. (Ver, por ejemplo, Salvarani et al. (1996) *Rheumatol Int* 16:45-48 and Goch et al. (1995) *Eur J Hematol* 55:73-77).

- 5 **[0131]** En otros aspectos, el presente documento proporciona métodos para la mejora de las señales de receptores EPO en presencia de citocinas inflamatorias. La prevalencia de citocinas inflamatorias en pacientes con enfermedades crónicas tiene como resultado una reducción de la eficacia de las señales de EPO, demostrada por la incapacidad de muchos pacientes para responder a la EPO recombinante con eritropoyesis mejorada. Se cree que esto ocurre por una disminución de la sensibilidad a la bioactividad de EPO, así como defectos en la arquitectura de la médula ósea y/o microambientes. (Ver, por ejemplo, Clifton et al. (1990) *Exp Hematol* 18:438-441 y Mac-dougall and Cooper (2002) *Neprol Dial Transplant* 17(11):39-43). En ciertas representaciones, el presente documento proporciona métodos para inducir la eritropoyesis total y completa por medio de la restauración de la sensibilidad de las de las células adecuadas a la transducción de la señal a través del receptor de EPO.
- 10
- 15 **[0132]** El déficit de hierro es uno de los déficits nutricionales más habituales en el mundo y es la causa principal de anemia a nivel mundial. El equilibrio de hierro se regula fundamentalmente por la tasa de eritropoyesis y el tamaño de los depósitos de hierro. El déficit de hierro puede darse con o sin anemia y se ha asociado daños en el deterioro cognitivo.
- 20 **[0133]** El déficit de hierro se define como un suministro de hierro inadecuado (niveles o depósitos) o como una disponibilidad o uso inadecuados del hierro. Puede deberse a déficits nutricionales, por ejemplo, a falta de hierro en la dieta; a una mala absorción del hierro, debida, por ejemplo, a una cirugía (post-gastrectomía) o enfermedad (enfermedad de Crohn); o a una reducción de los depósitos de hierro o a una mayor pérdida de hierro debida a una pérdida de sangre aguda o crónica como resultado heridas o trauma, menstruación, donación de sangre, flebotomía (debida a diversos procedimientos, cirugías); de un aumento de las necesidades de hierro, por ejemplo, debido a un crecimiento rápido en la infancia o adolescencia, embarazo, terapia de eritropoyetina, etc.
- 25 **[0134]** El déficit de hierro también puede ser déficit funcional de hierro, por ejemplo, déficit de hierro caracterizado por la capacidad disminuida del sujeto para acceder y utilizar los depósitos de hierro. El hierro no está disponible a una tasa suficiente como para permitir la hemoglobinización normal de los of eritrocitos, que lleva a un contenido reducido de reticulocito y eritrocito de hemoglobina celular. El déficit funcional de hierro con frecuencia se ve en individuos sanos con depósitos de hierro aparentemente normales o aumentados pero con una disminución de la disponibilidad de hierro, como la medida, por ejemplo, por los niveles bajos de porcentaje de saturación de transferrina. Este tipo de déficit de hierro con frecuencia se asocia con la inflamación aguda o crónica.
- 30 **[0135]** El déficit de hierro de cualquier tipo puede provocar una eritropoyesis por déficit de hierro o restricción de hierro, en la que disminuye el número de glóbulos rojos y los glóbulos rojos en circulación son menores de lo normal (microcíticos) y falta hemoglobina adecuada, y son de color pálido (hipocrómico).
- 35 **[0136]** Los sujetos con déficit de hierro, incluido el déficit funcional de hierro, pueden desarrollar un deterioro de la síntesis de hemoglobina, una reducción del % de saturación de transferrina y una disminución de los niveles de hemoglobina y hematocrito, que provoca anemia ferropénica. La anemia ferropénica es la anemia más normal en todo el mundo. El hierro es un componente esencial de la hemoglobina; sin hierro, la médula no es capaz de producir hemoglobina de forma eficaz. La anemia por déficit de hierro puede darse en sujetos con depósitos de hierro reducidos o dañados o puede darse en sujetos que tienen déficit funcional de hierro, cuando el hierro esté presente en depósitos pero no esté disponible, por ejemplo, para la producción de hemoglobina.
- 40 **[0137]** El metabolismo férrico comprende en general los procesos por los que una célula, tejido, órgano, sistema orgánico, o el organismo completo mantenga la homeostasis del hierro alterando, por ejemplo, aumentando o disminuyendo, procesos específicos de metabolismo férrico. El metabolismo férrico o procesos de metabolización de hierro incluyen procesos que implican procesamiento de hierro, transporte, retención, utilización, depósito, movilización, absorción, etc. Entre los aspectos específicos del metabolismo férrico y su procesamiento se incluyen la expresión de transportadores de hierro y enzimas que facilitan el movimiento de hierro a través de una membrana celular y la retención o secreción de hierro por una célula; la alteración en la expresión de las proteínas implicadas en el transporte de hierro en la sangre; la alteración de la expresión de la transferrina y receptores de transferrina; alteración en la expresión y/o actividad de las proteínas implicadas en la absorción de hierro; alteración en la expresión y actividad del hierro asociado de las proteínas regulatorias transcripcionales y translacionales; la alteración de la distribución del hierro dentro del cuerpo o de los fluidos, incluyendo, por ejemplo, intersicial (por ejemplo, extracelular), intracelular, sangre, médula ósea y otros parecidos.
- 50 **[0138]** En ciertos aspectos, el presente documento proporciona métodos para mejorar la retención, el transporte, el procesamiento y el uso del hierro. La anemia de enfermedad crónica se asocia con defectos en el uso del hierro que afectan negativamente a la síntesis de heme y la formación de hemoglobina, teniendo como resultado la reducción de la eritropoyesis. (Ver, por ejemplo, Oldenburg et al. (2001) *Aliment Pharmacol Ther* 15:429-438) La disminución de los niveles de hierro en suero, la movilización del hierro y cualquier otro aumento asociado del depósito de hierro en los pacientes de enfermedades crónicas podría relacionarse con un mecanismo de defensa microbiana de
- 55
- 60
- 65

macrófago en un contexto de inflamación de larga duración. (Ver, Fuchs et al. (1991) Eur J Hematol 46:65-70) En algunos aspectos, el presente invento proporciona métodos para el aumento del metabolismo eficaz del hierro estabilizando HIF α .

5 **[0139]** Muchas proteínas median en el metabolismo férrico, incluidas proteínas como la sintasa de ácido 5-aminolevulinato eritroide (ALAS) (el primer paso y limitador de la tasa en la síntesis de heme) (Bottomley y Muller-Eberhard (1988) Semin Hematol 25:282-302 y Yin et al. (1998) Blood, Cells, Molecules, and Diseases (Sangre, células, moléculas y enfermedades) 24(3):41-533), la transferrina, receptores de transferrina, transportadores de hierro (implicados en el transporte de hierro), ceruloplasmina, etc. Los aumentos en la transferrina y expresión de
10 receptores de transferrina estimulan la retención de hierro por parte de los progenitores eritroides y facilitan la retención y transporte del hierro a la médula por macrófago (Goswami et al. (2002) Biochem Cell Biol 80:679-689). Ceruloplasmin increases the oxidation of ferrous iron to ferric so that binding to transferrin occurs (La ceruloplasmina aumenta la oxidación del hierro ferroso a férrico de forma que se da la unión a la transferrina) (Goswami et al. (2002) Biochem Cell Biol 80:679-689). En ciertos aspectos, los métodos del presente invento aumentan el metabolismo férrico aumentando la expresión o la actividad de las proteínas implicadas en el metabolismo de hierro, incluida la
15 sintasa eritroide de 5-aminolevulinato, la transferrina, receptores de transferrina, NRAMP2, la esproutina (citocromo duodenal b reductasa 1) y la ceruloplasmina. En otros aspectos, los métodos del presente invento aumentan el metabolismo de hierro reduciendo la expresión o la actividad de la hepcidina y modulando la expresión de la ferritina.

20 **[0140]** En una representación, el documento proporciona métodos y compuestos para aumentar la expresión de los genes cuyos productos están implicados en el metabolismo férrico y el procesamiento, incluyendo la retención, depósito, transporte, absorción del hierro, etc. Dichos genes incluyen, entre otros, receptores de transferrina, ceruloplasmina, NRAMP2, sintasa de 5-aminolevulinato, esproutina (CYBRD1), etc. La sobreexpresión terapéutica de los genes implicados en el metabolismo férrico y procesamiento aumentarán de forma eficaz la disponibilidad de
25 hierro y, así, producir un efecto beneficioso en los pacientes con anemia de enfermedad crónica, anemia ferropénica, déficit funcional de hierro, etc. En otra representación, el documento proporciona los métodos y compuestos para reducir la expresión de hepcidina, una proteína asociada con la regulación de hierro.

30 **[0141]** Un metabolismo férrico adecuado se regula, en parte, por las proteínas que unen la respuesta de hierro y los elementos (IRPs), que se unen a los elementos que responden al hierro (IREs) que se encuentran en 5'- y/o 3'-UTRs de las mRNAs que codifican, por ejemplo, la ferritina (depósito de hierro), aconitasa mitocondrial (metabolismo de la energía), sintasa eritroide-aminolevulinato y receptores de transferrina. La IRP que se une a 5'-IRE, como se da, por ejemplo, en la transcripción de ferritina, inhibe la traducción de la mRNA; mientras que la unión a una 3'-IRE, como se da, por ejemplo, en la transcripción de transferrina, protege la mRNA de la degradación. IRP-2 se conforma en el interior de las células, pero se degrada y así se inactiva en un contexto totalmente férreo. IRP-2 se estabiliza, de todas formas, en un contexto de depleción de hierro y/o hipóxico (Hanson et al. (1999) J Biol Chem 274:5047-5052). Mientras IRP-2 disminuye la expresión de la ferritina, que es responsable del depósito a largo plazo de hierro, y aumenta la expresión de transferrina y los receptores de transferrina, IRP-2 facilita la retención, transporte y utilización del hierro, mejorando la eritropoyesis (Klausner et al. (1993) Cell 72:19-28). Recientemente, se han descrito los IREs en otros genes que también son necesarios para la eritropoyesis, incluida la sintasa de 5-aminolevulinato, el transportador de hierro NRAMP2 (también conocido como Slc11a2, DCT1, DMT1, mk (locus del gen de la anemia microcítica en ratones)) y el transportador de hierro que media en la absorción de hierro procedente de fuentes de la dieta en el duodeno (Haile (1999) Am J Med Sci 318:230-240 y Gunshin et al. (2001) FEBS Lett 509:309-316).
45

[0142] Los métodos presentados, por condiciones de imitación de hipoxia, estabilizan potencialmente IRP-2 además de HIF α , produciendo un efecto sinérgico que implica tanto a la producción de EPO endógena como a la mejora de la retención, transporte y utilización del hierro en la producción de eritrocitos funcionales.

50 **[0143]** Entre los adultos, la absorción del hierro en la dieta es de una media de aproximadamente 6% para hombres y 13% para mujeres no embarazadas. NRAMP2 (también conocido como DMT1, DCT1, slc11a2) es un transportador de metal divalente que se expresa de forma ubicua y está implicado en el transporte transmembrana de hierro no unido a la transferrina. NRAMP2 es una proteína de transporte de hierro asociada con el transporte de hierro del lumen gastrointestinal a los enterocitos duodenales y a partir de las endosomas eritroblásticas al citoplasma. En animales que sufren falta de hierro en la dieta, la expresión de NRAMP2 (slc11a2) aumentó de forma considerable en el polo apical de los enterocitos en el epitelio columnar de absorción del duodeno proximal. (Ver, por ejemplo, Canonne-Hergaux et al. (1999) Blood 93:4406-4417). En modelos genéticos de roedores se ha unido este gen con anemias asociadas con el déficit de hierro, incluidos ratones con anemia hipocrómica y microcítica (ratones mk) con una mutación del gen NRAMP2. Los ratones MK exhiben déficits graves en la absorción de hierro y la utilización de
60 hierro eritroide.

[0144] En ciertos aspectos, los métodos y compuestos del presente invento son útiles para aumentar la absorción de hierro de la dieta. El presente invento proporciona métodos y compuestos para aumentar la expresión de genes asociados con la absorción de transporte de hierro. En concreto, los compuestos del presente invento fueron eficaces para aumentar la expresión de NRAMP2 en el intestino. El aumento de la expresión de NRAMP2 (slc 11 a2) sería deseable para aumentar la absorción de hierro, por ejemplo, hierro de la dieta, desde el intestino.
65

[0145] Además, el presente documento proporciona datos que muestran un aumento de la expresión genética de esproutina en el intestino de animales tratados con un compuesto del presente invento. La reductasa de la esproutina de hierro intestinal, también conocida como Dcytb y Cybrd1 (CYBRD1, citocromo duodenal b reductasa 1), es una reductasa férrica y cataliza la reducción de hierro férrico extra-celular a hierro ferroso asociado con la absorción de hierro. La esproutina se co-expresa con NRAMP2 en animales con falta de hierro en la zona áptica de vellosidades duodenales (Ver, por ejemplo, McKie et al. (2001) Science 291:1755-1759).

[0146] Los métodos y compuestos del presente documento son útiles para aumentar la expresión genética de ceruloplasmina. La ceruloplasmina, también conocida como ferroxidasa-1, convierte el hierro reducido que se ha liberado de los depósitos (como la ferritina) a la forma oxidada. El hierro oxidado puede unirse a su proteína de transporte de plasma, la transferrina. Los déficits de ceruloplasmina se asocian con la acumulación de hierro en el hígado y otros tejidos. Las pruebas indican que la ceruloplasmina promueve un flujo de hierro del hígado y promueve un influjo de hierro a células con déficit de hierro. (Ver, por ejemplo, Tran et al. (2002) J Nutr 132:351-356).

[0147] Los compuestos del presente invento redujeron la expresión de hepcidina de mRNA en el hígado de un ratón. La inflamación lleva a la producción de IL-6, que actúa sobre los hepatocitos para inducir la producción de hepcidina. La hepcidina inhibe la liberación de hierro macrófago y la absorción de hierro intestinal, reduciendo la disponibilidad de hierro y llevando a, por ejemplo, la hipoferrremia. La disminución de la expresión de hepcidina se asocia con el aumento de la liberación de hierro a partir de las células reticuloendoteliales y el aumento de la absorción de hierro intestinal. Por lo tanto, los compuestos del presente invento son útiles para disminuir la expresión de hepcidina, el aumento de la absorción de hierro intestinal y la reducción de hipoferrremia.

[0148] Se presentan métodos para tratar la anemia asociada con la infección del virus de la hepatitis C (HCV). La terapia actual para la infección de la HCV incluye una combinación de interferón- α y ribavirón. Esta terapia combinatoria se asocia con disminuciones de las concentraciones de la hemoglobina y anemia. En un aspecto, se presentan compuestos y métodos para tratar la anemia asociada con la infección de HCV. En otro aspecto, se presentan métodos y compuestos para tratar la anemia asociada con la terapia de interferón- α para infección de HCV. En otro aspecto, el presente documento proporciona compuestos y métodos útiles para tratar la anemia asociada con la terapia de ribavirina para la infección de HCV.

[0149] También se presentan métodos para el aumento de la producción de factores necesarios para la diferenciación de eritrocitos de las células progenitoras hematopoyéticas incluyendo, por ejemplo, las células madre hematopoyéticas (HSCs), células CFU-GEMM (unidad de granulocito de formación de colonia/eritroide/monocito/megacariocito), etc. Entre los factores que estimulan la eritropoyesis se incluye, entre otros, la eritropoyetina. En otro aspecto, los métodos aumentan la producción de factores necesarios para la retención, transporte y uso del hierro. Dichos factores incluyen, entre otros, la sintasa eritroide de aminolevulinato, transferrina, receptores de transferrina, ceruloplasmina, ferritina, etc. En otro aspecto, el método aumenta los factores necesarios para la diferenciación de eritrocitos y también los factores necesarios para la retención, transporte y utilización del hierro.

[0150] También se presentan métodos para mejorar la respuesta de los precursores hematopoyéticos a la eritropoyetina. Tal y como se ha descrito, entre dichos precursores se incluyen HSCs, CFU-GEMMs, etc. La respuesta de las células precursoras puede aumentarse, por ejemplo, modificando la expresión de los receptores de eritropoyetina, factores intracelulares implicados en la señalización de eritropoyetina y factores secretados que facilitan la interacción de la eritropoyetina con los receptores. El presente documento proporciona métodos para mejorar la respuesta a la EPO por parte de la médula ósea, por ejemplo, aumentando la expresión de receptores de EPO.

Métodos

[0151] Se presentan varios métodos. En un aspecto, los métodos implican la administración a un sujeto de un agente que establezca HIF α .

[0152] La estabilización de HIF α puede conseguirse por cualquiera de los métodos disponibles y conocidos por los expertos en la materia, y pueden implicar el uso de cualquier agente que interactúa con, se une a o modifique HIF α o factores que interactúan con HIF α , incluidas, por ejemplo, las enzimas para las que HIF α es un sustrato. En algunos aspectos, el presente documento contempla que se facilite una variable HIF α estable en cuanto a su constitución, por ejemplo, muteínas estables de HIF, etc, o un polinucleótido que codifique dicha variable. (Ver, por ejemplo, las patentes de los EEUU nº 6,562,799 y 6,124,131 y la patente de los EEUU nº 6,432,927). En otros aspectos, el presente documento contempla que la estabilización de HIF α implica la administración de un agente que establezca HIF α . El agente puede componerse de polinucleótidos, por ejemplo secuencias anti sentido (ver, por ejemplo, la Publicación Internacional nº WO 03/045440); polipéptidos; anticuerpos; otras proteínas; carbohidratos; grasas; lípidos; y sustancias orgánicas e inorgánicas, por ejemplo, pequeñas moléculas, etc. En una de las mejores representaciones, el presente invento contempla la estabilización de HIF α , por ejemplo, en un sujeto, administrándole al sujeto un agente que establezca HIF α mientras el agente es un compuesto, por ejemplo, un

compuesto de pequeñas moléculas, etc, que estabilice HIF α .

[0153] En otras representaciones, los compuestos del invento estabilizan HIF α inhibiendo la actividad de por lo menos una enzima de la familia de la diogenasa de 2-oxoglutarato. En otra representación, la enzima es una enzima de hidroxilasa HIF, por ejemplo, EGLN-1, EGLN-2, EGLN-3, etc. (Ver, por ejemplo, Taylor (2001) Gene 275:125-132; Epstein et al. (2001) Cell 107:43-54; and Bruick and McKnight (2001) Science 294:1337-1340). De todas formas, se contempla de forma específica que la enzima pueda ser cualquiera de la familia de dioxigenasa de 2-oxoglutarato, incluidas, por ejemplo, la hidroxilasa de procolágeno lisil, prolil de procolágeno 3-hidroxilasa, prolil de procolágeno 4-hidroxilasa α (I) y α (II), timina de 7-hidroxilasa, aspartil (asparaginil) β -hidroxilasa, hidroxilasa de ϵ -N-trimetilisina e hidroxilasa de γ -butirotetaina, etc. (Ver, por ejemplo, Majamaa et al. (1985) Biochem J 229:127-133; Myllyharju y Kivirikko (1997) EMBO J 16:1173-1180; Thornburg et al. (1993) 32:14023-14033 y Jia et al. (1994) Proc Natl Acad Sci USA 91:7227-7231).

[0154] En ciertas representaciones, los compuestos del presente invento son para su uso en el tratamiento de anemia de enfermedad crónica por la administración a un sujeto que tenga un porcentaje de saturación de transferrina de menos del 20% una cantidad eficaz de un compuesto del presente invento que sea estructuralmente mimético de 2-oxoglutarato. El compuesto estabiliza HIF α inhibiendo la hidroxilación de los residuos de prolina de HIF α . En representaciones específicas, los residuos pueden ser el residuo P₅₆₄ de HIF-1 α o una prolina homóloga en otra isoforma HIF α o el residuo P₄₀₂ de HIF-1 α o una prolina homóloga en otra isoforma HIF α , etc. En otras representaciones del documento, los métodos pueden incluir la inhibición de la hidroxilación de los residuos de la asparagina de HTF α , por ejemplo, el residuo N₈₀₃ de HIF-1 α o un residuo homólogo de asparagina en otra isoforma HIF α .

Compuestos

[0155] Los ejemplos de 2-oxoglutarate miméticos se presentan en, por ejemplo, la Publicación Internacional n° WO 03/049686 y la Publicación Internacional n° WO 03/053997. De forma específica, los compuestos del invento incluyen lo siguiente.

[0156] Un compuesto del invento es un compuesto que inhibe la actividad de hidroxilasa HIF debido a una hidroxilasa prolil HIF, como, por ejemplo, EGLN1, EGLN2 o EGLN3, etc. En otras representaciones del invento, la actividad se debe a una hidroxilasa asparaginil HIF, como, por ejemplo, incluyendo, entre otros, FIH. Uno de los mejores compuestos del invento es un compuesto que inhibe la actividad de hidroxilasa prolil HIF. La inhibición puede ser directa o indirecta, competitiva o no-competitiva, etc.

[0157] Una estructura mimética de 2-oxoglutarate del invento es cualquier compuesto que inhiba o module de otra forma la actividad de la enzima de dioxigenasa de 2-oxoglutarato. Las enzimas de dioxigenasa de 2-oxoglutarato incluyen, entre otras, las enzimas de hidroxilasa. Las enzimas de hidroxilasa hidroxilan los residuos de sustrato diana e incluyen, por ejemplo, hidroxilasas prolil, lisil, asparaginil (asparagil, aspartil), etc. Las hidroxilasas a veces se describen por el sustrato diana, por ejemplo, las hidroxilasas HIF, hidroxilasas de procolágeno, etc., y/o por los residuos diana del interior del sustrato, por ejemplo, las hidroxilasas prolil, hidroxilasas lisil, etc., o por ambas, por ejemplo, hidroxilasas prolil HIF, hidroxilasas prolil de procolágeno, etc. Las enzimas representativas de dioxigenasa de 2-oxoglutarato incluyen, entre otras, las hidroxilasas, incluyendo las hidroxilasas prolil de HIF, por ejemplo, EGLN1, EGLN2 y EGLN3, hidroxilasas de asparaginil HIF, por ejemplo, HIF (FIH) de inhibición de factor, etc; hidroxilasas de procolágeno, por ejemplo, las hidroxilasas de lisil de procolágeno, hidroxilasas de prolil de procolágeno, por ejemplo, 3-hidroxilasa de prolil de procolágeno, la 4-hidroxilasa de prolil de procolágeno α (I) y α (II), etc.; 7-hidroxilasa de timina; aspartil (asparaginil) β -hidroxilasa; hidroxilasa ϵ -N-trimetilisina; hidroxilasa γ -butirotetaina, etc. Aunque la actividad enzimática puede incluir cualquier actividad asociada con cualquier dioxigenasa de 2-oxoglutarato, la hidroxilación de los residuos de amino ácido en el interior de un sustrato se contempla de forma específica. Aunque se incluye de forma específica la hidroxilación de residuos de prolina y/o asparagina en el interior de un sustrato, también se contempla la hidroxilación de otros amino ácidos.

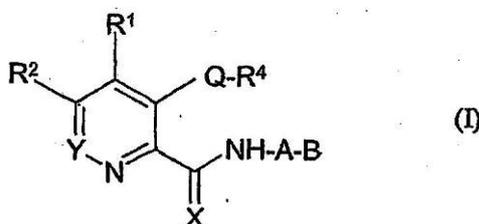
[0158] En un aspecto, un compuesto del invento que muestra actividad inhibitoria hacia una o más enzimas de dioxigenasa 2-oxoglutarato podrían también mostrar actividad inhibitoria hacia una o más enzimas de dioxigenasa 2-oxoglutarato adicionales, por ejemplo, un compuesto que inhibe la actividad de una hidroxilasa HIF podría también inhibir la actividad de una hidroxilasa prolil de colágeno, un compuesto que inhibe la actividad de una hidroxilasa prolil de HIF podría también inhibir la actividad de una hidroxilasa asparaginil HIF, etc.

[0159] En vista de que HIF α se ve modificado por la hidroxilación de prolina, una reacción que necesita oxígeno y Fe²⁺, el presente invento contempla en un aspecto que la enzima responsable de la hidroxilación HIF α es un miembro de la familia de dioxigenasa 2-oxoglutarato. Dichas enzimas incluyen, entre otros, la hidroxilasa lisil de procolágeno, la β -hidroxilasa de prolil procolágeno, 4-hidroxilasa de prolil procolágeno α (I) y α (II), timina 7-hidroxilasa, β -hidroxilasa de aspartil (asparaginil), hidroxilasa de ϵ -N-trimetilisina y la hidroxilasa de γ -butirotetaina, etc. Dichas enzimas necesitan oxígeno, Fe²⁺, 2-oxoglutarato y ácido ascórbico para su actividad de hidroxilasa. (Ver, por ejemplo, Majamaa et al. (1985) Biochem J 229:127-133; Myllyharju y Kivirikko (1997) EMBO J 16:1173-1180; Thornburg et al. (1993) 32:14023-14033 y Jia et al. (1994) Proc Natl Acad Sci USA 91:7227-7231).

[0160] Una estructura mimética de 2-oxoglutarato mimético del invento es un compuesto que estabiliza HIF α por la inhibición de la actividad de hidroxilasa proliil de HIF. Se contempla específicamente que un compuesto del invento puede seleccionarse de los moduladores previamente identificados de la actividad de hidroxilasa. Por ejemplo, se han identificado inhibidores de pequeñas moléculas de proliil 4-hidroxilasa. (Ver, por ejemplo, Majamaa et al. (1984) Eur J Biochem 138:239-245; Majamaa et al.(1985) Biochem J 229:127-133; Kivirikko y Myllyharju (1998) Matrix Biol 16:357-368; Bickel et al. (1998) Hepatology 28:404-411; Friedman et al. (2000) Proc Natl Acad Sci USA 97:4736-4741 y Franklin et al. (2001) Biochem J 353:333-338). El presente invento contempla el uso de esos compuestos en los métodos que se indican en este documento.

[0161] Los compuestos del presente invento son estructuralmente miméticos de 2-oxoglutarato. Dichos compuestos pueden inhibir el miembro de la familia de enzima de dioxigenasa de 2-oxoglutarato de forma competitiva a respecto de 2-oxoglutarato y de forma no competitiva a respecto del hierro. (Majamaa et al. (1984) Eur J Biochem 138:239-245 y Majamaa et al. Biochem J 229:127-133).

[0162] En ciertas representaciones, los compuestos que se usan en los métodos del invento se seleccionan de un compuesto de la fórmula (I)



donde

A es 1,2-arilideno, 1,3-arilideno, 1,4-arilideno; o (C1-C4)-alkileno, que puede sustituirse por uno o dos halógenos, ciano, nitro, trifluorometil, (C1-C6)-alkil, (C1-C6)-hidroxialkil, (C1-C6)-alkoxi, -O-[CH₂]CfH(2f+1-g)Hal_g, (C1-C6)-fluoroalkoxi, (C1-C8)-fluoroalkeniloxi, (C1-C8)-fluoroalkiniloxi, -OCF₂Cl, -O-CF₂-CHFCl; (C1-C6)-alkilmercapto, (C1-C6)-alkilsulfinil, (C1-C6)-alkilsulfonil, (C1-C6)-alkilcarbonil, (C1-C6)-alkoxycarbonil, carbamoil, N-(C1-C4)-alkilcarbamoil, N,N- di-(C1-C4)-alkilcarbamoil, (C1-C6)-alkilcarboniloxi, (C3-C8)-cicloalkil, fenil, benzil, fenoxi, benziloxi, anilino, N-metilnilino, fenilmercapto, fenilsulfinil, fenilsulfonil, sulfamoil, N-(C1-C4)-alkilsulfamoil, N,N- di-(C1-C4)-alkilsulfamoil; o por una sustitución de (C6-C12)-ariloxi, (C7-C11)-aralkiloxi, (C6-C12)-aril, radical de (C7-C11)-aralkil, que porta en la fracción de arilo entre uno y cinco sustituyentes idénticos o diferentes seleccionados entre el halógeno, el ciano, el nitro, el trifluorometil, (C1-C6)-alkil, (C1-C6)-alkoxi, -O-[CH₂]_x-CfH(2f+i-g)Hal_g, -OCF₂Cl, -O-CF₂-CHFCl, (C1-C6)-alkilmercapto, (C1-C6)-alkilsulfinil, (C1-C6)-alkilsulfonil, (C1-C6)-alkilcarbonil, (C1-C6)-alkoxycarbonil, carbamoil, N-(C1-C4)-alkilcarbamoil, N,N-di-(C1-C4)-alkilcarbamoil, (C1-C6)-alkilcarboniloxi, (C3-C8)-cicloalkil, sulfamoil, N-(C-C)-alkilsulfamoil, N,N-di-(C-C)-alkilsulfamoil; o donde A es -CR₅R₆ y R₅ y R₆ se seleccionan independientemente entre el hidrógeno, (C1-C6)-alkil, (C3-C7)-cicloalkil, arilo o un sustituto del átomo de α -carbono de un amino ácido α , donde el amino ácido es un amino ácido natural L o su D-isómero.

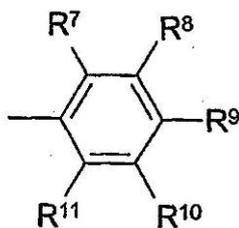
[0163] B es -CO₂H, -NH₂, -NHSO₂CF₃, tetrazolil, imidazolil, 3-hidroxisoxazolil, -CONHCOR^m, -CONHSOR^m, CONHSO₂R^m, donde R^m es arilo, heteroarilo, (C3-C7)-cicloalkil, o (C1-C4)-alkil, bi(C6-C12)-aril opcionalmente mono sustituido, heteroarilo, OH, SH, (C1-C4)-alkil, (C1-C4)-alkoxi, (C1-C4)-thioalkil, (C1-C4)-sulfinil, (C1-C4)-sulfonil, CF₃, Cl, Br, F, I, NO₂, -COOH, (C2-C5)-alkoxycarbonil, NH₂, mono-(C1-C4-alkil)-amino, di-(C1-C4-alkil)-amino, o (C1-C4)-perfluoroalkil; o donde B es un radical CO₂-G carboxil, donde G es un radical de un alcohol G-OH en el que G se selecciona de un radical (C1-C20)-alkil, radical (C3-C8) cicloalkil, radical (C2-C20)-alkenil, radical (C3-C8)-cicloalkenil, radical retinil, radical (C2-C20)-alkinil, radical (C4-C20)-alkenil, donde los radicales alkenil, cicloalkenil, alkinil, y alkenil contienen una o más uniones múltiples; el radical (C6-C16)-carbocíclico aril, radical (C7-C16)-carbocíclico aralkil, radical heteroaril o radical heteroaralkil, donde un radical heteroarilo o fracción heteroarilo de un radical heteroaralkil contiene 5 o 6 átomos de anillo; y donde los radicales definidos para G se sustituyen por uno o más hidroxilo, halógeno, ciano, trifluorometil, nitro, carboxil, (C1-C12)-alkil, (C3-C8)-cicloalkil, (C5-C8)-cicloalkenil, (C6-C12)-arilo, (C7-C16)-aralkil, (C2-C12)-alkenil, (C2-C12)-alkinil, (C1-C12)-alkoxi, (C1-C12)-alkoxi-(C1-C12)-alkil, (C1-C12)-alkoxi-(C1-C12)-alkoxi, (C6-C12)-ariloxi, (C7-C16)-aralkiloxi, (C1-C8)-hidroxialkil, -O-[CH₂]_x-CfH(2f+1-g)-F_g, -OCF₂Cl, -OCF₂-CBFCl, (C1-C12)-alkilcarbonil, (C3-C8)-cicloalkilcarbonil, (C6-C12)-arilcarbonil, (C7-C16)-aralkilcarbonil, cinnamoil, (C2-C12)-alkenilcarbonil, (C2-C12)-alkinilcarbonil, (C1-C12)-alkoxycarbonil, (C1-C12)-alkoxi-(C1-C12)-alkoxycarbonil, (C6-C12)-ariloxycarbonil, (C7-C16)-aralkoxycarbonil, (C3-C8)-cicloalkoxycarbonil, (C2-C12)-alkeniloxycarbonil, (C2-C12)-alkiniloxycarbonil, aciloxi, (C1-C12)-alkoxycarboniloxi, (C1-C12)-alkoxi-(C1-C12)-alkoxycarboniloxi, (C6-C12)-ariloxycarboniloxi, (C7-C16)-aralkiloxycarboniloxi, (C3-C8)-cicloalkoxycarboniloxi, (C2-C12)-alkeniloxycarboniloxi, (C2-C12)-alkiniloxycarboniloxi, carbamoil, N-(C1-C12)-alkilcarbamoil, N,N-di(C1-C12)-alkilcarbamoil, N-(C3-C8)-cicloalkil-carbamoil, N-(C6-C16)-aralkilcarbamoil, N-(C7-C16)-aralkilcarbamoil, N-(C1-C10)-alkil- N-(C6-C16)-arilcarbamoil, N-(C1-C10)-alkil-N-(C7-C16)-aralkilcarbamoil, N-((C1-C10)-alkoxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoil, N-((C6-C12)-ariloxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoil, N-((C7-C16)-aralkiloxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoil, N-(C1-

C10)-alkil-N-((C1-C10)-alkoxi-(C1-C10)-alkoxialkil)-carbamoil, N-(C1-C10)-allil-N-((C6-C16)-ari-loxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoil, N-(C1-C10)-alkil-N-((C7-C16)-aralkiloxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoil, carbamoiloxi, N-(C1-C12)-alkilcarbamoiloxi, N.N-di-(C1-C12)-alkilcarbamoiloxi, N-(C3-C8)-cicloalkilcarbamoiloxi, N-(C6-C12)-aril-carbamoiloxi, N-(C7-C16)-aralkilcarbamoiloxi, N-(C1-C10)-alkil-N-(C6-C12)-arilcarbamoiloxi, N(C1-C10)-alkil- N-(C7-C16)-aralkilcarbamoiloxi, N-((C1-C10)-alkil)-carbamoiloxi, N-((C6-C12)-ariloxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoiloxi, N-((C7-C16)-aralkiloxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C1-C10)-alkil-N-((C1-C10)-alkoxi-((C1-C10)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C1-C10)-alkil-N-((C6-C12)-ariloxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C1-C10)-alkil-N-((C7-C16)-aralkiloxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoiloxi, amino, (C1-C12)-alkilamino, di-(C1-C12)-alkilamino, (C3-C8)-cicloalkilamino, (C2-C12)-alkenilamino, (C2-C12)-alkinilamino, N-(C6-C12)-arilamino, N-(C-C11)-aralkilamino, N-alkil-aralkilamino, N-alkil-arilamino, (C1-C12)-alkoxiamino, (C1-C12)-alkoxi-N-(C1-C10)-alkilamino, (C1-C12)-alkilcarbonilamino, (C3-C8)-cicloalkilcarbonilamino, (C6-C12)-arilcarbonilamino, (C7-C16)-axalkilcarbonilamino, (C1-C12)-alkilcarbonil-N-(C1-C10)-alkilamino, (C3-C8)-cicloalkilcarbonil-N-(C1-C10)-alkilamino, (C6-C12)-arilcarbonil- N-(C1-C10)-alkilamino, (C7-C11)-aralkilcarbonil-N-(C1-C10)-alkilamino, (C1-C12)-alkilcarbonilamino-(C1-C8)-alkil, (C3-C8)-cicloalkilcarbonilamino-(C1-C8)alkil, (C6-C12)-arilcarbonilamino-(C1-C8)-alkil, (C7-C12)-aralkilcarbonilamino-(C1-C8)-alkil, amino-(C1-C10)-alkil, N-(C1-C10)-alkil, N.N-di-(C1-C10)-alkilamino-(C1-C10)-alkil, (C3-C8)-cicloalkilamino-(C1-C10)-alkil, (C1-C12)-alkilmercapto, (C1-C12)-alkilsulfinil, (C1-C12)-alkilsulfonil, (C6-C16)-arilmercapto, (C6-C16)-arilsulfinil, (C6-C12)-arilsulfonil, (C7-C16)-aralkilmercapto, (C7-C16)-aralkilsulfinil, (C7-C16)-aralkilsulfonil, sulfamoil, N-(C1-C10)-alkilsulfamoil, N.N-di-(C1-C10)-alkilsulfamoil, (C3-C8)-cicloalkilsulfamoil, N-(C6-C12)-alkil-sulfamoil, N-(C7-C16)-aralkilsulfamoil, N-(C1-C10)-alkil-N-(C6-C12)-arilsulfamoil, N-(C1-C10)-alkil-N-(C7-C16)-aralkil-sulfamoil, (C1-C10)-alkilsulfonamido, N-((C1-C10)-alkil)-(C1-C10)-alkilsulfonamido, (C7-C16)-aralkilsulfonamido, o N-((C1-C10)-alkil)-(C7-C16)-aralkilsulfonamido; donde los radicales que son arilos o contienen una fracción de arilo, pueden sustituirse en el arilo por entre uno y cinco elementos idénticos o diferentes de hidroxilo, halogen, ciano, trifluorometil, nitro, carboxil, (C1-C12)-alkil, (C3-C8)-cicloalkil, (C6-C12)-aril, (C7-C16)-aralkil, (C1-C12)-alkoxi, (C1-C12)-alkoxi-(C1-C12)alkil, (C1-C12)-alkoxi-(C1-C12)alkoxi, (C6-C12)-ariloxi, (C7-C16)-aralkiloxi, (C1-C8)-hidroxialkil, (C1-C12)-alkilcarbonil, (C3-C8)-cicloalkil-carbonil, (C6-C12)-arilcarbonil, (C7-C16) aralkilcarbonil, (C1-C12)-alkoxicarbonoil, (C1-C12)-alkoxi-(C1-C12)-alkoxicarbonoil, (C6-C12)-ariloxicarbonoil, (C7-C16)-aralkoxicarbonoil, (C3-C8)-cicloalkoxicarbonoil, (C2-C12)-alkeniloxicarbonoil, (C2-C12)-alkiniloxicarbonoil, (C1-C12)-alkilcarboniloxi, (C3-C8)-cicloalkilcarboniloxi, (C6-C12)-arilcarboniloxi, (C7-C16)-aralkilcarboniloxi, cinnamoiloxi, (C2-C12)-alkenilcarboniloxi, (C2-C12)-alkinil-carboniloxi, (C1-C12)-alkoxicarboniloxi, (C1-C12)-alkoxi-(C1-C12)-alkoxicarboniloxi, (C6-C12)-ariloxicarboniloxi, (C7-C16)-aralkiloxicarboniloxi, (C3-C8)-cicloalkoxicarboniloxi, (C2-C12)-alkeniloxicarboniloxi, (C2-C12)-alkiniloxicarboniloxi, carbamoil, N-(C1-C12)-alkilcarbamoil, N.N-di-(C1-C12)-alkilcarbamoil, N-(C3-C8)-cicloalkilcarbamoil, N-(C6-C12)-arilcarbamoil, N-(C7-C16)-aralkilcarbamoil, N-(C1-C10)-alkil-N-(C6-C12)-arilcarbamoil, N-(C1-C10)-alkil-N-(C7-C16)-aralkilcarbamoil, N-((C1-C10)-alkoxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoil, N-((C6-C12)-ariloxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoil, N-((C7-C16)-aralkiloxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoil, N-(C1-C10)-alkil-N-((C1-C10)-alkoxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoil, N-(C1-C10)-alkil-N-((C6-C12)-ariloxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoil, N-(C1-C10)-alkil-N-((C7-C16)-aralkiloxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoil, N.N-di-(C1-C12)-alkilcarbamoiloxi, N-(C3-C8)-cicloalkilcarbamoiloxi, N-(C6-C12)-arilcarbamoiloxi, N-(C7-C16)-aralkilcarbamoiloxi, N-(C1-C10)-alkil-N-(C6-C12)-arilcarbamoiloxi, N(C1-C10)-alkil-N-(C7-C16)-aralkilcarbamoiloxi, N-((C1-C10)-alkil)-carbamoiloxi, N-((C6-C12)-ariloxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoiloxi, N-((C7-C16)-aralkiloxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C1-C10)-alkil-N-((C1-C10)-alkoxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C1-C10)-alkil-N-((C6-C12)-ariloxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C1-C10)-alkil-N-((C7-C16)-aralkiloxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoiloxi, amino, (C1-C12)-alkilamino, di-(C1-C12)-alkilamino, (C3-C8)-cicloalkilamino, (C3-C12)-alkenilamino, (C3-C12)-alkinilamino, N-(C6-C12)-arilamino, N-(C7-C11)-aralkilamino, N-alkilaralkilamino, N-alkil-arilamino, (C1-C12)-alkoxiamino, (C1-C12)-alkoxi- N-(C1-C10)-alkilamino, (C1-C12)-alkilcarbonilamino, (C3-C8)-cicloalkilcarbonilamino, (C6-C12)-arilcarbonilamino, (C7-C16)-alkilcarbonilamino, (C1-C12)-alkilcarbonil-N-(C1-C10)-alkilamino, (C3-C8)-cicloalkilcarbonil-N-(C1-C10)-alkilamino, (C6-C12)-arilcarbonil-N-(C1-C10)-alkilamino, (C7-C11)-aralkilcarbonil-N-(C1-C10)-alkilamino, (C1-C12)-alkilcarbonilamino-(C1-C8)-alkil, (C3-C8)-cicloalkilcarbonilamino-(C1-C8)-alkil, (C6-C12)-arilcarbonilamino-(C1-C8)-alkil, (C7-C16)-aralkilcarbonilamino-(C1-C8)-alkil, amino-(C1-C10)-alkil, N-(C1-C10)-alkilamino-(C1-C10)alkil, N.N-di-(C1-C10)-alkilamino-(C1-C10)-alkil, (C3-C8)-cicloalkilamino-(C1-C10)-alkil, (C1-C12)-alkilmercapto, (C1-C12)-alkilsulfinil, (C1-C12)-alkilsulfonil, (C6-C12)-arilmercapto, (C6-C12)-arilsulfinil, (C6-C12)-arilsulfonil, (C7-C16)-aralkilmercapto, (C7-C16)-aralkilsulfinil, or (C7-C16)-aralkilsulfonil; X es O o S; Q es O, S, NR', o una unión; donde, si Q es una unión, R4 es un halógeno, nitrilo, o trifluorometil; o donde, si Q es O, S o NR', R4 es hidrógeno, radical (C1-C10)-alkil, radical (C2-C10)-alkenil, radical (C2-C10)-alkinil, donde el alkenil o el radical de alkinil contiene una o dos uniones múltiples de C-C; el radical fluoroalkil no sustituido de la fórmula -[CH2]x-CfH(2f-1-g)-Fg, (C1-C8)-alkoxi-(C1-C6)-alkil radical, (C1-C6)-alkoxi-(C1-C4)-alkoxi-(C1-C4)-alkil radical, aril radical, heteroarilo radical, (C7-C11)-aralkil radical, o un radical de la fórmula Z "[CH2]v-[O]w-[CH2]t-E (Z) donde E es un radical heteroarilo, un radical (C3-C8)-cicloalkil o un radical fenil de la fórmula F

60

65

5



10

v es 0-6,

W es 0 o 1,

t es 0-3, y

15

R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , y R^{11} son idénticos o diferentes y son hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, trifluorometil, (C₁-C₆)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkil, (C₁-C₆)-alkoxi, -O-[CH₂]_x-C_tH_(2f+1-g)F_g, -OCF₂-Cl, -O-CF₂-CHFCl, (C₁-C₆)-alkilmercapto, (C₁-C₆)-hidroxialkil, (C₁-C₆)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkoxi, (C₁-C₆)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₁-C₆)-alkilsulfinil, (C₁-C₆)-alkil-sulfonyl, (C₁-C₆)-alkilcarbonil, (C₁-C₈)-alkoxycarbonil, carbamoil, N-(C₁-C₈)-alkilcarbamoil, N,N-di-(C₁-C₈)-alkilcarbamoil, o (C₇-C₁₁)-aralkilcarbamoil, opcionalmente sustituido por fluorine, clorina, bromina, trifluorometil, (C₁-C₆)-alkoxi, N-(C₃-C₈)-cicloalkilearbamoil, N-(C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₄)-alkilcarbamoil, (C₁-C₆)-alkilcarbami-loxi, fenil, benzil, fenoxi, benziloxi, NRR^Z donde Rⁱ y R^Z se seleccionan independientemente entre hidrógeno, (C₁-C₁₂)-alkil, (C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₇-C₁₂)-aralkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₃-C₁₀)-cicloalkil, (C₃-C₁₂)-alkenil, (C₃-C₁₂)-alkinil, (C₆-C₁₂)-aril, (C₇-C₁₁)-aralkil, (C₁-C₁₂)-alkoxi, (C₇-C₁₂)-ar-alkoxi, (C₁-C₁₂)-alkilcarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkilcarbamoil, (C₆-C₁₂)-arilcarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkilcarbonil; o donde Rⁱ y R^Z conjuntamente son -[CH₂]_n, donde un grupo de CH₂ puede sustituirse con O, S, N-(C₁-C₄)-alkilcarbonilimino, o N-(C₁-C₄)-alkoxycarbonilimino; fenilmercapto, fenilsulfonyl, fenilsulfinil, sulfamoil, N-(C₁-C₈)-alkilsulfamoil, o N, N-di-(C₁-C₈)-alkilsulfamoil; o R⁷ y R⁸, R⁹ y R⁹, R⁹ y R¹⁰, o R¹⁰ y R¹¹, conjuntamente son una cadena seleccionada entre -[CH₂]_n- o -CH=CH-CH=CH-, donde un grupo CH₂ de la cadena se puede sustituir por O, S, SO, SO₂, o NR^Y; y n es 3, 4, o 5; y si E es un radical heteroarilo, dicho radical puede portar 1-3 sustituyentes de entre los definidos para R⁷-R¹¹, o si E es un radical de cicloalkil, el radical puede portar un sustituyente seleccionado de entre los definidos para R⁷-R¹¹:

20

30

o donde, si Q es NR', R⁴ puede ser de forma alternativa R'', donde R¹ y R'' son idénticos o diferentes y son hidrógeno, (C₆-C₁₂)-arilo, (C₇-C₁₁)-aralkil, (C₁-C₈)-alkil, (C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₇-C₁₂)-aralkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₆-C₁₂)-ari-loxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₁-C₁₀)-alkilcarbonil, opcionalmente sustituido con (C₇-C₁₆)-aralkilearbonil, o sustituido opcionalmente con C₆-C₁₂-arilcarbonil; o R' y R'' juntos pueden ser -[CH₂]_n donde un grupo CH₂ puede sustituirse con O, S, N-acilimino, o N-(C₁-C₁₀)-alkoxycarbonilimino y h es de 3 a 7.

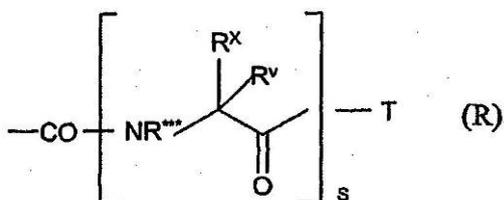
35

Y es N o CR³;

40

R1, R2 y R3 son idénticos o diferentes y pueden ser hidrógeno, hidroxilo, halógeno, ciano, trifluorometil, nitro, carboxil, (C₁-C₂₀)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkil, (C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₁₂)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkoxi, (C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₁₂)-alkoxi, (C₃-C₈)-cicloalkiloxi-(C₁-C₁₂)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkiloxi-(C₁-C₁₂)-alkoxi, (C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₈)-alkil-(C₁-C₆)-alkoxi, (C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkiloxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkoxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₈)-alkoxi, (C₆-C₁₂)-aril, (C₇-C₁₆)-aralkil, (C₇-C₁₆)-aralkenil, (C₇-C₁₆)-aralkinil, (C₂-C₂₀)-alkenil, (C₂-C₂₀)-alkinil, (C₁-C₂₀)-alkoxi, (C₂-C₂₀)-alkeniloxi, (C₂-C₂₀)-alkiniloxi, reti-niloxi, (C₁-C₂₀)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkil, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkoxi, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₆-C₁₂)-ariloxi, (C₇-C₁₆)-aralkiloxi, (C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₆)-alkoxi, (C₇-C₁₆)-aralkoxi-(C₁-C₆)-alkoxi, (C₁-C₁₆)-hidroxialkil, (C₆-C₁₆)-ariloxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₇-C₁₆)-aralkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₇-C₁₂)-aralkiloxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₂-C₂₀)-alkeniloxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₂-C₂₀)-alkiniloxi-(C₁-C₆)-alkil, retiniloxi-(C₁-C₆)-alkil, -O-[CH₂]_x-C_tH_(2f+1-g)F_g, -OCF₂Cl, -OCF₂-CHFCl, (C₁-C₂₀)-alkilcarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkilcarbonil, (C₆-C₁₂)-arilcarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkilcarbonil, cinnamoil, (C₂-C₂₀)-alkenilcarbonil, (C₂-C₂₀)-alkinilcarbonil, (C₁-C₂₀)-alkoxycarbonil, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkoxycarbonil, (C₆-C₁₂)-ariloxycarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkoxycarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkoxycarbonil, (C₂-C₂₀)-alkeniloxycarbonil, retiniloxycarbonil, (C₂-C₂₀)-alkiniloxycarbonil, (C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₆)-alkoxycarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkoxi-(C₁-C₆)-alkoxycarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₆)-alkoxycarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkoxi-(C₁-C₆)-alkoxycarbonil, (C₁-C₁₂)-alkilcarboniloxi, (C₃-C₈)-cicloalkilcarboniloxi, (C₆-C₁₂)-arilcarboniloxi, (C₇-C₁₆)-aralkilcarboniloxi, cinnamoiloxi, (C₂-C₁₂)-alkenil-carboniloxi, (C₂-C₁₂)-alkinilcarboniloxi, (C₁-C₁₂)-alkoxycarboniloxi, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkoxycarboniloxi, (C₆-C₁₂)-ariloxycarboniloxi, (C₇-C₁₆)-aralkiloxycarboniloxi, (C₃-C₈)-cicloalkoxycarboniloxi, (C₂-C₁₂)-alkeniloxi-carboniloxi, (C₂-C₁₂)-alkiniloxycarboniloxi, carbamoil, N-(C₁-C₁₂)-alkilcarbamoil, N,N-di-(C₁-C₁₂)-alkilcarbamoil, N-(C₃-C₈)-cicloalkilcarbamoil, N,N-diciclo-(C₃-C₈)-alkilcarbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₃-C₈)-cicloalkilcarbamoil, N-((C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₆)-alkil)-carbamoil, N-(C₁-C₆)-alkil-N-((C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₈)-alkil)-carbamoil, N-(+)-dehidroabietilcarbamoil, N-(C₁-C₆)-alkil-N-(+)-dehidroabietilcarbamoil, N-(C₆-C₁₂)-arilcarbamoil, N-(C₇-C₁₆)-aralkilcarbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₆-C₁₆)-arilcarbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₇-C₁₆)-aralkilcarbamoil, N-((C₁-C₁₈)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-((C₆-C₁₆)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil; CON(CH₂)_h, donde un grupo de CH₂ puede sustituirse con O, S, N-(C₁-C₈)-alkilimino, N-(C₃-C₈)-cicloalkilimino, N-(C₃-C₈)-cicloalkil-(C, -Ca)-alkilimino, N-(C₆-C₁₂)-arilimino, N-(C₇-C₁₆)-aralkilimino, N-(C₁-C₄)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkilimino, y h va de 3 a 7; un radical de carbamoil de la fórmula R

65



donde

10 R^x y R^y se seleccionan de forma independiente entre hidrógeno, (C₁-C₆)-alkil, (C₃-C₇)-cicloalkil, aril o el sustituyente de un α -carbono de un amino ácido α , al que pertenecen los amino ácidos L- y D-

s es 1-5,

15 T es OH, o NR^{***} y R^* , R^{**} y R^{***} son idénticos o diferentes y se seleccionen entre hidrógeno, (C₆-C₁₂)-aril, (C₇-C₁₁)-aralkil, (C₁-C₈)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkil, (+)-dehidroabietil, (C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₇-C₁₂)-ar-alkoxi, (C₁-C₈)-alkil, (C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₁-C₁₀)-alkanoil, opcionalmente sustituido por (C₇-C₁₆)-aralkanoil, opcionalmente sustituido (C₆-C₁₂)-aroil; o R^* y R^{**} conjuntamente son $-\text{[CH}_2\text{]}_n$, donde un grupo de CH₂ puede ser sustituido por O, S, SO, SO₂, N-acilamino, N-(C₁-C₁₀)-alkoxycarbonitimino, N-(C₁-C₈)-alkilimino, N-(C₃-C₈)-cicloalkilimino, N-(C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₄)-alkilimino, N-(C₆-C₁₂)-arilimino, N-(C₇-C₁₆)-aralkilimino, N-(C₁-C₄)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkilimino, y h

20 carbamoiloxi, N-(C₁-C₁₂)-alkilcarbamoiloxi, N,N-di-(C₁-C₁₂)-alkilcarbamoiloxi, N-(C₃-C₈)-cicloalkilcarbamoiloxi, N-(C₆-C₁₂)-arilcarbamoiloxi, N-(C₇-C₁₆)-aralkilcarbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₆-C₁₂)-arilcarbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₇-C₁₆)-aralkilcarbamoiloxi, N-((C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxiamino, (C₁-C₁₂)-alkilamino, di-(C₁-C₁₂)-alkilamino, (C₃-C₈)-cicloalkilamino, (C₃-C₁₂)-alkenilamino, (C₃-C₁₂)-alkinilamino, N-(C₆-C₁₂)-arilamino, N-(C₇-C₁₁)-aralkilamino, N-alkil-aralkilamino, N-alkil-arilamino, (C₁-C₁₂)-alkoxiamino, (C₁-C₁₂)-alkoxi-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₁-C₁₂)-alkanoilamino, (C₃-C₈)-cicloalkanoilamino, (C₆-C₁₂)-arilamino, (C₇-C₁₆)-aralkanoilamino, (C₁-C₁₂)-alkanoil-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₃-C₈)-cicloalkanoil-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₆-C₁₂)-aril-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₇-C₁₁)-aralkanoil-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₁-C₁₂)-alkanoilamino-(C₁-C₈)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkanoilamino-(C₁-C₈)-alkil, (C₆-C₁₂)-arilamino-(C₁-C₈)-alkil, (C₇-C₁₆)-aralkanoilamino-(C₁-C₈)-alkil, amino-(C₁-C₁₀)-alkil, N-(C₁-C₁₀)-alkilamino-(C₁-C₁₀)-alkil, N,N-di-(C₁-C₁₀)-alkilamino-(C₁-C₁₀)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkilamino-(C₁-C₁₀)-alkil, (C₁-C₂₀)-alkilmercapto, (C₁-C₂₀)-alkilsulfinil, (C₁-C₂₀)-alkilsulfonil, (C₆-C₁₂)-arilmercapto, (C₆-C₁₂)-arilsulfinil, (C₆-C₁₂)-arilsulfonil, (C₇-C₁₆)-aralkilmercapto, (C₇-C₁₆)-aralkilsulfinil, (C₇-C₁₆)-aralkilsulfonil, (C₁-C₁₂)-alkilmercapto-

25 (CrC₆)-alkil, (C₁-C₁₂)-aralkilsulfinil-(C₁-C₆)-alkil, (C₁-C₁₂)-aralkilsulfonil-(C₁-C₆)-alkil, (C₆-C₁₂)-arilmercapto-(C₁-C₆)-alkil, (C₆-C₁₂)-arilsulfinil-(C₁-C₆)-alkil, (C₆-C₁₂)-arilsulfonil-(C₁-C₆)-alkil, (C₇-C₁₆)-aralkilmercapto-(C₁-C₆)-alkil, (C₇-C₁₆)-aralkilsulfinil-(C₁-C₆)-alkil, (C₇-C₁₆)-aralkilsulfonil-(C₁-C₆)-alkil, sulfamoil, N-(C₁-C₁₀)-aralkilsulfamoil, N,N-di-(C₁-C₁₀)-aralkilsulfamoil, (C₃-C₈)-cicloalkilsulfamoil, N-(C₆-C₁₂)-arilsulfamoil, N-(C₇-C₁₆)-aralkilsulfamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₆-C₁₂)-arilsulfamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₇-C₁₆)-aralkilsulfamoil, (C₁-C₁₀)-alkilsulfonamido, N-((C₁-C₁₀)-alkil)-(C₁-C₁₀)-aralkilsulfona-mido, (C₇-C₁₆)-aralkilsulfonamido, y N-((C₁-C₁₀)-alkil)-(C₇-C₁₆)-aralkilsulfonamido; donde un radical aril puede ser sustituido por de 1 a 5 sustituyentes entre hidroxilo, halógeno, ciano, trifluorometil, nitro, carboxil, (c₂-C₁₆)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkil, (C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₁₂)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkiloxi, (C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₁₂)-alkoxi, (C₃-C₈)-cicloalkiloxi-(C₁-C₁₂)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkiloxi-(C₁-C₁₂)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₈)-alkil-(C₁-C₆)-alkoxi, (C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkiloxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkiloxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₆-C₁₂)-aril, (C₇-C₁₆)-aralkil, (C₂-C₁₆)-alkenil, (C₂-C₁₂)-alkinil, (C₁-C₁₆)-alkoxi, (C₁-C₁₆)-alkeniloxi, (C₁-C₂)-alkoxi-(C₁-C₂)-alkil, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkoxi, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₆-C₁₂)-ariloxi, (C₇-C₁₆)-aralkiloxi, (C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₆)-alkoxi, (C₇-C₁₆)-aralkoxi-(C₁-C₆)-alkoxi, (C₁-C₈)-hidroxialkil, (C₆-C₁₆)-ariloxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₇-C₁₆)-aralkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, -O-[CH₂]_xCfH(2f+1-g)Fg, -OCF₂Cl, -OCF₂-CHFCl, (C₁-C₁₂)-alkilcarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkil-carbonil, (C₆-C₁₂)-arilcarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkilcarbonil, (C₁-C₁₂)-alkoxycarbonil, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkoxycarbonil, (C₆-C₁₂)-ariloxycarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkoxycarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkoxycarbonil, (C₂-C₁₂)-alkeniloxycarbonil, (C₂-C₁₂)-alkiniloxycarbonil, (C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₆)-alkoxycarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkoxi-(C₁-C₆)-alkoxycarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₆)-alkoxycarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkoxi-(C₁-C₆)-alkoxycarbonil, (C₁-C₁₂)-alkilcarboniloxi, (C₃-C₈)-cicloalkilcarboniloxi, (C₆-C₁₂)-arilcarboniloxi, (C₇-C₁₆)-aralkilcarboniloxi, cinnamoiloxi, (C₂-C₁₂)-alkenilcarboniloxi, (C₂-C₁₂)-alkinilcarboniloxi, (C₁-C₁₂)-alkoxycarboniloxi, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkoxycarboniloxi, (C₆-C₁₂)-ariloxycarboniloxi, (C₇-C₁₆)-aralkiloxycarboniloxi, (C₃-C₈)-cicloalkiloxycarboniloxi, (C₂-C₁₂)-alkeniloxycarboniloxi, (C₂-C₁₂)-alkiniloxycarboniloxi, carbamoil, N-(C₁-C₁₂)-alkilcarbamoil, NN-di(C₁-C₁₂)-alkilcarbamoil, N-(C₃-C₈)-cicloalkilcarbamoil, N,N-diciclo-(C₃-C₈)-alkilcarbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₃-C₈)-cicloalkil-1carbamoil, N-((C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₆)-alkil)carbamoil, N-(C₁-C₆)-alkil-N-((C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₆)-alkil)carbamoil, N-(+)-dehidroabietilcarbamoil, N-(C₁-C₆)-alkil-N-(+)-dehidroabietilcarbamoil, N-(C₆-C₁₂)-arilcarbamoil, N-(C₇-C₁₆)-aralkilcarbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₈-C₁₆)-arilcarbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₇-C₁₆)-aralkilcarbamoil, N-((C₁-C₁₆)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)carbamoil, N-((C₆-C₁₆)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)carbamoil, N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)carbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)carbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₆-C₁₀)-alkil)carbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)carbamoil, CON(CH₂)_h, in

30 which a CH₂ group can be replaced by, O, S, N-(C₁-C₈)-alkilimino, N-(C₃-C₈)-cicloalkilimino, N-(C₃-C₈)-cicloalkil-

35

40

45

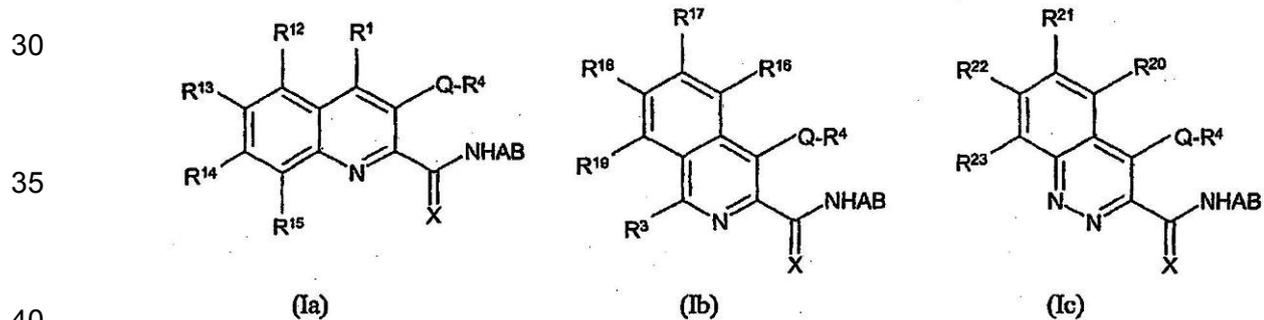
50

55

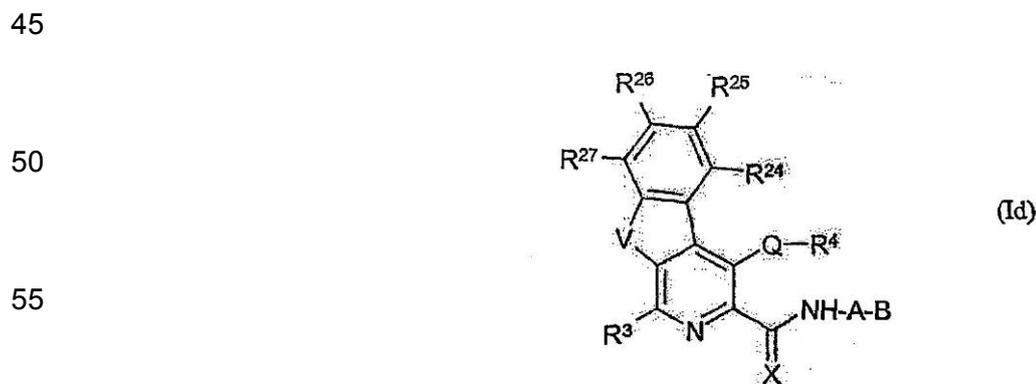
60

65

(C1-C4)-alkilimino, N-(C6-C12)-arilimmo, N-(C7-C16)-aralkilimino, N-(C1-C4)-alkoxi-(C1-C6)-alkilimino, and h is from 3 to 7; carbamoiloxi, N-(C1-C12)-alkilcarbamoiloxi, N,N-di-(C1-C12)-alkilcarbamoiloxi, N-(C3-C8)-cicloalkilcarbamoiloxi, N-(C6-C16)-arilcarbamoiloxi, N-(C7-C16)-aralkilcarbamoiloxi, N-(C1-C10)-alkil-N-(C6-C12)-arilcarbamoiloxi, N-(C1-C10)-alkil-N-(C7-C16)-aralkilcarbamoiloxi, N-((C1-C10)-alkil)carbamoiloxi, N-((C6-C12)-ariloxi-(C1-C10)-alkil)carbamoiloxi, N-((C7-C16)-aralkiloxi-(C1-C10)-alkil)carbamoiloxi, N-(C1-C10)-allcil-N-((C1-C10)-alkoxi-(C1-C10)-alkil)carbamoiloxi, N-(C1-C10)-allcil-N-((C6-C12)-ariloxi-(C6-C12)-alkil)carbamoiloxi, N-(C1-C10)-alkil-N-(C7C16)-aralkiloxi-(C1-C10)-alkil)carbamoiloxi, amino, (C1-C12)-alkilamino, di-(C1C12)-alkilamino, (C3-C8)-cicloalkilamino, (C3-C12)-alkenilamino, (C3-C12)-alkinilamino, N-(C6-C12)-arilamino, N-(C7-C11)-aralkilamino, N-alkil-aralkilamino, N-alkil-arilamino, (C1-C12)-alkoxiamino, (C1-C12)-alkoxi-N-(C1-C10)-alkilamino, (C1-C12)-alkanoilamino, (C3-C8)-cicloalkanoilamino, (C6-C12)-arilamino, (C7-C16)-aralkanoilamino, (C1-C12)-alkanoil-N-(C1-C10)-alkilamino, (C3-C8)-cicloalkanoil N-(C1-C10)-alkilamino, (C6-C12)-aril-N-(C1-C10)-alkilamino, (C7-C11)-aralkanoil-N-(C1-C10)-alkilamino, (C1-C12)-alkanoilamino-(C1-C8)-alkil, (C3-C8)-cicloalkanoilamino-(C1-C8)-alkil, (C6-C12)-arilamino-(C1-C8)-alkil, (C7C16)-aralkanoilamino-(C1-C8)-alkil, amino-(C1-C10)-alkil, N-(C1-C10)-alkilamino-(C1-C10)-alkil, N,N-di-(C1-C10)-alkilamino-(C1-C10)-alkil, (C3-C8)-cicloalkilamino-(C1-C10)-alkil, (C1-C12)-alkilmercapto, (C1-C12)-alkilsulfinil, (C1-C12)-alkilsulfonyl, (C6-C16)-arilmercapto, (C6-C16)-arilsulfinil, (C6-C16)-arilsulfonyl, (C7-C16)-aralkilmercapto, (C7-C16)-aralkilsulfinil, or (C7-C16)-aralkilsulfonyl; o donde R¹ y R² o R² y R³ forman una cadena [CH₂]_o, que es saturada o no saturada por una doble unión de C=C, donde 1 o 2 CH₂ grupos se sustituyen opcionalmente por O, S, SO, SO₂ o NR' y R' es hidrógeno, (C6-C12)-aril, (C1C8)-alkil, (C1-C8)-alkoxi-(C1-C8)-alkil, (C7-C12)-aralkoxi-(C1-C8)-alkil, (C6-C12)-ariloxi-(C1C8)-alkil, (C1C10)-alkanoil, opcionalmente sustituido por (C7C16)-aralkanoil o opcionalmente sustituido por (C6-C12)-aril; y o es 3, 4 o 5; o donde los radicales R¹, R² o R² y R³, junto con la piridina o piridazina que los transporta, forman un anillo de 5,6,7,8-tetrahidroisoquinolina, un anillo de 5,6,7,8-tetrahidroquinolina, o un anillo de 5,6,7,8-tetrahidrocinolina; donde R¹ y R² o R² y R³ forman un anillo aromático carbocíclico o heterocíclico de 5- o 6- miembros; o donde R¹ y R² o R² y R³ junto con la piridina o piridazina que los transporta, forman sistemas de anillo heterocíclico opcionalmente sustituido seleccionados entre tienopiridinas, furanopiridinas, piridopiridinas, pirimidinopiridinas, imidazopiridinas, tiazolopiridinas, oxazolopiridinas, quinolina, isoquinolina y cinolina; donde la quinolina, isoquinolina o cinolina preferentemente satisfacen las fórmulas Ia, Ib and Ic:



y los sustituyentes R¹² a R²³ en cada caso independientemente unas de las otras tienen el significado de R¹ R² y R³; o donde los radicales R¹ y R², junto con la piridina que los transporta, forman un compuesto de Fórmula Id:



donde V es S, O, o NR^k y R^k se selecciona entre hidrógeno, (C₁-C₆)-alkil, aril o benzil; donde un radical arilo puede ser sustituido por entre 1 y 5 sustituyentes como se han definido anteriormente; y R²⁴, R²⁵, R²⁶ y R²⁷ en cada caso de forma independiente unos de los otros tienen el significado de R¹, R² y R³; f es de 1 a 8; g es de 0 o 1 a (2f+1); x es de 0 a 3; y

h es de 3 a 7;

incluyendo las sales y profármacos fisiológicamente activos derivados de los anteriores.

5 **[0164]** En las Patentes Europeas con números EP0650960 y EP0650961 se describen a modo de ejemplo los compuestos con arreglo a la Fórmula (I), en concreto los indicados en las reivindicaciones de compuestos y los ejemplos prácticos de los productos finales. Los ejemplos de compuestos de la Fórmula (I) incluyen, entre otros, [(3-Hidroxi-piridina-2-carbonil)-ácido amino]-acético y [(3-inetoxi-piridina-2-carbonil)-ácido amino]-acético.

10 **[0165]** Además, en la Patente de los EEUU nº 5.658.933 se describen ejemplos de compuestos con arreglo a la Fórmula (1), en concreto, los indicados en las reivindicaciones de compuestos y los productos finales de los ejemplos prácticos. Los ejemplos de compuestos de Fórmula (I) incluyen, entre otros, ácido 3-metoxipiridina-2-carboxílico N-(((hexadeciloxi)-carbonil)-me-til)-amidehidroclorido, 3-metoxipiridina-2-carboxílico acid N-(((1-actiloxi)-carbonil)-metil)-amide, 3-metoxipi-ridine-2-carboxílico acid N-(((hexiloxi)-carbonil)-metil)-amide, ácido 3-metoxipiridina-2-carboxílico N-(((buti-loxi)-carbonil)-metil)-amide, ácido 3-metoxipiridina-2-carboxílico N-(((heptiloxi)-carbonil)-metil)-amide, 3-benziloxipiridina-2-carboxílico acid N-(((octiloxi)-carbonil)-metil)-amide, ácido 3-benziloxipiridina-2-carboxílico N-(((butiloxi)-carbonil)-me-til)-amide, 5-(((3-(1 -butiloxi)-propil)-amino)-carbonil) ácido -3-metoxipiridina-2-carboxílico N-((benziloxi-carbo-nil)-metil)-amide, 5-(((3-(1-butiloxi)-propil)-amino)-carbonil) ácido - 3-metoxipiridina-2-carboxílico N-(((1-buti-loxi)-carbonil)-metil)-amide, and 5-(((3-lauriloxi)-propil)amino)-carbonil)- ácido 3-metoxipiridina-2-carboxílico N-(((benziloxi)-carbonil)-metil)-amide.

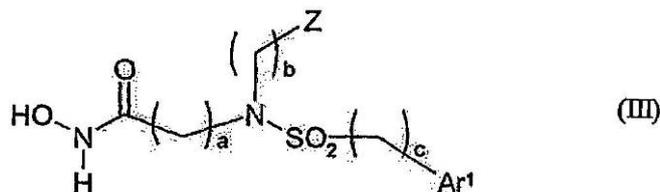
25 **[0166]** Los compuestos adicionales con arreglo a la Fórmula (I) se sustituyen con carbohixamidos heterocíclicos descritos en la Patente de los EEUU nº 5.620.995; 3-hydroxypyridine-2-carboxamidoesters descritos en la Patente de los EEUU nº 6.020.350; los sulfonamido-carbonylpyridine-2-carboxamides descritos en la Patente de los EEUU 5.607.954; y los ésteres sulfonamidocarbonyl-pyridine-2-carbox-amides y sulfonamidocarbonyl-pyridine-2-carboxamide descritos en la Patente de los EEUU nº 5.610.172 y 5.620.996, en concreto, los compuestos indicados en las reivindicaciones de compuestos y los productos finales de los ejemplos prácticos.

30 **[0167]** Los ejemplos de compuestos con arreglo a la Fórmula (1a) se describen en la Patente de los EEUU nº 5.719.164 y 5.726.305, en concreto, los indicados en las reivindicaciones de compuestos y los productos finales de los ejemplos prácticos. Los ejemplos de compuestos de la Fórmula (1a) incluyen, entre otros, N-((3-hydroxy-6-isopropoxy-quinoline-2-carbonyl)-amino)-ácido acético, N-((6-(1-butiloxi)-3-hidroxiquinolin-2-il)-carbonil)-glicine, [(3-hidroxi-6-trifluorometoxi-quinoline-2-carbonil)-ami-no]-á c i d o a c é t i c o , N-((6-chloro-3-hidroxiquinolin-2-il)-carbonil)-glicine, N-((7-cloro-3-hidroxiquinolin-2-il)-carbon-il)-glicina [(6-cloro-3-hidroxi-quinoline-2-carbonil)-amino]-ácido acético.

40 **[0168]** Los ejemplos de compuestos con arreglo a la Fórmula (Ib) se describen en la Patente de los EEUU nº 6.093.730, en concreto, los indicados en las reivindicaciones de compuestos y productos finales de los ejemplos prácticos. Los ejemplos de compuestos de Fórmula (1b) incluyen, entre otros, N-((1-cloro-4-hidroxi-7-(2-propiloxi) isoquinolin-3-il)-carbonil)-glicine, N-((1-cloro-4-hidroxi-6-(2-propiloxi) isoquinolin-3-il)-carbonil)-glicine, N-((1-cloro-4-hidroxi-isoquinoline-3-carbon-il)-amino)-ácido acético (compuesto A), N-((1-cloro-4-hidroxi-7-metoxiisoquinolin-3-il)-carbonil)-g l i c i n e , N-((1-clo-ro-4-hidroxi-6-metoxiisoquinolin-3-il)-carbonil)-glicine, N-((7-butiloxi)-1-cloro-4-hidroxiisoquinolin-3-il)-carbon-il)-glicine, N-((6-benziloxi-1-cloro-4-hidroxiisoquinoline-3-carbonil)-amina)-ácido acético, ((7-benziloxi-1-cloro-4- hidroxi-isoquinoline-3-carbonil)-amino)-ácido acético metil éster, N-((7-benziloxi-1-cloro-4-hidroxiisoquinoline-3-carbonil)-amino)-ácido acético, N-((8-cloro-4-hidroxiisoquinolin-3-il)-carbonil)-glicine, N-((7-butoxi-4-hidroxi-isoqui-noline-3-carbonil)-amino)-ácido acético.

50 **[0169]** Además, los compuestos relacionados con la Fórmula (I) incluyen, entre otros, 6-ciclohexil-1-hidroxi-4-metil-1H-piridin-2-one, 7-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-5-fenilsulfanilmetil-quinolin-8-ol, 4-nitroquinolin-8-ol, 5-bu-toximetil-quinolin-8-ol, [(4-Hidroxi-7-fenoxi-isoquinoline-3-carbonil)-amino]-ácido acético (compuesto B), y [(4-Hi- droxi-7-fenilsulfanil-isoquinoline-3-carbonil)-amino]-ácido acético (compuesto C). Además, el invento proporciona ejemplos adicionales de compuestos donde, por ejemplo, la posición A y B conjuntas podrían ser, por ejemplo, ácido hexanoico, cianometil, 2-aminoetil, ácido benzoico, 1H benzoimidazol-2-ilrnetil, etc.

55 **[0170]** En otras representaciones, los compuestos de esta presentación se seleccionan de entre un compuesto de la fórmula (III)



65 O sales aceptables en farmacología, donde:

a es un entero del 1 al 4;
 b es un entero del 0 al 4;
 c es un entero del 0 al 4;

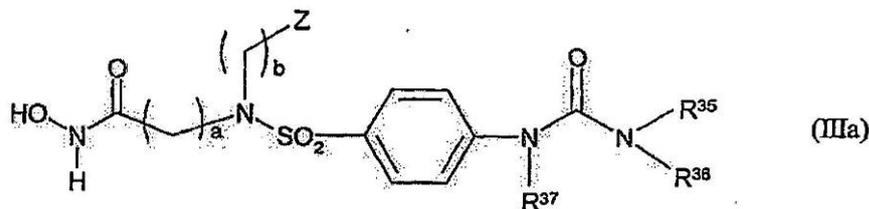
Z se selecciona del grupo que consta de (C₃-C₁₀) cicloalkil, (C₃-C₁₀) cicloalkil sustituido independientemente por Y¹-10 heterocicloalkil de uno o más miembros y heterocicloalkil de 3-10 miembros sustituidos de forma independiente con uno o más Y¹; (C₅-C₂₀) arilo, (C₅-C₂₀) arilo sustituido independientemente con heteroarilo de uno o más miembros Y¹ 5-20 y heteroarilo de 5-20 miembros sustituido independientemente por uno o más Y¹ Ar¹ es seleccionado del grupo que consta de (C₅-C₂₀) arilo, (C₅-C₂₀) arilo sustituido independientemente por uno o más Y², heteroarilo de 5-20 miembros y heteroarilo de 5-20 miembros sustituido independientemente por uno o más Y²;

Cada Y¹ se selecciona independientemente del grupo que consta de un grupo funcional lipofílico, (C₅-C₂₀) arilo, (C₆-C₂₆) alkaril, heteroarilo de 5-20 miembros y akl-heteroaril de 6-26 miembros;

Cada Y² se selecciona independientemente del grupo que consta de -R¹, -OR¹, -OR¹, -SR¹, -SR¹, -NR¹R¹, -NO₂-CN, -halógeno, -trihalometil, trihalometoxi, -C(O)R¹, -C(O)OR¹, -C(O)NR¹R¹, -C(O)NR¹OR¹, -C(NR¹R¹)=NOR¹, -NR¹-C(O)R¹, -SO₂R¹, -SO₂R¹, -NR¹-SO₂-R¹, -NR¹-C(O)-NR¹R¹, tetrazol-5-yl, NR¹-C(O)-OR¹, -C(NR¹R¹)=NR¹, -S(O)-R¹, -S(O)-R¹ y -NR¹-C(S)-NR¹R¹; y

Cada R¹ se selecciona independientemente del grupo que consta de -H, (C₁-C₈) alkil, (C₂-C₈) alkenil y (C₂-C₈) alkinil; y

cada R² se selecciona independientemente del grupo que consta de (C₅-C₂₀) arilo y (C₅-C₂₀) arilo sustituido independientemente con uno o más -OR¹, -SR¹, -NR¹R¹, -NO₂-CN, grupos halógenos o trihalometil, o donde c es 0 y Ar¹ es una urea-aril con N¹ sustituida, el compuesto tiene la fórmula estructural (IIIa):



O sales aceptables farmacológicamente, donde:

a, b y Z están conforme a la definición anterior; y

R³⁵ y R³⁶ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consta de hidrógeno, (C₁-C₈) alkil, (C₂-C₈) alkenil, (C₂-C₈) alkinil, (C₃-C₁₀) cicloalkil, (C₅-C₂₀) arilo, (C₅-C₂₀) arilo sustituido, (C₆-C₂₆) alkaril, (C₆-C₂₆) alkaril sustituido, heteroarilo de 5-20 miembros, heteroarilo sustituido de 5-20 miembros, alk heteroarilo de 6-26 miembros y alk-heteroarilo de 6-26 miembros sustituido;

Y R³⁷ se selecciona independientemente de entre el grupo que consta de hidrógeno, (C-C) alkil, (C-C) alkenil y (C-C) alkinil.

[0171] Los compuestos de ejemplo de Fórmula (III) se describen en la Publicación Internacional nº WO 00/54390, en concreto, los indicados en las reivindicaciones de los compuestos y los productos finales de los ejemplos prácticos. Los compuestos de ejemplo de la Fórmula (III) incluyen 3-{[4-(3,3-dibenzil-ureido)-benzenesulfonil]-[2-(4-metoxifenil)-etil]-amino}-N-hidroxi-propionamida (compuesto D), 3-{[4-(3-(4-cloro-fenil)-ureido)-benzenesulfonil]-[2-(4-metoxifenil)-etil]-amino}-N-hidroxi-propionamida y 3-{[4-(3-(1,2-difenil-etil)-ureido)-benzenesulfonil]-[2-(4-metoxifenil)-etil]-amino}-N-hidroxi-propionamida.

[0172] También se presentan los métodos para identificar los compuestos del invento. La capacidad de un compuesto para estabilizar o activar HIF α puede medirse, por ejemplo, por la medición directa de HIF α en una muestra, medición indirecta de HIF α , por ejemplo, midiendo una reducción de HIF α asociada con la proteína von Hippel Lindau (ver, por ejemplo, la Publicación Internacional nº WO 00/69908), o la activación de genes diana con respuesta HIF o componentes indicadores (ver, por ejemplo, la Patente de los EEUU nº 5.942.434). La medición y comparación de los niveles de HIF y/o HIF-proteínas de diana de respuesta en ausencia y presencia del compuesto identificarán compuestos que estabilizan HIF α y/o activan HIF.

[0173] Las pruebas para la actividad de hidroxilasa son estándar en esta técnica. Dichas pruebas pueden medir directa o indirectamente la actividad de hidroxilasa. Por ejemplo, una prueba puede medir los residuos hidroxilados, por ejemplo, prolina, asparagina, etc., presentes en el sustrato de la enzima, por ejemplo, una proteína diana, un péptido sintético mimético o un fragmento de ellos. (Ver, por ejemplo, Palmerini et al. (1985) J Chromatogr 339:285-292). Una reducción de residuos hidroxilados, por ejemplo, prolina o asparagina, en presencia de un compuesto, es indicativa de un compuesto que inhibe la actividad de hidroxilasa. De forma alternativa, las pruebas pueden medir otros productos de la reacción de hidroxilación, por ejemplo, la formación de succinato a partir de 2-oxoglutarato. (Ver, por ejemplo, Cunliffe et al. (1986) Biochem J 240:617-619). Kaule y Gunzler (1990; Anal Biochem 184:291-297) describen un ejemplo de procedimiento que mide la producción de succinato a partir de 2-oxoglutarato.

[0174] Pueden usarse procedimientos como los anteriormente descritos para identificar compuestos que modulan la actividad de hidroxilasa HIF. Las proteínas diana pueden incluir HIF α o un fragmento suyo, por ejemplo, HIF(556-

575). La enzima podría incluir, por ejemplo, hidroxilasa prolil HIF (ver, por ejemplo, Entrada del Genbank n° AAG33965, etc.) o hidroxilasa asparaginil HIF (ver, por ejemplo, Entrada del Genbank n° AAL27308, etc), obtenida a partir de cualquier fuente. La enzima también puede estar presente en un lisado celular en bruto o en una forma especialmente purificada. Por ejemplo, los procedimientos que miden la actividad de hidroxilasa HIF se describen en Ivan et al. (2001, Science 292:464-468 y 2002, Proc Natl Acad Sci USA 99:13459-13464) y Hirsila et al. (2003, J Biol Chem 278:30772-30780); en la Publicación Internacional n° WO 03/049686 se describen métodos adicionales. La medición y comparación de la actividad enzimática en ausencia y presencia del compuesto identificará compuestos que inhiben la hidroxilación de HIF α .

10 **[0175]** Los compuestos del invento tal y como se definen las reivindicaciones anexas también producen un efecto mensurable, in vitro o in vivo, tal y como se demuestra por la eritropoyesis mejorada, el metabolismo férrico mejorado o la mejora terapéutica de trastornos como, por ejemplo, el déficit de hierro, incluido el déficit funcional de hierro; la anemia de enfermedad crónica, déficit de hierro y microcitosis o anemia microcítica; o un trastorno asociado inflamación, infección, inmunodeficiencia o trastorno neoplásico.

15 **[0176]** El efecto cuantificable puede ser cualquiera de los siguientes parámetros: aumento de hemoglobina, hematocrito, reticulocito, conteo de glóbulos rojos, EPO de plasma, etc.; metabolismo férrico mejorado, como se mide por la reducción de síntomas observados, entre los que se incluyen, por ejemplo, mitigación de fatiga crónica, palidez, mareos, etc, o por el aumento de niveles de hierro en suero, modificación de niveles de ferritina en suero, % de saturación de transferrina, capacidad total de unión de hierro, conteo mejorado de reticulocito, hemoglobina, hematocrito, por ejemplo, todos ellos medidos por medio de análisis de sangre estándar de conteo.

Fórmulas farmacéuticas y vías de administración

25 **[0177]** Los compuestos del presente invento pueden proporcionarse de forma directa o en compuestos farmacológicos que contienen excipientes, como se conoce en la técnica. Los métodos para tratamiento presentados pueden incluir la administración de una cantidad eficaz de un compuesto del presente invento a un sujeto que tiene o está en riesgo de tener un trastorno metabólico; especialmente un trastorno asociado con la regulación de glucosa, por ejemplo, diabetes, hiperglucemia, etc. En una de las mejores representaciones, el sujeto es un mamífero, y en la mejor representación, el sujeto es un humano.

30 **[0178]** Una cantidad eficaz, por ejemplo, dosis, de compuesto o medicamento puede determinarse por medio de un experimento rutinario, de la misma forma que una vía eficaz y adecuada para la administración y una formulación apropiada. En este ámbito se dispone de varias fórmulas y sistemas de suministro de medicamento. (Ver, por ejemplo, Gennaro, ed. (2000) Remington's Pharmaceutical Sciences (Ciencia farmacéutica de Remington), *supra*; and Hardman, Limbird, and Gilman, eds. (2001) The Pharmacological Basis of Therapeutics (La base farmacológica de las técnicas terapéuticas), *supra*).

40 **[0179]** Las rutas adecuadas para la administración podrían, por ejemplo, incluir la administración oral, rectal, tópica, nasal, pulmonar, ocular, intestinal y parenteral. Las vías principales para la administración parenteral incluyen la intravenosa, intramuscular y subcutánea. Las vías secundarias para la administración incluyen la intraperitoneal, intra-arterial, intra-articular, intracardiaca, intracisternal, intradérmica, intralesional, intraocular, intrapleural, intratecal, intrauterina e intraventricular. La indicación de tratamiento, junto con las propiedades físicas, químicas y biológicas del medicamento, indican el tipo de formulación y la vía de administración para su uso, así como si es preferible la administración local o sistémica.

45 **[0180]** Las dosificaciones de un compuesto del invento podrían ser de liberación instantánea, liberación controlada, liberación sostenida, o sistema de liberación específica. Las formas de dosificación más habituales incluyen, por ejemplo, soluciones y suspensiones, (micro-) emulsiones, pomadas, geles y parches, liposomas, tabletas, grageas, cápsulas de cubierta blanda o dura, supositorios, óvulos, implantes, polvo amorfo o cristalino, aerosoles, y fórmulas liofilizadas. Dependiendo de la vía que se use para la administración, podrían necesitarse instrumentos especiales para la aplicación o administración del medicamento, como, por ejemplo, jeringas y agujas, inhaladores, bombas, plumas de inyección, aplicadores o matraces especiales. Las formas de dosificación farmacológica con frecuencia se componen del medicamento, un excipiente o excipientes y un sistema de envase/cierre. Pueden añadirse uno o varios excipientes, también denominados ingredientes inactivos, a un compuesto del invento para mejorar o facilitar la fabricación, estabilidad, administración y seguridad del medicamento y pueden proporcionar un medio para conseguir un perfil adecuado de liberación del medicamento. Por lo tanto, el tipo de excipiente(s) que se va a añadir al medicamento puede depender de varios factores, como, por ejemplo, las propiedades físicas y químicas del medicamento, la vía de administración y el proceso de fabricación. Existen excipientes aceptables farmacológicamente e incluyen los detallados en varias farmacopeas. (Ver, por ejemplo, USP, JP, EP y BP, la página web de la FDA (www.fda.gov), Inactive Ingredient Guide (Guía de ingredientes inactivos) 1996, y Handbook of Pharmaceutical Additives (Manual de aditivos farmacéuticos), ed. Ash; Synapse Information Resources, Inc. 2002).

60 **[0181]** Las formas de dosificación farmacéutica de un compuesto del presente invento pueden fabricarse por cualquiera de los métodos conocidos, como, por ejemplo, por medio de procesos de mezcla convencional, criba,

disolución, fundición, granulado, fabricación de grageas, elaboración de comprimidos, suspensión, extrusión, secado por aspersión, levigación, emulsionado, (nano/micro-) encapsulado, oclusión o liofilización. Como se ha indicado, la composición del presente invento puede incluir uno o más ingredientes aceptables fisiológicamente que faciliten el procesamiento de moléculas activas en preparaciones de uso farmacéutico.

5 **[0182]** La formulación adecuada depende de la vía que se quiera usar para la administración. Para inyección intravenosa, por ejemplo, la composición puede formularse en solución acuosa, si fuera necesario usando un regulador fisiológicamente compatible, incluido, por ejemplo, fosfato, histidina o citrato para el ajuste de la formulación pH y un agente de tonicidad, como, por ejemplo, cloruro sódico o dextrosa. Para la administración por transmucosas o nasal, se prefieren formulaciones semisólidas, líquidas, o parches, posiblemente que contengan facilitadores de la presentación. Dichos agentes penetrantes son de conocimiento general en este ámbito. Para la administración oral, los compuestos pueden formularse en formas de dosificación líquidas o sólidas y como fórmulas de liberación instantánea o controlada/sostenida. Las formas adecuadas de dosificación para la ingestión oral por parte de un sujeto incluyen comprimidos, pastillas, grageas, cápsulas de cobertura blanda y dura, líquidos, geles, siropes, semilíquidos, suspensiones y emulsiones. Los compuestos también podrían formularse en composiciones rectales, como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, con bases supositorias convencionales como manteca de cacao u otros glicéridos.

20 **[0183]** Las formas de dosificación sólidas pueden obtenerse usando excipientes, que podrían incluir agentes de relleno, desintegradores, de unión (seca y húmeda), retardadores de la disolución, lubricantes, deslizadores, antiadherentes, resinas de intercambio catiónico, agentes humidificadores, antioxidantes, conservantes, colorantes y saborizantes. Estos excipientes pueden tener procedencia sintética o natural. Entre los ejemplos de dichos excipientes se incluyen los derivados de la celulosa, ácido cítrico, fosfato de dicalcio, gelatina, carbonato de magnesio, sulfato lauril de magnesio/sodio, manitol, glicol de polietileno, pirrolidona de polivinilo, silicatos, dióxido de silicio, benzoato de sodio, sorbitol, almidones, ácido esteárico o una sal procedente de él, azúcares (por ejemplo, dextrosa, sacarosa, lactosa, etc), talco, mucílago de tragacanto, aceites vegetales (hidrogenados) y ceras. El etanol y el agua pueden servir como ayudas para la granulación. En ciertos casos, es adecuado revestir los comprimidos con, por ejemplo, una película saborizante, una película resistente a los ácidos estomacales o una película retardante de la liberación. Con frecuencia se usan polímeros naturales y sintéticos, en combinación con colorantes, azúcares y disolventes naturales o agua, para revestir comprimidos, lo que tiene como resultado grageas. Cuando se prefiere una cápsula en lugar de un comprimido, el polvo del medicamento, suspensión o solución del mismo puede proporcionarse en una cápsula de cobertura blanda o dura compatible.

35 **[0184]** En una representación, los compuestos del presente invento pueden administrarse por vía tópica, como a través de un parche cutáneo, una fórmula semi-sólida o líquida, por ejemplo un gel, una (micro-) emulsión, una pomada, una solución, una suspensión (nano/micro), o una espuma. La penetración del medicamento en la piel y tejidos subyacentes pueden regularse, por ejemplo, usando intensificadores de la penetración; la elección adecuada y la combinación de excipientes lipofílico, hidrofílico y anfifílico, incluida el agua, disolventes orgánicos, ceras, aceites, polímeros sintéticos y naturales, surfactantes, emulsificantes; por medio del ajuste del pH; usando agentes complejantes. Pueden usarse otras técnicas, como la iontoforesis para regular la penetración cutánea de un compuesto del invento. En situaciones en las que se prefiera una vía local con una exposición sistémica mínima podría preferirse la administración transdérmica o tópica.

45 **[0185]** Para la administración por inhalación, o administración a la nariz, los compuestos para su uso de acuerdo con el presente invento se proporcionan en forma de solución, suspensión, emulsión o aerosol semisólido en packs presurizados, o un nebulizador, normalmente con el uso de un propulsor, por ejemplo, carbono halogenado derivado del metano y etano, dióxido de carbono u otro gas apropiado. Para aerosoles tópicos, son útiles los hidrocarburos como el butano, isobutano y el pentano. En caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosis adecuada podría definirse proporcionando una válvula configurada para una cantidad medida. Pueden formularse cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina, para su uso en un inhalador o insuflador. Normalmente contienen una mezcla de polvo del compuesto y una base de polvo como lactosa o almidón.

50 **[0186]** Los compuestos formulados para administración parenteral por inyección normalmente son estériles y pueden presentarse en forma dosificada, por ejemplo, en ampollas, jeringas, plumas de inyección o en envases multidosis, este último normalmente con un conservante. Los compuestos pueden tomar formas como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos y pueden contener agentes de formulación, como activadores, agentes de tonicidad, agentes que aumentan la viscosidad, surfactantes, agentes de suspensión y dispersión, antioxidantes, polímeros biocompatibles, agentes quelantes y conservantes. Dependiendo del área de la inyección, el vehículo podría contener agua, un aceite sintético o vegetal, y/o co-disolventes orgánicos. En ciertos casos, como con un producto liofilizado o un concentrado, la formulación parenteral se reconstituiría o diluiría antes de administrarse. Las fórmulas de depósito, que proporcionan una liberación controlada o sostenida de un compuesto del invento, podrían incluir suspensiones inyectables de nano/micro partículas o cristales nano/micro o no-micronizados. Los polímeros como el poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), o sus copolímeros, pueden servir como matrices de liberación controlada/sostenida, junto con otros conocidos en este ámbito. Podrían presentarse otros sistemas de administración de depósito en forma de implantes y bombas que necesitan incisión.

5 [0187] Los portadores adecuados para la inyección intravenosa para las moléculas del invento son bien conocidos en este ámbito e incluyen soluciones de base acuosa que contienen una base, como, por ejemplo, hidróxido de sodio, para formar un compuesto ionizado, sucrosa o cloruro de sodio como agente de tonicidad, por ejemplo, el activador contiene fosfato o histidina. Pueden añadirse co-disolventes, como, por ejemplo, glicoles polietileno. Estos sistemas de base acuosa son eficaces para disolver compuestos del invento y producen un bajo nivel de toxicidad en su administración en el sistema. Las proporciones de los componentes de un sistema de solución podrían variar considerablemente, sin destruir sus características de solubilidad y toxicidad. Además, la identidad de los componentes podría variar. Por ejemplo, podrían usarse surfactantes de baja toxicidad, como los poliabsorbatos o poloxámeros, igual que el glicol de polietileno u otros co-disolventes, podría añadirse polímeros biocompatibles como pirrolidona de polivinilo y otros azúcares polioles podrían sustituirse por dextrosa.

15 [0188] Para una composición útil para los métodos de tratamiento que se presentan, puede estimarse una dosis terapéuticamente eficaz de forma inicial usando varias técnicas conocidas en este ámbito. Las dosis iniciales que se usan para estudios sobre animales podrían basarse en concentraciones eficaces establecidas en ensayos de cultivo de células. La gama de dosificación adecuada para sujetos humanos puede determinarse, por ejemplo, usando datos obtenidos a partir de estudios sobre animales y pruebas de cultivo de células.

20 [0189] Una dosis o una cantidad de un compuesto, agente o medicamento del presente invento que sea terapéuticamente eficaz hace referencia a la cantidad o dosis del compuesto, agente o medicamento que tiene como resultado la corrección de síntomas o una prolongación de la supervivencia en un sujeto. La toxicidad y eficacia terapéutica de dichas moléculas puede determinarse por medio de procedimientos farmacológicos estándar en cultivo de células o experimentación con animales, por ejemplo, determinando la LD50 (la dosis letal para el 50% de la población) y la ED50 (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población). La tasa de efectos tóxicos a terapéuticos es el índice terapéutico, que puede denominarse como porcentaje LD50/ED50. Se prefieren los agentes que muestran índices de niveles terapéuticos altos.

30 [0190] La cantidad eficaz o cantidad terapéuticamente eficaz es la cantidad del compuesto o composición farmacéutica que provoca la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o humano que busca el investigador, veterinario, médico u otro personal clínico, por ejemplo, la regulación del metabolismo de glucosa, disminución de niveles de glucosa en sangre elevados o que han aumentado, tratamiento o prevención de desórdenes asociados con la modificación del metabolismo de la glucosa, por ejemplo, diabetes, etc

35 [0191] Las dosis preferentemente caen en una gama de concentraciones en circulación que incluyen la ED50 con escasa o ninguna toxicidad. Las dosis pueden variar dentro de esta gama, dependiendo de la forma de dosis que se ha empleado y/o la vía de administración que se ha usado. La formulación, vía de administración, dosis e intervalo de dosis exactos deberían elegirse con arreglo a los métodos conocidos en este ámbito, con la vista puesta en la especificidad de la situación del sujeto.

40 [0192] La cantidad e intervalo de dosis pueden ajustarse de forma individual para proporcionar unos niveles de plasma de la fracción activa que sean suficientes para conseguir los efectos deseados, por ejemplo, regulación del metabolismo de la glucosa, disminución de los niveles de glucosa en sangre, etc, por ejemplo, concentración mínima eficaz (MEC, por sus siglas en inglés). MEC variará para cada compuesto pero puede estimarse a partir de, por ejemplo, datos in vitro y experimentos en animales. Las dosis necesarias para conseguir la MEC dependerán de las características individuales y la vía de administración. En caso de administración local o retención selectiva, la concentración local eficaz del medicamento podría no estar relacionada con la concentración de plasma.

50 [0193] La cantidad de agente o compuesto que se administre podría depender de varios factores, incluido el sexo, edad y peso del sujeto que se trata, la gravedad de la enfermedad, la forma de administración y el criterio del médico que hace la prescripción.

55 [0194] Los presentes compuestos podrían, si se desea, presentarse en un pack o un dispensador que contenga una o más unidades de dosificación con el ingrediente activo. Dicho pack o dispensador podría, por ejemplo, incluir una hoja de plástico o metal, como en un envase blíster, o tapón de caucho y cristal como en los viales. El pack o dispensador podría acompañarse de instrucciones para su administración. También podrían prepararse composiciones que incluyan un compuesto del invento formulado en un portador compatible farmacológicamente, en un recipiente adecuado y etiquetado para el tratamiento de una enfermedad indicada.

[0195] Estas y otras representaciones del presente invento se apreciarán fácilmente por parte de quienes tengan un conocimiento normal en este ámbito, cuando vean el presente documento.

60 EJEMPLOS

65 [0196] El invento se entenderá mejor haciendo referencia a los siguientes ejemplos, preparados únicamente a modo de ejemplo del invento. Estos ejemplos se facilitan únicamente para ilustrar el invento reivindicado. Las representaciones que se ejemplifican son únicamente ilustraciones de aspectos concretos del invento.

Ejemplo 1: Superación de los efectos supresores de TNF- α sobre la producción de EPO

5 [0197] Las células Hep3B han sido tratadas con varias concentraciones (0, 0,4, 2, 10 ng/ml) de TNF- α en ausencia o presencia del compuesto A o compuesto B durante 3 días. Los niveles de EPO secretada se determinaron usando un kit disponible comercialmente ELISA (R&D Systems, catálogo n° DEP00). En ausencia del compuesto, el tratamiento de las células Hep3B con una producción de TNF- α con reducción de EPO en una fórmula dependiente de la dosis. Las células Hep3B tratadas con varias concentraciones del compuesto A (Figura 1A) o del compuesto B (Figura 1B) en ausencia de TNF- α mostraron un aumento dependiente de la dosis sobre la producción de EPO. Al añadir cualquiera de los compuestos en presencia TNF- α redujo ampliamente los efectos inhibitorios de TNF- α sobre la producción de EPO. Se ha observado la superación del efecto supresor de TNF- α sobre la producción de EPO por inhibición de hidroxilasa proliil en presencia de concentraciones bajas (por ejemplo, 0,4 ng/ml) y altas (por ejemplo, 10 ng/ml) de TNF- α . Por lo tanto, los efectos inhibitorios de la citocina inflamatoria TNF- α sobre la producción de EPO fueron superados por la inhibición de actividad de hidroxilasa proliil usando compuestos del presente invento. Estos resultados sugirieron que los compuestos del presente invento son útiles para aumentar la producción de EPO en presencia de la citocina inflamatoria TNF- α . Además, los compuestos del presente invento son útiles para aumentar la producción de EPO y, por lo tanto, para tratar la anemia en un sujeto, por ejemplo, donde el sujeto tiene un trastorno asociado con TNF- α como inflamación aguda o crónica o otra anemia de enfermedad crónica.

20 [0198] Se llevaron a cabo varios experimentos para examinar los efectos de compuestos del presente invento sobre la producción de EPO que sigue a la exposición de las células a la citocina inflamatoria TNF- α (por ejemplo, en células ya expuestas a TNF- α). En estos experimentos, las señales de TNF- α se iniciarían antes de añadir un inhibidor de hidroxilasa proliil. Las células Hep3B se trataron con varias concentraciones (0, 0,4, 2, 10 ng/ml) de TNF- α durante 2 horas, después de lo cual se añadieron varias concentraciones de compuesto A o compuesto B a las células en cultivo. Los niveles de EPO secretada se determinaron como se ha descrito pasados 3 días de la adición del compuesto.

25 [0199] Tal y como se muestra en las Figuras 2A y 2B, el compuesto A y el compuesto B ha superado los efectos supresores de TNF- α sobre la producción de EPO seguido de un pre-tratamiento de 2 horas de células Hep3B con TNF- α . Estos datos indican que los compuestos del presente invento son útiles para aumentar la producción de EPO en células expuestas a TNF- α . Estos resultados también han sugerido que el tratamiento con compuestos del presente invento proporciona medios útiles para aumentar la producción de EPO y tratar anemia en un sujeto en el que la producción de EPO se ha suprimido por TNF- α .

30 [0200] Añadir compuestos del presente invento ha reducido enormemente los efectos inhibidores de TNF- α sobre la producción de EPO. Por lo tanto, los compuestos del presente invento son útiles para tratar o prevenir la anemia asociada con el aumento de TNF- α , por ejemplo, trastornos inflamatorios.

35 **Ejemplo 2: Superación de los efectos supresores de IL-1 β sobre la producción de EPO**

40 [0201] Las células Hep3B han sido tratadas con varias concentraciones (0, 0,4, 2, 10 ng/ml) de IL-1 β en ausencia o presencia del compuesto A o compuesto B durante 3 días. Los niveles de EPO secretada se determinaron usando un kit ELISA (R&D Systems, catálogo n° DEP00) disponible comercialmente. En ausencia del compuesto, el tratamiento de células Hep3B con IL-1 β redujo la producción de EPO en una forma dependiente de la dosis. Las células Hep3B tratadas con varias concentraciones del compuesto A (Figura 3A) o compuesto B (Figura 3B) en ausencia de IL-1 β mostró un aumento dependiente de la dosis de la producción de EPO. Añadir cualquiera de los compuestos en presencia de IL-1 β ha reducido enormemente los efectos inhibitorios de IL-1 β sobre la producción de EPO. Se observó la superación de los efectos supresores de IL-1 β sobre la producción de EPO por inhibición de hidroxilasa proliil en presencia de concentraciones bajas (por ejemplo, 0,4 ng/ml) y altas (por ejemplo, 10 ng/ml) de IL-1 β . Por lo tanto, los efectos inhibidores de la citocina inflamatoria IL-1 β sobre la producción de EPO se superaron inhibiendo la actividad de hidroxilasa proliil usando compuestos del presente invento. Estos resultados sugieren que los compuestos del presente invento son útiles para aumentar la producción de EPO en presencia de la citocina inflamatoria IL-1 β . Además, los compuestos del presente invento son útiles para aumentar la producción de EPO y, así, tratar la anemia en un sujeto, por ejemplo, cuando el sujeto tiene un trastorno asociado con IL-1 β como inflamación aguda o crónica u otra anemia de enfermedad crónica.

55 [0202] Se llevaron a cabo varios experimentos para examinar los efectos de los compuestos del presente invento sobre la producción de EPO seguida de exposición de las células a la citocina inflamatoria IL-1 β (por ejemplo, en células ya expuestas a IL-1 β). En estos experimentos, la señalización de IL-1 β se iniciaría, por lo tanto, antes de añadir un inhibidor de hidroxilasa proliil. Las células Hep3B se trataron con varias concentraciones (0, 0,4, 2, 10 ng/ml) de IL-1 β durante 2 horas, después de lo cual se añadieron varias concentraciones de compuesto A o compuesto B a las células en cultivo. Los niveles de EPO secretada se determinaron de la forma anteriormente descrita 3 días después de añadir el compuesto.

60 [0203] Tal y como se muestra en las Figuras 4A y 4B, los compuestos A y B han superado los efectos supresores de IL-1 β sobre la producción de EPO que sigue a un pre-tratamiento de 2 horas de las células Hep3B con IL-1 β . Estos datos indican que los compuestos del presente invento son útiles para aumentar la producción de EPO en células expuestas a IL-1 β . Estos resultados también sugieren que el tratamiento con compuestos del presente invento proporciona medios útiles para aumentar la producción de EPO y tratar la anemia en un sujeto en el que la

producción de EPO se ha suprimido por IL-1 β .

[0204] La adición de compuestos del presente invento ha reducido enormemente los efectos inhibitorios de oIL-1 β sobre la producción de EPO. Por lo tanto, los compuestos del presente invento son útiles para tratar o prevenir la anemia asociada con IL-1 β , por ejemplo, trastornos inflamatorios.

Ejemplo 3: Inhibición de la expresión de VCAM-1 inducido por TNF- α

[0205] La adhesividad de las células endoteliales con los linfocitos se da, en parte, por expresión de células endoteliales de moléculas de adhesión de células vasculares (VCAM)-1. La expresión de VCAM-1 en células endoteliales se induce por varias citocinas inflamatorias, como TNF- α . Para investigar el efecto de la inhibición de hidroxilasa proilil de HIF sobre la expresión de TNF- α inducida por VCAM-1, se estimularon las HUVEC (células endoteliales humanas de vena umbilical) con TNF- α en ausencia o presencia de varias concentraciones de compuesto B o compuesto C durante 1 día. Entonces se midió la expresión de VCAM.

[0206] Tal y como se ha mostrado en la Figura 5, TNF- α (1 ng/ml) ha inducido la expresión de VCAM-1 en las células HUVEC. La adición del compuesto B o compuesto C a las células estimuladas por TNF- α , de todas formas, ha tenido como resultado una inhibición dependiente de la expresión de VCAM-1 inducido por TNF- α . Estos datos indican que los métodos y compuestos del presente invento son eficaces para la reducción de la expresión VCAM-1 asociada con la citocina inflamatoria de TNF- α . Los resultados también sugieren que los compuestos del presente invento son útiles para inhibir la expresión de VCAM- 1 asociados con varias enfermedades inflamatorias y autoinmunes, como, por ejemplo, anemia de enfermedad crónica.

Ejemplo 4: Inhibición de la expresión de VCAM-1 inducido por IEL-1 β

[0207] La expresión de VCAM-1 en células endoteliales también es inducida por la citocina inflamatoria IL-1 β . Para investigar el efecto de la inhibición de hidroxilasa proilil HIF sobre la expresión de VCAM-1 inducida por IL-1 β , se estimuló a las HUVEC (células endoteliales humanas de vena umbilical) con IL-1 β en ausencia o presencia de varias concentraciones de compuesto B o compuesto C durante 1 día. En ese momento se midió la expresión de VCAM.

[0208] IL-1 β (1 ng/ml) ha inducido la expresión de VCAM-1 en las células HUVEC. La adición de un compuesto B o compuesto C a las células estimuladas por IL-1 β , de todas formas, ha tenido como resultado una inhibición dependiente de la expresión de VCAM-1 inducida por IL-1 β . (No se muestran datos). Estos resultados indican que los métodos y compuestos del presente invento son eficaces en la reducción de la expresión de VCAM- 1 asociado con la citocina inflamatoria IL-1 β . Los resultados también sugieren que los compuestos del presente invento son útiles para inhibir la expresión de VCAM-1 asociada con varias enfermedades inflamatorias y autoinmunes, como, por ejemplo, anemia de enfermedad crónica.

Ejemplo 5: Inhibición de TNF-a y de la expresión de VCAM-1 inducida por IL-1 β sobre las células endoteliales

[0209] Se ha tratado HUVEC con vías de control o varias concentraciones (0, 20, 40, 80 mM) de compuesto B o compuesto C durante 24 horas. Las células se lavaron y se estimularon con 1 ng/ml de TNF- α o 1 ng/ml de IL-1 β durante 4 horas. La expresión de la superficie celular de VCAM-1 se midió con ELISA de base celular.

[0210] Como se ha mostrado en la Figura 25, el pre tratamiento con inhibidores de hidroxilasa proilil ha disminuido la inducción de la expresión de superficie celular VCAM-1 inducida por las citocinas inflamatorias TNF- α y IL-1 β . Estos resultados indican que los compuestos del invento inhibieron la función inflamatoria de TNF- α y IL-1 β e inhibieron la expresión de las moléculas de adhesión de la superficie celular importante para mediar la adhesión de leucocito heterocelular. La inhibición de la adhesión de leucocito por el tratamiento con los presente compuestos constituye un medio eficaz para disminuir las cascadas inflamatorias, reduciendo la inflamación y el efecto inflamatorio de limitar la producción de EPO y suprimir la eritropoyesis.

Ejemplo 6: Inhibición de expresión de E-selectina inducida por TNF- α

[0211] La E-selectina endotelial pertenece a la familia selectina de las moléculas de adhesión celular que median en la anejió inicial de leucocitos a las células vasculares endoteliales en casos inflamatorios. IL-1, TNF- α y los liposacáridos inducen la expresión de E-selectina. (Ver, por ejemplo, Bevilacqua et al. (1987) Proc Natl Acad Sci USA 84:9238-9242 y Bevilacqua y van Furth (1993) J Leukoc Biol 54:363-378). Para investigar el efecto de la inhibición de hidroxilasa proilil H1F sobre la expresión de E-selectina inducida por TNF- α , se estimularon los HUVECs con 1 ng/ml TNF- α en ausencia o presencia de varias concentraciones de compuesto B o compuesto C durante 1 día. La expresión de E-selectina y VCAM se midieron en ese momento.

[0212] Tal y como se muestra en las Figuras 24A y 24B, el compuesto B y el compuesto C mostraron una inhibición dependiente de VCAM inducido por TNF- α y expresión e E-selectina en HUVECs. Los datos de las Figuras 24A y 24B se presentan como inhibición porcentual de la expresión de VCAM y E-selectina que se observa en respuesta a varias concentraciones de compuesto B (Figura 24A) o compuesto C (Figura 24B). Se ha observado una inhibición de la expresión de VCAM y E-selectina mayor del 60% en HUVEC tratado con 50 mM de compuesto B o compuesto

C. Estos datos indican que los compuestos del presente invento son eficaces en la reducción de la expresión de VCAM y E-selectina en células endoteliales asociadas con la citocina inflamatoria de TNF- α . Los resultados también han sugerido que los compuestos del presente invento son útiles para inhibir la expresión de VCAM y E-selectina asociada con varios trastornos inflamatorios y autoinmunes, como, por ejemplo, anemia de enfermedad crónica. Además, la inhibición de la expresión de células endoteliales de las moléculas de adhesión, incluidas VCAM y E-selectina, por compuestos del presente invento, proporciona medios para reducir hechos iniciales de inflamación vascular.

Ejemplo 7: Inhibición de la expresión de E-selectina inducida por IL-1 β

[0213] Para investigar el efecto de la inhibición de hidroxilasa proil HIF sobre la expresión de E-selectina inducida por IL-1 β , se estimularon HUVECs con 1 ng/ml IL-1 β en ausencia o presencia de varias concentraciones de compuesto B o compuesto C durante 1 día. La expresión de E-selectina se midió en ese momento.

[0214] El compuesto B y el compuesto C muestra una inhibición dependiente de la dosis de expresión de E-selectina inducida por IL-1 β en HUVECs. (No se muestran datos). Estos resultados indican que los métodos y compuestos del presente invento son eficaces en la reducción de expresión de E-selectina en las células endoteliales asociada con la citocina inflamatoria IL-1 β . Los resultados también sugieren que los compuestos del presente invento son útiles para inhibir la expresión de E-selectina asociada con varios trastornos inflamatorios y autoinmunes, como, por ejemplo, anemia de enfermedad crónica. Además, la inhibición de la expresión de células endoteliales de moléculas de adhesión, incluida VCAM y E-selectina, por compuestos del presente invento constituye un método para reducir hechos iniciales de inflamación vascular.

Ejemplo 8: Inhibición de expresión de E-selectina inducida por TNF- α , IL-1 β y IFN- γ

[0215] Se han tratado HUVEC con vías de control o varias concentraciones de compuesto B o compuesto C durante 24 horas. Las células se lavaron y se estimularon con 1 ng/ml TNF- α , 1 ng/ml IL-1 β o una combinación de 1 ng/ml de TNF- α , IL-1 β y IFN- γ durante 4 horas. La expresión de la superficie celular de E-selectina se ha medido por ELISA de base celular.

[0216] Tal y como se muestra en la Figura 26, el pre tratamiento de HUVEC con compuesto B o compuesto C ha inhibido la inducción de expresión de E-selectina de superficie celular inducida por las citocinas inflamatorias TNF- α o IL-1 β . Además, el pre tratamiento con cualquiera de los compuestos disminuyó la expresión de E-selectina en presencia de tres citocinas inflamatorias conocidas por aumentar la expresión de E-selectina (TNF- α , IL-1 β y IFN- γ). Estos resultados han indicado que los presentes compuestos bloquearon la función inflamatoria de TNF- α , IL-1 β y IFN- γ sobre las células endoteliales, tal y como se ejemplifica por la inhibición de la expresión de las moléculas de adhesión de la superficie celular que median en la mezcla de los leucocitos con el endotelio activado. En vista de que la adhesión de leucocitos con el endotelio activado por vía de E-selectina es un paso inicial en la perpetuación de cascadas inflamatorias, la inhibición de la mezcla de leucocitos por inhibición de la expresión de la E-selectina proporciona un medio para reducir las cascadas inflamatorias que limitan la producción de EPO y suprimen la eritropoyesis.

Ejemplo 9: Aumento sinérgico de la producción de EPO

[0217] Se han tratado las células Hep3B con varias concentraciones (0, 0,1, 1,10 ng/ml) de IL-6 en ausencia de la presencia de varias concentraciones (3 mM, 10 mM, 30 mM) del compuesto A o compuesto B durante 1 o 3 días. Los niveles de EPO secretada se determinaron usando un kit ELISA (R&D Systems, catálogo n° DEP00) disponible comercialmente. En ausencia de compuesto, el tratamiento de células Hep3B con IL-6 ha tenido un efecto mínimo sobre la producción de EPO. Tal y como se muestra en las Figuras 27A y 27B, las células Hep3B tratadas con expresión de EPO con aumento de IL-6 ligeramente por encima de las células no tratadas. De forma específica, los niveles de EPO en las células de control era aproximadamente de 20 mIU/ml, mientras que en las células tratadas con 10 ng/ml IL-6 era aproximadamente de 50 mIU/ml.

[0218] Las células Hep3B tratadas con el compuesto A o compuesto B sin IL-6 han mostrado un aumento de los niveles de EPO de forma dependiente de la dosis. Las células Hep3B tratadas con compuesto A o compuesto B en presencia de IL-6, sin embargo, han mostrado un aumento significativo de los niveles de EPO. (Ver Figuras 27A y 27B). El efecto del tratamiento de compuestos sobre la producción de EPO en presencia de IL-6 ha sido sinérgico. Por ejemplo, las células Hep3B tratadas con 10 ng/ml IL-6 han mostrado niveles de aproximadamente 50 mIU/ml EPO. El tratamiento de las células Hep3B con 10 mM de compuesto A o compuesto B en ausencia de IL-6 han tenido como resultado aproximadamente 60 mIU/ml de EPO y 220 mIU/ml, respectivamente. En presencia de 10 ng/ml de IL-6, la adición de compuesto A y compuesto B ha aumentado los niveles de EPO a aproximadamente 270 mIU/ml y mayores de 400 mIU/ml, respectivamente. Por lo tanto, los compuestos del presente invento han actuado de forma sinérgica con IL-6 a la inducción de expresión de EPO en hepatocitos.

Ejemplo 10: Superar la supresión inducida por citocina de señales de receptores de EPO

5 [0219] La línea celular TF-1 (eritroleucemia humana; ATCC cat # CRL-2003) se estimula para proliferar en respuesta a la adición de EPO. En presencia de varias citocinas pro-inflamatorias, el aumento mediado por EPO de la proliferación de células TF-1 se atenúa. Para determinar los efectos de la inhibición de hidroxilasa proliil sobre la proliferación de células TF-1, se han tratado las células TF-1 con las diversas concentraciones de las citocinas pro-inflamatorias IL-1 β , TNF- α o IFN- γ en ausencia o presencia de inhibidoras de hidroxilasa proliil y la proliferación de células mediadas por EPO se mide como se indica a continuación. Los contenedores triplicados de células cultivadas en placas de micro titulación de 96 depósitos se incuban en un medio libre de suero en ausencia o presencia de EPO durante 24 horas. Durante las últimas 4 horas de cultivo, 1 mCi de timidina tritiada (³H-TdR; Amersham) se añade a cada depósito. La respuesta de las células a la señalización de receptores de EPO se determina midiendo la proliferación celular. La proliferación celular se mide cuantificando el total de ³H-TdR incorporado a las células, lisando primero las células con agua y a continuación capturando el ADN con filtros de nylon en una cosechadora celular.

15 [0220] De forma alternativa, la suspensión unicelular de células esplénicas obtenidas de animales tratados con fenilhidrazina, que lleva a la prevalencia de progenitores con respuesta a EPO en el bazo, se usan como fuente para células de respuesta a EPO. La proliferación mediada por EPO entonces se analiza *ex vivo*, como se ha descrito.

20 [0221] Las células TF-1 tratadas con EPO tienen como resultado un aumento de la proliferación celular, como determina un aumento de la incorporación de timina tritiada. Añadir citocinas pro-inflamatorias IL- β , TNF- α o IFN- γ a células TF-1 tratadas con EPO tiene como resultado la disminución de la respuesta a EPO, que lleva a la disminución de proliferación celular. Se determina el efecto de la adición de los presentes compuestos sobre los efectos inhibitorios de citocinas pro-inflamatorias sobre la proliferación de células mediadas por EPO sobre células TF-1. El aumento de la proliferación celular, medido por el aumento de la incorporación de timidina tritiada, en células TF-1 tratadas con EPO y citocinas pro-inflamatorias indica que los compuestos del presente invento superan los efectos supresores de citocinas pro-inflamatorias sobre el aumento mediado por EPO en la proliferación celular.

Ejemplo 11: Aumento de la expresión de receptores de transferrina

30 [0222] El efecto de los compuestos del invento sobre la expresión de receptores de transferrina se ha examinado como se indica a continuación. Se han incubado varias células (Hep3B, HepG2, HK-2) con el compuesto A o compuesto B durante 1 día. Las células se analizaron para la expresión de receptores de transferrina por análisis de FACS que usa anticuerpos CD71-PE (Ansell, catálogo nº 223-050). Los resultados se muestran a continuación en la Tabla 1.

TABLA 1

Tipo de célula	Tratamiento	FL Medio
Hep3B	DMSO	40.21
	Compuesto A	40.89
	Compuesto B	42.43
HepG2	DMSO	49.59
	Compuesto A	56.52
	Compuesto B	53.53
HK-2	DMSO	10.80
	Compuesto A	12.20
	Compuesto B	18.92

55 [0223] Como se muestra en la Tabla 1, la adición de varios compuestos del presente invento a células ha aumentado la expresión de receptores de transferrina. La inhibición de hidroxilación proliil de HIF usando inhibidores de hidroxilasa proliil del presente invento ha aumentado la expresión de receptores de transferrina en células. El aumento de la expresión de receptores de transferrina usando inhibidores de hidroxilasa proliil del presente invento se ha observado en células hepáticas (por ejemplo, Hep3B, HepG2), células renales (por ejemplo, HK-2) y linfocitos (por ejemplo, THP-1). Por lo tanto, los compuestos del presente invento son útiles para aumentar la expresión de receptores de transferrina en varios tipos de célula. Además, el aumento de la expresión de receptores de transferrina tendría como resultado un aumento de la endocitosis mediada por receptores de transferrina, aumentando el transporte, uso, depósito y metabolización del hierro. Por lo tanto, los compuestos del presente invento son útiles para mejorar la eritropoyesis aumentando el transporte, uso, depósito y metabolización del hierro.

Ejemplo 12: Aumento de la expresión de receptores de transferrina y retención de hierro *in vitro*

65 [0224] El efecto de los compuestos sobre la retención de hierro en células se determina como sigue. Se han tratado

monocitos y macrófagos primarios, y líneas celulares de monocito y macrófago (por ejemplo, THP-1), durante uno, dos o tres días con varias concentraciones de inhibidores de hidroxilasa proliil. A continuación se examinan las células por la presencia de receptores de transferrina de superficie celular usando inmunotinción fluorescente y citometría de flujo. Los resultados que muestran que añadir inhibidores de hidroxilasa proliil aumentan la expresión de receptores de transferrina en la superficie celular indican la eficacia de la inhibición de hidroxilasa proliil en el aumento de unión de transferrina y, por lo tanto, la unión del hierro a las células. A continuación se determina un cambio en la retención de hierro por células tratadas con inhibidores de hidroxilasa proliil. Las células se tratan con compuestos en presencia de ^{59}Fe . El aumento de la retención de hierro por parte de las células tratadas con inhibidores de hidroxilasa proliil se determina por la medición de ^{59}Fe asociado a las células. Un aumento en el ^{59}Fe asociado a las células indica un aumento en la retención de hierro en las células.

Ejemplo 13: Aumento de los niveles y actividad de proteína-2 reguladora de hierro

[0225] La regulación de la retención, depósito y utilización de hierro se da, en parte, por medio de la expresión y actividad de proteínas llave implicadas en el metabolismo férrico, incluidas las proteínas trans conocidas como proteínas regulatorias de hierro (IRPs). IRP-1 y IRP-2 controlan la estabilidad y traducción de mRNA uniéndose a elementos específicos de respuesta al hierro en varias mRNAs de proteínas implicadas en el metabolismo férrico, afectando virtualmente a todos los aspectos del metabolismo férrico. El déficit de hierro aumenta la actividad de IRP, teniendo como resultado un aumento de la expresión de receptores de transferrina y la reducción de expresión de ferritina. Del mismo modo, en presencia de hierro, la actividad de IRP disminuye, provocando un descenso de la expresión de receptores de transferrina y aumento de la expresión de ferritina.

[0226] Para examinar el efecto de los presentes compuestos en varios aspectos del metabolismo férrico, se lleva a cabo el presente experimento. Las células Hepa-1 de ratón se tratan con inhibidores de hidroxilasa proliil hasta 48 horas. Entonces, se recogen las células y los lisatos de las células se analizan para la expresión de IRP-2 por inmuno-blot usando un anticuerpo específico para IRP-2 (Alpha Diagnostic International, Inc., San Antonio TX). Los resultados muestran un aumento en los niveles de IRP-2 citoplásmico seguido de la adición de compuesto demuestra que los compuestos del presente invento son útiles para aumentar los niveles de IRP y por lo tanto el metabolismo férrico.

[0227] El efecto de los compuestos del invento sobre la actividad IRP-2, medida por cambios en la expresión de ferritina y de transferrina, se determina como sigue. La línea celular del macrófago de ratón RAW 264.1 se trata con inhibidores de la hidroxilasa proliil hasta 48 horas. A continuación, se recogen las células se recogieron y se analizan para la expresión de proteína de transferrina por inmunotransferencia (ADI, catálogo # IRP21-S). La disminución de los niveles de expresión de ferritina y el aumento de los niveles de expresión de transferrina seguidos de la inhibición de la proliil hidroxilasa indican que los compuestos del presente invento son útiles para la estabilización y el aumento de la actividad de IRP-2. El aumento de expresión de IRP-2 disminuye la expresión de la ferritina, que es responsable del almacenamiento a largo plazo de hierro y aumenta la expresión de transferrina y receptores de transferrina, facilitando la retención, transporte y utilización del hierro, mejorando así la eritropoyesis. Al aumentar la expresión y actividad de IRP-2, los compuestos del presente invento son útiles para disminuir la expresión de ferritina y el almacenamiento a largo plazo de hierro asociado y el aumento de la expresión del receptor de transferrina y transferrina. Por lo tanto, los compuestos del presente invento son útiles para aumentar la retención, el transporte y la utilización del hierro, por lo que son útiles para mejorar la eritropoyesis.

Ejemplo 14: Mejora de la utilización del hierro

[0228] Se ha administrado a ratas una vía de control o inhibidores de hidroxilasa proliil de HIF antes de la inyección intravenosa de citrato ferroso ^{59}Fe -radiomarcado (Amersham). La serie de muestras de sangre se extrae de la vena de la cola y el total de plasma libre de eritrocitos y la radiactividad asociada se mide en un contador de centelleo para detectar el transporte de hierro y la incorporación a eritrocitos de heme y síntesis de hemoglobina. El aumento de ^{59}Fe asociado a eritrocitos indica que los presentes compuestos son útiles para la mejora de la utilización del hierro necesaria para la síntesis de heme, la producción de hemoglobina y la eritropoyesis.

Ejemplo 15: Expresión mejorada de genes de eritropoyesis *in vitro*

[0229] Las células Hep3B (ATCC nº HB-8064) se cultivaron en DMEM con un 8% de suero fetal. Las células Hep3B se ubican en platos de cultivo de 6 depósitos a una tasa de ~500.000 células por depósito. Después de 8 horas, se ha cambiado el medio a DMEM con un 0,5% de suero fetal bovino y se incubaron las células durante 16 horas más. El compuesto B o compuesto D se añadieron a las células (concentración final de 25 mM) y se incubaron las células varias veces. Las células de control (tratamiento sin compuesto, solo añadiéndole DMSO) se recogieron pasadas 0, 6 y 48 horas. Se analizó la viabilidad celular de las células recogidas (GUAVA) o se añadieron al activador de extracción de ARN (RNeasy, Qiagen) y se almacenaron a -20°C para la consecuente purificación de ARN. Las réplicas de micromatriz se generaron usando ARN aislado de réplicas de experimentos llevados a cabo en diferentes días. El ARN total se aisló de las células usando el kit RNeasy (Qiagen).

[0230] Se precipitó el ARN en 0,3 M de acetato de sodio (pH 5.2), 50 ng/ml glicógeno y 2,5 medidas de etanol

- 5 durante una hora a -20°C. Se centrifugaron las muestras y se lavaron los gránulos con etanol frío al 80%, seco, y resuspendido en agua. El cADN bicatenario se sintetizó usando un cebador T7-(dT)₂₄ de la primera cadena (Affymetrix, Inc., Santa Clara CA) y el sistema SUPERScript CHOICE (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El cADN final se extrajo con una cantidad equivalente de 25:24:1 alcohol fenol:cloroformo:isoamil usando PHASE LOCK GEL para unirlo (Brink-man, Inc., Westbury NY). Se recogió la fase acuosa y se precipitó el cADN usando 0,5 medidas de 7.5 M acetato de amonio y 2,5 medidas de etanol. De forma alternativa, se purificó el cADN usando el módulo de limpieza de muestras GENECHIP (Affymetrix) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.
- 10 **[0231]** El cARN marcado con biotina se sintetizó a partir del cADN en una reacción de traslación *in vitro* (IVT) que usa un kit de marcación de transcripción de ARN rendimiento elevado BIOARR.AY (Enzo Diagnostics, Inc., Farmingdale NY) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El producto final etiquetado se purificó y fragmentó usando el módulo de limpieza de muestras GENECHIP (Affymetrix) según las instrucciones del fabricante.
- 15 **[0232]** El cóctel de hibridación se preparó poniendo una sonda de 5 mg en 100 ml de 1x de activador de hibridación (100 mM MES, 1 M [Na⁺], 20 mM EDTA, 0,01% Tween 20), 100 mg/ml de ADN de esperma de arenque, 500 mg/ml de BSA acetilada, 0,03 nM control oligo B2 (Affymetrix), y 1x control eucariótico de hibridación GENECHIP (Affymetrix). El cóctel se incubó de forma secuencial a 99°C durante 5 minutos y a 45°C durante 5 minutos y a continuación se centrifugó durante 5 minutos. La matriz del Genoma Humano U133A (Affymetrix) se llevó a temperatura ambiente y a continuación se prehibridó con 1x activador de hibridación a 45°C durante 10 minutos con rotación. Entonces se sustituyó el activador con 80 ml de cóctel de hibridación y la matriz se hibridó durante 16 horas a 45°C a 60 rpm con contrapeso. A continuación de la hibridación, se lavaron las matrices una vez con 6x SSPE, 0,1% Tween 20, y a continuación se lavaron y tintaron con streptavidina R-ficoeritrina-conjugada (Molecular Probes, Eugene OR), anticuerpos de anti-streptavidina de cabra (Vector Laboratories, Burlingame CA), y un instrumento GENECHIP Fluidics Station 400 (Affymetrix) de acuerdo con el protocolo micro_1v1 del fabricante (Affymetrix). Las matrices se analizaron usando un escáner GENEARRAY (Affymetrix) y software Microarray Suite (Affymetrix).
- 20 **[0233]** La matriz del Genoma Humano U133A (Affymetrix) representa a todas las secuencias de la base de datos Unigene Humano 133 (Centro Nacional de Información Biotecnológica, Bethesda MD), que incluye aproximadamente 14.500 genes humanos bien caracterizadas.
- 25 **[0234]** La calidad del ARN se ha controlado por electroforesis capilar (Agilent Bioanalyzer). Los cócteles de hibridación se prepararon como se describe (Affymetrix) y se hibridaron a matrices Affymetrix humanas U133A con 22.283 sets de sonda. Se analizó el funcionamiento de la matriz con el software Affymetrix MicroArray Suite (MAS) y se asignó estados "presente", "marginal" o "ausente" a los sets de sonda individuales de acuerdo con la configuración por defecto del software. Los análisis estadísticos y las listas filtradas de configuración de la sonda se prepararon usando el software GeneSpring (Silicon Genetics). Para los atajos para la configuración "expresada" de la sonda se usó una combinación de "P" Affymetrix y valores de expresión absoluta derivados del modelo de error de datos intrínsecos de Genespring. Los datos se pusieron a nivel de muestras de control medias.
- 30 **[0235]** Tal y como se muestra en la Tabla 2, la expresión de los genes (aumento de los niveles de mRNA por encima del nivel de control) que codifica las proteínas eritropoyéticas ha aumentado en células Hep3B tratadas con compuestos del presente invento. (Dos puntos de datos de ceruloplasmina para cada afección se presentan en la Tabla 2). De forma más específica, la expresión genética de receptores 2 de ceruloplasmina y transferrina aumentaron en las células Hep3B tratadas con varios compuestos del presente invento.

TABLA 2

Compuesto	Tiempo	Ceruloplasmina (CP)	Receptor de Transferrina (TFR2)
D	6 hr	2.06/2.387	Sin determina
B	1 hr	1.142/0.946	0.575
B	3 hr	1.123/0.955	0.558
B	6 hr	1.555/1.103	0.822
B	12 hr	2.366/2.507	1.253
B	24 hr	5.136/4.909	2.522
B	48 hr	5.82/4.678	4.169

Ejemplo 16: Dosificación en animales

- 65 **[0236]** Los animales que se usan en los siguientes ejemplos incluyen ratones Swiss Webster macho (30-32 g), ratas macho Sprague Dawley (200-350 g) y ratas hembra Lewis obtenidos de Simonsen, Inc. (Gilroy CA), Charles River

(Hollister, CA), o Harlan. Los animales se mantuvieron usando procedimientos estándar y tuvieron a su disposición comida y agua *ad libitum*. Durante el tratamiento, se controlaron los cambios del peso corporal de los animales y signos de manifestaciones de toxicidad y mortalidad.

5 **[0237]** Los compuestos normalmente se administraron por vía oral por sonda o administración IV. Los animales
 tratados con sondas orales recibieron un volumen de 4-10 ml/kg de 0,5% de celulosa de carboximetilo (CMC; Sigma-
 Aldrich, St. Louis MO) con o sin un 0,1% de Polisorbato 80 (0 mg/kg/día) o dosis variables de un compuesto del
 presente invento (por ejemplo, un inhibidor de hidroxilasa proliil HIF) en 0,5% CMC, con o sin 0,1% de Polisorbato 80,
 10 usando diversos regímenes de dosificación. Se recogieron muestras de sangre en los intervalos adecuados durante
 el tratamiento de, por ejemplo, la vena de la cola (ratas), o la vena abdominal o cardiocentesis (ratones o ratas).
 Generalmente, se anestesió a los animales con isoflurano y se recogieron muestras de sangre en los tubos
 separadores de suero MICROTAINER (Becton-Dickinson, Franklin Lakes NJ). Para la medición de componentes de
 suero, se incubaron los tubos a temperatura ambiente durante 30 minutos y a continuación se centrifugan a 8.000
 15 rpm a 4°C durante 10 minutos. Entonces, la fracción de suero se procesó y analizó para identificar la presencia de
 componentes específicos, por ejemplo, hierro en suero (ensayo llevado a cabo por Quality Clinical Labs, Mountain
 View, CA). Para determinar el hematocrito, se recogieron muestras de sangre en tubos MI- CROTAINER EDTA-2K
 (Becton-Dickinson); entonces se trasladó la EDTA de sangre a tubos capilares de 75 mm x 1.1-1.2 mm I.D. (Chase
 Scientific Glass, Inc., Rockwood TN) aproximadamente 3/4 de su tamaño, un extremo del tubo se selló con sellante
 CRITOSEAL (Sherwood Medical Company), y se centrifugaron los tubos en un centrifugador J-503M
 20 MICROHEMATOCRIT (Jorgensen Laboratories, Inc., Loveland CO) a 12.000 rpm durante 5 minutos. Se hizo la
 lectura del hematocrito en una tarjeta de lectura. Cuando se indicó, el análisis de conteo completo de sangre (CBC),
 incluyendo el nivel de hemoglobina en sangre, número de reticulocitos y hematocrito, se llevó a cabo por Quality
 Clinical Labs (Mountain View, CA).

25 **[0238]** Al final de cada estudio, se sacrificó a los animales, por ejemplo por desangrado bajo anestesia general o
 asfixia de CO₂ y se recogieron muestras de los tejidos y los órganos. Los tejidos se fijaron a formalina neutral
 activada o se almacenaron congelados a -70°C. Los tejidos para el análisis genómico se situaron en RNAlater.

Ejemplo 17: Aumento de la expresión de genes que codifican proteínas de procesamiento de hierro *in vivo*

30 **[0239]** Los ratones macho Swiss Webster se trataron como se ha descrito con una única dosis de 0,5% CMC
 (Sigma-Aldrich) (0 mg/kg) o 100 mg/kg de compuesto A. Pasadas 4, 8, 16, 24, 48 o 72 horas de la administración, se
 anestesió y sacrificó a los animales y las muestras de tejidos del riñón, hígado, cerebro, pulmón y se aislaron y
 depositaron en solución RNALATER (Ambion) a -80°C. De forma alternativa, se trató a los animales con 4 dosis
 35 diarias consecutivas de 0,5% CMC (0 mg/kg/día), 7,5 mg/ml de compuesto A en 0,5% CMC (30 mg/kg/día) o 25
 mg/ml de compuesto A en 0,5% CMC (100 mg/kg/día). Cuatro horas después de la administración de la dosis final,
 se anestesió y sacrificó a los animales y se aisló y depositó aproximadamente 150 mg de hígado y cada riñón en
 solución RNALATER (Ambion) a -20°C.

40 **[0240]** Se llevó a cabo el aislamiento del ARN usando el siguiente protocolo. Se seccionó una sección de cada
 órgano, se añadieron 875 μ l de activador RLT (kit RNEASY; Qiagen Inc., Valencia CA) y los fragmentos se
 homogeneizaron durante unos 20 segundos usando un rotor-estator homogeneizador FOLYTRON (Kinematica, Inc.,
 Cincinnati OH). El homogeneizado se micro-centrifugó durante 3 minutos a material granuloso insoluble, el
 45 sobrenadante se transfirió a un nuevo tubo y se aisló el ARN usando un kit RNEASY (Qiagen) de acuerdo con las
 instrucciones del fabricante. El ARN se eluyó en 80 μ l de agua y se cuantificó con reactivo RIBOGREEN (Molecular
 Probes, Eugene OR). La absorción a 260 y 280 nm se midió para determinar la pureza y concentración del ARN.

[0241] De forma alternativa, se seccionaron muestras de tejidos y se homogeneizaron en reactivo TRIZOL
 (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad CA) usando un homogeneizador rotor/estator POLYTRON (Kinematica). Los
 50 homogenatos se pusieron a temperatura ambiente, se añadieron 0,2 medidas de cloroformo y las muestras se
 mezclaron con fuerza. Las mezclas se incubaron a temperatura ambiente durante varios minutos y entonces se
 centrifugaron a 12.000g durante 15 min a 4°C. Se recogió la fase acuosa y se añadieron 0,5 medidas de
 isopropanol. Se mezclaron las muestras, se incubaron a temperatura ambiente durante 10 minutos y se
 centrifugaron durante 10 min a 12.000g a 4°C. Se retiró el sobrenadante y se lavó el gránulo con 75% de EtOH y se
 55 centrifugó a 7.500 g durante 5 min a 4°C. La absorción a 260 y 280 nm se midió para determinar la pureza y
 concentración del ARN.

[0242] Se puso el ARN en 0,3 M de acetato de sodio (pH 5,2), 50 ng/ml de glicógeno y 2,5 medidas de etanol
 durante una hora a -20°C. Se centrifugaron las muestras y los gránulos se lavaron con 80% de etanol frío, seco y
 resuspendido en agua. La cADN bicatenaria se sintetizó usando un cebador T7-(dT)24 de primera cadena
 60 (Affymetrix, Inc., Santa Clara CA) y el sistema SUPERSRIPT CHOICE (Invitrogen) de acuerdo con las
 instrucciones del fabricante. La cADN final se extrajo con un volumen equivalente de 25:24:1 alcohol
 fenol:cloroformo:isoamil usando PHASE LOCK GEL (Brink-man, Inc., Westbury NY). La fase acuosa se recogió y se
 puso el cADN usando 0,5 medidas de 7,5 M de acetato de amonio y 2,5 medidas de etanol. De forma alternativa, se
 purificó el cADN usando el módulo de limpieza de muestras GENECHIP (Affymetrix) de acuerdo con las
 65 instrucciones del fabricante.

[0243] La cARN marcada con biotina se sintetizó a partir del cADN de una reacción de traslación in vitro (IVT) usando un kit de etiquetado de transcripción BIOARRAY HighYield (Enzo Diagnostics, Inc., Farmingdale NY) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El producto etiquetado final se purificó y fragmentó usando el módulo de limpieza de muestras GENECHIP (Affymetrix) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

[0244] El cóctel de hibridación se preparó llevando una sonda de 5 mg a 100 ml en 1x activador de hibridación (100 mM MES, 1 M [Na⁺], 20 mM EDTA, 0.01% Tween 20), 100 mg/ml de ADN de esperma de arenque, 500 mg/ml de BSA acetilada, 0,03 nM control oligo B2 (Affymetrix) y 1x control de hibridación eucariótica GENECHIP (Affymetrix). El cóctel se incubó de forma secuencial a 99°C durante 5 minutos y 45°C durante 5 minutos y entonces se centrifugó durante 5 minutos. La matriz del genoma Murino MOE430Aplus2 (Affymetrix) se llevó a temperatura ambiente y a continuación se prehibridó con 1x activador de hibridación a 45°C durante 10 minutos con rotación. El activador se sustituyó con 80 ml de cóctel de hibridación y la matriz se hibridó durante 16 horas a 45°C a 60 rpm con contrapeso. A continuación de la hibridación, se lavaron las matrices una vez con 6x SSPE, 0,1% Tween 20 y a continuación se lavaron y tintaron usando R-ficoeritrina-conjugada streptavidina (Molecular Probes, Eugene OR), anticuerpos de anti-streptavidina de cabra (Vector Laboratories, Burlingame CA) y un instrumento GENECHIP Fluidics Station 400 (Affymetrix) de acuerdo con el protocolo EukGE-WS2v4 del fabricante (Affymetrix). Se analizaron las matrices usando un escáner GENEARRAY (Affymetrix) y el software Microarray Suite (Affymetrix).

[0245] La matriz del Genoma Murino MOE430Aplus2 (Affymetrix) representa todas las secuencias de la base de datos de UniGene Murino 107 (Centro Nacional de Información sobre Biotecnología, Bethesda MD), que incluye aproximadamente 14.000 genes de ratón bien caracterizados.

[0246] La Tabla 3 muestra la expresión de ceruloplasmina de mRNA en un riñón de ratón que sigue a la administración de un compuesto A. Los datos se igualaron al valor medio observado en los animales de control no tratados.

Tabla 3

Condición	Ceruloplasmina (niveles relativos de mRNA)
Sin tratar	0.81
Control de CMC	1.26
Compuesto A – 4 horas	1.16
Compuesto A – 8 horas	1.39
Compuesto A – 16 horas	1.22
Compuesto A – 24 horas	2.45
Compuesto A – 48 horas	1.44
Compuesto A – 72 horas	2.10

[0247] Los datos que se muestran en la Tabla 3 demuestran que los compuestos del presente invento son útiles para aumentar la expresión genética de la ceruloplasmina. La ceruloplasmina, también conocida como ferroxidasa-1, convierte el hierro reducido que se libera de los depósitos (como la ferritina) a la forma oxidada. El hierro oxidado puede unirse a su proteína de transporte de plasma, transferrina. Los déficits de ceruloplasmina se asocian con la acumulación de hierro en el hígado y otros tejidos. Las pruebas indican que la ceruloplasmina promueve el flujo de hierro desde el hígado y promueve el influjo de hierro a las células con déficit de hierro. (Ver, por ejemplo, Tran et al. (2002) J Nutr 132:351-356).

[0248] La Tabla 4 muestra la expresión de mRNA de hepcidina en hígado de ratón que sigue a la administración del compuesto A. Se equipararon los datos a los observados en animales de control no tratados.

Tabla 4

Condición / Estudio Animal	Tiempo	Hepcidina
Control	-	1.0
I multi - dosis elevada	-	0.275
II multi - dosis elevada	-	0.703
II multi - dosis reducida	-	0.129
III	4 Horas	0.672
III	8 Horas	0.305
III	16 Horas	0.119

[0249] Como se muestra en la Tabla 4, la administración del compuesto A tuvo como resultado la reducción de la expresión de mRNA hepcidina en hígado de ratón. La disminución de la expresión de hepcidina se asocia con el aumento de la liberación de hierro a partir de células reticuloendoteliales y el aumento de la absorción intestinal de hierro. Por lo tanto, los compuestos del presente invento son útiles para disminuir la expresión de hepcidina y aumentar la absorción intestinal de hierro.

[0250] La Figura 6A muestra unos niveles relativos de expresión de los receptores de transferrina (barras grises) en el riñón y el transportador del hierro en el intestino NRAMP2 (proteína 2 macrófaga asociada con la resistencia natural) (también conocido como Slc11a2 (familia de soluto portador 11, transportador de ión metal divalente acoplado al protón, miembro 2), también llamado DCT1 (transportador de catión divalente 1), DMT1 (transportador de metal divalente 1)) (barras negras).

[0251] En otro experimento, se ha aislado mRNA recogido del intestino delgado durante 4 horas a continuación de administración de IV de 60 mg/kg de compuesto A, de compuesto B y compuesto C a ratones. Las sondas se prepararon con dos animales de 5 grupos de tratamiento, y hibridaron un ratón Affymetrix a micro matrices MOE430Aplus2 (un animal por matriz). Se llevaron a cabo comparaciones estadísticas de datos que se han obtenido de matrices a partir de matrices de animales tratados en oposición a no tratados. La Figura 6B muestra niveles de expresión relativa de NRAMP2 mRNA en el intestino delgado de animales tratados con el compuesto A, compuesto B y compuesto C. Los niveles de expresión se muestran como inducción sobre el control, animales no tratados para cada gen expresado. Los resultados para esos experimentos indican que los métodos y compuestos del presente invento son útiles para aumentar la expresión de NRAMP2 en el intestino. Estos resultados también han sugerido que los compuestos del presente invento son útiles para aumentar la absorción de hierro, aumentando la disponibilidad de hierro para la síntesis de heme y de hemoglobina, para la producción de glóbulos rojos y para la eritropoyesis.

[0252] La Figura 6C muestra la expresión de la inducción de la sintasa de 5-aminolevalinata (ALAS-2) en animales tratados en comparación con la vía de control. Los datos muestran que el tratamiento de los animales normales con inhibidores de hidroxilasa proliil han tenido como resultado un aumento de la expresión de genes implicados en el metabolismo férrico, incluidos los genes implicados en la absorción de hierro a partir del intestino y el transporte de hierro en la periferia a través de los receptores de transferrina. La expresión de estos genes volvió a niveles de base (control) 16 después de la dosis. Los datos también muestran la expresión coordinada de ALAS-2, la primera enzima de la vía sintética de heme y la enzima de limitación de tasa para la síntesis de heme, en los tejidos indicados después del tratamiento inhibitor de la hidroxilasa proliil. Conjuntamente, estos resultados han mostrado que los compuestos del presente invento coordinan el aumento en la expresión de genes que codifican proteínas implicadas en la promoción de eritropoyesis, incluida la absorción de hierro, transporte de hierro y síntesis de heme.

[0253] De forma alternativa, el análisis de citometría de flujo se usa para medir el marcador de superficie celular de macrófago CD11 c y los niveles de receptores de transferrina en células mono nucleares periféricas de la sangre doblemente inmunotintadas. Se muestra la actividad para el tratamiento del compuesto detectando el aumento de la expresión de transferrina de macrófago. Además, el plasma puede recogerse y probarse para medir los niveles de transferrina usando un kit ELISA disponible comercialmente (ver, por ejemplo, KomaBiotech, Corea).

Ejemplo 18: Eritropoyesis mejorada *in vivo*

[0254] El efecto de la administración de los presentes compuestos en la eritropoyesis se determina como sigue. Se ha creado anemia a ratones normales y se han mantenido en estado anémico por administración crónica de TNF- α , un régimen conocido por inhibir eritropoyesis debido a falta de producción y marcadores de EPO en respuesta a TNF- α . Después de inducir anemia en un período de entre una y cuatro semanas, se administra a los animales inhibidores de hidroxilasa proliil. Se examinan los tejidos para comprobar la producción de BFU-E y CFU-E, y se analiza la composición de las muestras de sangre. Los resultados que muestran aumentos en los números de BFU-E y CFU-E en la médula, bazo y alrededor y/o los aumentos de hemoglobina en suero, reticulocitos y hematocrito en animales tratados con PHIs demuestran eficacia.

5 [0255] Otro modelo de animal experimental es útil para examinar el efecto de administrar inhibidores de hidroxilasa proliil sobre la eritropoyesis. En este modelo, ratones transgénicos desarrollan anemia de enfermedad crónica como resultado de la sobre expresión en la constitución de TNF- α . A continuación de la aparición de la anemia en estos ratones, se administran inhibidores de hidroxilasa proliil en varios períodos de tiempo y usando diversas estrategias de dosificación. Entonces se recogen muestras de tejidos y sangre y se analizan. Como se ha descrito, los resultados que muestran aumentos del número de BFU-E y CFU-E en la médula, bazo y alrededor y/o aumento de la hemoglobina en suero, reticulocitos y hematocrito, demuestran eficazmente que la anemia asociada con la sobre producción de TNF- α en animales transgénicos se trata administrando inhibidores de hidroxilasa proliil con compuestos del presente invento.

Ejemplo 19: Aumento de los niveles de hierro en suero

15 [0256] Se trató a ratas hembra dos veces por semana (lunes y jueves) con varias concentraciones (0, 20, 60 o 150 mg/kg) de compuesto A durante 93 días. Se determinaron los niveles totales de hierro en suero.

TABLA 5

Dosis	Hierro en suero ($\mu\text{g/dL}$) Ratas macho (media de +/- SD)	Hierro en suero ($\mu\text{g/dL}$) Ratas hembra (media de +/- SD)
0 mg/kg	158 +/- 37	342 +/- 91
20 mg/kg	198 +/- 64	505 +/- 41*
60 mg/kg	357 +/- 111*	445 +/- 46*
150 mg/kg	307 +/- 142*	399 +/- 117

30 [0257] Como se observa en la Tabla 5, la administración del compuesto A ha aumentado los niveles de hierro en suero tanto en las ratas macho como en las hembra. (Los datos de la Tabla 5 se presentan como niveles de hierro en suero +/- desviación estándar. * indica una diferencia significativa en los niveles de hierro en suero para animales no tratados). Estos resultados indican que los compuestos del presente invento son útiles para aumentar los niveles de hierro en suero, por lo tanto útiles para tratar trastornos relacionados con el déficit de hierro.

Ejemplo 20: Eficacia en modelos animales de anemia de enfermedad crónica/deterioro de eritropoyesis/deterioro del metabolismo del hierro

40 [0258] La anemia de enfermedad crónica (ACD) se asocia con varias afecciones inflamatorias, como artritis, enfermedad neoplásica y otros trastornos asociados con la inflamación crónica. Se usó un modelo de rata de ACD para examinar los efectos de la estabilización de H1F usando compuestos del presente invento para tratar la anemia asociada con la enfermedad crónica. En este modelo animal, ACD se induce en las ratas por polímeros peptidoglican-polisacáridos. (Ver, por ejemplo, Sartor et al. (1989) Infection and Immunity (Infección e inmunidad) 57:1177-1185). En este modelo, los animales desarrollan anemia grave y aguda en las etapas iniciales, seguida de anemia microcítica moderadamente grave en las siguientes etapas.

Modelo animal de ACD – serie experimental 1:

50 [0259] Se provocó a ratas hembra Lewis de aproximadamente 160 con PG-PS 10S (Lee Laboratories, 15 mg/gm peso corporal, intra-peritoneal). PG-PS 10S contiene polímeros purificados peptidoglican-polisacáridos aislados de la pared celular del *Streptococcus pyogenes*, Grupo A, cadena D58. Se permitió que se desarrollasen artritis y anemia durante 35 días. El día 35, se tomaron muestras de sangre (aproximadamente, 400 μl) de la vena de la cola bajo anestesia general (Isóflurano) para conteo de CBC y reticulocito (por Quality Clinical Labs). Los animales con un nivel de hematocrito por del 45% o más se consideraron no anémicos y se retiraron del estudio.

60 [0260] El día 35 tras la inyección de PG-PS, los animales anémicos recibieron el aglutinante solo o fueron tratados con el compuesto A (60 mg/kg, PO) durante dos días consecutivos a la semana durante dos semanas. Se midieron conteos de sangre automatizados completos (CBC) el día 35 (ver arriba), 39, 42 y 49; se midieron los niveles suero en hierro el día 49.

Conteo de reticulocito

65 [0261] Como se muestra en la Figura 7, la administración de compuesto A a animales anémicos aumentó el conteo de reticulocito el día 39 (5 días después del inicio de la dosificación del compuesto). Los niveles de reticulocitos eran de aproximadamente 2% y 4% de glóbulos rojos en los animales de control (no anémico) y anémicos (tratados con

PG-PS), respectivamente. Los niveles de reticulocito en los animales tratados, de todas formas, fue de aproximadamente el 10% del conteo de glóbulos rojos. El tratamiento de compuesto A aumentó el conteo de reticulocito en animales anémicos. Por lo tanto, el compuesto A estimuló la eritropoyesis en un modelo animal de rata para ACD.

5

Hematocrito

[0262] Los niveles de hematocrito aumentaron en animales anémicos tratados con el compuesto A. Los niveles de hematocrito (medidos por Baker 9000 en Quality Clinical Labs) en animales anémicos (tratados con PG-PS) fueron de menos del 35%, en comparación con el 41% en animales de control no anémicos. (Ver la Figura 8). La administración del compuesto A a animales anémicos aumentó los niveles de hematocrito a aproximadamente el 37% 5 días tras el inicio del tratamiento con el compuesto. A continuación de una segunda dosis del compuesto A, los niveles de hematocrito aumentaron a aproximadamente el 40%, comparable a los niveles de hematocrito que se observaron en los animales de control no anémicos. El compuesto A aumentó el hematocrito en animales anémicos usando un modelo de rata de ACD. Así, los compuestos del presente invento son útiles para aumentar el hematocrito y tratar la anemia de enfermedad crónica.

10

15

Hemoglobina

[0263] La administración del compuesto A también ha aumentado los niveles de hemoglobina en animales anémicos. Como se ha visto en la Figura 9, el día 35, los animales de control no anémicos tenían niveles de hemoglobina de aproximadamente 15 gm/dL, mientras los niveles de hemoglobina en animales tratados con PG-PS (como animales anémicos) eran de aproximadamente 13 gm/dL. Como se ha mostrado en la Figura 9, el compuesto A aumentó los niveles de hemoglobina en animales anémicos 5 días (día 39) después de la administración del compuesto. Los niveles de hemoglobina seguían elevados el día 49, alcanzando un nivel comparable a los animales de control no anémicos, indicando que el compuesto del presente invento restauró los niveles normales de hemoglobina en animales anémicos. Estos resultados mostraron que el compuesto A aumentó la hemoglobina en animales anémicos usando un modelo de rata para ACD. Así, los compuestos del presente invento son útiles para aumentar la hemoglobina y tratar la anemia de enfermedad crónica.

20

25

30

Conteo de glóbulos rojos

[0264] La administración de compuesto A aumentó el conteo de glóbulos rojos en animales anémicos. Como se muestra en la Figura 10, el conteo de glóbulos rojos aumentó en animales anémicos tratados con el compuesto A en comparación con animales anémicos no tratados 5 días tras el inicio de la administración del compuesto (día 39 en la Figura 10). El compuesto A aumentó el conteo de glóbulos rojos en animales anémicos usando un modelo de rata para ACD. Así, los compuestos del presente invento son útiles para aumentar el conteo de glóbulos rojos y tratar la anemia de enfermedad crónica.

35

40

Volumen corpuscular medio

[0265] Los animales anémicos mostraron una reducción del volumen corpuscular medio en comparación con animales de control no anémicos. (Ver Figura 11). Los animales anémicos tratados con el compuesto A mostraron un aumento del volumen corpuscular medio 5 días tras el tratamiento (día 39 en la Figura 11) en comparación con animales anémicos no tratados. El volumen corpuscular medio en animales tratados siguió siendo elevado en comparación con los animales anémicos no tratados durante el experimento. Estos resultados mostraron que el compuesto A mejoró (redujo) el nivel de microcitosis (microcitemia, la presencia de muchos microcitos, glóbulos rojos anormalmente pequeños asociados con varias formas de anemia). Así, los compuestos del presente invento mejoran/reducen la microcitosis en la anemia de enfermedad crónica.

45

50

Hemoglobina corpuscular media

[0266] Los animales anémicos también han mostrado una reducción de los niveles medios de hemoglobina corpuscular. Como se muestra en la Figura 12, el tratamiento de animales anémicos con compuesto A aumentó los niveles de hemoglobina corpuscular media por encima de los observados en animales anémicos no tratados. Estos resultados indican que los compuestos del presente invento son útiles para aumentar los niveles de hemoglobina corpuscular media.

55

Modelo animal de ACD – serie experimental 2:

60

[0267] Se inyectó PG-PS (intra-peritoneal) a ratas Lewis hembra (aproximadamente 150- 200 gm). Se permitió que se desarrollase artritis y anemia durante 28 días. Se administró a los animales compuesto A por sonda oral dos veces por semana (lunes y jueves) durante seis semanas, los días 28, 31, 35, 38, 42, 45, 49, 52, 56, 59, 63, 66 y 70 a partir de la inyección de PG-PS.

65

[0268] Se recogió la sangre total de la vena de la cola para análisis de CBC los días 28, 42, 56 y 70. Además, se

recogió suero el día 70 para análisis de unión de hierro. Los análisis de CBC y de unión de hierro los llevó a cabo Quality Clinical Labs (Mountain View, CA).

Hematocrito

5
10
[0269] Los niveles de hematocrito se redujeron en los animales 28 días después de provocarles PG-PS. La Figura 13 muestra que animales a los que se les inyectó PG-PS estaban anémicos, con un hematocrito de 85% a respecto de los animales no provocados (no anémicos). (La semana 0 en la Figura 13 corresponde al día 28 de este protocolo experimental). Los animales no provocados (no anémicos) tratados con el compuesto A (40 mg/kg) mostraron un aumento de los niveles de hematocrito en el tiempo, mayor del 110% a respecto de los no provocados y no fueron tratados. Como se ve en la Figura 13, la administración del compuesto A a animales anémicos tuvo como resultado la disminución de niveles de hematocrito.

Hemoglobina

15
20
[0270] La administración de compuesto A aumentó los niveles de hemoglobina tanto en los animales anémicos como en los no anémicos. Como se ve en la Figura 14, los niveles de hemoglobina en animales no anémicos tratados con compuesto A (40 mg/kg) aumentaron hasta aproximadamente 110% a respecto de los animales de control no tratados. (La semana 0 en la Figura 14 corresponde al día 28 de este protocolo experimental). En los animales anémicos, los niveles de hemoglobina aumentaron con la administración dos veces por semana de 10 mg/kg, 20 mg/kg o 40 mg/kg de compuesto A. Los niveles de hematocrito siguieron aumentando al menos 4 semanas.

Conteo de glóbulos rojos

25
30
[0271] Los animales anémicos tenían un conteo de glóbulos rojos más bajo que el de los animales no anémicos. Más en concreto, los conteos de glóbulos rojos de los animales anémicos fueron de menos del 90% que los observados en animales no anémicos 28 días después de la inyección de PG-PS. Como se muestra en la Figura 15, los conteos de glóbulos rojos aumentaron en los animales anémicos tratados con compuesto A en comparación con los animales no tratados. (La semana 0 en la Figura 15 corresponde al día 28 en este protocolo experimental). Se observó un aumento en el conteo de glóbulos rojos 2 semanas después de la administración de compuesto, y siguió aumentando durante el período experimental de 6 semanas.

Volumen corpuscular medio

35
40
45
[0272] Los animales anémicos mostraron una reducción en el volumen corpuscular medio en comparación con animales no anémicos (sin provocador). Como se ve en la Figura 16, el volumen corpuscular medio en animales tratados con PG-PS siguió disminuyendo con el tiempo, indicando los efectos de anemia de enfermedad crónica que tuvo como resultado anemia microcítica (caracterizada, en parte, por la reducción del número de glóbulos rojos y glóbulos rojos menores), y la incapacidad de producir hemoglobina debido a que los depósitos de hierro no están disponibles para su uso. (La semana 0 de la Figura 16 corresponde al día 28 de este protocolo experimental). La administración de compuesto A a animales anémicos tuvo como resultado la reducción de la disminución del volumen corpuscular medio. Así, la inhibición de hidroxilasa proliil usando compuestos del presente invento fue eficaz para la reducción de la disminución del volumen corpuscular medio asociado con anemia de enfermedad crónica y anemia asociada con déficit de hierro, restaurando el volumen corpuscular medio, manteniendo el volumen corpuscular medio, etc. Estos datos también indicaron que los compuestos del presente invento son útiles para aumentar la disponibilidad de hierro a partir de los depósitos para su uso en la producción de hemoglobina.

Hemoglobina corpuscular media

50
55
[0273] Los animales anémicos tenían niveles de hemoglobina corpuscular media bajos en comparación con los animales de control, lo que indica que la anemia de enfermedad crónica afectó a la producción de hemoglobina. Como se ve en la Figura 17, los animales anémicos a los que se les ha administrado el compuesto A mostraron una reducción de los niveles de hemoglobina corpuscular media con el tiempo. (La semana 0 de la Figura 17 corresponde al día 28 de este protocolo experimental).

Estado del hierro – hierro en suero y saturación de transferrina

60
65
[0274] Los pacientes con anemia de enfermedad crónica se caracterizan clínicamente por concentraciones reducidas de hierro en plasma y saturación de transferrina. Se determinó el efecto de los presentes compuestos sobre el hierro en suero y la saturación de transferrina en animales normales y anémicos. Usando un modelo animal de anemia de enfermedad crónica, se indujo anemia en ratas por inyección de IP de polímeros peptidoglican-polisacáridos, tal y como se ha descrito. Se permitió que se desarrollasen artritis y anemia durante 28 días. Entonces se trató a los animales con varias concentraciones del compuesto A, dos veces por semana, durante 6 semanas. Quality Clinical Labs determinó los niveles de hierro en suero y saturación de transferrina.

[0275] Como se ve en la Figura 18A, los animales anémicos (PG-PS) tenían niveles más bajos de hierro en suero en comparación con los animales no anémicos (simulados). La administración del compuesto A tuvo como resultado un aumento de los niveles de hierro en suero tanto en los animales anémicos (PG-PS) como los no anémicos de control (simulados). Los animales tratados con el compuesto A aumentaron su saturación de transferrina en comparación con los animales no tratados no anémicos y los no tratados anémicos. (Ver la Figura 18B). Estos resultados indican que los compuestos del presente invento son útiles para aumentar los niveles de hierro en suero y el porcentaje de saturación de transferrina.

Absorción de hierro

[0276] La semana 6 tras la administración del compuesto A en animales anémicos (40 mg/kg, dos veces por semana), se llevó a cabo un análisis de micro matriz para examinar la expresión de genes que codifican proteínas implicadas en el transporte de hierro y su absorción en el intestino. El análisis de micromatriz se llevó a cabo usando los métodos antes descritos, usando la matriz del Genoma de la Rata 230A (Affymetrix), que representa todas las secuencias de la base de datos Rat Unigene 99 (Centro Nacional de Información sobre Biotecnología, Bethesda, MD), que incluye aproximadamente 4.699 genes de rata bien caracterizados y aproximadamente 10.467 secuencias EST y aproximadamente 700 secuencias no EST.

[0277] Como se muestra en la Figura 19, la administración del compuesto A a animales de control aumentó la expresión intestinal de mRNA para NRAMP2 (barras abiertas) y esproutina (barras sólidas). Los animales anémicos no tratados (PG-PS) redujeron sus niveles de expresión de mRNA tanto para NRAMP2 como para esproutina. Estos resultados indican que la anemia de enfermedad crónica se asocia con la reducción de la expresión de proteínas implicadas en la absorción de hierro. Los animales anémicos tratados con el compuesto A, sin embargo, mostraron un aumento de la expresión tanto de NRAMP2 como de esproutina en el intestino (Figura 19). Estos resultados indicaron que los compuestos del presente invento son útiles para aumentar la expresión de genes asociados con el transporte y la absorción de hierro. Además, estos resultados sugieren que los compuestos del presente invento aumentan la absorción y el transporte de hierro en sujetos sanos y en sujetos con anemia de enfermedad crónica.

Ejemplo 21: Eritropoyesis mejorada en sujetos humanos

[0278] El efecto de la inhibición de hidroxilasa proil sobre la eritropoyesis en sujetos humanos se examinó como se explica a continuación. Una dosis oral de 20 mg/kg de compuesto A se administró dos o tres veces por semana a voluntarios humanos sanos. En varios momentos tras la administración del compuesto, se retiró sangre para análisis de EPO, hemoglobina, hematocrito, conteo de glóbulos rojos, receptores solubles de transferrina y niveles de ferritina en suero.

Conteo de reticulocito

[0279] Como se muestra en la Figura 20, la administración de compuesto A a sujetos humanos ha aumentado el conteo de reticulocito por encima del placebo de control. El aumento de conteo de reticulocito se dio en sujetos a los que se les había administrado el compuesto dos o tres veces por semana. Los niveles de reticulocito aumentaron a un nivel mayor de aproximadamente 1,7% de glóbulos rojos de los individuos tratados, comparado con los niveles de aproximadamente 1,4% en los individuos no tratados. La administración de compuesto A aumentó los conteos de reticulocito en sujetos humanos. Por lo tanto, los compuestos del presente invento son útiles para mejorar la eritropoyesis y por lo tanto aumentar los niveles de reticulocito.

Hematocrito

[0280] Los niveles de hematocrito aumentaron en sujetos humanos tratados con compuesto A. En sujetos humanos a los que se administró el compuesto A dos veces a la semana durante tres semanas, los niveles de hematocrito fueron mayores del 46% en comparación con aproximadamente el 44% en sujetos de control con placebo. El compuesto A aumentó el hematocrito en los sujetos humanos. Por lo tanto, los compuestos del presente invento son útiles para mejorar la eritropoyesis y por lo tanto aumentar el hematocrito.

Conteo de glóbulos rojos

[0281] La administración de compuesto A aumentó el conteo de glóbulos rojos en sujetos humanos. Como se muestra en la Figura 21, el conteo de glóbulos rojos aumentó en sujetos humanos tratados con 20 mg/kg de compuesto A, dos veces o tres por semana, en comparación con los sujetos de control no tratados con placebo. Estos datos indican que los compuestos del presente invento son útiles para mejorar la eritropoyesis y por lo tanto aumentar el conteo de glóbulos rojos.

Estado de hierro – receptores de transferrina soluble y ferritina en suero

[0282] Los resultados que se han mostrado indican que los compuestos del presente invento son eficaces para aumentar el conteo de reticulocito, glóbulos rojos, hemoglobina y hematocrito en sujetos humanos. Como se ve en la

Figura 22, la administración del compuesto A a sujetos humanos ha aumentado los niveles de receptores de transferrina soluble por encima de los observados en sujetos de control no tratados. El aumento de los niveles de transferrina soluble se observó en sujetos humanos tratados dos o tres veces por semana. Se observó un nivel máximo de respuesta del 35% y 31% el día 21 en pacientes tratados 2 veces y 3 veces por semana, respectivamente. La concentración media de plasma de sTfR en pacientes placebo no se modificó. Además, los niveles de ferritina de suero disminuyeron aproximadamente un 46% en sujetos humanos tratados con compuesto A, indicativo del aumento de uso de hierro en esos sujetos. (Ver Figura 23).

[0283] Vistos conjuntamente, estos datos indican que la estabilización de HIF usando compuestos del presente invento ha tenido como resultado un aumento en la movilización de depósitos de hierro, aumento del transporte de hierro a la médula ósea y aumento de la utilización del hierro por síntesis de hemoglobina, eritropoyesis y producción de glóbulos rojos.

[0284] El invento también proporciona las siguientes concreciones numeradas:

1. Un método para inducir la eritropoyesis mejorada o completa en un sujeto, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , induciendo la eritropoyesis mejorada o completa en el sujeto.
2. El método de la concreción 1, donde el método mejora la eritropoyesis en un sujeto que tiene o está en riesgo de tener una enfermedad crónica.
3. El método de la representación 2, donde la enfermedad crónica es una del grupo que consta de inflamación, infección, trastorno de la inmunodeficiencia y trastorno neoplásico.
4. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 1-3, donde el método mejora la eritropoyesis en un sujeto que tiene o está en riesgo de tener anemia de enfermedad crónica.
5. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 1-4, donde el método mejora la eritropoyesis en un sujeto que tiene resistencia a la eritropoyetina.
6. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 1-4, donde el método mejora la eritropoyesis en un sujeto que tiene o está en riesgo de tener déficit de hierro.
7. El método de la concreción 6, donde el déficit de hierro es déficit funcional de hierro.
8. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones precedentes, donde el método también comprende la administración de por lo menos un suplemento del grupo que consta de eritropoyetina, hierro y vitaminas B.
9. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones anteriores, donde el método regula o mejora el metabolismo férrico o un proceso metabólico de hierro en el sujeto.
10. El método de la concreción 9, donde el proceso metabólico de hierro es uno del grupo que consta de retención de hierro, absorción de hierro, transporte de hierro, depósito de hierro, procesamiento de hierro, movilización de hierro y utilización de hierro.
11. El método con arreglo a la concreción 10, donde el método aumenta la retención de hierro del sujeto.
12. El método con arreglo a la concreción 10, donde el método aumenta la absorción de hierro del sujeto.
13. El método de la concreción 12, donde la absorción de hierro se da en el intestino.
14. El método de la concreción 12, donde la absorción de hierro es absorción de hierro procedente de la dieta.
15. El método de la concreción 12, donde la absorción de hierro se da en enterocitos duodenales.
16. El método con arreglo a la concreción 10, donde el método aumenta el transporte de hierro en el sujeto.
17. El método con arreglo a la concreción 10, donde el método aumenta el depósito de hierro en el sujeto.
18. El método con arreglo a la concreción 10, donde el método aumenta el procesamiento de hierro en el sujeto.
19. El método con arreglo a la concreción 10, donde el método aumenta la movilización de hierro en el sujeto.
20. El método con arreglo a la concreción 10, donde el método aumenta la utilización de hierro en el sujeto.

21. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones precedentes, donde el método aumenta la disponibilidad de hierro para eritropoyesis en el sujeto.
- 5 22. El método de la concreción 21, donde el aumento de la disponibilidad de hierro para la eritropoyesis aumenta la disponibilidad de hierro para la síntesis de heme.
- 10 23. El método de la concreción 21, donde el aumento de la disponibilidad de hierro para la eritropoyesis aumenta la disponibilidad de hierro para la producción de hemoglobina.
24. El método de la concreción 21, donde el aumento de la disponibilidad de hierro para la eritropoyesis aumenta la disponibilidad de hierro para la producción de glóbulos rojos.
- 15 25. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones anteriores, donde el método aumenta la expresión de receptores de transferrina en el sujeto.
26. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones anteriores, donde el método aumenta la expresión de transferrina en el sujeto.
- 20 27. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones anteriores, donde el método aumenta la expresión de ceruloplasmina en el sujeto.
- 25 28. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones anteriores, donde el método aumenta la expresión de NRAMP2 (slc11a2) en el sujeto.
29. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones anteriores, donde el método aumenta la expresión de citocromo duodenal b reductasa 1 en el sujeto.
- 30 30. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones precedentes, donde el método aumenta la expresión de sintasa 5-aminolevulinato en el sujeto.
31. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones anteriores, donde el método supera o corrige el deterioro de la eritropoyesis inducido por citocina en el sujeto.
- 35 32. El método de la concreción 31, donde el deterioro de la eritropoyesis inducido por citocina es una supresión de la producción de eritropoyetina.
33. El método de la concreción 31, donde el deterioro de la eritropoyesis inducido por citocina es un deterioro del metabolismo férrico.
- 40 34. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 31-33, donde la citocina es una citocina inflamatoria.
- 45 35. El método de la concreción 34, donde la citocina es una del grupo que consta de TNF- α , IL-1 β y IFN- γ .
36. Un método para tratar o prevenir el déficit de hierro en un sujeto, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , tratando o previniendo el déficit de hierro en el sujeto.
- 50 37. El método de la concreción 36, donde el déficit de hierro se asocia con la anemia.
38. El método de la concreción 36 o concreción 37, donde el déficit de hierro se asocia con un trastorno del grupo que consta de inflamación, infección, trastorno de la inmunodeficiencia y trastorno neoplásico.
- 55 39. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 36-38, donde el déficit de hierro es déficit funcional de hierro.
40. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 36-39, donde el método aumenta el hierro en suero en el sujeto.
- 60 41. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 36-40, donde el método aumenta la saturación de transferrina en el sujeto.
- 65 42. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 36-41, donde el método aumenta los niveles de receptores de transferrina soluble en el sujeto.

43. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 36-42, donde el método disminuye la expresión de hepcidina en el sujeto.
- 5 44. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 36-43, donde el método aumenta los reticulocitos en el sujeto.
45. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 36-44, donde el método aumenta el hematocrito en el sujeto.
- 10 46. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 36-45, donde el método aumenta la hemoglobina en el sujeto.
- 15 47. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 36-46, donde el método aumenta el conteo de glóbulos rojos en el sujeto.
48. El método con arreglo cualquiera de las concreciones 36-47, donde el método aumenta el volumen corpuscular medio en el sujeto.
- 20 49. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 36-48, donde el método aumenta la hemoglobina corpuscular media en el sujeto.
50. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 36-49, donde el método aumenta el hierro en suero en el sujeto.
- 25 51. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 36-50, donde el método aumenta la saturación de la transferrina en el sujeto.
- 30 52. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 36-51, que también comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de por lo menos un suplemento del grupo que consta de eritropoyetina, hierro y vitaminas B.
- 35 53. Un método para tratar o prevenir un trastorno asociado con el déficit de hierro en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , tratando o previniendo así un trastorno asociado con el déficit de hierro en el sujeto.
54. El método de la concreción 53, donde el déficit de hierro es déficit funcional de hierro.
- 40 55. El método de la concreción 53, donde el trastorno se selecciona del grupo que consta de una inflamación, una infección, un trastorno de inmunodeficiencia y un trastorno neoplásico.
56. El método de la concreción 53, donde el trastorno se selecciona del grupo que consta de anemia de enfermedad crónica, anemia de déficit de hierro y anemia microcítica.
- 45 57. Un método para tratar o prevenir un trastorno asociado con la actividad de citocina en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice HIF α , tratando o previniendo el trastorno asociado con la actividad de citocina.
- 50 58. El método de la concreción 57, donde el trastorno se selecciona del grupo que consta de déficit de hierro, déficit funcional de hierro, anemia de déficit de hierro, anemia de enfermedad crónica y anemia microcítica.
59. El método de la concreción 57, donde el trastorno se asocia con una afección del grupo que consta de una inflamación, una infección, un trastorno de inmunodeficiencia y un trastorno neoplásico.
- 55 60. El método con arreglo a cualquiera de las concreciones 57-59, donde el método supera o corrige el aumento inducido por citocina de la expresión de VCAM-1 o de E-selectina.
- 60 61. Un método para aumentar la producción de eritropoyetina en presencia de una citocina en un sujeto, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabiliza HIF α , aumentando la producción de eritropoyetina en el sujeto.
- 65 62. Un método para tratar o prevenir la anemia de enfermedad crónica en un sujeto, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que estabilice HIF α , tratando o previniendo así la anemia de enfermedad crónica en el sujeto.
63. El método de la concreción 62, que también implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de por lo menos un suplemento del grupo que consta de eritropoyetina, hierro y vitaminas B.

64. Un método para tratar o prevenir microcitosis en un sujeto, que implica la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que establezca HIF α , tratando o previniendo la microcitosis en un sujeto.
- 5 65. El método de la concreción 64, donde la microcitosis se asocia con un trastorno del grupo que consta de enfermedad crónica, anemia de enfermedad crónica, déficit de hierro, déficit funcional de hierro, y anemia de déficit de hierro.
- 10 66. El uso de un compuesto que establezca HIF α en la fabricación de un medicamento para inducir la eritropoyesis mejorada o completa en un sujeto; para el tratamiento o la prevención de un trastorno asociado con déficit de hierro; para regular o mejorar el metabolismo férrico o un proceso metabólico del hierro; para aumentar la absorción de hierro en un sujeto; para aumentar el transporte de hierro en un sujeto; para aumentar el depósito de hierro en un sujeto; para aumentar la retención de hierro en un sujeto; para aumentar el procesamiento de hierro en un sujeto; para aumentar la movilización de hierro en un sujeto; para aumentar la utilización de hierro en un sujeto; para aumentar la disponibilidad de hierro para eritropoyesis en un sujeto; para aumentar la expresión de receptores de transferrina en un sujeto; para aumentar la expresión de transferrina en un sujeto; para aumentar la expresión de ceruloplasmina en un sujeto; para aumentar la expresión de NRAMP2 (slc11a2) en un sujeto; para aumentar la expresión de citocromo duodenal b reductasa 1 en un sujeto; para aumentar la expresión de sintasa 5-aminolevulinata en un sujeto; para aumentar el hierro en suero hierro en un sujeto; para aumentar la saturación de transferrina en un sujeto; para aumentar los niveles de receptores de transferrina soluble en un sujeto; para reducir la expresión de hepcidina en un sujeto; para mejorar la eritropoyesis en un sujeto que tiene o está en riesgo de tener déficit de hierro; para mejorar la eritropoyesis en un sujeto que tiene o está en riesgo de tener una enfermedad crónica; para mejorar la eritropoyesis en un sujeto que tiene o está en riesgo de tener anemia de enfermedad crónica; para mejorar la eritropoyesis en un sujeto resistente a la terapia de eritropoyetina; para aumentar los reticulocitos en un sujeto; para aumentar el hematocrito en un sujeto; para aumentar la hemoglobina en un sujeto; para aumentar el conteo de glóbulos rojos en un sujeto; para aumentar el volumen corpuscular medio en un sujeto; para aumentar la hemoglobina corpuscular media en un sujeto; para aumentar el hierro en suero en un sujeto; para aumentar la saturación de transferrina en un sujeto; para superar o corregir el deterioro inducido por citocina de la eritropoyesis en un sujeto; para superar o mejorar el aumento inducido por citocina de la expresión de VCAM-1 en el sujeto; para superar o corregir el aumento inducido por citocina en la expresión de E-selectina en el sujeto; para tratar o prevenir un trastorno asociado con la actividad de citocina en un sujeto; para aumentar la producción de eritropoyetina en presencia de una citocina en un sujeto; para tratar o prevenir la microcitosis en un sujeto; para tratar o prevenir déficit de hierro en un sujeto o para tratar o prevenir anemia de enfermedad crónica en un sujeto.
- 15 20 25 30 35
67. El uso de la concreción 66, donde el trastorno asociado con déficit de hierro es anemia, anemia de enfermedad crónica, anemia de déficit de hierro o anemia microcítica.
- 40 68. El uso de la concreción 64, donde el trastorno asociado con el déficit de hierro o la enfermedad crónica se selecciona de entre el grupo o la anemia de enfermedad crónica o el trastorno asociado con la actividad de citocina se asocia con una afección seleccionada del grupo que consta de una inflamación, una infección, un trastorno de la inmunodeficiencia y un trastorno neoplásico.
- 45 69. El uso de cualquiera de las concreciones 66-68, donde el déficit de hierro es déficit funcional de hierro.
70. El uso de la concreción 66, donde el proceso metabólico de hierro se selecciona del grupo que consta de retención de hierro, absorción de hierro, transporte de hierro, depósito de hierro, procesamiento de hierro, movilización de hierro y utilización de hierro.
- 50 71. El uso de la concreción 70, donde la absorción de hierro se da en el intestino.
72. El uso de la concreción 70, donde la absorción de hierro es absorción de hierro procedente de la dieta.
- 55 73. El uso de la concreción 70, donde la absorción de hierro se da en los enterocitos duodenales.
74. El uso de la concreción 66, donde el aumento de la disponibilidad de hierro para la eritropoyesis aumenta la disponibilidad de hierro para la síntesis de heme.
- 60 75. El uso de la concreción 66, donde el aumento de la disponibilidad de hierro para eritropoyesis aumenta la disponibilidad de hierro para la producción de hemoglobina.
76. El uso de la concreción 66, donde el aumento de la disponibilidad de hierro para eritropoyesis aumenta la disponibilidad de hierro para la producción de glóbulos rojos.
- 65 77. El uso de cualquiera de las concreciones 66-76 donde el medicamento también comprende por lo menos un

suplemento del grupo que consta de eritropoyetina, hierro y vitaminas B.

- 5 78. El uso de cualquiera de las concreciones 66-76, donde el medicamento es para aplicación simultánea, separada o secuencial con por lo menos un suplemento seleccionado del grupo que consta de eritropoyetina, hierro y vitaminas B.
- 10 79. El uso de la concreción 66, donde el deterioro inducido por citocina de la eritropoyesis es la supresión de la producción de eritropoyetina.
- 10 80. El uso de la concreción 66, donde el deterioro de la eritropoyesis inducido por citocina es un deterioro del metabolismo férrico.
- 15 81. El uso de cualquiera de las concreciones 66, 79 o 80, donde la citocina es una citocina inflamatoria.
- 15 82. El uso de cualquiera de las concreciones 66 o 79-81, donde la citocina se selecciona del grupo que consiste en TNF- α , IL-1 β y IFN- γ .
- 20 83. El uso de la concreción 66, donde el trastorno asociado con la actividad de citocina se selecciona del grupo que consta de déficit de hierro, déficit funcional de hierro, anemia ferropénica, anemia de enfermedad crónica y anemia microcítica.
- 25 84. El uso de la concreción 66, donde la microcitosis se asocia con un trastorno del grupo que consiste en enfermedad crónica, anemia de enfermedad crónica, déficit de hierro, déficit funcional de hierro y anemia de déficit de hierro.
- 30 85. El uso con arreglo a cualquiera de las concreciones 66-84, donde el tratamiento es de pacientes con aumento de niveles de citocinas.
- 30 86. El uso de la concreción 85, donde las citocinas son citocinas inflamatorias.
- 35 87. El uso de la concreción 86, donde las citocinas se seleccionan del grupo que consta de TNF- α , IL-1 β y IFN γ .
- 35 88. El uso con arreglo a cualquiera de las concreciones 66-87, donde el tratamiento es de pacientes con resistencia a EPO.
- 40 89. Un kit, que comprende un compuesto que estabiliza HIF α y por lo menos un suplemento del grupo que consta de eritropoyetina, hierro y vitaminas B.
- 40 90. Un compuesto farmacológico que comprende un compuesto que estabiliza HIF α y por lo menos un suplemento del grupo que consta de eritropoyetina, hierro y vitaminas B.

45

50

55

60

65

Reivindicaciones

1. Una estructura mimética de 2-oxoglutarato que inhibe la hidroxilasa proilil (HIF) del factor inducible por hipoxia para su uso en el tratamiento de anemia en un sujeto que tiene un porcentaje de saturación de transferrina de menos del 20%.

2. Una estructura mimética de la reivindicación 1 para el uso de esa reivindicación, donde la anemia es anemia de enfermedad crónica asociada con una afección del grupo que consta de una inflamación, una infección, un trastorno de la inmunodeficiencia y un trastorno neoplásico.

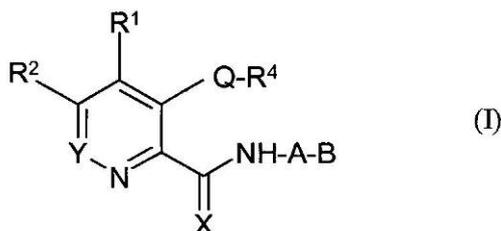
3. La estructura mimética de la reivindicación 1 para el uso de esa reivindicación, donde la anemia es anemia de enfermedad crónica asociada con una afección del grupo que consta de enfermedad autoinmune, microcitosis, neoplasia, artritis reumatoide, fiebre reumática, enfermedad intestinal inflamatoria, colitis ulcerosa, lupus sistémico eritematoso, vasculitis e infección crónica.

4. La estructura mimética de la reivindicación 1 para el uso de esa reivindicación, donde la anemia se asocia con déficit de hierro.

5. La estructura mimética de la reivindicación 4 para el uso de dicha reivindicación, donde el déficit de hierro es déficit funcional de hierro.

6. La estructura mimética de la reivindicación 1 para el uso de dicha reivindicación, donde la anemia se asocia con la infección por virus de hepatitis C, terapia con interferón- α para infección para el virus de la hepatitis C o terapia por ribavirina para la infección del virus de la hepatitis C.

7. La estructura mimética de cualquiera de las reivindicaciones 1, 4, 5 o 6 para el uso de esa reivindicación, donde la estructura mimética es un compuesto de la Fórmula I:



donde

A es 1,2-arilideno, 1,3-arilideno, 1,4-arilideno; o (C₁-C₄)-alkilene, opcionalmente sustituido por uno o dos halógeno, ciano, nitro, trifluorometil, (C₁-C₆)-alkil, (C₁-C₆)-hidroxialkil, (C₁-C₆)-alkoxi, -O-[CH₂]_x-C_tH_(2t+1-9)Hal_g, (C₁-C₆)-fluoroalkoxi, (C₁-C₈)-fluoroalkeniloxi, (C₁-C₈)-fluoroalkiniloxi, -OCF₂Cl, -O-CF₂-CHFCl; (C₁-C₆)-alkilm-ercapto, (C₁-C₆)-alkilsulfinil, (C₁-C₆)-alkilsulfonyl, (C₁-C₆)-alkilcarbonil, (C₁-C₆)-alkoxycarbonil, carbamoil, N-(C₁-C₄)-alkilcarbamoil, N,N-di-(C₁-C₄)-alkilcarbamoil, (C₁-C₆)-alkilcarboniloxi, (C₃-C₈)-cicloalkil, fenil, benzil, fenoxi, benziloxi, anilino, N-metilanilino, fenilmercapto, fenilsulfonyl, fenilsulfinil, sulfamoil, N-(C₁-C₄)-alkilsulfamoil, N,N-di-(C₁-C₄)-alkilsulfamoil; o por una sustitución de (C₆-C₁₂)-ariloxi, (C₇-C₁₁)-aralkiloxi, (C₆-C₁₂)-aril, (C₇-C₁₁)-aralkil radical, que porta en la fracción de uno a cinco sustituyentes idénticos o diferentes seleccionados entre halógeno, ciano, nitro, trifluorometil, (C₁-C₆)-alkil, (C₁-C₆)-alkoxi, -O-[CH₂]_x-C_tH_(2t+1-9)Hal_g, -OCF₂Cl, -O-CF₂-CHFCl, (C₁-C₆)-alkilmercapto, (C₁-C₆)-alkilsulfinil, (C₁-C₆)-alkilsulfonyl, (C₁-C₆)-alkilcarbonil, (C₁-C₆)-alkoxycarbonil, carbamoil, N-(C₁-C₄)-alkilcarbamoil, N,N-di-(C₁-C₄)-alkilcarbamoil, (C₁-C₆)-alkilcarboniloxi, (C₃-C₈)-cicloalkil, sulfamoil, N-(C₁-C₄)-alkilsulfamoil, N,N-di-(C₁-C₄)-alkilsulfamoil; o donde A es -CR⁵R⁶ y R⁵ y R⁶ se seleccionan independientemente entre hidrógeno, (C₁-C₆)-alkil, (C₃-C₇)-cicloalkil, aril, o un sustituto del átomo α -carbono de un α -amino ácido, donde el amino ácido es un L-amino ácido natural o su D-isómero.

B es -CO₂H, -NH₂, -NHSO₂CF₃, tetrazolil, imidazolil, 3-hidroxiisoxazolil, -CONHCOR^m, -CONHSOR^m, CONHSO₂R^m, donde R^m es aril, heteroarilo, (C₃-C₇)-cicloalkil o (C₁-C₄)-alkil, opcionalmente mono sustituido por (C₆-C₁₂)-aril, heteroarilo, OH, SH, (C₁-C₄)-alkil, (C₁-C₄)-alkoxi, (C₁-C₄)-tioalkil, (C₁-C₄)-sulfinil, (C₁-C₄)-sulfonyl, CF₃, Cl, Br, F, I, N02, -COOH, (C₂-C₅)-alkoxycarbonil, NH₂, mono-(C₁-C₄)-alkil)-amino, di-(C₁-C₄)-alkil)-amino, o (C₁-C₄)-perfluoroalkil; o donde B es un radical CO₂-G carboxil, donde G es un radical de un alcohol G-OH en el que se selecciona G entre (C₁-C₂₀)-alkil radical, (C₃-C₈) cicloalkil radical, (C₂-C₂₀)-alkenil radical, (C₃-C₈)-cicloalkenil radical, retinil radical, (C₂-C₂₀)-alkinil radical, (C₄-C₂₀)-alkeninil radical, donde los radicales alkenil, cicloalkenil, alkinil y alkeninil contienen una o más uniones múltiples; (C₆-C₁₆)-carbocíclico aril radical, radical (C₇-C₁₆)-carbocíclico aralkil, radical heteroarilo o radical heteroaralkil, donde un radical heteroarilo o fracción heteroarilo de un radical heteroaralkil contiene 5 o 6 átomos de anillo; y donde los radicales definidos para G se sustituyen con un o más hidroxilo, halógeno, ciano, trifluorometil, nitro, carboxil, (C₁-C₁₂)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkil, (C₅-C₈)-cicloalkenil, (C₆-C₁₂)-aril, (C₇-C₁₆)-aralkil, (C₂-C₁₂)-alkenil, (C₂-C₁₂)-alkinil, (C₁-C₁₂)-alkoxi, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkil, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkoxi, (C₆-C₁₂)-

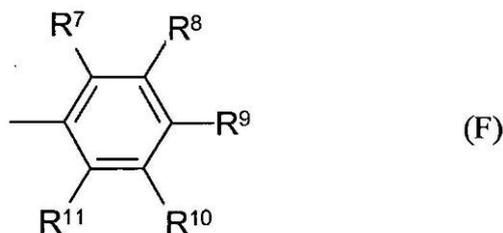
- ariloxi, (C₇-C₁₆)-aralkiloxi, (C₁-C₈)-hidroxialkil, -O-[C₂]_x-C₁H_(2f+1-g)-F_g, -OCF₂Cl, -OCF₂-CFCl, (C₁-C₁₂)-alkilcarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkilcarbonil, (C₆-C₁₂)-arilcarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkilcarbonil, cinnamoil, (C₂-C₁₂)-alkenilcarbonil, (C₂-C₁₂)-alkinilcarbonil, (C₁-C₁₂)-alkoxycarbonil, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkoxycarbonil, (C₆-C₁₂)-ariloxicarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkoxi-carbonil, (C₃-C₈)-cicloalkoxycarbonil, (C₂-C₁₂)-alkeniloxicarbonil, (C₂-C₁₂)-alkiniloxicarbonil, aciloxi, (C₁-C₁₂)-alkoxycarboniloxi, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkoxycarboniloxi, (C₆-C₁₂)-ariloxicarboniloxi, (C₇-C₁₆)-aralkiloxicarboniloxi, (C₃-C₈)-cicloalkoxycarboniloxi, (C₂-C₁₂)-alkeniloxicarboniloxi, (C₂-C₁₂)-alkiniloxicarboniloxi, carbamoil, N-(C₁-C₁₂)-aralkilcarbamoil, N,N-di-(C₁-C₁₂)-aralkilcarbamoil, N-(C₃-C₈)-cicloalkilcarbamoil, N-(C₆-C₁₂)-arilcarbamoil, N-(C₇-C₁₆)-aralkilcarbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₆-C₁₂)-aralkilcarbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₇-C₁₆)-aralkilcarbamoil, N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, carbamoiloxi, N-(C₁-C₁₂)-aralkilcarbamoiloxi, N,N-di-(C₁-C₁₂)-aralkilcarbamoiloxi, N-(C₃-C₈)-cicloalkilcarbamoiloxi, N-(C₆-C₁₂)-arilcarbamoiloxi, N-(C₇-C₁₆)-aralkilcarbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₆-C₁₂)-aralkilcarbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₇-C₁₆)-aralkilcarbamoiloxi, N-((C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, amino, (C₁-C₁₂)-aralkilamino, di-(C₁-C₁₂)-aralkilamino, (C₃-C₈)-cicloalkilamino, (C₂-C₁₂)-alkenilamino, (C₂-C₁₂)-alkinilamino, N-(C₆-C₁₂)-arilamino, N-(C₇-C₁₆)-aralkilamino, N-alkil-aralkilamino, N-alkil-arilamino, (C₁-C₁₂)-alkoxiamino, (C₁-C₁₂)-alkoxi-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₁-C₁₂)-aralkilcarbonilamino, (C₃-C₈)-cicloalkil-carbonilamino, (C₆-C₁₂)-arilcarbonilamino, (C₇-C₁₆)-aralkilcarbonilamino, (C₁-C₁₂)-aralkilcarbonil-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₃-C₈)-cicloalkilcarbonil-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₆-C₁₂)-arilcarbonil-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₇-C₁₆)-aralkilcarbonil-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-aralkilamino, (C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-aralkilamino, (C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-aralkilamino, (C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-aralkilamino, (C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-aralkilamino, (C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-aralkilamino, (C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-aralkilamino, (C₃-C₈)-cicloalkilamino-(C₁-C₁₀)-alkil, (C₆-C₁₂)-arilcarbonilamino-(C₁-C₈)-alkil, (C₁-C₁₂)-aralkilcarbonilamino-(C₁-C₈)-alkil, amino-(C₁-C₁₀)-alkil, N-(C₁-C₁₀)-aralkilamino-(C₁-C₁₀)-alkil, N,N-di-(C₁-C₁₀)-aralkilamino-(C₁-C₁₀)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkilamino-(C₁-C₁₀)-alkil, (C₁-C₁₂)-alkilmercapto, (C₁-C₁₂)-alkilsulfinil, (C₁-C₁₂)-aralkilsulfonyl, (C₆-C₁₆)-arilmercapto, (C₆-C₁₆)-arilsulfinil, (C₆-C₁₂)-arilsulfonyl, (C₇-C₁₆)-aralkilmercapto, (C₇-C₁₆)-aralkilsulfinil, (C₇-C₁₆)-aralkilsulfonyl, sulfamoil, N-(C₁-C₁₀)-aralkilsulfamoil, N,N-di-(C₁-C₁₀)-aralkilsulfamoil, (C₃-C₈)-cicloalkilsulfamoil, N-(C₆-C₁₂)-aralkilsulfamoil, N-(C₇-C₁₆)-aralkilsulfamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₆-C₁₂)-arilsulfamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₇-C₁₆)-aralkilsulfamoil, (C₁-C₁₀)-aralkilsulfonamido, N-((C₁-C₁₀)-alkil)-(C₁-C₁₀)-aralkil-sulfonamido, (C₇-C₁₆)-aralkilsulfonamido, or N-((C₁-C₁₀)-alkil)-(C₇-C₁₆)-aralkilsulfonamido; donde los radicales que son arilo o contienen una fracción de arilo, pueden sustituirse en el arilo por de uno a cinco elementos iguales de hidroxilo, halógeno, ciano, trifluorometil, nitro, carboxil, (C₁-C₁₂)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkil, (C₆-C₁₂)-aril, (C₇-C₁₆)-aralkil, (C₁-C₁₂)-alkoxi, (C₁-C₁₂)-aralkoxi-(C₁-C₁₂)-alkil, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkoxi, (C₆-C₁₂)-ariloxi, (C₇-C₁₆)-aralkiloxi, (C₁-C₈)-hidroxialkil, (C₁-C₁₂)-aralkilcarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkil-carbonil, (C₆-C₁₂)-arilcarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkilcarbonil, (C₁-C₁₂)-alkoxycarbonil, (C₁-C₁₂)-aralkoxi-(C₁-C₁₂)-alkoxycarbonil, (C₆-C₁₂)-ariloxicarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkoxycarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkoxycarbonil, (C₂-C₁₂)-alkeniloxicarbonil, (C₂-C₁₂)-alkiniloxicarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkilcarboniloxi, (C₆-C₁₂)-ariloxicarboniloxi, (C₇-C₁₆)-aralkiloxicarboniloxi, (C₃-C₈)-cicloalkoxycarboniloxi, (C₂-C₁₂)-alkeniloxicarboniloxi, (C₂-C₁₂)-alkiniloxicarboniloxi, carbamoil, N-(C₁-C₁₂)-aralkilcarbamoil, N,N-di-(C₁-C₁₂)-aralkilcarbamoil, N-(C₃-C₈)-cicloalkilcarbamoil, N-(C₆-C₁₂)-arilcarbamoil, N-(C₇-C₁₆)-aralkilcarbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₆-C₁₂)-arilcarbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₇-C₁₆)-aralkilcarbamoil, N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, amino, (C₁-C₁₂)-aralkilamino, di-(C₁-C₁₂)-aralkilamino, (C₃-C₈)-cicloalkilamino, (C₃-C₁₂)-alkenilamino, (C₃-C₁₂)-aralkilamino, N-(C₆-C₁₂)-arilamino, N-(C₇-C₁₆)-aralkilamino, N-alkilaralkilamino, N-alkil-arilamino, (C₁-C₁₂)-alkoxiamino, (C₁-C₁₂)-alkoxi-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₁-C₁₂)-aralkilcarbonilamino, (C₃-C₈)-cicloalkil-carbonilamino, (C₆-C₁₂)-arilcarbonilamino, (C₇-C₁₆)-aralkilcarbonilamino, (C₁-C₁₂)-aralkilcarbonil-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₃-C₈)-cicloalkilcarbonil-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₆-C₁₂)-arilcarbonil-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₇-C₁₆)-aralkilcarbonil-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-aralkilamino, (C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-aralkilamino, (C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-aralkilamino, (C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-aralkilamino, (C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-aralkilamino, (C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-aralkilamino, (C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-aralkilamino, (C₃-C₈)-cicloalkilamino-(C₁-C₁₀)-alkil, (C₆-C₁₂)-arilcarbonilamino-(C₁-C₈)-alkil, (C₁-C₁₂)-aralkilcarbonilamino-(C₁-C₈)-alkil, amino-(C₁-C₁₀)-alkil, N-(C₁-C₁₀)-aralkilamino-(C₁-C₁₀)-alkil, N,N-di-(C₁-C₁₀)-aralkilamino-(C₁-C₁₀)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkilamino-(C₁-C₁₀)-alkil, (C₁-C₁₂)-alkilmercapto, (C₁-C₁₂)-aralkilsulfinil, (C₁-C₁₂)-aralkilsulfonyl, (C₆-C₁₂)-arilmercapto, (C₆-C₁₂)-arilsulfinil, (C₆-C₁₂)-arilsulfonyl, (C₇-C₁₆)-aralkilmercapto, (C₇-C₁₆)-aralkilsulfinil, or (C₇-C₁₆)-aralkilsulfonyl;
- X es O o S;
- Q es O, S, NR' o una unión;
- donde, si Q es una unión, R⁴ es halógeno, nitrilo o trifluorometil;
- o donde, si Q es O, S o NR', R⁴ es hidrógeno, radical (C₁-C₁₀)-alkil, radical (C₂-C₁₀)-alkenil, radical (C₂-C₁₀)-alkinil, donde alkenil o radical alkinil contiene una o dos uniones múltiples C-C; el radical fluoroalkil no sustituido de la fórmula -[C₂]_x-C₁H_(2f+1-g)-F_g, radical (C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, radical (C₁-C₆)-alkoxi-(C₁-C₄)-alkoxi-(C₁-C₄)-alkil, radical aril, radical heteroarilo, radical (C₇-C₁₁)-aralkil o un radical de la fórmula Z



donde

5 E es un radical heteroarilo, un radical (C₃-C₈)-cicloalkil o un fenil radical de la fórmula F

10



15

v es 0-6,

w es 0 o 1,

t es 0-3, y

20 R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹ son idénticos o diferentes y son hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, trifluorometil, (C₁-C₆)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkil, (C₁-C₆)-alkoxi, -O-[CH₂]_xCfH(2f+1-g)-F_g, -OCF₂-Cl, -OCF₂-CHFCl, (C₁-C₆)-alkilmercaptop, (C₁-C₆)-hidroxialkil, (C₁-C₆)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkoxi, (C₁-C₆)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₁-C₆)-alkilsulfinil, (C₁-C₆)-alkilsulfonil, (C₁-C₆)-alkilcarbonil, (C₁-C₈)-alkoxycarbonil, carbamoil, N-(C₁-C₈)-alkilcarbamoil, N,N-di-(C₁-C₈)-alkilcarbamoil, o (C₇-C₁₁)-aralkilcarbamoil, opcionalmente sustituido por fluorina, clorina, bromina, trifluorometil, (C₁-C₆)-alkoxi, N-(C₃-C₈)-cicloalkilcarbamoil, N-(C₃-C₈)-ci-cloalkil-(C₁-C₄)-alkilcarbamoil, (C₁-C₆)-alkilcarboniloxi, fenil, benzil, fenoxi, benziloxi, NRIRZ donde Ri y Rz se seleccionan de forma independiente entre hidrógeno, (C₁-C₁₂)-alkil, (C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₇-C₁₂)-ar-alkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₃-C₁₀)-cicloalkil, (C₃-C₁₂)-alkenil, (C₃-C₁₂)-alkinil, (C₆-C₁₂)-aril, (C₇-C₁₁)-aralkil, (C₁-C₁₂)-alkoxi, (C₇-C₁₂)-aralkoxi, (C₁-C₁₂)-alkilcarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkilcarbo-nil, (C₆-C₁₂) arilcarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkilcarbonil; o también donde Ri y Rz juntos son -[CH₂]_h, donde un grupo de CH₂ puede sustituirse con O, S, N-(C₁-C₄)-alkilcarbonilimino o N-(C₁-C₄)-alkoxycarbonilimino; fenilmer-capto, fenilsulfonil, fenilsulfinil, sulfamoil, N-(C₁-C₈)-alkilsulfamoil o N, N-di-(C₁-C₈)-alkilsulfamoil; o de forma alternativa R₇ y R₈, R₈ y R₉, R₉ y R₁₀ o R₁₀ y R₁₁, juntos forman una cadena seleccionada entre [CH₂]_n- or -CH=CH-CH=CH-, donde un grupo de CH₂ de la cadena puede ser sustituido por O, S, SO, SO₂ o NRI; y n es 3, 4 o 5; y si E es un radical heteroarilo, dicho radical puede portar 1-3 sustituyentes seleccionados de los definidos para R₇-R₁₁ o si E es un radical cicloalkil, el radical puede portar un sustituyente seleccionado de los definidos para R₇-R₁₁;

25

30

35

40

o donde, si Q es NR', R⁴ puede ser alternativamente R", donde R' y R" son idénticos o diferentes y son hidrógeno, (C₆-C₁₂)-aril, (C₇-C₁₁)-aralkil, (C₁-C₈)-alkil, (C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₇-C₁₂)-aralkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₆-C₁₂)-ari-loxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₁-C₁₀)-alkilcarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkilcarbonil opcionalmente sustituido, o sustitución opcional por C₆-C₁₂-arilcarbonil; o R' y R" conjuntamente son -[CH₂]_h, donde un grupo CH₂ puede sustituirse con O, S, N-acilimino, o N-(C₁-C₁₀)-alkoxycarbonilimino y h es de 3 a 7.

I es N o CR³;

45

50

55

60

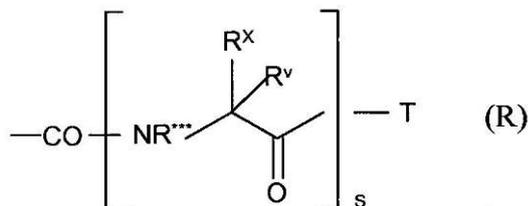
65

R¹, R² y R³ son idénticos o diferentes y son hidrógeno, hidroxilo, halógeno, ciano, trifluorometil, nitro, carboxil, (C₁-C₂₀)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkil, (C₃-C₈)cicloalkil-(C₁-C₁₂)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkoxi, (C₃-C₈)-ci-cloalkil-(C₁-C₁₂)-alkoxi, (C₃-C₈)-cicloalkiloxi-(C₁-C₁₂)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkiloxi-(C₁-C₁₂)-alkoxi, (C₃-C₈)-ci-cloalkil-(C₁-C₈)-alkil-(C₁-C₆)-alkoxi, (C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkiloxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkoxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₈)-alkoxi, (C₆-C₁₂)-aril, (C₇-C₁₆)-aralkil, (C₇-C₁₆)-aralkenil, (C₇-C₁₆)-aralkinil, (C₂-C₂₀)-alkenil, (C₂-C₂₀)-alkinil, (C₁-C₂₀)-alkoxi, (C₂-C₂₀)-alkeniloxi, (C₂-C₂₀)-alkiniloxi, retiniloxi, (C₁-C₂₀)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkil, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkoxi, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₆-C₁₂)-ariloxi, (C₇-C₁₆)-aralkiloxi, (C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₇-C₁₆)-aralkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₇-C₁₆)-aralkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₇-C₁₆)-aralkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₂-C₂₀)-alkeniloxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₂-C₂₀)-alkiniloxi-(C₁-C₆)-alkil, retiniloxi-(C₁-C₆)-alkil, -O-[CH₂]_xCfH(2f+1-g)F_g, -OCF₂Cl, -OCF₂-CHFCl, (C₁-C₂₀)-alkilcarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkilcarbonil, (C₆-C₁₂)-arilcarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkilcarbonil, cinnamoil, (C₂-C₂₀)-alkenilcarbonil, (C₂-C₂₀)-alkinilcarbonil, (C₁-C₂₀)-alkoxi-carbonil, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkoxycarbonil, (C₆-C₁₂)-ariloxycarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkoxycarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkoxycarbonil, (C₂-C₂₀)-alkeniloxycarbonil, retiniloxycarbonil, (C₂-C₂₀)-alkiniloxycarbonil, (C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₆)-alkoxycarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkoxi-(C₁-C₆)-alkoxycarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₆)-alkoxycarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkoxi-(C₁-C₆)-alkoxycarbonil, (C₁-C₁₂)-alkilcarboniloxi, (C₃-C₈)-cicloalkilcarbonil-niloxi, (C₆-C₁₂)-arilcarboniloxi, (C₇-C₁₆)-aralkilcarboniloxi, cinnamoiloxi, (C₂-C₁₂)-alkenilcarboniloxi, (C₂-C₁₂)-alkinilcarboniloxi, (C₁-C₁₂)-alkoxycarboniloxi, (C₁-C₁₂)-alkoxycarboniloxi, (C₆-C₁₂)-ariloxycarboniloxi, (C₇-C₁₆)-aralkiloxycarboniloxi, (C₃-C₈)-cicloalkoxycarboniloxi, (C₂-C₁₂)-alkeniloxycarboniloxi, (C₂-C₁₂)-alkiniloxycarboniloxi, carbamoil, N-(C₁-C₁₂)-alkilcarbamoil, N, N-di-(C₁-C₁₂)-alkilcarbamoil, N-(C₃-C₈)-cicloalkilcarbamoil, N,N-diciclo-(C₃-C₈)-alkilcarbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₃-C₈)-cicloalkilcarbamoil, N-((C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₆)-alkil)-carbamoil, N-(C₁-C₆)-alkil-N-((C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₆)-alkil)-carbamoil, N-(+)-dehidroabietilcarbamoil, N-(C₁-C₆)-alkil-N-(+)-dehidroabietilcarbamoil, N-(C₆-C₁₂)-arilcarbamoil, N-(C₇-C₁₆)-aralkilcarbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₆-C₁₆)-arilcarbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₇-C₁₆)-aralkilcarbamoil, N-((C₁-C₁₈)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-((C₆-C₁₆)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-

carbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoil; CON(CH₂)_h, donde un grupo CH₂ pueden sustituirse con O, S, N-(C₁-C₈)-alkilimino, N-(C₃-C₈)-ci-cloalkilimino, N-(C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₄)-alkilimino, N-(C₆-C₁₂)-arilimino, N-(C₇-C₁₆)-aralkilimino, N-(C₁-C₄)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkilimino y h va de 3 a 7; un radical carbamoil de la fórmula R

5

10



15

donde

20

25

30

35

40

45

50

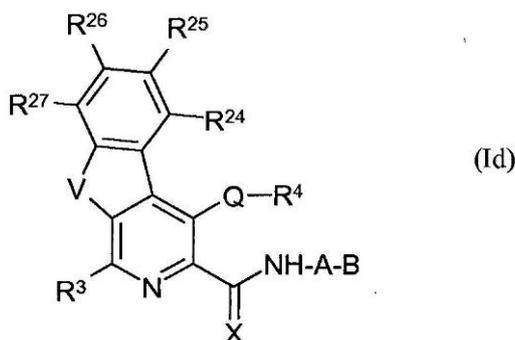
55

60

65

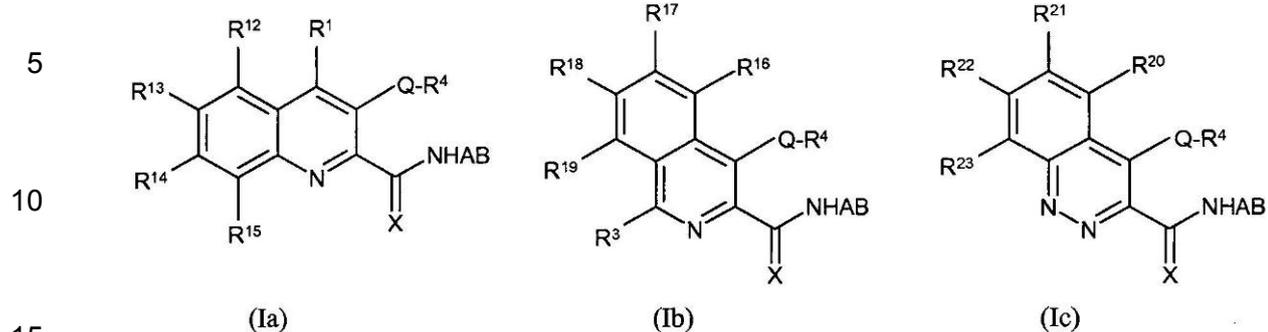
R^x y R^y se seleccionan independientemente entre hidrógeno, (C₁-C₆)-alkil, (C₃-C₇)-cicloalkil, aril, o el sustituto de un α-carbono de un α-amino ácido, donde corresponden los amino ácidos L- y D-, s es 1-5, T es OH o NR^{*}R^{***} y R^{*}, R^{***} y R^{**} son idénticos o diferentes y se seleccionan entre hidrógeno, (C₆-C₁₂)-aril, (C₇-C₁₁)-aralkil, (C₁-C₈)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkil, (+)-dehidroabietil, (C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₇-C₁₂)-ar-alkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₁-C₁₀)-alkanoil, opcionalmente sustituido (C₇-C₁₆)-aralkanoil, opcionalmente sustituido (C₆-C₁₂)-aroi; o R^{*} y R^{**} conjuntamente son -[CH₂]_h, donde un grupo de CH₂ puede sustituirse con O, S, SO, SO₂, N-acilamino, N-(C₁-C₁₀)-alkoxycarbonilimino, N-(C₁-C₈)-alkilimino, N-(C₃-C₈)-cicloalkilimino, N-(C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₄)-alkilimino, N-(C₆-C₁₂)-arilimino, N-(C₇-C₁₆)-aralkilimino, N-(C₁-C₄)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkilimino, and h is from 3 to 7; carbamoiloxi, N-(C₁-C₁₂)-alkilcarbamoiloxi, N,N-di-(C₁-C₁₂)-alkilcarbamoiloxi, N-(C₃-C₈)-cicloalkilcarbamoiloxi, N-(C₆-C₁₂)-arilcarbamoiloxi, N-(C₇-C₁₆)-aralkilcarbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₆-C₁₂)-arilcarbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₇-C₁₆)-aralkilcarbamoiloxi, N-((C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₁-C₁₀)-alkoxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxi, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-((C₇-C₁₆)-aralkiloxi-(C₁-C₁₀)-alkil)-carbamoiloxiamino, (C₁-C₁₂)-alkilamino, di-(C₁-C₁₂)-alkilamino, (C₃-C₈)-cicloalkilamino, (C₃-C₁₂)-alkenilamino, (C₃-C₁₂)-alkinilamino, N-(C₆-C₁₂)-arilamino, N-(C₇-C₁₁)-aralkilamino, N-alkil-aralkilamino, N-alkil-arilamino, (C₁-C₁₂)-alkoxiamino, (C₁-C₁₂)-alkoxi-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₁-C₁₂)-alkanoilamino, (C₃-C₈)-cicloalkanoilamino, (C₆-C₁₂)-aroiilamino, (C₇-C₁₆)-aralkanoilamino, (C₁-C₁₂)-alkanoil-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₃-C₈)-cicloalkanoil-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₆-C₁₂)-aroi-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₇-C₁₁)-aralkanoil-N-(C₁-C₁₀)-alkilamino, (C₁-C₁₂)-alkanoilamino-(C₁-C₈)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkanoilamino-(C₁-C₈)-alkil, (C₆-C₁₂)-aroiilamino-(C₁-C₈)-alkil, (C₇-C₁₆)-aralkanoilamino-(C₁-C₈)-alkil, amino-(C₁-C₁₀)-alkil, N-(C₁-C₁₀)-alkilamino-(C₁-C₁₀)-alkil, N,N-di(C₁-C₁₀)-alkilamino-(C₁-C₁₀)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkilamino-(C₁-C₁₀)-alkil, (C₁-C₂₀)-alkilmercapto, (C₁-C₂₀)-alkilsulfinil, (C₁-C₂₀)-alkilsulfonyl, (C₆-C₁₂)-arilmercapto, (C₆-C₁₂)-arilsulfinil, (C₆-C₁₂)-arilsulfonyl, (C₇-C₁₆)-aralkilmercapto, (C₇-C₁₆)-aralkilsulfinil, (C₇-C₁₆)-aralkilsulfonyl, (C₁-C₁₂)-alkilmercapto-(C₁-C₆)-alkil, (C₁-C₁₂)-alkilsulfinil-(C₁-C₆)-alkil, (C₁-C₁₂)-alkilsulfonyl-(C₁-C₆)-alkil, (C₆-C₁₂)-arilmercapto-(C₁-C₆)-alkil, (C₆-C₁₂)-arilsulfinil-(C₁-C₆)-alkil, (C₆-C₁₂)-arilsulfonyl-(C₁-C₆)-alkil, (C₇-C₁₆)-aralkilmercapto-(C₁-C₆)-alkil, (C₇-C₁₆)-aralkilsulfinil-(C₁-C₆)-alkil, (C₇-C₁₆)-aralkilsulfonyl-(C₁-C₆)-alkil, sulfamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkilsulfamoil, N,N-di-(C₁-C₁₀)-alkilsulfamoil, (C₃-C₈)-cicloalkilsulfamoil, N-(C₆-C₁₂)-arilsulfamoil, N-(C₇-C₁₆)-aralkilsulfamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₆-C₁₂)-arilsulfamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₇-C₁₆)-aralkilsulfamoil, (C₁-C₁₀)-alkilsulfonamido, N-((C₁-C₁₀)-alkil)-(C₁-C₁₀)-alkilsulfonamido, (C₇-C₁₆)-aralkilsulfonamido y N-((C₁-C₁₀)-alkil)-(C₇-C₁₆)-aralkilsulfonamido; donde un radical aril puede sustituirse por 1 a 5 sustituyentes seleccionados entre hidroxilo, halógeno, ciano, trifluorometil, nitro, carboxil, (C₂-C₁₆)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkil, (C₃-C₈)-ci-cloalkil-(C₁-C₁₂)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkoxi, (C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₁₂)-alkoxi, (C₃-C₈)-cicloalkiloxi-(C₁-C₁₂)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkiloxi-(C₁-C₁₂)-alkoxi, (C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₈)-alkil-(C₁-C₆)-alkoxi, (C₃-C₈)-ci-cloalkil-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkiloxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₃-C₈)-cicloalkoxi-(C₁-C₈)-alkoxi, (C₂-C₁₂)-alkinil, (C₁-C₁₆)-alkoxi, (C₁-C₁₆)-alkeniloxi, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkil, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkoxi, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₆-C₁₂)-ariloxi, (C₇-C₁₆)-aralkiloxi, (C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₆)-alkoxi, (C₇-C₁₆)-aralkoxi-(C₁-C₆)-alkoxi, (C₁-C₈)-hidroxialkil, (C₆-C₁₆)-ariloxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₇-C₁₆)-aralkoxi-(C₁-C₈)-alkil, (C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, (C₇-C₁₂)-aralkiloxi-(C₁-C₈)-alkoxi-(C₁-C₆)-alkil, -O-[CH₂]_xCfH(2f+1-g)Fg, -OCF₂Cl, -OCF₂-CHFCl, (C₁-C₁₂)-alkilcarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkilcarbonil, (C₆-C₁₂)-arilcarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkilcarbonil, (C₁-C₁₂)-alkoxycarbonil, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkoxycarbonil, (C₆-C₁₂)-ariloxycarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkiloxycarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkoxycarbonil, (C₂-C₁₂)-alkeniloxycarbonil, (C₂-C₁₂)-alkiniloxycarbonil, (C₆-C₁₂)-ariloxi-(C₁-C₆)-alkoxycarbonil, (C₇-C₁₆)-aralkoxi-(C₁-C₆)-alkoxycarbonil, (C₃-C₈)-ci-cloalkil-(C₁-C₆)-alkoxycarbonil, (C₃-C₈)-cicloalkoxi-(C₁-C₆)-alkoxycarbonil, (C₁-C₁₂)-alkilcarboniloxi, (C₃-C₈)-cicloalkilcarboniloxi, (C₆-C₁₂)-arilcarboniloxi, (C₇-C₁₆)-aralkilcarboniloxi, cinnamoiloxi, (C₂-C₁₂)-alkenilcarboniloxi, (C₂-C₁₂)-alkinilcarboniloxi, (C₁-C₁₂)-alkoxycarboniloxi, (C₁-C₁₂)-alkoxi-(C₁-C₁₂)-alkoxycarboniloxi, (C₆-C₁₂)-ariloxycarboniloxi, (C₇-C₁₆)-aralkiloxycarboniloxi, (C₃-C₈)-cicloalkoxycarboniloxi, (C₂-C₁₂)-alkeniloxycarboniloxi, (C₂-C₁₂)-alkiniloxycarboniloxi, carbamoil, N-(C₁-C₁₂)-alkilcarbamoil, N,N-di(C₁-C₁₂)-alkilcarbamoil, N-(C₃-C₈)-cicloalkilcarbamoil, N,N-diciclo-(C₃-C₈)-alkilcarbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-(C₃-C₈)-ci-cloalkilcarbamoil, N-((C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₈)-alkil)carbamoil, N-(C₁-C₆)-alkil-N-((C₃-C₈)-cicloalkil-(C₁-C₆)-alkil)carbamoil, N-(+)-dehidroabietilcarbamoil, N-(C₁-C₆)-alkil-N-(+)-dehidroabietilcarbamoil, N-(C₆-C₁₂)-arilcarbamoil, N-(C₇-C₁₆)-aralkilcarbamoil, N-(C₁-C₁₀)-alkil-N-

(C6-C16)-arilcarbamoil, N-(C1-C10)-alkil-N-(C7-C16)-aralkilcarbamoil, N-((C1-C16)-alkoxi-(C1-C10)-alkil)carbamoil, N-((C6-C16)-ariloxi-(C1-C10)-akl)carbamoil, N-((C7-C16)-aralkiloxi-(C1-C10)-alkil)carbamoil, N-(C1-C10)-alkil-N-((C1-C10)-alkoxi-(C1-C10)-alkil)carbamoil, N-(C1-C10)-aklil-N-((C6-C12)-ariloxi-(C1-C10)-akl)carbamoil, N-(C1-C10)-alkil-N-((C7-C16)-ar-alkiloxi-(C1-C10)-alkil)-carbamoil, CON(CH₂)_h, donde un grupo CH₂ puede sustituirse con, O, S, N-(C1-C8)-alkilimino, N-(C3-C8)-cicloalkilimino, N-(C3-C8)-cicloalkil-(C1-C4)-alkilimino, N-(C6-C12)-arilimino, N-(C7-C16)-aralkilimino, N-(C1-C4)-alkoxi-(C1-C6)-alkilimino, and h is from 3 to 7; carbamoiloxi, N-(C1-C12)-alkilcarbamoiloxi, N,N-di-(C1-C12)-alkilcarbamoiloxi, N-(C3-C8)-cicloalkilcarbamoiloxi, N-(C6-C16)-arilcarbamoiloxi, N-(C7-C16)-aralkilcarbamoiloxi, N-(C1-C10)-alkil-N-(C6-C12)-arilcarbamoiloxi, N-(C1-C10)-alkil-N-(C7-C16)-aralkilcarbamoiloxi, N-((C1-C10)-alkil)carbamoiloxi, N-((C6-C12)-ariloxi-(C1-C10)-alkil)carbamoiloxi, N-((C7-C16)-ar-alkiloxi-(C1-C10)-alkil)carbamoiloxi, N-(C1-C10)-alkil-N-((C1-C10)-alkoxi-(C1-C10)-alkil)carbamoiloxi, N-(C1-C10)-alkil-N-((C6-C12)-ariloxi-(C1-C10)-alkil)carbamoiloxi, N-(C1-C10)-alkil-N-((C7-C16)-aralkiloxi-(C1-C10)-alkil)carbamoiloxi, amino, (C1-C12)-alkilamino, di-(C1-C12)-alkilamino, (C3-C8)-cicloalkilamino, (C3-C12)-alke-nilamino, (C3-C12)-alkinilamino, N-(C6-C12)-arilamino, N-(C7-C11)-aralkilamino, N-alkil-aralkilamino, N-alkil-arilamino, (C1-C12)-alkoxiamino, (C1-C12)-alkoxi-N-(C1-C10)-alkilammo, (C1-C12)-alkanoilamino, (C3-C8)-cicloal-kanoilamino, (C6-C12)-aroilamino, (C7-C16)-aralkanoilamino, (C1-C12)-alkanoil-N-(C1-C10)-alkilamino, (C3-C8)-cicloalkanoil-N-(C1-C10)-alkilamino, (C6-C12)-aroil-N-(C1-C10)-alkilamino, (C7-C11)-aralkanoil-N-(C1-C10)-alkilamino, (C1-C12)-alkanoilamino-(C1-C8)-alkil, (C3-C8)-cicloalkanoilamino-(C1-C8)-alkil, (C6-C12)-aroilamino-(C1-C8)-alkil, (C7-C16)-aralkanoilamino-(C1-C8)-alkil, amino-(C1-C10)-alkil, N-(C1-C10)-alkilami-no-(C1-C10)-alkil, N,N-di-(C1-C10)-alkilamino-(C1-C10)-alkil, (C3-C8)-cicloalkilamino-(C1-C10)-alkil, (C1-C12)-alkilmercapto, (C1-C12)-alkilsulfinil, (C1-C12)-alkilsulfonyl, (C6-C16)-arilmercapto, (C6-C16)-arilsulfinil, (C6-C16)-arilsulfonyl, (C7-C16)-aralkilmercapto, (C7-C16)-aralkilsulfinil, or (C7-C16)-aralkilsulfonyl; o donde R¹ y R² o R² y R³ forman una cadena [CH₂]_o, que es saturada o insaturada por una doble unión C=C, donde 1 o 2 grupos de CH₂ se pueden sustituir con O, S, SO, SO₂ o NR' y R' es hidrógeno, (C6-C12)-aril, (C1-C8)-alkil, (C1-C8)-alkoxi-(C1-C8)-alkil, (C7-C12)-aralkoxi-(C1-C8)-alkil, (C6-C12)-ariloxi-(C1-C8)-alkil, (C1-C10)-alkanoil, opcionalmente sustituido (C7-C16)-aralkanoil, o sustituido opcionalmente por (C6-C12)-aroil; y/o es 3, 4 o 5; o donde los radicales R1 y R2 o R2 y R3, junto con la piridina o piridazina que los transporta, forman un anillo de 5,6,7,8-tetrahidroisoquinolina, un anillo de 5,6,7,8-tetrahydroquinolina, o un anillo de 5,6,7,8-tetrahydrocinnolina; o donde R1 y R2 o R2 y R3 forman un anillo aromático carbocíclico o heterocíclico de 5- o 6- miembros; o donde R1 y R2 o R2 y R3, conjuntamente con la piridina o la piridazina que los transporta, forman un sistema de anillo heterocíclico opcionalmente sustituido seleccionado entre tienopiridinas, furanopiridinas, piridopiridinas, pirimidinopiridinas, imidazopiridinas, tiazolopiridinas, oxazolopiridinas, quinolina, isoquinolina y cinolina; o donde los radicales R1 y R2, junto con la piridina que los transporta, forman un compuesto de Fórmula Id:



donde V es S, O o NR^k y R^k se selecciona entre hidrógeno, (C1-C6)-alkil, aril o benzil; donde un radical de aril podría ser sustituido por entre 1 y 5 sustituyentes como se han definido; y R²⁴, R²⁵, R²⁶ y R²⁷ en cada caso de forma mutuamente independiente tienen el significado de R¹, R² y R³; f es de 1 a 8; g es 0 o de 1 a (2f+1); x es de 0 a 3; y es de 3 a 7; o una sal activa fisiológicamente derivada de los anteriores.

8. Las estructuras miméticas de la reivindicación 7 para el uso de dicha reivindicación, donde la estructura mimética es un compuesto de Fórmula (la), (lb) o (lc):



y los sustituyentes de R¹² a R²³ en cada caso mutuamente independientes tienen el significado de R¹, R² y R³.

9. La estructura mimética de cualquiera de las reivindicaciones 1-6 para el uso de esa reivindicación, donde la anemia es anemia de enfermedad crónica y la estructura mimética es para su uso en: aumento de la cantidad de hierro disponible para crear nuevos glóbulos rojos; aumento de reticulocitos; aumento del volumen corpuscular celular medio; aumento de la hemoglobina corpuscular media; aumento del hematocrito; aumento de la hemoglobina; o aumento del conteo de glóbulos rojos.

10. La estructura mimética de cualquiera de las reivindicaciones 1, 4, 5 o 6 para el uso de esa reivindicación, donde la estructura mimética se seleccionase de entre el grupo que consta de [(1-Cloro-4-hidroxi-soquinolina-3-carbonil)-amino]-ácido acético, [(4-Hidroxi-7-fenoxi-iso-quinolina-3-carbonil)-amino]-ácido acético, [(4-Hidroxi-7-fenilsulfanil-isoquinolina-3-carbonil)-amino]-ácido acético y 3-{[4-(3,3-Dibenzil-ureido)-benzenesulfonil]-[2-(4-metoxifenil)-etil]-amino} -N-hidroxi-propiona-mide.

11. La estructura mimética de cualquier reivindicación precedente para el uso de dicha reivindicación, donde la estructura mimética es para su administración oral.

35

40

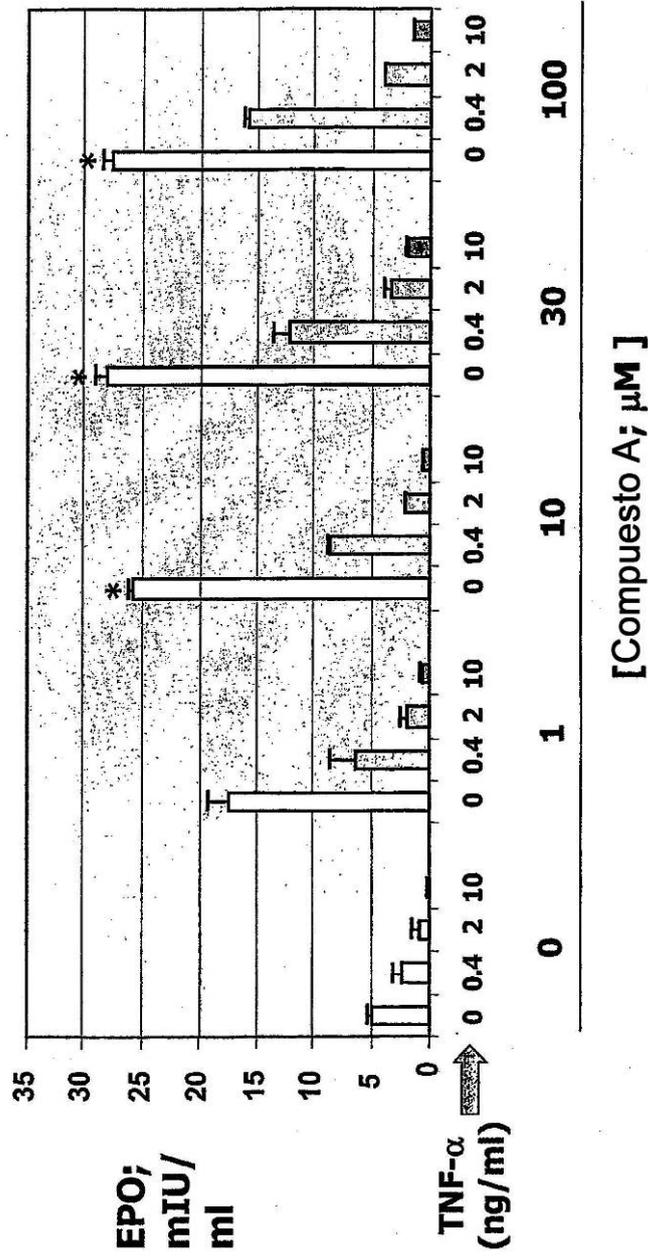
45

50

55

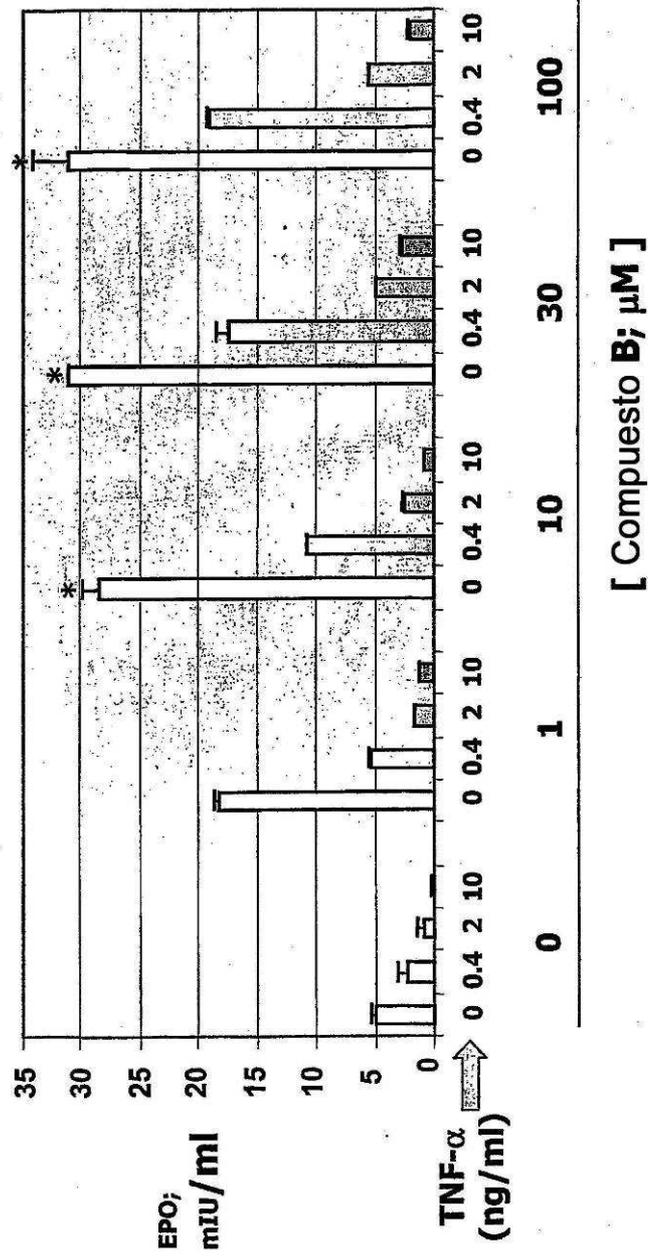
60

65



* Valores fuera de EPO

Figura 1A



* Valor fuera de EPO

Figura 1B

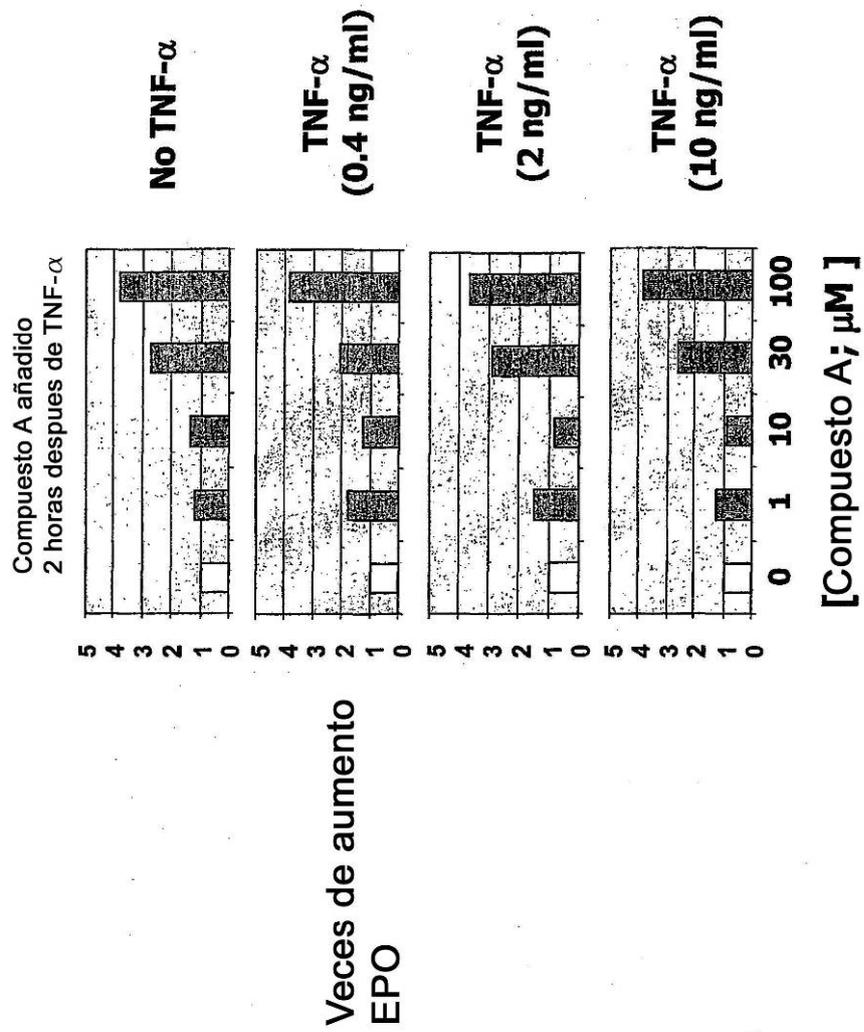


Figura 2A

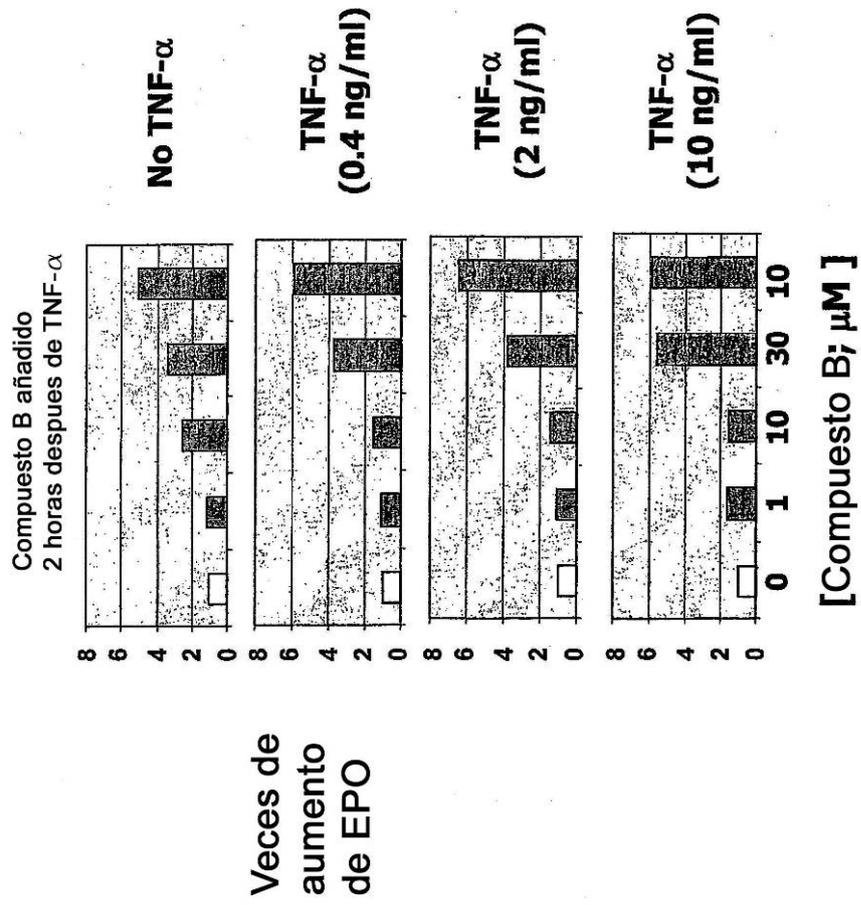


Figura 2B

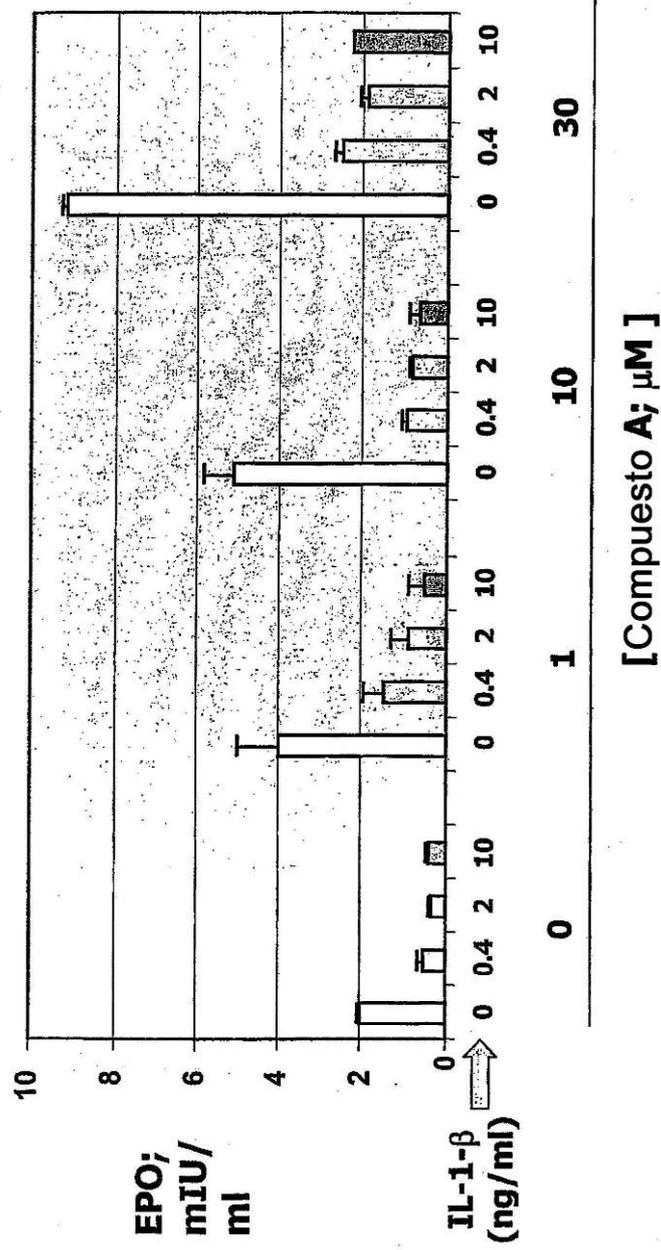


Figura 3A

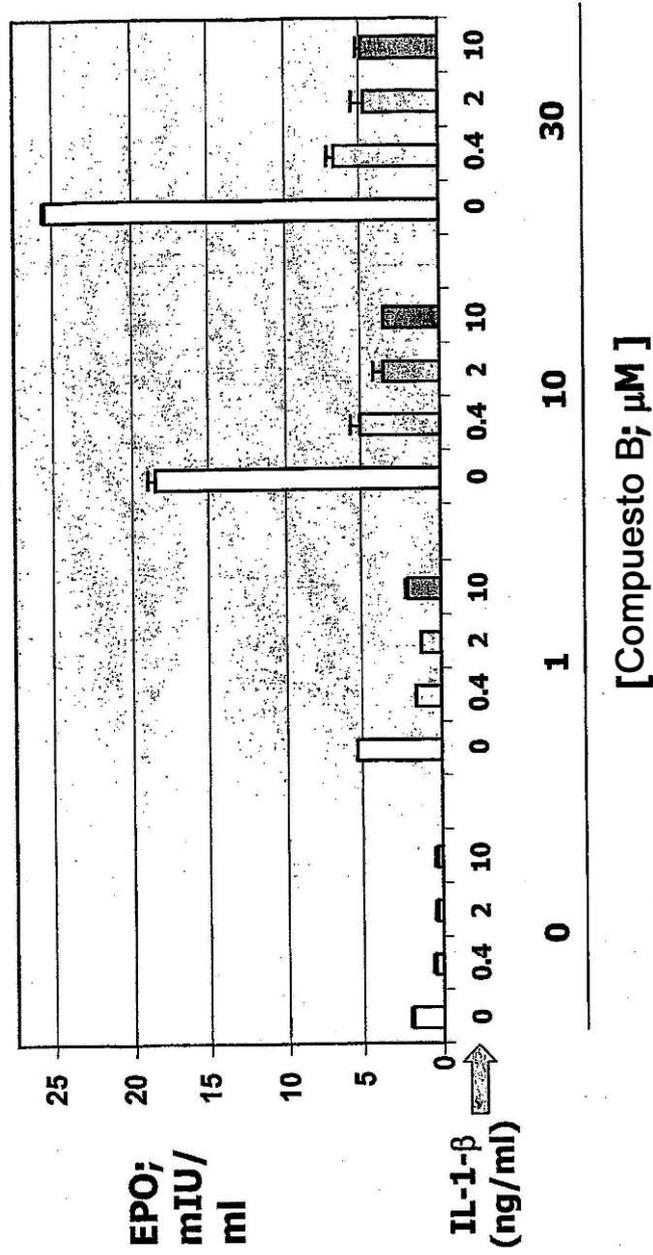


Figura 3B

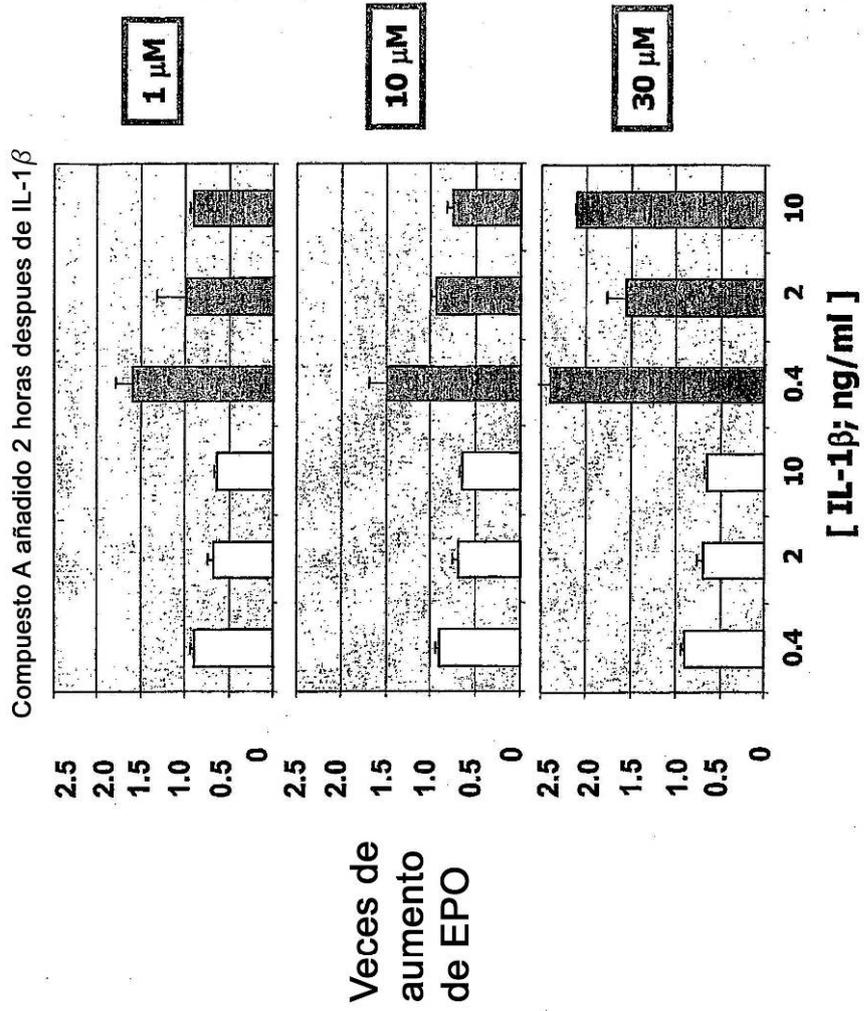


Figura 4A

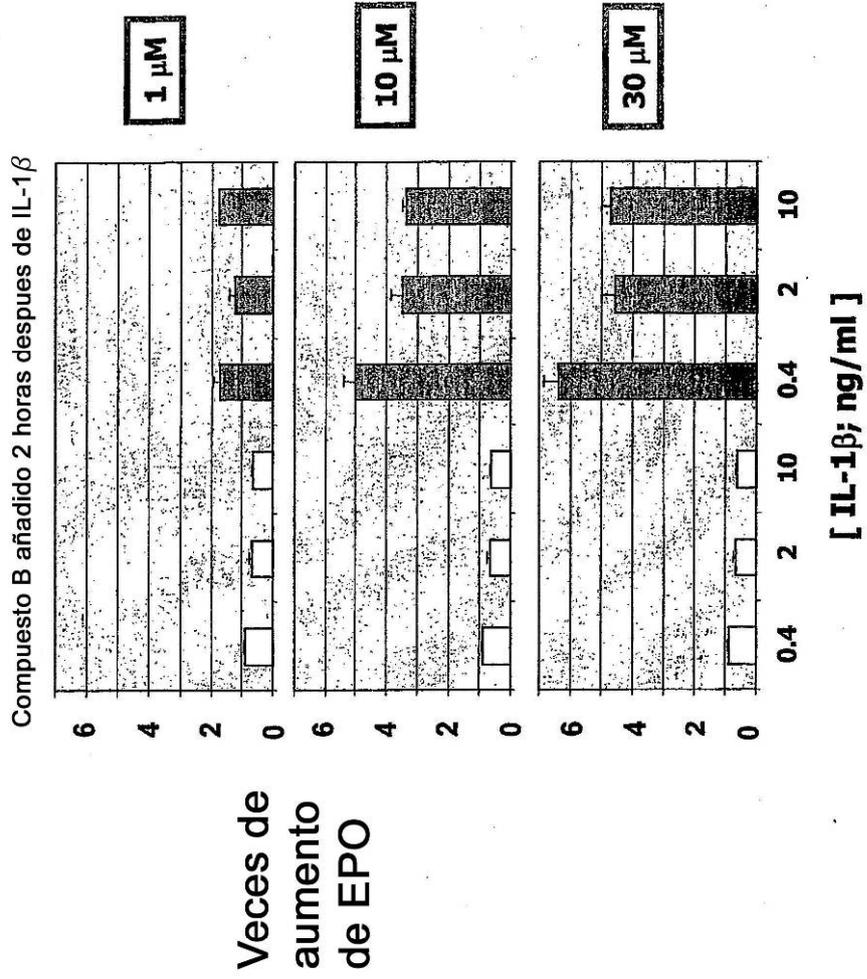


Figura 4B

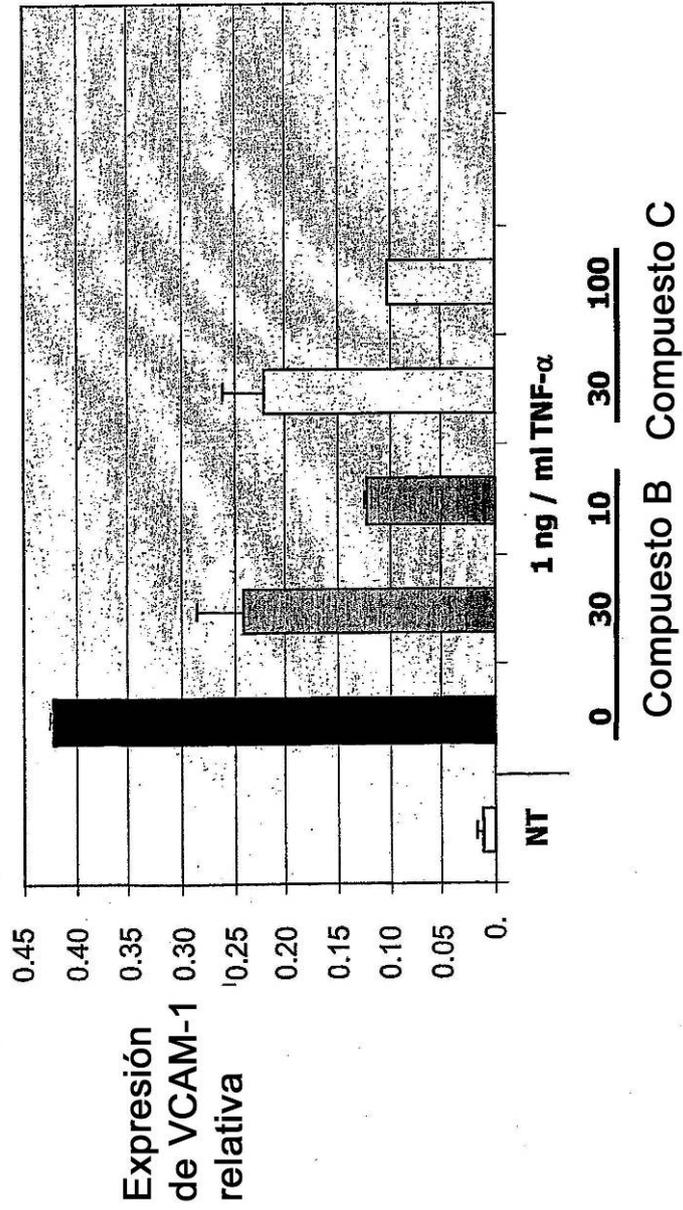


Figura 5

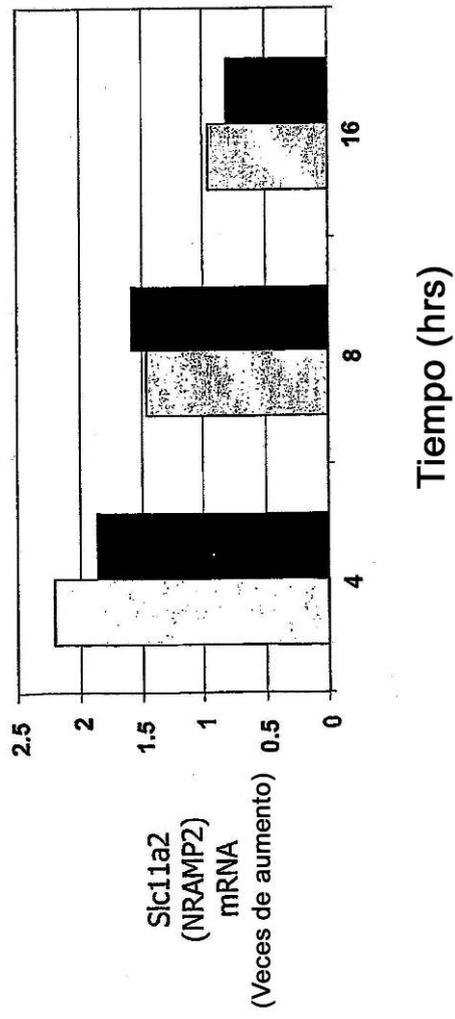


Figura 6A

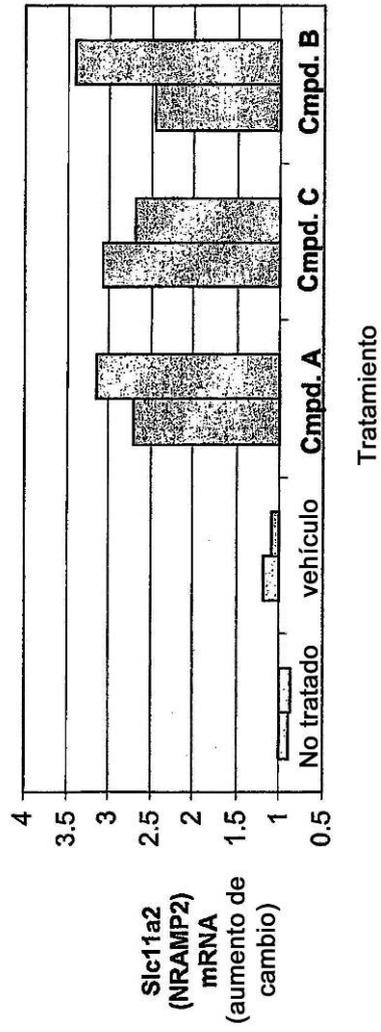


Figura 6B

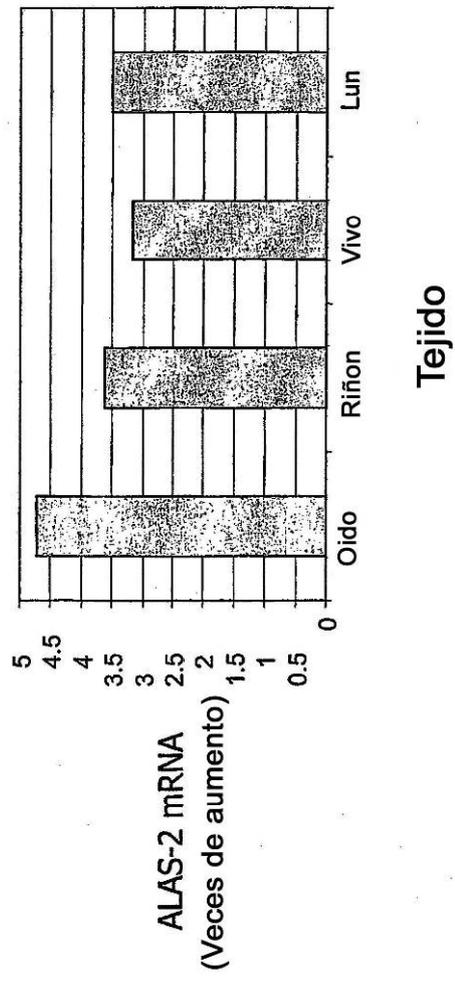


Figura 6C

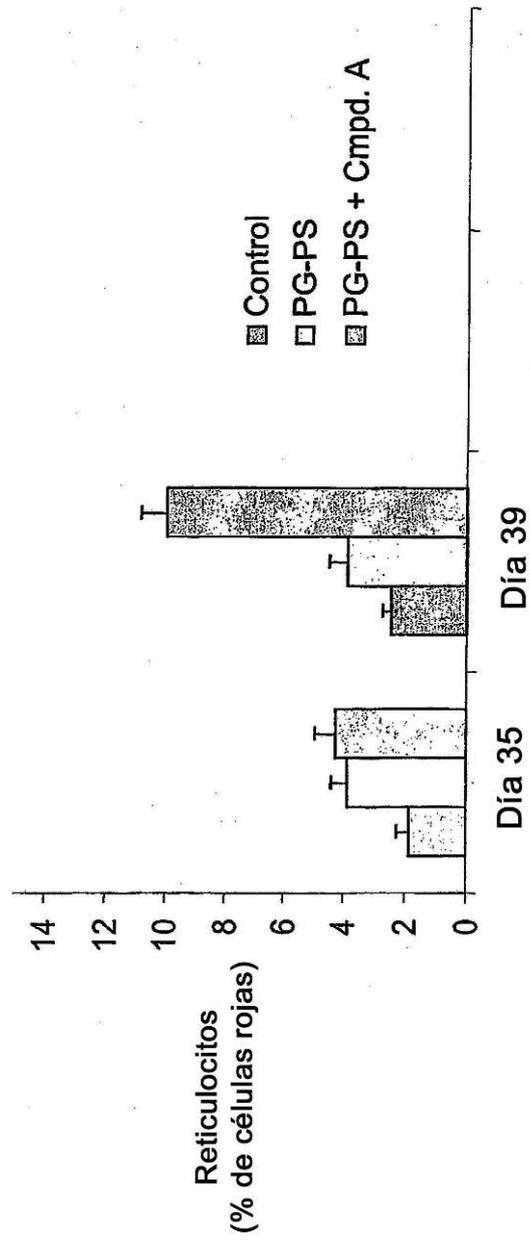


Figura 7

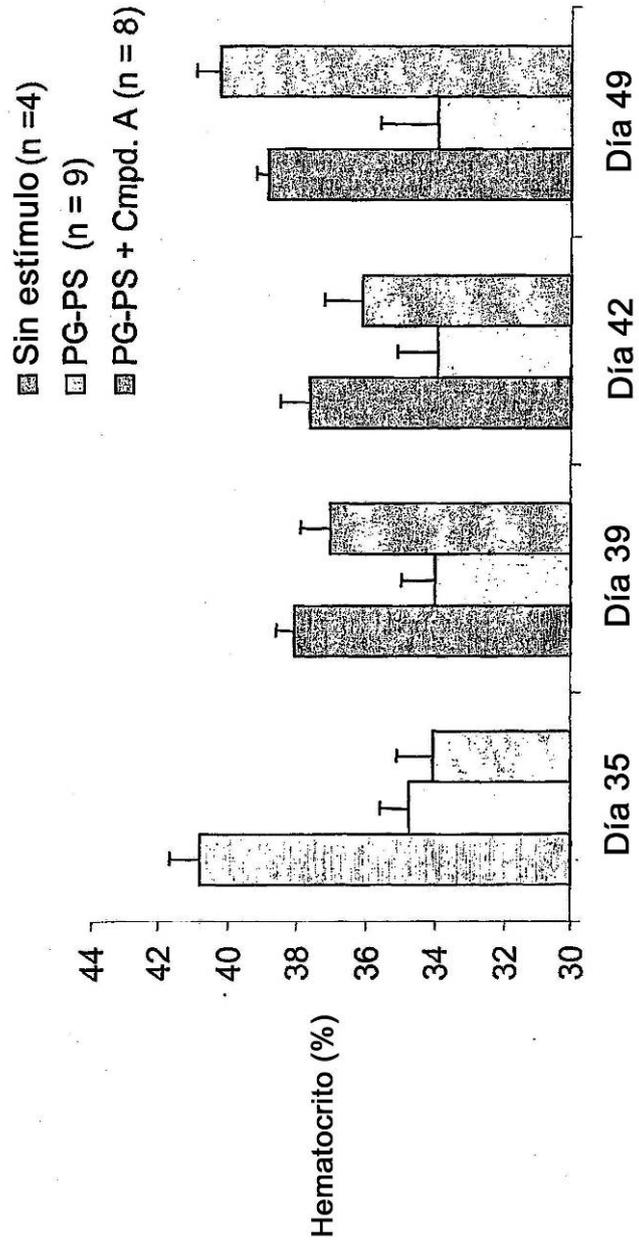


Figura 8

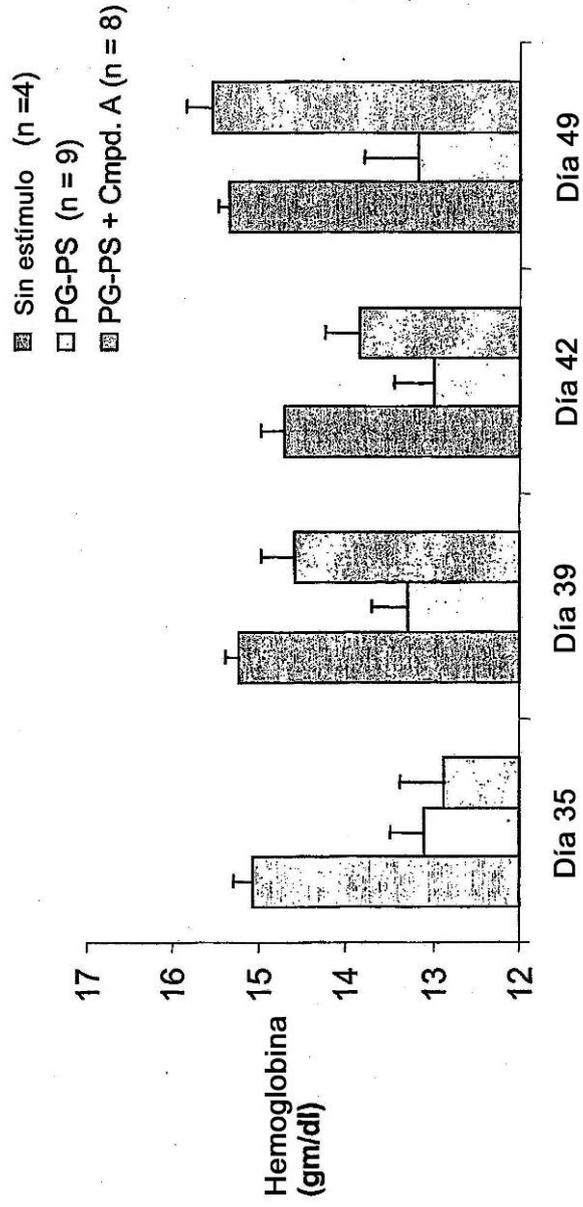


Figura 9

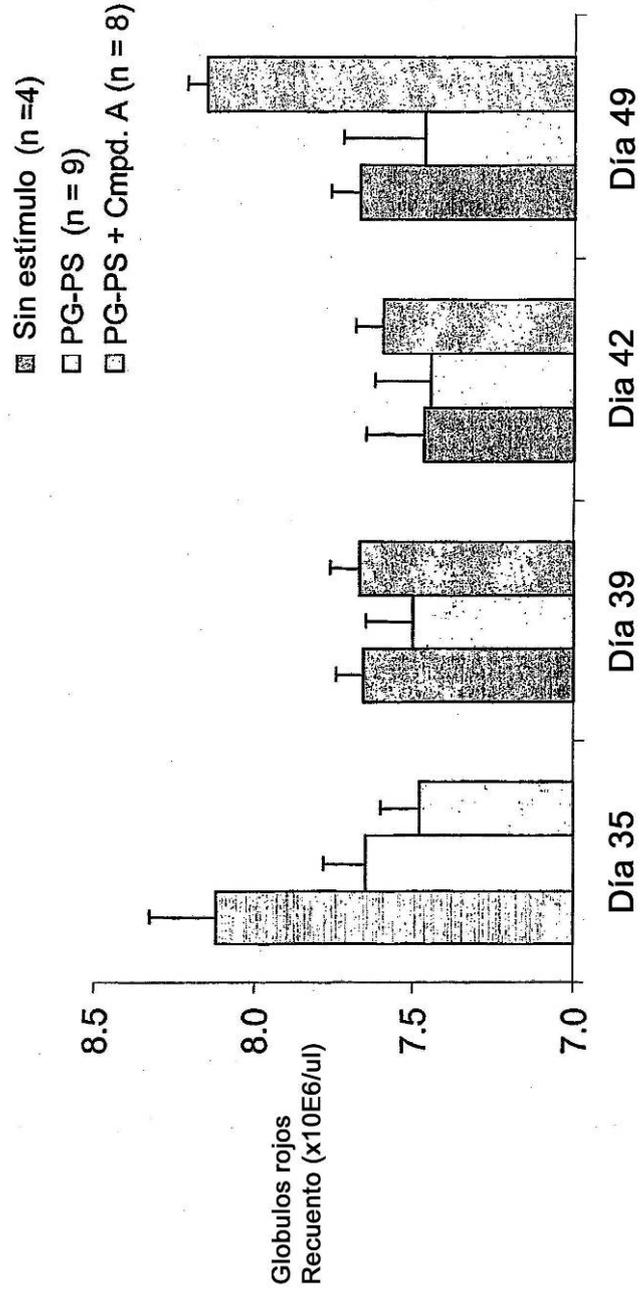


Figura 10

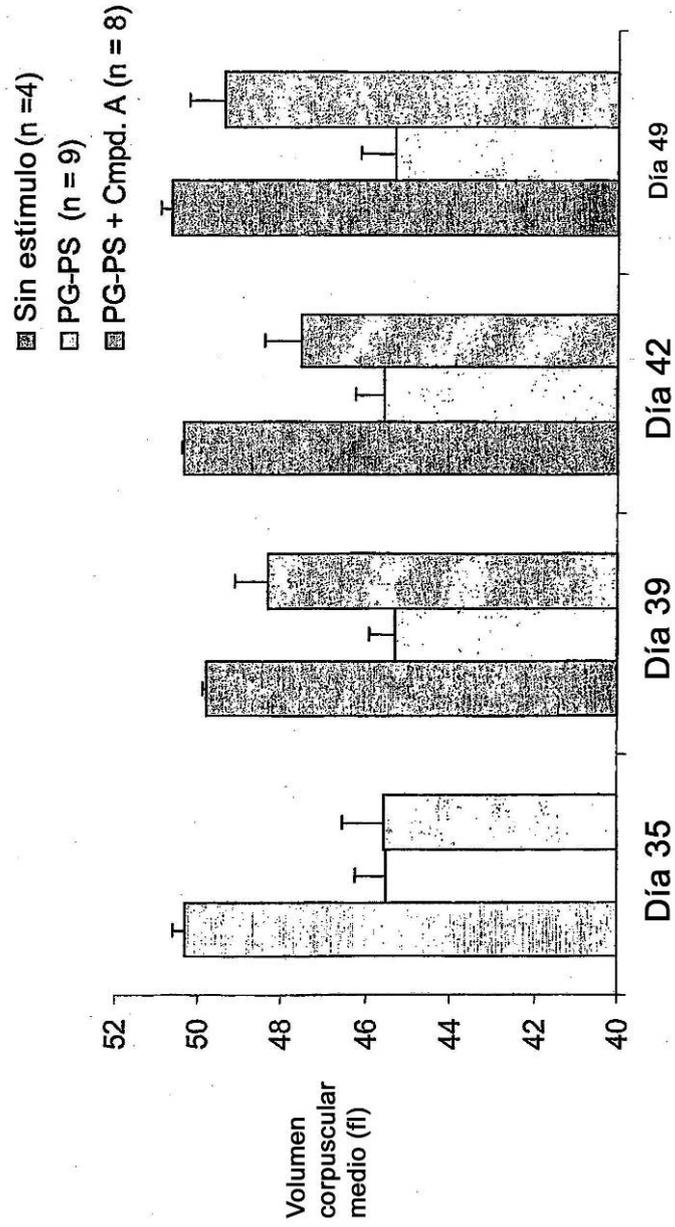


Figura 11

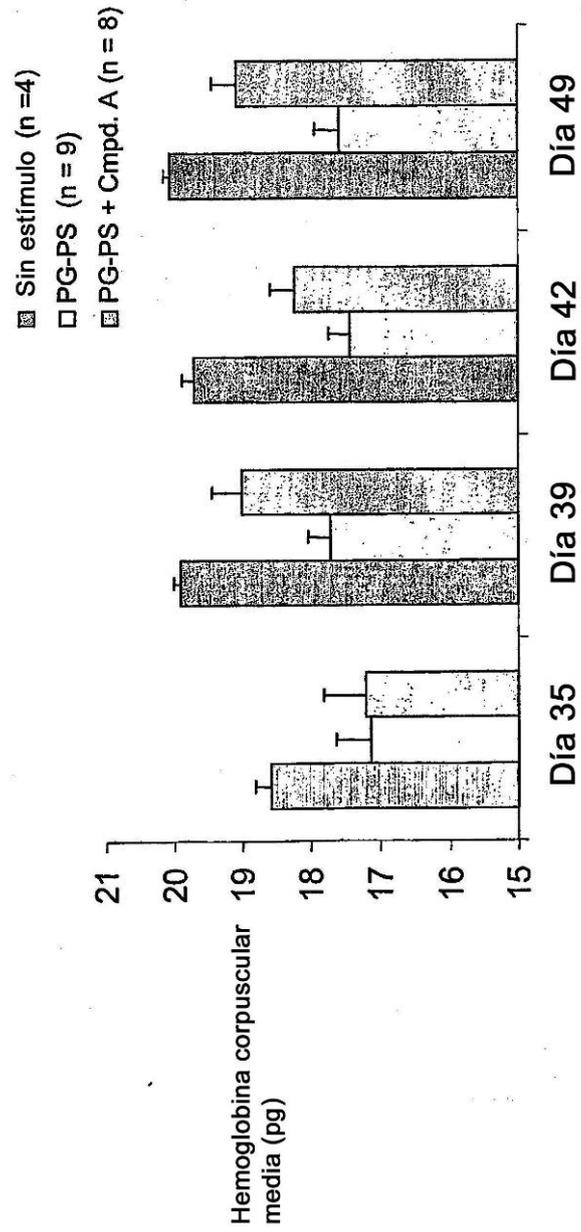


Figura 12

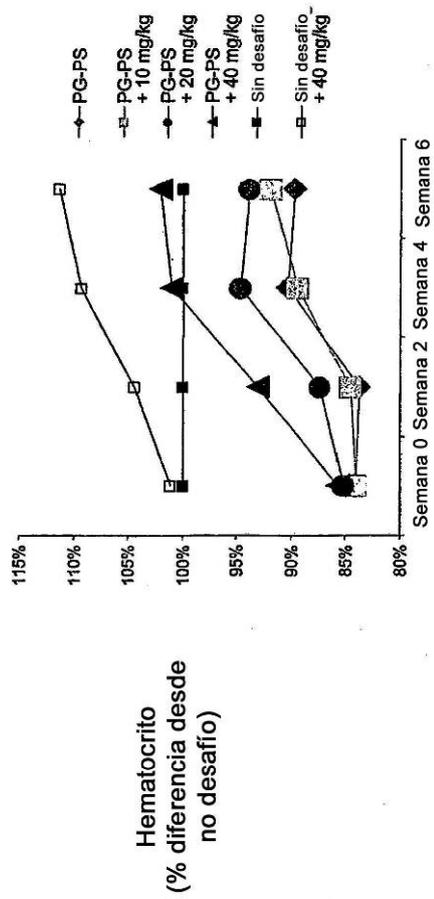


Figura 13

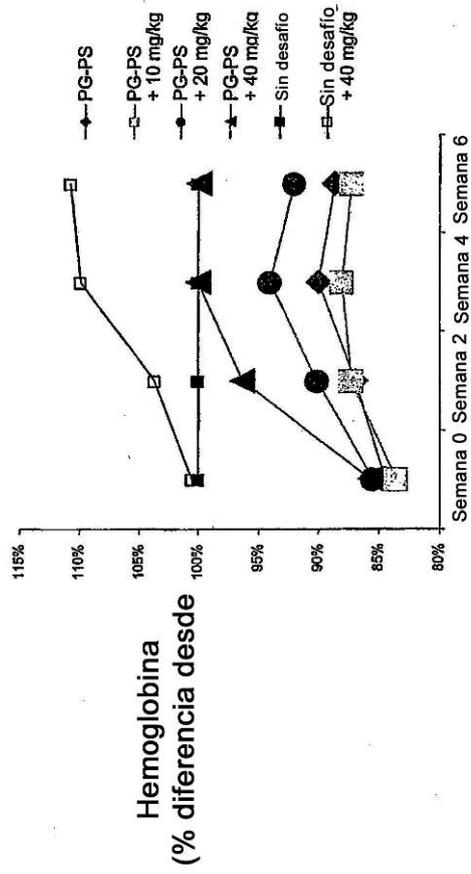


Figura 14

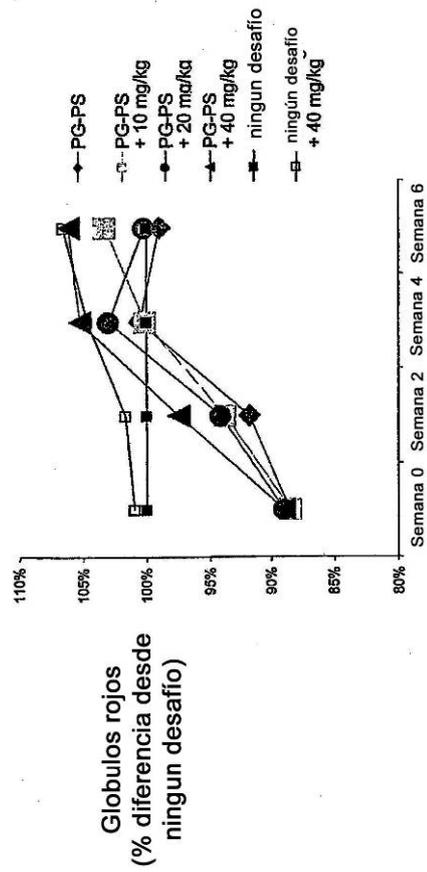


Figura 15

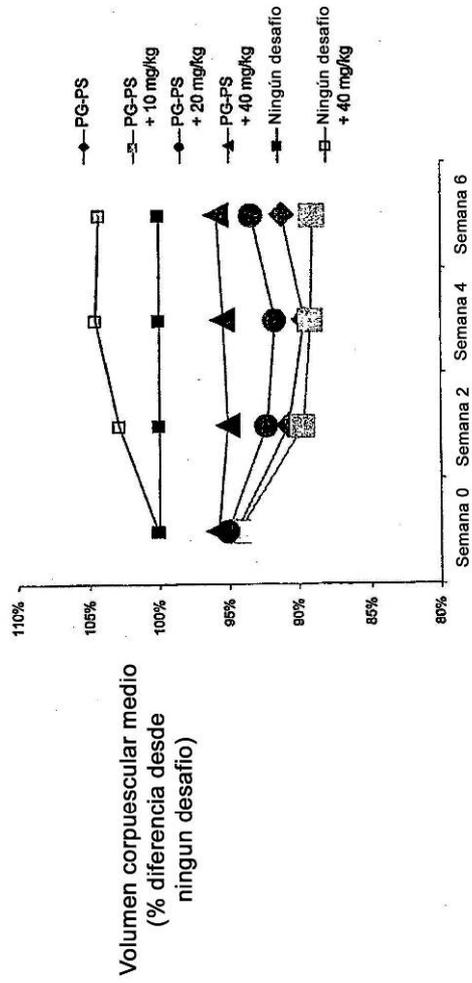


Figura 16

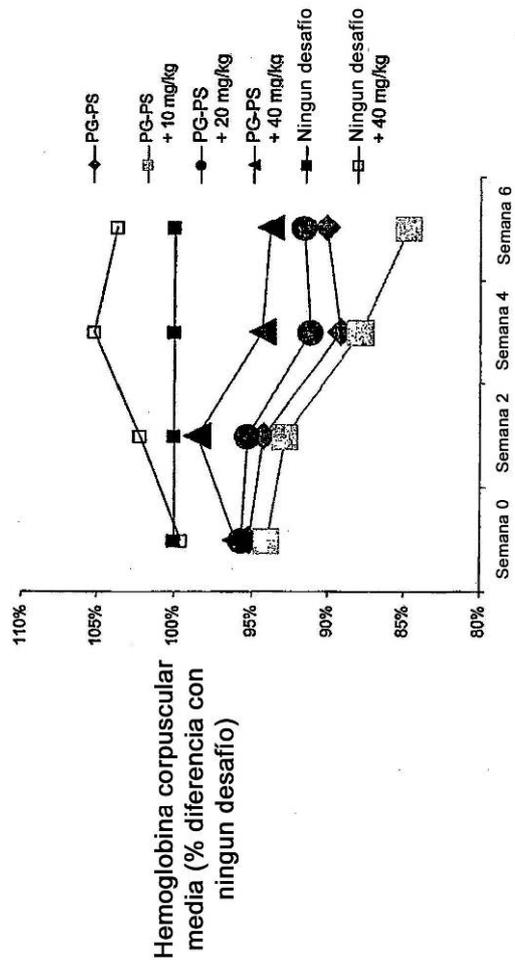


Figura 17

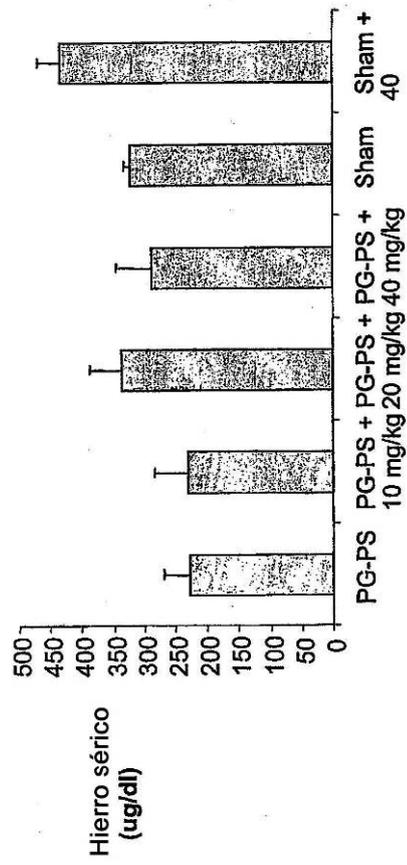


Figura 18A

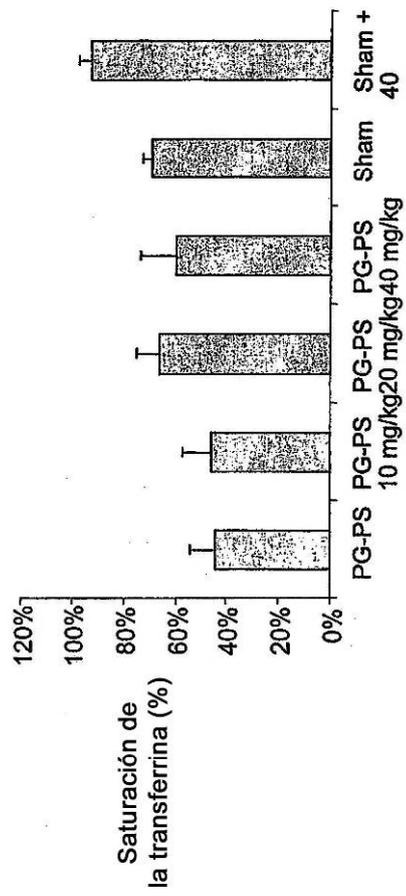


Figura 18B

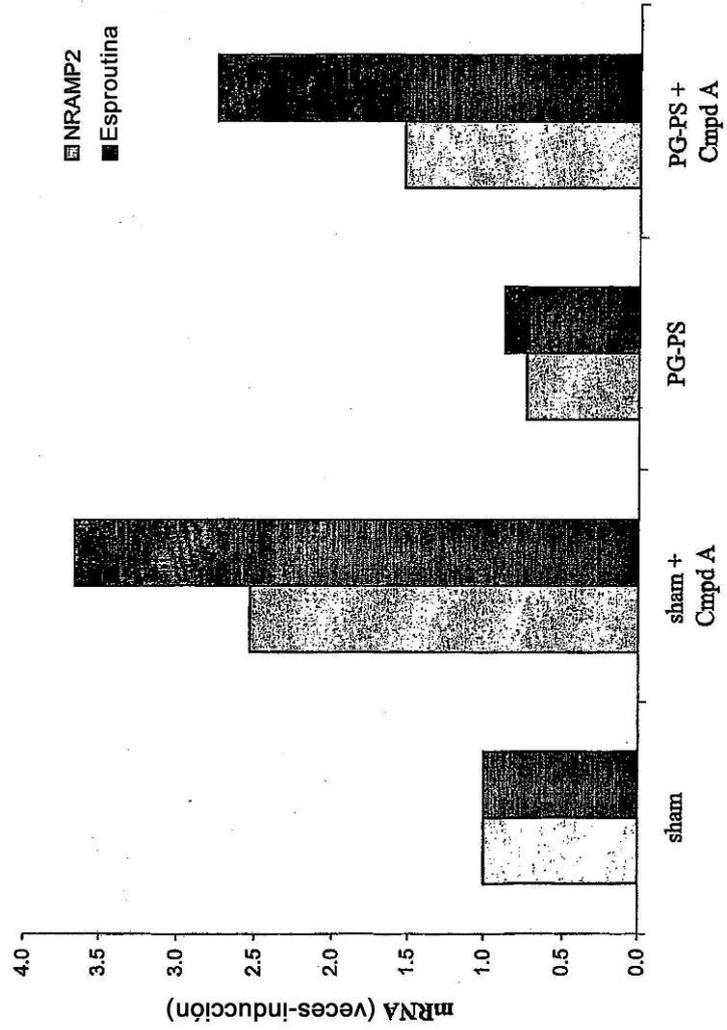


Figura 19

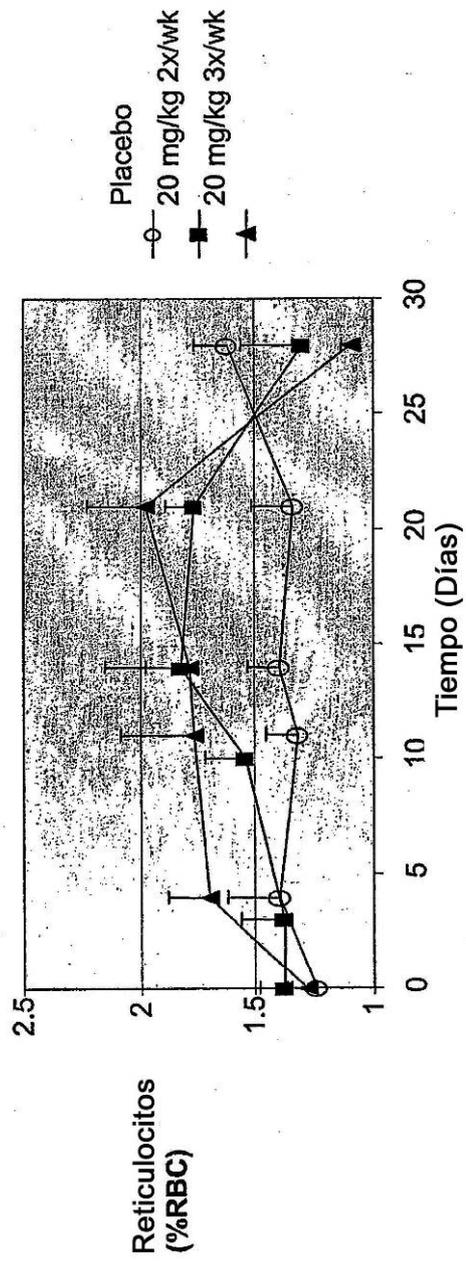


Figura 20

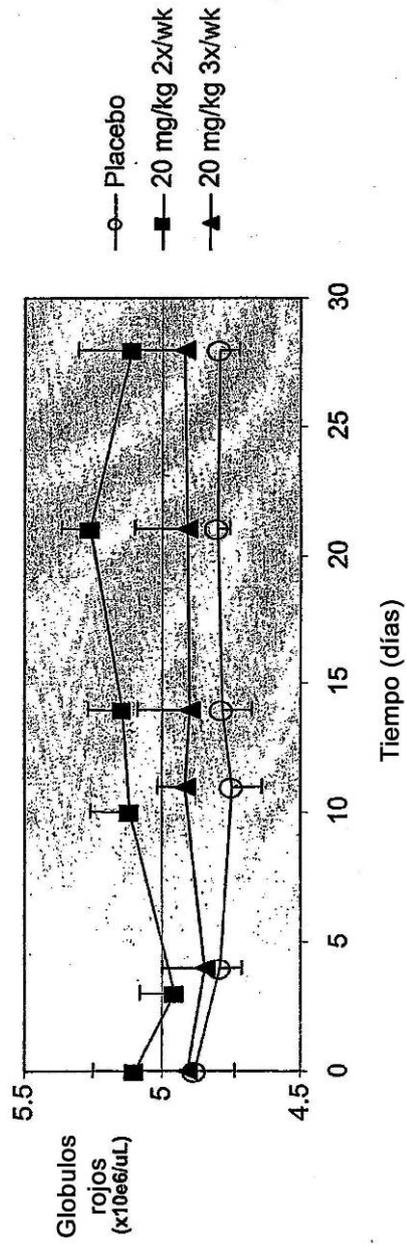


Figura 21

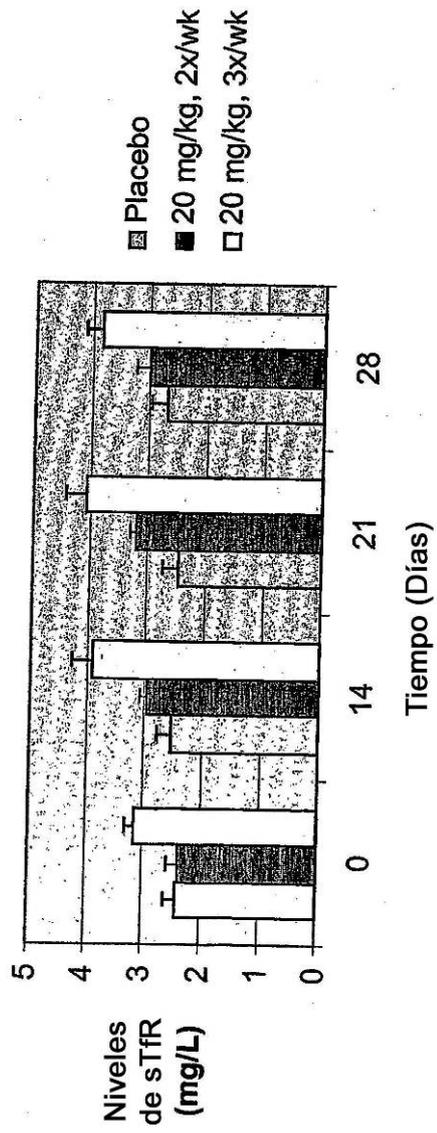


Figura 22

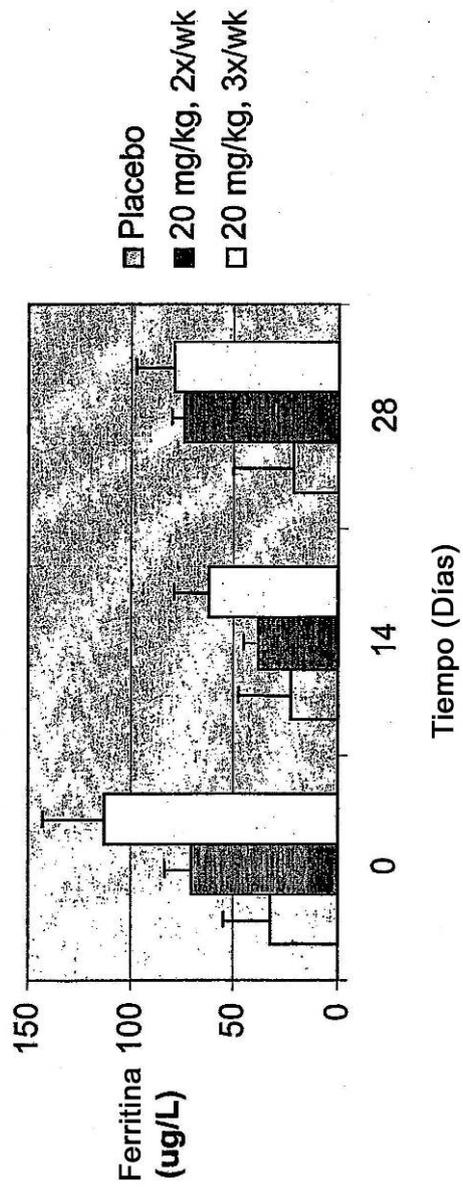


Figura 23

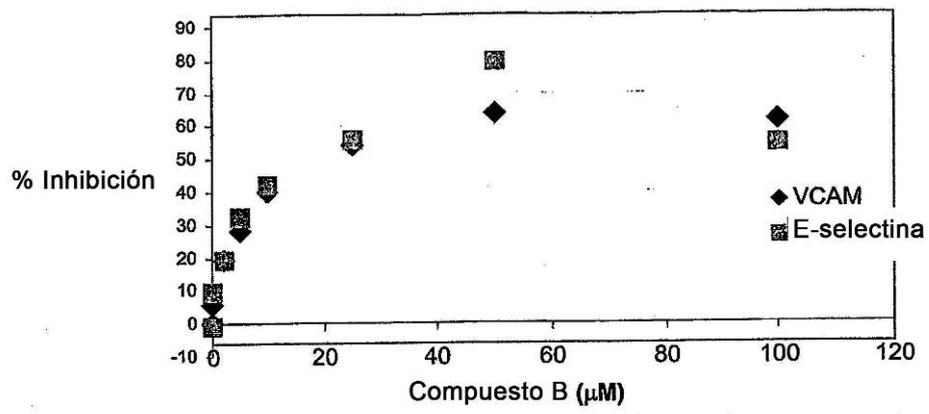


Figura 24A

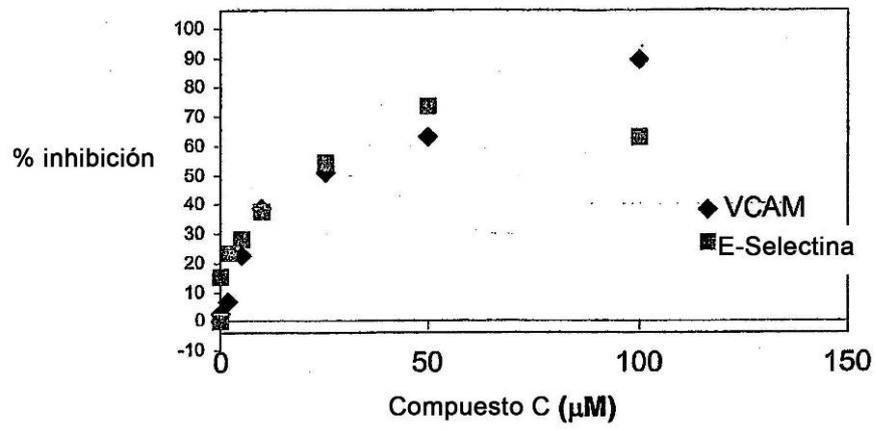


Figura 24B

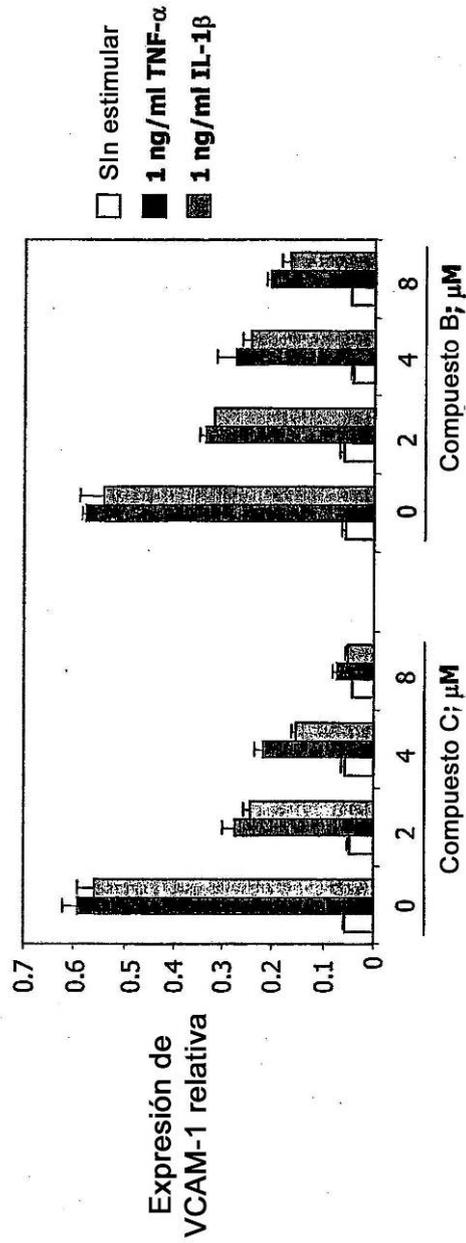


Figura 25

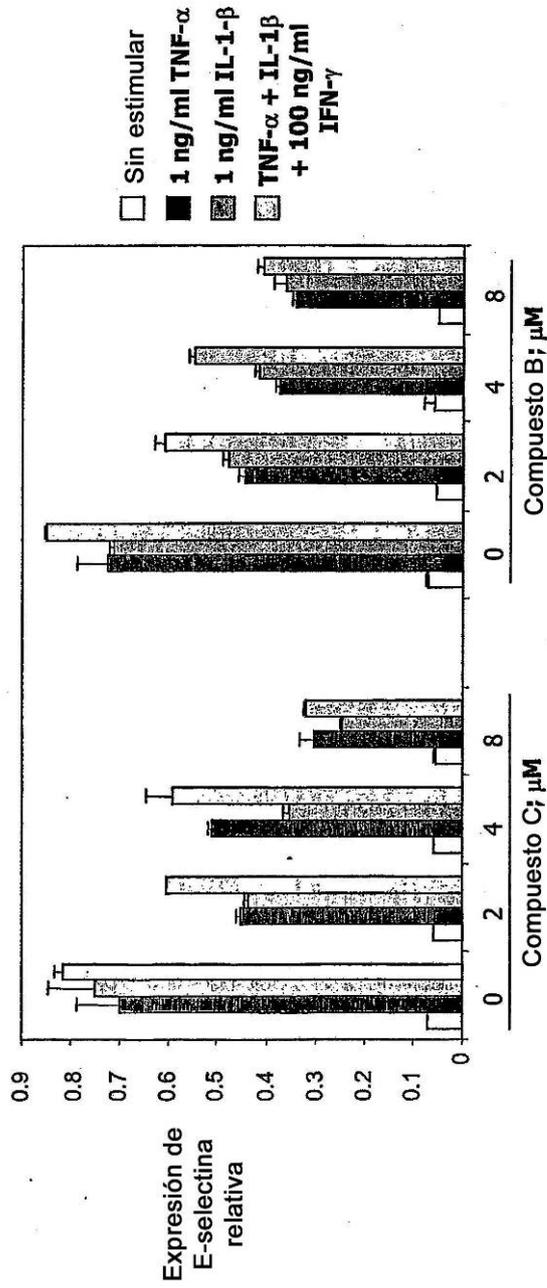


Figura 26

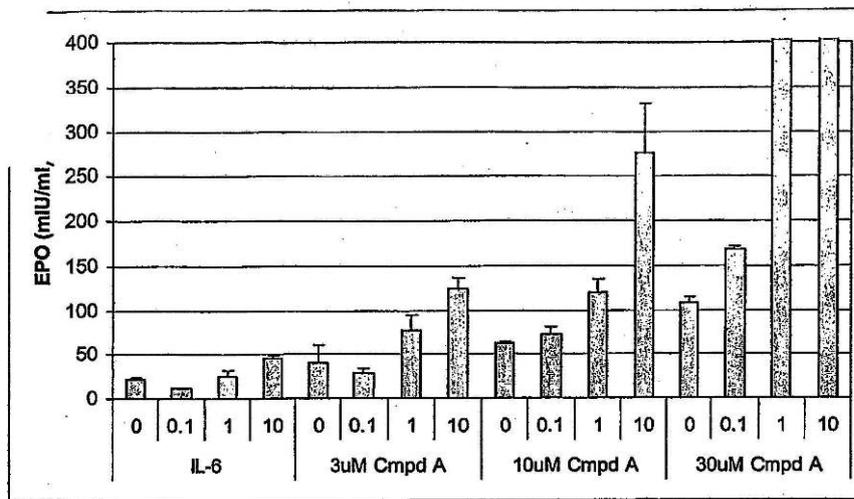


Figura 27A

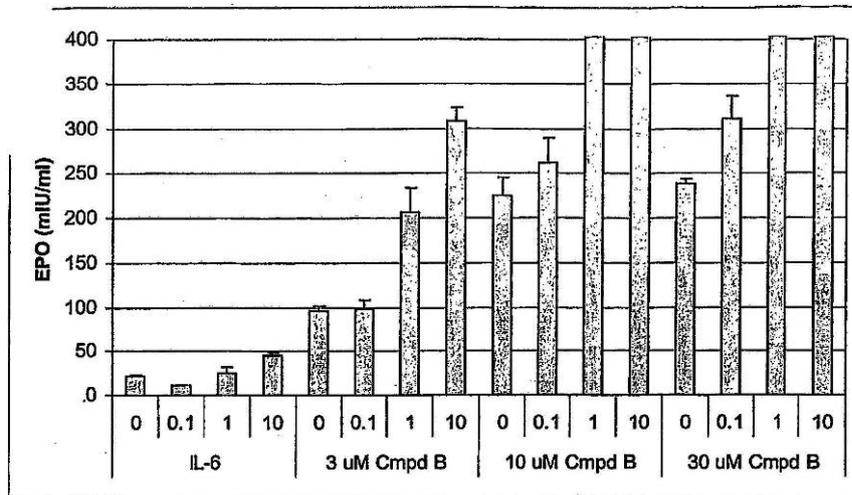


Figura 27B