

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 550 939**

51 Int. Cl.:

A61K 31/715 (2006.01)
C07D 213/22 (2006.01)
C07D 409/14 (2006.01)
C07D 409/04 (2006.01)
C07D 401/04 (2006.01)
C07D 211/88 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.07.2011 E 11807317 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.08.2015 EP 2592934**

54 Título: **Nuevos compuestos de dihidropiridin-2-(1H)-ona como inhibidores de la S-nitrosoglutatión reductasa y antagonistas del receptor de la neurocinina-3**

30 Prioridad:

16.07.2010 US 365225 P

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

13.11.2015

73 Titular/es:

**IVALIS THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
3122 Sterling Circle
Boulder CO 80301, US**

72 Inventor/es:

**SUN, XICHENG y
QIU, JIAN**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 550 939 T3

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

DESCRIPCIÓN

Nuevos compuestos de dihidropiridin-2-(1H)-ona como inhibidores de la S-nitrosoglutación reductasa y antagonistas del receptor de la neurocinina-3

5

Campo de la invención

La presente invención se refiere a nuevos compuestos de dihidropiridin-2-(1H)-ona, a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos y a métodos de fabricación y de uso de los mismos. Estos compuestos son útiles como inhibidores de la S-nitrosoglutación reductasa (GSNOR) y/o como antagonistas del receptor de la neurocinina-3 (NK3).

10

Antecedentes de la invención

El compuesto químico óxido nítrico es un gas con la fórmula química NO. El NO es una de las pocas moléculas de señalización gaseosas conocidas en los sistemas biológicos y desempeña un papel importante en el control de diversos sucesos biológicos. Por ejemplo, el endotelio utiliza el NO para señalar al músculo liso que rodea las paredes de las arteriolas que se relaje, lo que da como resultado vasodilatación y aumento del flujo sanguíneo a los tejidos hipóxicos. El NO también está implicado en la regulación de la proliferación del músculo liso, la función plaquetaria, la neurotransmisión y desempeña un papel en la defensa del hospedador. Aunque el óxido nítrico es altamente reactivo y tiene una vida media de unos pocos segundos, puede difundirse libremente tanto a través de membranas y se unen a muchas dianas moleculares. Estos atributos hacen que el NO sea una molécula de señalización ideal capaz de controlar los sucesos biológicos entre las células adyacentes y dentro de las células. El NO es un gas radical libre, lo que hace que sea reactivo e inestable, por tanto el NO es de vida corta *in vivo*, teniendo una vida media de 3-5 segundos en condiciones fisiológicas.

15

20

25

En presencia de oxígeno, el NO puede combinarse con tioles para generar una clase de aductos de NO estables biológicamente importantes denominados S-nitrosotioles (SNO). Se ha postulado que este grupo estable de NO actúa como una fuente de NO bioactivo y, así, parece ser de importancia crítica en la salud y la enfermedad, dada la centralidad del NO en la homeostasis celular (Stamler et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89: 7674-7677 (1992)). Los SNO proteínicos desempeñan amplios roles en las funciones cardiovasculares, respiratorias, metabólicas, gastrointestinales, en las del sistema nervioso central y el inmunológico (Foster et al., 2003, *Trends in Molecular Medicine*, Volumen 9, Número 4, abril de 2003, páginas 160-168). Uno de los SNO más estudiados en los sistemas biológicos es el S-nitrosoglutación (GSNO) (Gaston et al., *Proc Natl Acad Sci. USA* 90: 10957-10961 (1993)), un regulador clave emergente en la señalización del NO, ya que es un agente trans-nitrosante eficaz y parece mantener un equilibrio con otras proteínas S-nitrosadas (Liu et al., 2001) dentro de las células. Dada esta posición fundamental en el continuo de NO-SNO, el GSNO proporciona una diana terapéutica prometedora que considerar cuando la modulación del NO se justifica farmacológicamente.

30

35

40

45

A la luz de este conocimiento del GSNO como un regulador clave de la homeostasis del NO y de los niveles del SNO celular, los estudios se han centrado en el examen de la producción endógena de las proteínas GSNO y SNO, que se produce corriente abajo de la producción del radical NO por las enzimas óxido nítrico sintetasas (NOS). Más recientemente, se ha producido una comprensión cada vez mayor de catabolismo enzimático del GSNO que tiene un papel importante en el control de las concentraciones disponibles de GSNO y en consecuencia del NO y los SNO disponibles.

50

55

Los investigadores han identificado recientemente una S-nitrosoglutación reductasa altamente conservada (GSNOR) (Jensen et al., *Biochem J.*, 331: 659-668 (1998); Liu et al., *Nature*, 410: 490-494 (2001)) lo que es fundamental para esta comprensión del catabolismo del GSNO. La GSNOR también es conocida como formaldehído deshidrogenasa dependiente de glutatión (GS-FDH), alcohol deshidrogenasa 3 (ADH-3) (Uotila y Koivusalo, *Coenzymes and Cofactors*, D. Dolphin, ed. págs. 517-551 (Nueva York, John Wiley & Sons, 1989)) y alcohol deshidrogenasa 5 (ADH-5). Es importante destacar que la GSNOR muestra una mayor actividad hacia el GSNO que hacia otros sustratos (Jensen et al., 1998; Liu et al., 2001) y parece mediar una importante actividad desnitrosante de proteínas y péptidos en bacterias, plantas y animales. La GSNOR parece ser la principal enzima que metabolizadora del GSNO en eucariotas (Liu et al., 2001). Por tanto, el GSNO puede acumularse en compartimentos biológicos donde la actividad de la GSNOR es baja o está ausente (por ejemplo, el fluido de la mucosa de las vías respiratorias) (Gaston et al., 1993).

60

65

Las levaduras deficientes en GSNOR acumulan proteínas S-nitrosiladas que no son sustratos de la enzima, lo que sugiere fuertemente que el GSNO existe en equilibrio con proteínas-SNO (Liu et al., 2001). El control enzimático preciso sobre los niveles ambientales de GSNO y, por tanto, de proteínas-SNO, plantea la posibilidad de que el GSNO/GSNOR puede desempeñar papeles en una multitud de funciones fisiológicas y patológicas, incluyendo la protección contra el estrés nitrosativo, en el que el NO se produce en exceso respecto de las necesidades fisiológicas. De hecho, se ha implicado específicamente al GSNO en procesos fisiológicos que van desde la actividad respiratoria espontánea (Lipton et al., *Nature*, 413: 171-174 (2001)) hasta la regulación del regulador transmembrana de la fibrosis quística (Zaman et al., *Biochem Biophys Res Commun*, 284: 65-70 (2001), hasta la

regulación del tono vascular, la trombosis y la función plaquetaria (de Belder et al., *Cardiovasc Res. May*; 28 (5): 691-4 (1994); Z. Kaposzta, A. et al., *Circulation*; 106 (24): 3057-3062, 2002), así como la defensa del hospedador (de Jesús-Berrios et al., *Curr. Biol.*, 13: 1963-1968 (2003)). Otros estudios han descubierto que la GSNOR protege las células de levaduras contra el estrés nitrosativo tanto *in vitro* (Liu et al., 2001) como *in vivo* (de Jesús-Berrios et al., 2003).

Colectivamente, los datos proponen a la GSNOR como un ligando fisiológico primario para la enzima S-nitrosoglutarato reductasa (GSNOR), que cataboliza el GSNO y en consecuencia reduce los SNO y el NO disponibles en los sistemas biológicos (Liu et al., 2001), (Liu et al., *Cell*, (2004), 116 (4), 617-628) y (Que et al., *Science*, 2005, 308, (5728): 1618-1621). Así, esta enzima desempeña un papel central en la regulación del NO bioactivo local y sistémico. Dado que las perturbaciones en la biodisponibilidad del NO se ha relacionado con la patogénesis de numerosas patologías, incluyendo la hipertensión, aterosclerosis, trombosis, asma, trastornos gastrointestinales, inflamación y cáncer, los agentes que regulan la actividad de la GSNOR son agentes terapéuticos candidatos para el tratamiento de enfermedades asociadas con el desequilibrio del óxido nítrico.

Actualmente, existe en la técnica una gran necesidad de diagnósticos, profilaxis, mejorías y tratamientos para las afecciones médicas relacionadas con el aumento de la síntesis del NO y/o el aumento la bioactividad del NO. Además, existe una necesidad significativa de nuevos compuestos, composiciones y métodos para prevenir, mejorar o revertir otros trastornos asociados al NO. La presente invención satisface estas necesidades.

Las taquicininas de mamíferos, también conocidas como neurocininas, son una familia de pequeños péptidos que comparten una secuencia carboxilo-terminal común de Phe-X-Gly-Leu-Met-NH₂ (Maggio et al., *Annual Rev. Neuroscience* 11: 13-28 (1998)). Los principales miembros de la familia son la sustancia P (SP), la neurocinina A (NKA) y la neurocinina B (NKB). Como neurotransmisores, estos péptidos ejercen su actividad biológica a través de tres distintos receptores de neurocininas (NK), denominados receptores de la neurocinina-1 (NK1), de la neurocinina-2 (NK2) y de la neurocinina-3 (NK3). La SP se une preferentemente al NK1, la NKA al NK2 y la NKB al NK3. El receptor de la NK3 se caracteriza por una expresión predominante en el sistema nervioso central (SNC) y su implicación en la modulación de la neurotransmisión monoaminérgica (noradrenalina y dopamina) y aminoacídica (GABA) central. Estas propiedades hacen que el receptor de la NK3 sea una diana potencial para enfermedades del SNC tales como la esquizofrenia (Spooren et al., *Nat Rev. Drug Discov.* 4: 967-975 (2005)).

La esquizofrenia es un trastorno cerebral crónico, grave e incapacitante que afecta aproximadamente al 1 % de la población mundial. Los síntomas comienzan en la edad adulta temprana y les sigue un periodo de disfunción interpersonal y social. Los síntomas de la esquizofrenia se dividen en tres amplias categorías: los síntomas positivos, los síntomas negativos y los síntomas cognitivos. Los síntomas positivos incluyen las alucinaciones, los delirios, los trastornos del pensamiento y los trastornos del movimiento. Los síntomas negativos incluyen la depresión, la anhedonia, el embotamiento afectivo, el habla disminuida y los síntomas cognitivos incluyen los déficits de la memoria y de la atención, así como el aislamiento social.

No hay una única causa de la esquizofrenia, sin embargo, el aumento de la actividad de la dopamina en la vía mesolímbica del cerebro se encuentra sistemáticamente en individuos esquizofrénicos. La falta de conocimiento sobre la causa exacta y la naturaleza de esta enfermedad hace que el desarrollo de nuevos fármacos sea difícil. El tratamiento se ha centrado en la medicación antipsicótica que funciona principalmente mediante la supresión de la actividad de la dopamina. A medida que estos fármacos han evolucionado a través de los años, el perfil de efectos secundarios ha mejorado pero todavía muestran algunos efectos secundarios tales como el aumento de peso. En 2004, Sanofi-Synthelabo publicó resultados clínicos del osanetant que se identificó como un antagonista potente y selectivo del receptor de la NK3 para el tratamiento de la esquizofrenia y, en 2005, GSK publicó resultados clínicos del talnetant que se ha demostrado que mejora los problemas cognitivos de los esquizofrénicos sin embargo, ambos compuestos tienen propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas deficientes incluyendo la mala solubilidad, la baja biodisponibilidad, el aclaramiento relativamente alto y la escasa penetración de la barrera hematoencefálica. A pesar de los inconvenientes de estos compuestos, los resultados clínicos hasta la fecha sugieren que el receptor de la NK3 puede resultar ser una diana prometedora para el tratamiento de la esquizofrenia siempre que las cuestiones farmacocinéticas y farmacodinámicas puedan resolverse.

El síndrome del intestino irritable (SII) es un trastorno gastrointestinal (GI) funcional episódico crónico caracterizado por dolor/malestar abdominal y alteración del hábito intestinal (estreñimiento, diarrea o alternancia de periodos de ambos). Los pacientes a menudo experimentan síntomas adicionales, tales como meteorismo, sensación de evacuación incompleta, esfuerzo (estreñimiento) y urgencia (diarrea). Los pacientes que padecen SII pueden experimentar síntomas durante muchos años, con una duración promedio de 10 o más años. El SII a menudo no se identifica o no se trata, tan sólo el 25 % de los enfermos de SII buscan asistencia sanitaria profesional. La prevalencia del SII se estima en hasta el 20 % de la población. Los trastornos intestinales funcionales tales como el SII se caracterizan por la hipersensibilidad visceral definida por los umbrales del dolor y del malestar reducidos, que puede manifestarse como dolor asociado a trastornos intestinales (Akbar et al., *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 30 (5): 423-435 (2009)). Aunque la patogénesis de la hipersensibilidad visceral no se comprende completamente, se han propuesto varios mecanismos incluyendo la inflamación sutil, los factores psicosociales y la función sensorial alterada del intestino, de la que se cree que la sensibilización periférica y central de las vías

neuronales aferentes viscerales es un componente importante. De manera similar, los otros trastornos intestinales funcionales tales como el dolor de pecho no cardiaco, la dispepsia funcional y el dolor abdominal funcional presentes habitualmente y el tratamiento de estos trastornos pueden ser un desafío. En los últimos 30 años, el tratamiento principal del síndrome del intestino irritable se ha dirigido a normalizar el tránsito gastrointestinal utilizando ya sea laxantes o agentes antidiarreicos, con o sin el uso simultáneo de espasmolíticos. Estas opciones terapéuticas son de eficacia limitada y a menudo decepcionante.

La investigación reciente en la fisiopatología del síndrome del intestino irritable se ha centrado en la evaluación de la hipersensibilidad visceral (Bueno et al., *Gut*, 51 (Suplemento): 19-23. (2002)). Al mismo tiempo, se ha adquirido más información sobre el estado del sistema inmunitario local como una posible causa de la sensibilización de las terminaciones nerviosas. Dichas investigaciones han estimulado la aparición de nuevos conceptos y fármacos candidatos originales para el tratamiento de este trastorno funcional.

Los receptores de taquicinas no parecen desempeñar un papel importante en las funciones GI normales, pero pueden estar involucrados en procesos defensivos o patológicos. Se ha descubierto que los receptores de la NK3 median ciertas alteraciones de la motilidad intestinal. La actividad puede ser impulsada por taquicinas liberadas por las neuronas aferentes primarias intrínsecas (NAPI), que inducen la actividad del potencial postsináptico excitador (PPSE) lento en las NAPI que conectan y, por tanto, un grado de hipersensibilidad en el sistema nervioso entérico. También se propone que el mismo proceso aumenta la sensibilidad de las fibras C, ya sea directa o indirectamente. Por tanto, los antagonistas del receptor de la NK3 inhiben la nocicepción intestinal a través de un mecanismo "periférico" que puede ser específico del intestino. Los estudios con talnetant y otros antagonistas selectivos del receptor de la NK3 revelaron una vía emocionante y nueva por la que pueden inducirse los cambios patológicos en la motilidad intestinal y la nocicepción, lo que sugiere un papel para el antagonismo del receptor de la NK3 en el síndrome del intestino irritable (Sanger, *Brit. J. of Pharm.*, 141: 1303-1312 (2004)).

El documento US443165 (Leshner et al) describe ciertas 3,4-dihidruo-3-R₁-4-R₂-5-Q-6-R-2-(1H)-piridinonas, en las que R₁ y R₂ son cada uno un hidrógeno o un metilo, R es un alquilo inferior y Q es 4- o 3-hidroxifenilo, 4- o 3-metoxifenilo, 4- o 3-piridinilo o un 4- o 3-piridinilo que tiene uno o dos sustituyentes alquilo inferior, o sales de adición de ácido de las mismas y su preparación. También se describe el supuesto uso cardiotónico de dichos compuestos cuando Q es 4- o 3-hidroxifenilo, 4- o 3-piridinilo o un 4- o 3-piridinilo que tiene uno o dos sustituyentes alquilo inferior.

Actualmente, existe en la técnica una gran necesidad de diagnósticos, profilaxis, mejoras y tratamientos para las afecciones médicas relacionadas con una enfermedad o afección caracterizada por la sobreestimulación de la NK3. Además, existe una necesidad significativa de nuevos compuestos, composiciones y métodos para prevenir, mejorar o revertir otros trastornos asociados a la NK3. La presente invención satisface estas necesidades.

Sumario de la invención

La invención es como se define en las reivindicaciones. La presente invención proporciona nuevos compuestos de dihidropiridin-2-(1H)-ona y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, como se define en las reivindicaciones. Estos compuestos son útiles como inhibidores de la S-nitrosoglutatión reductasa ("GSNOR") y/o antagonistas del receptor de la neurocinina-3 ("NK3"). También se describen en el presente documento profármacos y metabolitos de los compuestos que se describen. La invención también abarca composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de la invención y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones de la presente invención pueden prepararse en cualquier forma de dosificación farmacéuticamente aceptable adecuada.

También se describe en el presente documento un método para inhibir la S-nitrosoglutatión reductasa en un sujeto que lo necesite. Un método de este tipo comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende al menos un inhibidor de la GSNOR o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un profármaco o un metabolito del mismo, en combinación con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. El inhibidor de la GSNOR puede ser un compuesto nuevo de acuerdo con la invención o puede ser un compuesto conocido que previamente no se sabía que era un inhibidor de la GSNOR.

También se describe en el presente documento un método para tratar un trastorno que mejora por la terapia con un donador de NO en un sujeto que lo necesite. Un método de este tipo comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende al menos un inhibidor de la GSNOR o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un profármaco o un metabolito del mismo, en combinación con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. El inhibidor de la GSNOR puede ser un compuesto nuevo de acuerdo con la invención o puede ser un compuesto conocido que previamente no se sabía que era un inhibidor de la GSNOR.

También se describe en el presente documento un método para tratar un trastorno proliferativo celular en un sujeto que lo necesite. Dicho método comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una

composición farmacéutica que comprende al menos un inhibidor de la GSNOR o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un profármaco o un metabolito del mismo, en combinación con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. El inhibidor de la GSNOR puede ser un compuesto nuevo de acuerdo con la invención o puede ser un compuesto conocido que previamente no se sabía que era un inhibidor de la GSNOR.

5 Los métodos que se describen en el presente documento pueden incluir la administración con uno o más agentes activos secundarios. Dicha administración puede ser secuencial o en una composición de combinación.

10 La presente invención también proporciona nuevos compuestos de dihidropiridin-2-(1H)-ona útiles como antagonistas del receptor de la neurocinina-3. Las taquicininas, la sustancia P (SP), la neurocinina A (NKA) y la neurocinina B (NKB), son miembros estructuralmente similares de una familia de neuropéptidos. Cada uno de ellos es un agonista de los tipos de receptores, receptor de la neurocinina-1 (NK1), receptor de la neurocinina-2 (NK2) y receptor de la neurocinina-3 (NK3), que se definen así de acuerdo con su secuencia de aminoácidos única y sus habilidades relativas para unirse a las taquicininas con alta afinidad y para ser activadas por los agonistas naturales, la SP, la NKA y la NKB, respectivamente (véase también la Patente de los EE.UU. 5.434.158). En algunas realizaciones, las dihidropiridin-2-(1H)onas de la presente invención son antagonistas del receptor de la NK3.

20 También se describe en el presente documento un método para antagonizar al receptor de la neurocinina-3 (NK3). Un método de este tipo comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende al menos un antagonista del receptor de la NK3 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un profármaco o un metabolito del mismo, en combinación con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. El antagonista del receptor de la NK3 puede ser un compuesto nuevo de acuerdo con la invención o puede ser un compuesto conocido que previamente no se sabía que era un antagonista del receptor de la NK3.

25 Aunque los métodos y los materiales similares o equivalentes a aquellos que se describen en el presente documento pueden utilizarse en la práctica o ensayo de la presente invención, los métodos y los materiales adecuados se describen a continuación. En caso de conflicto, regirá la presente memoria descriptiva, incluyendo las definiciones.

30 Tanto el sumario anterior como la siguiente descripción detallada son ejemplares y explicativos y tienen por objeto proporcionar detalles adicionales de las composiciones y los métodos como se reivindican.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

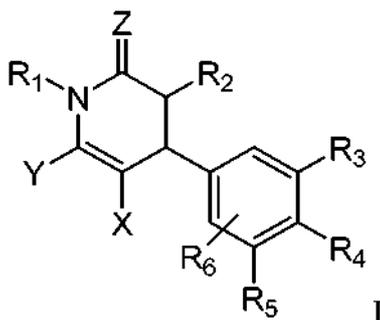
35 A. Descripción general de la invención

Hasta hace poco, se sabía que la S-nitrosoglutatión reductasa (GSNOR) oxida el aducto de glutatión formaldehído, S-hidroxi metilglutatión. La GSNOR se ha identificado desde entonces en varias bacterias, levaduras, plantas y animales y está bien conservada. Las proteínas de *E. coli*, de *S. cerevisiae* y de los macrófagos de ratón comparten más del 60 % de la identidad de la secuencia de aminoácidos. La actividad de la GSNOR (es decir, la descomposición del S-nitrosoglutatión cuando el NADH está presente como un cofactor necesario) se ha detectado en *E. coli*, en los macrófagos de ratón, en las células endoteliales de ratón, en células del músculo liso de ratón, en las levaduras y en células las HeLa, epiteliales y monocíticas humanas. La información de la secuencia de nucleótidos y de aminoácidos de la GSNOR humana puede obtenerse de las bases de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) con los números de registro M29872, NM_000671. La información de la secuencia de nucleótidos y de aminoácidos de la GSNOR de ratón puede obtenerse de las bases de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) con el número de registro NM_007410. En la secuencia de nucleótidos, se subrayan el sitio de iniciación y el sitio de terminación. CDS indica la secuencia de codificación. SNP indica el polimorfismo de un único nucleótido. Otras secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de la GSNOR relacionadas, incluyendo aquellas de otras especies, pueden encontrarse en la Solicitud de Patente de los EE.UU. 2005/0014697.

55 De acuerdo con la presente invención, se ha demostrado que la GSNOR actúa *in vivo* e *in vitro* para metabolizar el S-nitrosoglutatión (GSNO) y los S-nitrosotioles (SNO) proteínicos para modular la bioactividad del NO, mediante el control de los niveles intracelulares de compuestos donadores de NO de baja masa y previniendo que la nitrosilación de proteínas alcance niveles tóxicos.

60 Basándose en esto, se deduce que la inhibición de esta enzima potencia la bioactividad en todas las enfermedades en las que está indicada la terapia con donadores de NO, inhibe la proliferación de células patológicamente proliferativas y aumenta la bioactividad del NO en las enfermedades en las que esto es beneficioso.

65 En el presente documento se describen agentes farmacéuticos que son inhibidores potentes de la GSNOR y/o antagonistas del receptor de la NK3. Por ejemplo, los agentes pueden ser análogos de dihidropiridin-2-(1H)-ona sustituidos que tienen las estructuras representadas a continuación (Fórmula I) o una sal, estereoisómero o profármaco farmacéuticamente aceptables de los mismos.



en donde

- 5 X se selecciona entre el grupo que consiste en arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido, teniendo cada uno 6 miembros o menos en el anillo;
- Y se selecciona entre el grupo que consiste en arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
- 10 Z se selecciona entre el grupo que consiste en O, S y NR₇;
- R₁, R₂ y R₇ se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁-C₆;
- R₃ se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, nitro, ciano, carboxilo, carbamoilo, metilsulfonamido, flúor, cloro, bromo, hidroxilo, metilsulfonilo y metilsulfonilo, isoxazol-4-ilo, alcoxi C₁-C₆, -C(NH)NHOH, ácido sulfónico y acetilo;
- 15 R₄ se seleccionan entre el grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, metoxi, carboxilo y tetrazol-5-ilo; en donde, cuando R₃ es hidrógeno, entonces R₄ no es hidrógeno; u opcionalmente R₃ y R₄, tomados juntos pueden formar un heterociclo;
- R₅ se selecciona entre el grupo constituido por hidrógeno, hidroxilo, carboxi, cloro, flúor, ciano, -O(CH₂)₁₋₆NMe₂, alquilo C₁-C₆, -O(CH₂)₁₋₆OCH₃, -O(CH₂)₁₋₆OH, acetilo, CF₃, y alcoxi C₁-C₆;
- 20 u opcionalmente R₄ y R₅, tomados juntos pueden formar un heterociclo; y R₆ se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno e hidroxilo.

Como se utiliza en este contexto, el término "análogo" se refiere a un compuesto que tiene la estructura química y la función similares a las de los compuestos de Fórmula I que retiene el anillo de dihidropiridin-2-(1H)-ona.

- 25 Algunos análogos de dihidropiridin-2-(1H)-ona de la invención también pueden existir en diversas formas isoméricas, incluyendo los isómeros configuracionales, geométricos y conformacionales, así como existen en diversas formas tautoméricas, en particular aquellas que difieren en el punto de unión de un átomo de hidrógeno. Como se utiliza en el presente documento, el término "isómero" tiene por objeto abarcar todas las formas isoméricas de un compuesto incluyendo las formas tautoméricas del compuesto.

- 30 Pueden existir compuestos ilustrativos que tienen centros asimétricos en diferentes formas enantioméricas y diastereoméricas. Un compuesto puede existir en forma de un isómero óptico o un diastereómero. Por consiguiente, la invención abarca compuestos en las formas de sus isómeros ópticos, diastereómeros y mezclas de los mismos, incluyendo las mezclas racémicas.

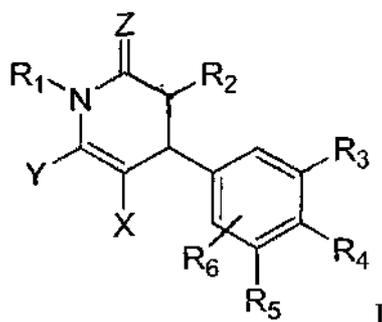
- 35 Se ha de observar que si existe una discrepancia entre una estructura representada y un nombre dado a esa estructura, regirá la estructura representada. Además, si la estereoquímica de una estructura o de una porción de una estructura no se indica, por ejemplo, con negrita, encajado o líneas discontinuas, la estructura o la porción de la estructura debe interpretarse como que abarca todos los estereoisómeros del compuesto que se describe.

- 40

B. Inhibidores de la S-nitrosoglutatión reductasa y/o antagonistas del receptor de la NK3

1. Compuestos de la invención

- 45 En el presente documento se describen compuestos que tienen una estructura que se muestra en la Fórmula I, o una sal, estereoisómero o profármaco farmacéuticamente aceptables de los mismos:



en donde

- 5 X se selecciona entre el grupo que consiste en arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido, teniendo cada uno 6 miembros o menos en el anillo;
- Y se selecciona entre el grupo que consiste en arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
- 10 Z se selecciona entre el grupo que consiste en O, S y NR₇;
- R₁, R₂ y R₇ se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁-C₆;
- R₃ se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, nitro, ciano, carboxilo, carbamoilo, metilsulfonamido, flúor, cloro, bromo, hidroxilo, metilsulfonilo y metilsulfinilo, isoxazol-4-ilo, C₁-C₆ alcoxi, -C(NH)NHOH, ácido sulfónico y acetilo;
- 15 R₄ se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, metoxi, carboxilo y tetrazol-5-ilo; en donde, cuando R₃, es hidrógeno, entonces R₄ no es hidrógeno; u opcionalmente R₃ y R₄, tomados juntos pueden formar un heterociclo; y
- R₅ se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, carboxilo, cloro, flúor, ciano, -O(CH₂)₁₋₆NMe₂, alquilo C₁-C₆, -O(CH₂)₁₋₆OCH₃, -O(CH₂)₁₋₆OH, acetilo, CF₃, y alcoxi C₁-C₆; u opcionalmente R₄ y R₅, tomados juntos pueden formar un heterociclo; y
- 20 R₆ se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno e hidroxilo.

R₄ puede seleccionarse entre el grupo que consiste en hidroxilo, carboxilo y tetrazol-5-ilo.

- 25 Por ejemplo, en algunos compuestos que se describen en el presente documento, R₁, R₂ y R₇ se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno y metilo; R₃ se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, nitro, ciano, carboxilo, carbamoilo, metilsulfonamido, flúor, cloro, bromo, hidroxilo, metilsulfonilo y metilsulfinilo, isoxazol-4-ilo, alcoxi C₁-C₆, -C(NH)NHOH, ácido sulfónico, acetilo;
- R₄ se selecciona entre el grupo que consiste en hidroxilo, carboxilo y tetrazol-5-ilo;
- 30 R₅ se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, carboxi, cloro, flúor, ciano, -O(CH₂)₂NMe₂, alquilo C₁-C₆, -O(CH₂)₂OCH₃, -O(CH₂)₂OH, acetilo, CF₃, metoxi, etoxi, isopropoxi y n-propoxi; y R₆ es hidrógeno.

- Por ejemplo, en algunos compuestos que se describen en el presente documento, R₃ se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, nitro, e hidroxilo; R₄ se selecciona entre el grupo que consiste en hidroxilo, carboxilo y tetrazol-5-ilo; y R₅ se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, etoxi, flúor y -O(CH₂)₂OH.
- 35

Las identidades adecuadas de X pueden incluir arilo, arilo sustituido, heteroarilo y heteroarilo sustituido.

- 40 Las identidades adecuadas de X pueden incluir fenilo, fenilo sustituido, tiofenilo, tiofenilo sustituido, tiazolilo, tiazolilo sustituido, pirazinilo, pirazinilo sustituido, piridinilo y piridinilo sustituido, ciclohexilo, ciclohexilo sustituido.

- Las identidades adecuadas de X pueden incluir fenilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo, tiazol-2-ilo, 2-fluorofenilo, p-tolilo, m-tolilo, bifenil-4-ilo, 4-metoxifenilo, 3-clorofenilo, 3,4-diclorofenilo, 3-metoxifenilo, 3,4-dimetoxifenilp, 4-bromofenilo, o-tolilo, 4-clorofenilo, 2-clorofenilo, 3-cianofenilo, 3,4-difluorofenilo, 4-cianofenilo, 3-carbamoiifenilo, pirazin-2-ilo, bifenil-3-ilo, 2-cianofenilo, piridin-4-ilo y piridin-3-ilo, 4-(dimetilamino)fenilo, 3-fluorofenilo, 3-etilfenilo y ciclohexilo.
- 45

Las identidades adecuadas de X pueden incluir fenilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo y piridin-3-ilo.

- 50 Las identidades adecuadas de Y pueden incluir arilo, arilo sustituido, heteroarilo, arilo sustituido, cicloalquilo y cicloalquilo sustituido.

- Las identidades adecuadas de Y pueden incluir fenilo, fenilo sustituido, tiofenilo, tiofenilo sustituido, tiazolilo, tiazolilo sustituido, pirazinilo, pirazinilo sustituido, piridinilo, piridinilo sustituido, furanilo, furanilo sustituido, benzo[d][1,3]dioxolilo, imidazolilo, imidazolilo sustituido, naftalenilo, naftalenilo sustituido, pirrolilo, pirrolilo sustituido, pirazolilo, pirazolilo sustituido, tetrahidrofuranilo, tetrahidrofuranilo sustituido, ciclopentilo, ciclopentilo sustituido,
- 55

ciclohexilo y ciclohexilo sustituido.

Las identidades adecuadas de Y pueden incluir fenilo, 3-metoxifenilo, p-tolilo, 4-metoxifenilo, 3,5-diclorofenilo, 3-fluorofenilo, 4-bromofenilo, bifenil-4-ilo, 4-fluorofenilo, 4-clorofenilo, 3-clorofenilo, 3,4-dimetoxifenilo, 3-fluoro-4-metoxifenilo, 4-cloro-3-fluorofenilo, 3-cloro-4-fluorofenilo, 3,4-difluorofenilo, 3,5-difluorofenilo, 3,4-diclorofenilo, 4-hidroxifenilo, 2,4-difluorofenilo, furan-3-ilo, 2-clorofenilo, 3-cianofenilo, 4-(dimetilamino)fenilo, 2-fluorofenilo, 4-morfolinofenilo, 4-aminofenilo, piridin-2-ilo, benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo, 4-cianofenilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, 4-acetamidofenilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo, 1-metil-1H-imidazol-4-ilo, naftalen-1-ilo, fenilcarbamato de metilo y naftalen-2-ilo, 4-(metanosulfonamido)fenilo, 1H-pirrol-3-ilo, 1-(fenilsulfonil)-1H-pirrol-3-ilo, furan-2-ilo, 4-(trifluorometil)fenilo, o-tolilo, 1-metil-1H-pirazol-4-ilo, 1-metil-1H-pirazol-3-ilo, 3-cloro-5-fluorofenilo, 3-hidroxifenilo, pirazin-2-ilo, quinolin-6-ilo, isoquinolin-6-ilo, 1-metil-1H-pirazol-5-ilo, tetrahidrofuran-2-ilo, ciclopentilo, tetrahidrofuran-3-ilo y ciclohexilo.

Las identidades adecuadas de Y pueden incluir fenilo, piridin-3-ilo, 1-metil-1H-pirazol-4-ilo y ciclohexilo.

15 En algunos compuestos que se describen en el presente documento, Z es O.

Los compuestos de fórmula I adecuados incluyen:

20 4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-5,6-difenil-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona;
 4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-6-(piridin-3-il)-5-(tiofen-3-il)-3,4-dihidropiridin-2(1H)-ona;
 4-(4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)-5-fenil-6-(piridin-3-il)-3,4-dihidropiridin-2(1H)-ona;
 4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-5-(tiofen-3-il)-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona;
 4-(4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-5-(tiofen-3-il)-3,4-dihidropiridin-2(1H)-ona;
 25 ácido 2-hidroxi-4-(2-oxo-5,6-difenil-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico;
 ácido 2-hidroxi-4-(2-oxo-6-fenil-5-(tiofen-3-il)-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico;
 4-(4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-5-fenil-3,4-dihidropiridin-2(1H)-ona;
 ácido 2-hidroxi-4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-oxo-5-(tiofen-3-il)-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico;
 30 ácido 2-fluoro-6-hidroxi-4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-oxo-5-(tiofen-3-il)-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico;
 ácido 2-etoxi-6-hidroxi-4-(2-oxo-5,6-difenil-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico;
 ácido 4-(6-ciclohexil-2-oxo-5-(tiofen-3-il)-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)-2-fluoro-6-hidroxibenzoico;
 4-(4-hidroxi-3-(2-hidroxietoxi)-5-nitrofenil)-5,6-difenil-3,4-dihidropiridin-2(1H)-ona;
 ácido 2-fluoro-6-hidroxi-4-(1-metil-2-oxo-5,6-difenil-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico;
 35 4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-1-metil-5,6-difenil-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona; y
 ácido 2-fluoro-6-hidroxi-4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-oxo-5-(tiofen-2-il)-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico.

40 Cuando se muestra que un enlace a un sustituyente cruza un enlace que conecta dos átomos en un anillo, entonces dicho sustituyente puede estar unido a cualquier átomo en el anillo. Cuando se enumera un sustituyente sin indicar el átomo a través del que dicho sustituyente está unido al resto del compuesto de una fórmula dada, entonces dicho sustituyente puede estar unido a través de cualquier átomo de dicho sustituyente. Las combinaciones de sustituyentes y/o variables son permisibles, pero sólo si dichas combinaciones dan como resultado compuestos estables.

45 Los compuestos que se describen en el presente documento pueden tener centros asimétricos. Los compuestos de la presente invención que contienen un átomo sustituido asimétricamente pueden aislarse en formas ópticamente activas o racémicas. Es bien sabido en la técnica cómo preparar formas ópticamente activas, tal como mediante resolución de formas racémicas o mediante síntesis a partir de materiales de partida ópticamente activos. Muchos isómeros geométricos de olefinas, dobles enlaces C=N y similares también pueden estar presentes en los compuestos que se describen en el presente documento, y todos dichos isómeros estables se contemplan en la presente invención. Los isómeros geométricos cis y trans de los compuestos de la presente invención se describen y pueden aislarse como una mezcla de isómeros o como formas isoméricas separadas. Todas las formas isoméricas quirales, diastereoméricas, racémicas y geométricas de una estructura están incluidas, a menos que se indique específicamente la estereoquímica específica o forma isomérica. Todos los tautómeros de los compuestos que se muestran o que se describen también se considera que son parte de la presente invención.

55 Debe apreciarse que los isómeros que surgen de dicha asimetría (por ejemplo, todos los enantiómeros y los diastereómeros) se incluyen dentro del alcance de la invención, a menos que se indique lo contrario. Dichos isómeros pueden obtenerse en forma sustancialmente pura mediante técnicas de separación clásicas y mediante síntesis estereoquímicamente controlada. Además, las estructuras y los otros compuestos y restos tratados en la presente solicitud también incluyen todos los tautómeros de los mismos. Los alquenos pueden incluir ya sea la geometría E o la Z, en su caso.

2. Compuestos representativos

65 Los ejemplos 1-17 enumeran nuevos análogos de dihidropiridin-2-(1H)-ona de Fórmula I representativos. Los métodos de síntesis que pueden utilizarse para preparar cada compuesto se detallan en los Ejemplos 1-17, con

respecto a los intermedios que se describen en Ejemplo 18. También se incluyen los datos de espectrometría de masas y los datos de RMN de protón de apoyo para cada compuesto en los Ejemplos 1 a 17.

5 La actividad del inhibidor de la GSNOR se determinó mediante el ensayo que se describe en el Ejemplo 19 y se obtuvieron los valores de CI_{50} . Los compuestos inhibidores de la GSNOR de los Ejemplos 1-17 tenían una CI_{50} de aproximadamente $<1,0^{\circ}\mu M$. Los compuestos inhibidores de la GSNOR de los Ejemplos 1-2, 4, 6-7, 9-14 y 17 tenían una CI_{50} de aproximadamente $<0,1^{\circ}\mu M$.

10 La actividad antagonista del receptor de la NK3 se determinó para un subconjunto de los 17 compuestos. Se determinó un valor de porcentaje de inhibición a la concentración de $10^{\circ}\mu M$ para los compuestos seleccionados en el ensayo de unión al receptor de la NK3 humano que se describe en el Ejemplo 20. Los compuestos de los siguientes Ejemplos tenían una inhibición aproximadamente igual o mayor que el 50 % a $10 \mu M$: Ejemplos 1-2 y 4. Se determinó un valor de porcentaje de inhibición a la concentración de $1^{\circ}\mu M$ para los compuestos seleccionados en el ensayo de unión al receptor de la NK3 humano que se describe en el Ejemplo 21. Los siguientes compuestos
15 tenían una inhibición aproximadamente igual o mayor que el 50 % a $1 \mu M$: Ejemplos 14 y 16. El ensayo de unión al receptor de la NK3 humano que se describe en el Ejemplo 22 se utiliza para determinar los valores de CI_{50} . Se obtuvo una IC_{50} de aproximadamente $1,1 \mu M$ para el compuesto del Ejemplo 1.

20 Como se describe en el presente documento, se ha demostrado que las mezclas racémicas tienen actividad inhibidora de la GSNOR. Sin limitarse por teoría alguna, se cree que cuando se separan los enantiómeros, uno de los enantiómeros tiene la mayoría de la actividad inhibidora de la GSNOR y el otro enantiómero es significativamente menos activo como inhibidor de la GSNOR. Sin limitarse por teoría alguna, se cree que cuando se separan los enantiómeros de un inhibidor de la GSNOR, el enantiómero que muestra una actividad inhibidora de la GSNOR
25 significativamente mejor es de la configuración S. Se ha demostrado que un compuesto 4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-5,6-difenil-3,4-dihidropirimidin-2-(1H)-ona estructuralmente relacionado tiene una configuración S mediante cristalografía de rayos X cuando el enantiómero activo para la GSNOR se cristalizó con la GSNOR (véase la solicitud PCT US2010/050164 y la solicitud PCT US2010/050186). La configuración S de dicho compuesto tiene una CI_{50} de 11 nM como inhibidor de la GSNOR y una CI_{50} de 19000 nM como antagonista del receptor de la NK3. El otro enantiómero, la configuración R, tiene una CI_{50} de 19720 nM como inhibidor de la GSNOR y una CI_{50} de 110 nM
30 como antagonista del receptor de la NK3.

Como se describe en el presente documento, se ha demostrado que las mezclas racémicas tienen actividad antagonista del receptor de la NK3 así como actividad GSNOR. Sin limitarse por teoría alguna, se cree que cuando se separan los enantiómeros, uno de los enantiómeros tiene la mayoría de la actividad antagonista del receptor de la NK3 y el otro enantiómero es significativamente menos activo como antagonista del receptor de la NK3. Sin limitarse por teoría alguna, se cree que el enantiómero que tiene la actividad inhibidora de la GSNOR sustancialmente reducida, tiene una actividad significativa sobre el receptor de la neurocinina NK3 y que el enantiómero que muestra una actividad antagonista del receptor de la NK3 significativamente mejor es de la configuración R.

40 C. Definiciones

Como se utiliza en el presente documento, "aproximadamente" se entenderá por los expertos habituales en la materia y variará hasta cierto punto en el contexto en el que se utilice. Si existen usos del término que no están claros para los expertos habituales en la materia dado el contexto en el que se utiliza, "aproximadamente" significará
45 hasta el 10 % más o menos del término particular.

El término "alilo" incluye compuestos y restos que contienen el radical acetilo (CH_3CO-) o un grupo carbonilo al que se une un residuo alquilo inferior de cadena lineal o ramificada.

50 El término "alquilo" como se utiliza en el presente documento, se refiere a un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada, que tiene el número de átomos de carbono indicado. Por ejemplo, se pretende que alquilo (C_1-C_6) incluya, pero no se limite a metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, isohexilo y neohexilo. Un grupo alquilo puede no estar sustituido o estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes como se describe en el presente documento.

55 El término "alqueno" como se utiliza en el presente documento, se refiere a un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada, que tiene el número de átomos de carbono indicado y al menos un doble enlace. Los ejemplos de un grupo alqueno (C_2-C_8) incluyen, pero no se limitan a, etileno, propileno, 1-butileno, 2-butileno, isobutileno, *sec*-butileno, 1-penteno, 2-penteno, isopenteno, 1-hexeno, 2-hexeno, 3-hexeno, isohexeno, 1-hepteno, 2-hepteno, 3-hepteno, isohepteno, 1-octeno, 2-octeno, 3-octeno, 4-octeno y isoocteno. Un grupo alqueno puede no estar sustituido o estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes como se describe en el presente documento.

65 El término "alquino" como se utiliza en el presente documento, se refiere a un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada, que tiene el número de átomos de carbono indicado y al menos un triple enlace. Los ejemplos de un grupo alquino (C_2-C_8) incluyen, pero no se limitan a, acetileno, propino, 1-butino, 2-butino, 1-pentino, 2-pentino,

1-hexino, 2-hexino, 3-hexino, 1-heptino, 2-heptino, 3-heptino, 1-octino, 2-octino, 3-octino y 4-octino. Un grupo alquilino puede no estar sustituido o estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes como se describe en el presente documento.

5 El término "alcoxi" como se utiliza en el presente documento se refiere a un grupo -O-alquilo que tiene el número de átomos de carbono indicado. Por ejemplo, un grupo alcoxi (C₁-C₆) incluye -O-metilo, -O-etilo, -O-propilo, -O-isopropilo, -O-butilo, -O-sec-butilo, -O-terc-butilo, -O-pentilo, -O-isopentilo, -O-neopentilo, -O-hexilo, -O-isohexilo y -O-neohexilo.

10 El término "aminoalquilo", como se utiliza en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo (normalmente de uno a seis átomos de carbono) en donde uno o más de los átomos de hidrógeno del grupo alquilo C₁-C₆ se reemplaza por una amina de fórmula -N(R^C)₂, en donde cada aparición del R^C es independientemente H o alquilo (C₁-C₆). Los ejemplos de grupos aminoalquilo incluyen, pero no se limitan a, -CH₂NH₂, -CH₂CH₂NH₂, -CH₂CH₂CH₂NH₂, -CH₂CH₂CH₂CH₂NH₂, -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂NH₂, -CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂, *t*-butilaminometilo, isopropilaminometilo y similares.

15 El término "arilo" como se utiliza en el presente documento se refiere a un sistema de anillo aromático monocíclico, bicíclico o tricíclico de 5 a 14 miembros. Los ejemplos de un grupo arilo incluyen fenilo y naftilo. Un grupo arilo puede no estar sustituido o estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes como se describe en el presente documento a continuación. Los ejemplos de grupos arilo incluyen heterociclos de fenilo o de arilo tales como, pirrol, furano, tiofeno, tiazol, isotiazol, imidazol, triazol, tetrazol, pirazol, oxazol, isoxazol, piridina, pirazina, piridazina y pirimidina y similares.

20 Como se utiliza en el presente documento, el término "bioactividad" indica un efecto sobre uno o más procesos celulares o extracelulares (por ejemplo, a través de la unión, la señalización, etc.) que puede tener un impacto en los procesos fisiológicos o fisiopatológicos.

25 El término "carbonilo" incluye compuestos y restos que contienen un carbono conectado con un doble enlace a un átomo de oxígeno. Los ejemplos de restos que contienen un carbonilo incluyen, pero no se limitan a, aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, amidas, ésteres, anhídridos, etc.

El término "carboxi" o "carboxilo" significa un grupo -COOH o ácido carboxílico.

35 El término "C_m-C_n" significa de un número "m" de átomos de carbono a un número "n" de átomos de carbono. Por ejemplo, el término "C₁-C₆" significa de uno a seis átomos de carbono (C₁, C₂, C₃, C₄, C₅ o C₆). El término "C₂-C₆" incluye de dos a seis átomos de carbono (C₂, C₃, C₄, C₅ o C₆). El término "C₃-C₆" incluye de tres a seis átomos de carbono (C₃, C₄, C₅ o C₆).

40 El término "cicloalquilo" como se utiliza en el presente documento se refiere a un sistema de anillo hidrocarbonado monocíclico, bicíclico o tricíclico no aromático saturado o insaturado de 3 a 14 miembros. Se incluyen en esta clase los grupos cicloalquilo que se fusionan a un anillo de benceno. Los grupos cicloalquilo representativos incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclobutenilo, ciclopentilo, ciclohexenilo, cicloheptadienilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, 1,3-ciclohexadienilo, cicloheptilo, cicloheptenilo, 1,3-cicloheptadienilo, 1,4-cicloheptadienilo, 1,3,5-cicloheptatrienilo, ciclooctilo, ciclooctenilo, 1,3-ciclooctadienilo, 1,4-ciclooctadienilo, 1,3,5-ciclooctatrienilo, decahidronaftaleno, octahidronaftaleno, hexahidronaftaleno, octahidroindeno, hexahidroindeno, tetrahidroindeno, decahidrobenzociclohepteno, octahidrobenzociclohepteno, hexahidrobenzociclohepteno, tetrahidrobenzociclohepteno, dodecahidroheptaleno, decahidroheptaleno, octahidroheptaleno, hexahidroheptaleno y tetrahidroheptaleno, (1*s*,3*s*)-biciclo[1.1.0]butano, biciclo[1.1.1]pentano, biciclo[2.1.1]hexano, biciclo[2.2.1]heptano, biciclo[2.2.2]octano, biciclo[3.1.1]heptano, biciclo[3.2.1]octano, biciclo[3.3.1]nonano, biciclo[3.3.2]decano, biciclo[3.3.3]undecano, biciclo[4.2.2]decano, biciclo[4.3.1]decano. Un grupo cicloalquilo puede no estar sustituido o estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes como se describe en el presente documento a continuación.

55 El término "halógeno" incluye flúor, bromo, cloro, yodo, etc.

60 El término "haloalquilo", como se utiliza en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C₁-C₆ en donde uno o más de los átomos de hidrógeno del grupo alquilo C₁-C₆ se reemplazan por un átomo de halógeno, que puede ser el mismo o diferente. Los ejemplos de grupos haloalquilo incluyen, pero no se limitan a, trifluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 4-clorobutilo, 3-bromopropilo, pentacloroetilo y 1,1,1-trifluoro-2-bromo-2-cloroetilo.

65 El término "heteroalquilo", por sí mismo o en combinación con otro término, significa, a menos que se indique lo contrario, un alquilo estable de cadena lineal o ramificada o combinaciones del mismo, que consiste en átomos de carbono y de uno a tres heteroátomos seleccionados entre el grupo que consiste en O, N y S y en donde los átomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados y el heteroátomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado. El o los heteroátomos O, N y S pueden colocarse en cualquier posición del grupo heteroalquilo. Los ejemplos incluyen -CH₂-CH₂-O-CH₃, -CH₂-CH₂-NH-CH₃, -CH₂-CH₂-N(CH₃)-CH₃, -CH₂-S-CH₂-CH₃,

-CH₂-CH₂-S(O)-CH₃, -CH₂-CH₂-S(O)₂-CH₃ y -CH₂-CH=N-OCH₃. Pueden estar consecutivos hasta dos heteroátomos, tales como, por ejemplo, -CH₂-NH-OCH₃. Cuando se utiliza un sufijo tal como (C₂-C₈) para referirse a un grupo heteroalquilo, se pretende que el número de átomos de carbono (de 2 a 8, en este ejemplo) incluya también los heteroátomos. Por ejemplo, se pretende que un grupo heteroalquilo-C₂ incluya, por ejemplo, -CH₂OH (un átomo de carbono y un heteroátomo que reemplaza un átomo de carbono) y -CH₂SH.

Para ilustrar adicionalmente la definición de un grupo heteroalquilo, donde el heteroátomo es oxígeno, un grupo heteroalquilo puede ser un grupo oxialquilo. Por ejemplo, se pretende que oxialquilo (C₂-C₅) incluya, por ejemplo -CH₂-O-CH₃ (un grupo oxialquilo-C₃ con dos átomos de carbono y uno de oxígeno que reemplaza un átomo de carbono), -CH₂CH₂CH₂CH₂OH, -OCH₂CH₂OCH₂CH₂OH, -OCH₂CH(OH)CH₂OH, y similares.

El término "heteroarilo", como se utiliza en el presente documento, se refiere a un anillo heterocíclico aromático de 5 a 14 miembros y que tiene al menos un heteroátomo seleccionado entre nitrógeno, oxígeno y azufre y que contiene al menos 1 átomo de carbono, incluyendo los sistemas de anillo monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos. Los heteroarilos representativos son triazolilo, tetrazolilo, oxadiazolilo, piridilo, furilo, benzofuranilo, tienilo, benzotienilo, quinolinilo, pirrolilo, indolilo, oxazolilo, benzoxazolilo, imidazolilo, bencimidazolilo, tiazolilo, benzotiazolilo, isoxazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, triazinilo, cinnolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, pirimidilo, azepinilo, oxepinilo, quinoxalinilo y oxazolilo. Un grupo heteroarilo puede no estar sustituido o estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes como se describe en el presente documento a continuación.

Como se utiliza en el presente documento, se pretende que el término "heteroátomo" incluya oxígeno (O), nitrógeno (N) y azufre (S).

Como se utiliza en el presente documento, el término "heterociclo" se refiere a sistemas de anillos de 3 a 14 miembros que están saturados, insaturados o son aromáticos, y que contienen de 1 a 4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, y en los que los heteroátomos de nitrógeno y de azufre pueden estar opcionalmente oxidados y el heteroátomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado, incluyendo los sistemas de anillos monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos. Los sistemas de anillos bicíclicos y tricíclicos pueden abarcar un heterociclo o un heteroarilo condensado con un anillo de benceno. El heterociclo puede estar unido a través de cualquier heteroátomo o átomo de carbono, cuando sea químicamente aceptable. Los heterociclos incluyen heteroarilos como se han definido anteriormente. Los ejemplos representativos de heterociclos incluyen, pero no se limitan a, aziridinilo, oxiranilo, tiaranilo, triazolilo, tetrazolilo, azirinilo, diaziridinilo, diazirinilo, oxaziridinilo, azetidínilo, azetidínonilo, oxetanilo, tietanilo, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, pimolilo, oxazinilo, tiazinilo, diazinilo, dioxanilo, triazinilo, tetrazinilo, imidazolilo, tetrazolilo, pirrolidinilo, isoxazolilo, furanilo, furazanilo, piridinilo, oxazolilo, benzoxazolilo, bencisoxazolilo, tiazolilo, benzotiazolilo, tienilo, pirazolilo, triazolilo, pirimidinilo, bencimidazolilo, isoindolilo, indazolilo, benzodiazolilo, benzotriazolilo, benzoxazolilo, bencisoxazolilo, purinilo, indolilo, isoquinolinilo, quinolinilo y quinazolinilo. Un grupo heterocíclico puede estar no sustituido o estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes como se describe en el presente documento a continuación.

El término "heterocicloalquilo", por sí mismo o en combinación con otros términos, representa, a menos que se indique lo contrario, versiones cíclicas del "heteroalquilo". Además, un heteroátomo puede ocupar la posición en la que el heterociclo se une al resto de la molécula. Los ejemplos de heterocicloalquilo incluyen 1-(1,2,5,6-tetrahidropiridilo), 1-piperidinilo, 2-piperidinilo, 3-piperidinilo, 4-morfolinilo, 3-morfolinilo, tetrahydrofuran-2-ilo, tetrahydrofuran-3-ilo, tetrahidrotien-2-ilo, tetrahidrotien-3-ilo, 1-piperazinilo, 2-piperazinilo y similares.

El término "hidroxialquilo", como se utiliza en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo que tiene el número de átomos de carbono indicado en donde uno o más de los átomos de hidrógeno del grupo alquilo se reemplaza con un grupo -OH. Los ejemplos de grupos hidroxialquilo incluyen, pero no se limitan a, -CH₂OH, -CH₂CH₂OH, -CH₂CH₂CH₂OH, -CH₂CH₂CH₂CH₂OH, -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂OH, -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂OH y versiones ramificadas de los mismos.

El término "hidroxi" o "hidroxilo" incluye grupos con un -OH o un -O.

Como se utiliza en el presente documento y a menos que se indique lo contrario, el término "estereoisómero" significa un estereoisómero de un compuesto que está sustancialmente libre de otros estereoisómeros de ese compuesto. Por ejemplo, un compuesto estereoméricamente puro que tiene un centro quiral estará sustancialmente libre del enantiómero opuesto del compuesto. Un compuesto estereoméricamente puro que tiene dos centros quirales estará sustancialmente libre de otros diastereómeros del compuesto. En algunas realizaciones, un compuesto estereoméricamente puro comprende más de aproximadamente el 80 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 20 % en peso de otros estereoisómeros del compuesto, por ejemplo más de aproximadamente el 90 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 10 % en peso de los otros estereoisómeros del compuesto o más de aproximadamente el 95 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 5 % en peso de los otros estereoisómeros del compuesto o más de aproximadamente el 97 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 3 % en peso de los otros estereoisómeros del compuesto.

Como se utiliza en el presente documento, "proteína" se utiliza como sinónimo de "péptido", "polipéptido" o "fragmento de péptido". Un polipéptido, proteína, péptido o fragmento de péptido "purificados" están sustancialmente libres de material celular u otras proteínas contaminantes de la célula, tejido o fuente libre de células a partir de los que se obtiene la secuencia de aminoácidos, o sustancialmente libre de precursores químicos u otros productos químicos cuando se sintetiza químicamente.

Como se utiliza en el presente documento, se pretende que "modular" se refiera a un aumento o una disminución en los niveles de un péptido o de un polipéptido, o a aumentar o disminuir la estabilidad o la actividad de un péptido o un polipéptido. Se pretende que el término "inhibir" se refiera a una disminución en los niveles de un péptido o un polipéptido o a una disminución en la estabilidad o la actividad de un péptido o un polipéptido. En las realizaciones preferidas, el péptido que se modula o se inhibe es el S-nitrosoglutatión (GSNO) o los S-nitrosotioles (SNO) proteínicos.

Como se utiliza en el presente documento, las expresiones "óxido nítrico" y "NO" abarcan especies de óxido nítrico no cargadas y especies de óxido nítrico cargadas, incluyendo en particular el ion nitrosonio (NO⁺) y el ion nitroxilo (NO⁻). La forma reactiva del óxido nítrico puede ser proporcionada por el óxido nítrico gaseoso. Los compuestos que tienen la estructura X-NO_Y en la que X es un resto que libera, entrega o transfiere óxido nítrico, incluyendo cualesquier y todos dichos compuestos que proporcionan óxido nítrico a su sitio de acción previsto en una forma activa para su propósito previsto, e Y es 1 o 2.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora de un gobierno federal o estatal o enumerado en la Farmacopea de los EE.UU. u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales y, más en particular, en seres humanos. La expresión "medio de soporte" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el agente terapéutico e incluye, pero no se limita a los líquidos estériles tales como agua y aceites.

Una "sal farmacéuticamente aceptable" o "sal" de un compuesto de la invención es un producto del compuesto que se desvela que contiene un enlace iónico y se produce normalmente haciendo reaccionar el compuesto que se desvela, ya sea con un ácido o con una base, adecuado para su administración a un sujeto. Una sal farmacéuticamente aceptable puede incluir, pero no se limita a, sales de adición de ácido incluyendo clorhidratos, bromhidratos, fosfatos, sulfatos, hidrógenosulfatos, alquilsulfonatos, arilsulfonatos, arilalquilsulfonatos, acetatos, benzoatos, citratos, maleatos, fumaratos, succinatos, lactatos y tartratos; cationes de metales alcalinos tales como Li, Na, K, sales de metales alcalinotérreos tales como Mg o Ca o sales de amina orgánica.

Una "composición farmacéutica" es una formulación que comprende los compuestos que se desvelan en una forma adecuada para su administración a un sujeto. Una composición farmacéutica de la invención se formula preferentemente para que sea compatible con su vía de administración prevista. Los ejemplos de vías de administración incluyen, pero no se limitan a, la vía oral y la vía parenteral, por ejemplo, la administración intravenosa, intradérmica, subcutánea, por inhalación, tópica, transdérmica, transmucosa y rectal.

El término "sustituido", como se utiliza en el presente documento, significa que cualesquier uno o más hidrógenos del átomo señalado se reemplaza por una selección entre el grupo indicado, siempre que no se supere la valencia normal del átomo señalado y que la sustitución dé como resultado un compuesto estable. Cuando un sustituyente es ceto (es decir, =O), entonces se reemplazan 2 hidrógenos del átomo. "Dobles enlaces de anillo", como se utiliza en el presente documento, son dobles enlaces que se forman entre dos átomos de anillo adyacentes (por ejemplo, C=C, C=N o N=N).

Los sustituyentes para los grupos denominados como alquilo, heteroalquilo, alquilenilo, alquiniilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, cicloalqueniilo y heterocicloalqueniilo pueden seleccionarse entre varios grupos incluyendo -OR^d, =O, =NR^d, =N-OR^d, -NR^dR^{d'}, -SR^d, -halo, -SiR^dR^{d'}R^{d''}, -OC(O)R^d, -C(O)R^d, -CO₂R^d, -C(O)NR^dR^{d'}, -OC(O)NR^dR^{d'}, -NR^{d'}C(O)R^d, -NR^{d''}C(O)NR^dR^{d'}, -NR^{d'''}SO₂NR^dR^{d'}, -NR^{d''}CO₂R^d, -NHC(NH₂)=NH, NR^aC(NH₂)=NH, -NHC(NH₂)=NR^d, -S(O)R^d, -SO₂R^d, -SO₂NR^dR^{d'}, -NR^dSO₂R^d, -CN y -NO₂, en un número que va de cero a tres, siendo ejemplares aquellos grupos que tienen cero, uno o dos sustituyentes.

R^d, R['] y R^{d''} se refieren cada uno independientemente a hidrógeno, alquilo (C₁-C₈) no sustituido, heteroalquilo (C₁-C₈) no sustituido, arilo no sustituido y arilo sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados entre -halo, alquilo no sustituido, alcoxi no sustituido, tioalcoxi no sustituido y aril-alquilo (C₁-C₄) no sustituido. Cuando R^d y R^{d'} están unidos al mismo átomo de nitrógeno, pueden combinarse con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de 5, 6 o 7 miembros. Por ejemplo, -NR^dR^{d'} puede representar 1-pirrolidinilo o 4-morfolinilo.

Normalmente, un grupo alquilo o heteroalquilo tendrá de cero a tres sustituyentes, siendo ejemplares de la presente invención aquellos grupos que tienen dos o menos sustituyentes. Un radical alquilo o heteroalquilo puede no estar sustituido o estar monosustituido. En algunas realizaciones, un radical alquilo o heteroalquilo estará sustituido.

Los sustituyentes ejemplares para los radicales alquilo y heteroalquilo incluyen, pero no se limitan a -OR^d, =O, =NR^d, =N-OR^d, -NR^dR^{d'}, -SR^d, -halo, -SiR^dR^{d'}R^{d''}, -OC(O)R^d, -C(O)R^d, -CO₂R^d, -C(O)NR^dR^{d'}, -OC(O)NR^dR^{d'}, -

NR^{d''}C(O)R^{d'}, -NR^{d''}C(O)NR^{d'R^{d''}}, -NR^{d'''}SO₂NR^{d'R^{d''}}, -NR^{d'}CO₂R^{d'}, -NHC(NH₂)=NH, NR^{e'}C(NH₂)=NH, -NHC(NH₂)=NR^{d'}, -S(O)R^{d'}, -SO₂R^{d'}, -SO₂NR^{d'R^{d''}}, -NR^{d'}SO₂R^{d'}, -CN y -NO₂, donde R^{d'}, R^{d''} y R^{d'''} son como se han definido anteriormente. Los sustituyentes típicos pueden seleccionarse entre: -OR^{d'}, =O, -NR^{d'R^{d''}}, -halo, -OC(O)R^{d'}, -CO₂R^{d'}, -C(O)NR^{d'R^{d''}}, -OC(O)NR^{d'R^{d''}}, -NR^{d''}C(O)R^{d'}, -NR^{d'}CO₂R^{d'}, -NR^{d'''}SO₂NR^{d'R^{d''}}, -SO₂R^{d'}, -SO₂NR^{d'R^{d''}}, -NR^{d'}SO₂R^{d'}, -CN y -NO₂.

De manera similar, los sustituyentes para los grupos arilo y heteroarilo son variados y se seleccionan entre: -halo, -OR^{e'}, -OC(O)R^{e'}, -NR^{e'R^{e''}}, -SR^{e'}, -R^{e'}, -CN, -NO₂, -CO₂R^{e'}, -C(O)NR^{e'R^{e''}}, -C(O)R^{e'}, -OC(O)NR^{e'R^{e''}}, -NR^{e'}C(O)R^{e'}, -NR^{e'}CO₂R^{e'}, -NR^{e''}C(O)NR^{e'R^{e''}}, NR^{e'''}SO₂NR^{e'R^{e''}}, -NHC(NH₂)=NH, -NR^{e'}C(NH₂)=NH, -NH-C(NH₂)=NR^{e'}, -S(O)R^{e'}, -SO₂R^{e'}, -SO₂NR^{e'R^{e''}}, -NR^{e'}SO₂R^{e'}, -N₃, -CH(Ph)₂, perfluoroalcoxi y perfluoro-alquilo (C₁-C₄), en un número que va de cero al número total de valencias abiertas en el sistema de anillo aromático.

R^{e'}, R^{e''} y R^{e'''} se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo (C₁-C₈) no sustituido, hetero-alquilo (C₁-C₈) no sustituido, arilo no sustituido, heteroarilo no sustituido, aril-alquilo (C₁-C₄) no sustituido y ariloxi-alquilo (C₁-C₄) no sustituido. Normalmente, un grupo arilo o heteroarilo tendrá de cero a tres sustituyentes, siendo ejemplares aquellos grupos que tienen dos o menos sustituyentes. Por ejemplo, un grupo arilo o heteroarilo puede no estar sustituido o estar monosustituido; por ejemplo, un grupo arilo o heteroarilo puede no estar sustituido.

Dos de los sustituyentes en átomos adyacentes de un anillo de arilo o heteroarilo en un grupo arilo o heteroarilo como se describen en el presente documento pueden reemplazarse opcionalmente por un sustituyente de fórmula -T-C(O)-(CH₂)_q-U-, en donde T y U son independientemente -NH-, -O-, -CH₂- o un enlace sencillo y q es un número entero de 0 a 2. Como alternativa, dos de los sustituyentes en átomos adyacentes del anillo arilo o heteroarilo pueden reemplazarse opcionalmente por un sustituyente de la fórmula -J-(CH₂)_r-K-, en donde J y K son, independientemente, -CH₂-, -O-, -NH-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂NR^{f'}- o un enlace sencillo y r es un número entero de 1 a 3. Uno de los enlaces sencillos del nuevo anillo así formado puede reemplazarse opcionalmente por un doble enlace. Como alternativa, dos de los sustituyentes en átomos adyacentes del anillo de arilo o heteroarilo pueden reemplazarse opcionalmente por un sustituyente de fórmula -(CH₂)_s-X-(CH₂)_t-, donde s y t son independientemente números enteros de 0 a 3 y X es -O-, -NR^{f'}-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂- o -S(O)₂NR^{a'}-. El sustituyente R^{f'} en -NR^{f'}- y -S(O)₂NR^{f'}- se selecciona entre hidrógeno o alquilo (C₁-C₆) no sustituido.

Se pretende que "Compuesto estable" y "estructura estable" indiquen un compuesto que es suficientemente robusto para sobrevivir al aislamiento hasta un grado útil de pureza a partir de una mezcla de reacción y a la formulación en un agente terapéutico eficaz.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa generalmente la cantidad necesaria para mejorar al menos un síntoma de un trastorno que se prevenga, reduzca o trate como se describe en el presente documento. La frase "cantidad terapéuticamente eficaz" cuando se refiera a los inhibidores de la GSNOR que se describen en el presente documento significará la dosis inhibidora de la GSNOR que proporcione la respuesta farmacológica específica para la cual se administra el inhibidor de la GSNOR, en un número significativo de sujetos que necesiten dicho tratamiento. Se destaca que una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de la GSNOR que se administre a un sujeto particular en un caso particular no siempre será efectiva en el tratamiento de las afecciones/enfermedades que se describen en el presente documento, a pesar de que dicha dosis se considere que es una cantidad terapéuticamente eficaz por aquellos expertos en la materia. La frase "cantidad terapéuticamente eficaz", cuando se refiera a los antagonistas del receptor de la NK3 de la presente invención, significará la dosis antagonista del receptor de la NK3 que proporcione la respuesta farmacológica específica para la cual se administra el antagonista del receptor de la NK3, en un número significativo de sujetos que necesiten dicho tratamiento. Se destaca que una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista del receptor de la NK3 que se administre a un sujeto particular en un caso particular no siempre será efectiva en el tratamiento de las afecciones/enfermedades que se describen en el presente documento, a pesar de que dicha dosis se considere que es una cantidad terapéuticamente eficaz por aquellos expertos en la materia.

La expresión "muestra biológica" incluye, pero no se limita a, muestras de sangre (por ejemplo, suero, plasma o sangre completa), orina, saliva, sudor, leche materna, secreciones vaginales, semen, folículos pilosos, piel, dientes, huesos, uñas, u otras secreciones, fluidos corporales, tejidos o células. Los niveles de la S-nitrosoglutación reductasa de la muestra biológica pueden determinarse mediante los métodos que se describen en la Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU. nº 2005/0014697.

D. Composiciones farmacéuticas

En el presente documento también se describen composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto que se describe en el presente documento y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los vehículos adecuados se describen en "*Remington: The Science and Practice, Twentieth Edition*", publicado por Lippincott Williams & Wilkins. Las composiciones farmacéuticas como se describen en el presente documento también pueden comprender uno o más agentes activos que no sean compuestos de la presente invención.

Las composiciones farmacéuticas que se describen en el presente documento puede comprender nuevos compuestos que se describen en el presente documento, las composiciones farmacéuticas pueden comprender compuestos conocidos que previamente no se sabía que tenían actividad inhibitora de la GSNOR o actividad antagonista del receptor de la NK3 o una combinación de las mismas.

5 Los compuestos que se describen en el presente documento pueden utilizarse en cualquier forma de dosificación farmacéuticamente aceptable, incluyendo, pero no limitado a las formas de dosificación inyectables, dispersiones líquidas, geles, aerosoles, pomadas, cremas, formulaciones liofilizadas, polvos secos, comprimidos, cápsulas, formulaciones de liberación controlada, formulaciones de bucodispersión rápida, formulaciones de liberación retardada, formulaciones de liberación prolongada, formulaciones de liberación pulsátil, formulaciones mixtas de liberación inmediata y liberación controlada, etc. Específicamente, los compuestos que se describen en el presente documento pueden formularse: (a) para la administración seleccionada entre el grupo que consiste en la administración oral, pulmonar, intravenosa, intrarterial, intratecal, intrarticular, rectal, oftálmica, colónica, parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, local, bucal, nasal y tópica; (b) en una forma de dosificación seleccionada entre el grupo que consiste en dispersiones líquidas, geles, aerosoles, ungüentos, cremas, comprimidos, sobres y cápsulas; (c) en una forma de dosificación seleccionada entre el grupo que consiste en formulaciones liofilizadas, polvos secos, formulaciones de bucodispersión rápida, formulaciones de liberación controlada, formulaciones de liberación retardada, formulaciones de liberación prolongada, formulaciones de liberación pulsátil y formulaciones mixtas de liberación inmediata y liberación controlada; o (d) cualquier combinación de las mismas.

20 Para las infecciones respiratorias, puede utilizarse una formulación de inhalación para conseguir concentraciones locales altas. Las formulaciones adecuadas para la inhalación incluyen los polvos secos o soluciones, dispersiones o suspensiones en aerosol o vaporizadas, susceptibles de dispensarse mediante un inhalador o un nebulizador en la cavidad endobronquial o nasal de los pacientes infectados para tratar infecciones bacterianas del tracto respiratorio superior e inferior.

25 Las soluciones o suspensiones utilizadas para la aplicación parenteral, intradérmica o subcutánea pueden comprender uno o más de los siguientes componentes: (1) un diluyente estéril tal como agua para inyecciones, solución salina, aceites no volátiles, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; (2) agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabenos; (3) antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; (4) agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; (5) tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos; y (5) agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa. El pH puede ajustarse con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. Una preparación parenteral puede incluirse en ampollas, jeringas desechables o viales de múltiples dosis hechos de vidrio o de plástico.

30 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para su uso inyectable pueden comprender soluciones acuosas estériles (cuando son hidrosolubles) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Para la administración intravenosa, los vehículos adecuados incluyen la solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremophor EL (BASF, Parsippany, NJ) o solución salina tamponada con fosfato (PBS). En todos los casos, la composición debe ser estéril y debe ser fluida en la medida en que exista una fácil inyectabilidad. La composición farmacéutica debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos.

35 El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que comprenda, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares) y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula necesario en el caso de la dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención contra la acción de los microorganismos puede conseguirse mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol o sorbitol y sales inorgánicas tales como cloruro de sodio en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede producirse incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

40 Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse mediante la incorporación del agente activo en la cantidad necesaria en un disolvente apropiado con un ingrediente o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según se necesite, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan mediante la incorporación de al menos un compuesto que se describe en el presente documento en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y cualesquier otros ingredientes necesarios. En el caso de los polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos ejemplares de preparación incluyen el secado al vacío y la liofilización, de los cuales los dos proporcionan un polvo de un compuesto que se describe en el presente documento más cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una solución del mismo previamente sometida a esterilización por filtración.

65

Las composiciones orales generalmente incluyen un diluyente inerte o un vehículo comestible. Se pueden incluir en, por ejemplo, cápsulas de gelatina o comprimirse en comprimidos. Para el propósito de la administración terapéutica oral, el compuesto puede incorporarse con excipientes y utilizarse en forma de comprimidos, trociscos o cápsulas. Las composiciones orales también pueden prepararse utilizando un vehículo fluido para su uso como un enjuague bucal, en donde el compuesto en el vehículo fluido se aplica por vía oral y se agita en la boca y se expectora o se traga. Pueden agentes aglutinantes farmacéuticamente compatibles, y/o materiales adyuvantes como parte de la composición.

Para la administración por inhalación, los compuestos se administran en forma de una pulverización de aerosol desde el contenedor o dispensador presurizado que contiene un propelente adecuado, por ejemplo, un gas tal como dióxido de carbono, en forma de un líquido nebulizado o de un polvo seco desde un dispositivo adecuado. Para la administración transmucosa o transdérmica, se utilizan en la formulación agentes penetrantes adecuados a la barrera que se penetra. Dichos agentes penetrantes son generalmente conocidos en la técnica, e incluyen, por ejemplo, para la administración transmucosa, detergentes, sales biliares y derivados de ácido fusídico. La administración transmucosa se puede conseguir mediante el uso de nebulizadores nasales o supositorios. Para la administración transdérmica, los agentes activos se formulan en pomadas, ungüentos, geles o cremas como se conoce generalmente en la técnica. Los agentes activos pueden prepararse también en forma de supositorios (por ejemplo, con bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao y otros glicéridos) o enemas de retención para la administración rectal.

Por ejemplo, los compuestos que se describen en el presente documento pueden prepararse con vehículos evitan la eliminación rápida del cuerpo. Por ejemplo, puede utilizarse una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de administración microencapsulados. Pueden utilizarse polímeros biodegradables biocompatibles, tales como vinilacetato de etileno, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de dichas formulaciones serán evidentes para aquellos expertos en la materia.

También pueden utilizarse suspensiones liposomales (incluyendo liposomas dirigidos a células infectadas con anticuerpos monoclonales para antígenos virales) como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estos pueden prepararse de acuerdo con los métodos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, como se describe en la patente de los EE.UU. n° 4.522.811.

Adicionalmente, las suspensiones de los compuestos que se describen en el presente documento pueden prepararse en forma de suspensiones de inyección oleosas apropiadas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos, tales como aceite de sésamo o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como oleato de etilo, triglicéridos o liposomas. También pueden utilizarse amino polímeros policatiónicos no lipídicos para la administración. Opcionalmente, la suspensión también puede incluir estabilizadores o agentes adecuados para aumentar la solubilidad de los compuestos y permitir la preparación de soluciones muy concentradas.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones orales o parenterales en formas de dosificación unitarias por la facilidad de la administración y la uniformidad de la dosificación. "Forma de dosificación unitaria" como se utiliza en el presente documento se refiere a unidades físicamente aisladas adaptadas como dosificaciones unitarias para el sujeto que se trata; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada del compuesto calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico necesario. Las especificaciones para las formas de dosificación unitarias de la invención están dictadas por, y dependen directamente de, las características singulares del compuesto y el efecto terapéutico particular que se desea conseguir, y las limitaciones inherentes a la técnica de preparación de compuestos de un agente activo de este tipo para el tratamiento de personas.

Las composiciones farmacéuticas que se describen en el presente documento que comprenden al menos un compuesto que se describe en el presente documento pueden comprender uno o más excipientes farmacéuticos. Los ejemplos de dichos excipientes incluyen, pero no se limitan a, agentes aglutinantes, agentes de carga, agentes lubricantes, agentes suspensores, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, conservantes, tampones, agentes humectantes, agentes disgregantes, agentes efervescentes y otros excipientes. Dichos excipientes son conocidos en la técnica. Los excipientes ejemplares incluyen: (1) agentes aglutinantes que incluyen diversas celulosas y polivinilpirrolidona reticulada, celulosa microcristalina, tal como Avicel® PH101 y Avicel® PH102, celulosa microcristalina silicificada (ProSolv SMCC™), goma tragacanto y gelatina; (2) agentes de carga tales como diversos almidones, lactosa, lactosa monohidrato, y lactosa anhidra; (3) agentes disgregantes tales como ácido algínico, Primogel, almidón de maíz, polivinilpirrolidona ligeramente reticulada, almidón de patata, almidón de maíz y almidones modificados, croscarmelosa de sodio, crospovidona, glicolato de almidón de sodio y mezclas de los mismos; (4) lubricantes, incluyendo agentes que actúan sobre la fluidez de un polvo que se va a comprimir, que incluyen estearato de magnesio, dióxido de silicio coloidal, tal como Aerosil® 200, talco, ácido esteárico, estearato de calcio y gel de sílice; (5) sustancias de deslizamiento tales como dióxido de silicio coloidal; (6) conservantes, tales como sorbato de potasio, metilparabeno, propilparabeno, ácido benzoico y sus sales, otros ésteres del ácido parahidroxibenzoico tales como butilparabeno, alcoholes tales como alcohol etílico o bencílico, compuestos fenólicos tales como fenol o compuestos cuaternarios tales como cloruro de benzalconio; (7) diluyentes tales como cargas inertes farmacéuticamente aceptables, tales como celulosa microcristalina, lactosa, fosfato de calcio dibásico,

sacáridos y/o mezclas de cualquiera de los anteriores; los ejemplos de diluyentes incluyen celulosa microcristalina, tal como Avicel® PH101 y Avicel® PH102; lactosa tal como lactosa monohidrato, lactosa anhidra y Pharmatose® DCL21; fosfato de calcio dibásico tal como Emcompress®; manitol; almidón; sorbitol; sacarosa; y glucosa; (8) agentes edulcorantes, incluyendo cualquier edulcorante natural o artificial, tal como sacarosa, sacarosa sacarina, xilitol, sacarina de sodio, ciclamato, aspartamo y acesulfamo; (9) agentes aromatizantes, tal como menta, salicilato de metilo, aroma de naranja, Magnasweet® (marca comercial de MAFCO), aroma de chicle, aromas de frutas y similares; y (10) agentes efervescentes, incluyendo pares efervescentes tales como un ácido orgánico y un carbonato o bicarbonato. Los ácidos orgánicos adecuados incluyen, por ejemplo, ácidos y anhídridos cítricos, tartáricos, málicos, fumáricos, adípicos, succínicos y sales de ácido. Los carbonatos y bicarbonatos adecuados incluyen, por ejemplo, carbonato de sodio, bicarbonato de sodio, carbonato de potasio, bicarbonato de potasio, carbonato de magnesio, carbonato de glicina de sodio, carbonato de L-lisina y carbonato de arginina. Como alternativa, puede estar presente solamente el componente de bicarbonato de sodio del par efervescente.

E. Kits que comprenden las composiciones que se describen en el presente documento

En el presente documento también se describen kits que comprenden las composiciones que se describen en el presente documento. Dichos kits pueden comprender, por ejemplo, (1) al menos un compuesto que se describe en el presente documento; y (2) al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un disolvente o una solución. Los componentes adicionales del kit pueden incluir opcionalmente, por ejemplo: (1) cualquiera de los excipientes farmacéuticamente aceptables que se identifican en el presente documento, tales como estabilizantes, tampones, etc., (2) al menos un recipiente, frasco o aparato similar para sujetar y/o mezclar los componentes del kit; y (3) un aparato de administración, tal como un inhalador, nebulizador, jeringa, etc.

F. Métodos de preparación de los compuestos que se describen en el presente documento

Los compuestos que se describen en el presente documento pueden sintetizarse fácilmente utilizando las metodologías de síntesis conocidas o por medio de una modificación de las metodologías de síntesis conocidas. Como se reconocería fácilmente por un experto en la materia, las metodologías que se describen a continuación permiten la síntesis de dihidropiridin-2-(1H)-onas que tienen varios sustituyentes. Los métodos de síntesis ejemplares se describen en los ejemplos a continuación.

Si es necesario, la purificación y separación adicional de los enantiómeros y diastereómeros puede conseguirse mediante procedimientos de rutina conocidos en la técnica. Por tanto, por ejemplo, la separación de los enantiómeros de un compuesto puede conseguirse mediante el uso de HPLC quiral y técnicas cromatográficas relacionadas. Los diastereómeros pueden separarse de manera similar. En algunos casos, sin embargo, los diastereómeros pueden, simplemente, separarse físicamente, tal como, por ejemplo, mediante precipitación controlada o cristalización.

Los procesos que se describen en el presente documento pueden realizarse convenientemente a temperaturas que son rutinariamente accesibles en la técnica. Por ejemplo, el proceso puede realizarse a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 110 °C. Por ejemplo, la temperatura puede estar en el intervalo de aproximadamente 40 °C a aproximadamente 100 °C. Por ejemplo, la temperatura puede estar en el intervalo de aproximadamente 50 °C a aproximadamente 95 °C.

Las etapas de síntesis que requieren una base se realizan utilizando cualquier base orgánica o inorgánica conveniente. Normalmente, la base no es nucleófila. Por ejemplo, la base puede seleccionarse entre carbonatos, fosfatos, hidróxidos, alcóxidos, sales de disilazanos y aminas terciarias.

Los procesos que se describen en el presente documento pueden completarse sustancialmente después de varios minutos a varias horas, dependiendo de la naturaleza y la cantidad de los reactivos y de la temperatura de la reacción. La determinación de cuándo la reacción está sustancialmente completa puede evaluarse convenientemente mediante técnicas habituales conocidas en la técnica tales como, por ejemplo, HPLC, CLEM, TLC y RMN ¹H.

G. Métodos de tratamiento

En el presente documento también se describen métodos de prevención o tratamiento de (por ejemplo, el alivio de uno o más síntomas de) afecciones médicas a través del uso de uno o más de los compuestos que se describen. Los métodos comprenden la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que se describe en el presente documento a un paciente que lo necesite. Las composiciones que se describen en el presente documento también pueden utilizarse para la terapia profiláctica.

El compuesto que se describe en el presente documento que se utiliza en los métodos de tratamiento que se describen en el presente documento puede ser: (1) un compuesto nuevo que se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un profármaco del mismo o un metabolito del mismo; (2) un compuesto que se conocía antes de la presente invención, pero donde no se sabía que el compuesto era un

inhibidor de la GSNOR o un antagonista del receptor de la NK3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un profármaco del mismo o un metabolito del mismo; o (3) un compuesto que se conocía antes de la presente invención y donde se sabía que el compuesto era un inhibidor de la GSNOR o un antagonista del receptor de la NK3, pero donde no se sabía que el compuesto fuera útil para los métodos de tratamiento que se describen en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un profármaco del mismo o un metabolito del mismo.

El paciente puede ser cualquier animal, doméstico, de granja o salvaje, incluyendo, pero no limitado a gatos, perros, caballos, cerdos y vacas y preferentemente pacientes humanos. Como se utiliza en el presente documento, los términos paciente y sujeto pueden utilizarse indistintamente.

Como se utiliza en el presente documento, "tratar" describe el tratamiento y cuidado de un paciente con el propósito de combatir una enfermedad, afección o trastorno e incluye la administración de un compuesto que se describe en el presente documento para prevenir la aparición de los síntomas o complicaciones, aliviar los síntomas o complicaciones o eliminar la enfermedad, afección o trastorno. Más específicamente, "tratar" incluye revertir, atenuar, aliviar, minimizar, suprimir o detener al menos un síntoma o efecto perjudicial de una patología (trastorno), progresión de la enfermedad, agente causal de la enfermedad (por ejemplo bacterias o virus), u otra afección anormal. El tratamiento se continúa siempre que los síntomas y/o la patología mejoren.

En general, la dosis, es decir, la cantidad terapéuticamente eficaz, varía entre 1 µg y 10 g/kg y a menudo varía entre 10 µg y 1 g/kg o 10 µg a 100 mg/kg de peso corporal del sujeto que se trata, por día.

H. Usos de la GSNOR

En los sujetos con niveles perjudicialmente altos de GSNOR o de actividad de la GSNOR, la modulación puede conseguirse, por ejemplo, mediante la administración de uno o más de los compuestos que se desvelan que interrumpen o regulan a la baja la función de la GSNOR o disminuyen los niveles de la GSNOR. Estos compuestos pueden administrarse con otros agentes inhibidores de la GSNOR, tales como anticuerpos anti-GSNOR o fragmentos de anticuerpos, GSNOR antisentido, ARNi o pequeñas moléculas, u otros inhibidores, solos o en combinación con otros agentes como se describen en detalle en el presente documento.

En el presente documento también se describe un método para el tratamiento de un sujeto aquejado de un trastorno que mejora mediante la terapia con un donador de NO. Un método de este tipo comprende la administración a un sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de la GSNOR.

Los trastornos pueden incluir trastornos pulmonares asociados a la hipoxemia y/o a la constricción del músculo liso en los pulmones y/o a la infección pulmonar y/o a la lesión pulmonar (por ejemplo, la hipertensión pulmonar, el SDRA, el asma, la neumonía, la fibrosis pulmonar/enfermedades pulmonares intersticiales, la fibrosis quística, la EPOC) enfermedades cardiovasculares y enfermedades cardíacas, incluyendo afecciones tales como hipertensión, síndromes coronarios isquémicos, aterosclerosis, insuficiencia cardíaca, glaucoma, enfermedades caracterizadas por la angiogénesis (por ejemplo, la arteriopatía coronaria), trastornos en los que existe el riesgo de que se produzca una trombosis, trastornos en los que existe el riesgo de que se produzca una reestenosis, enfermedades inflamatorias crónicas (por ejemplo, la demencia asociada al SIDA y la psoriasis), enfermedades en las que existe el riesgo de que se produzca una apoptosis (por ejemplo, la insuficiencia cardíaca, la aterosclerosis, los trastornos degenerativos neurológicos, la artritis y el daño hepático (por ejemplo, el isquémico o el alcohólico)), impotencia, obesidad causada por comer en respuesta al ansia por los alimentos, ictus, lesión por reperfusión (por ejemplo, la lesión muscular traumática en el corazón o el pulmón o la lesión por aplastamiento) y trastornos en los que es beneficioso el preacondicionamiento del corazón o del cerebro con la protección del NO frente a episodios isquémicos posteriores.

En algunos métodos que se describen en el presente documento, los compuestos que se describen en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o un profármaco o metabolito de los mismos, pueden administrarse en combinación con un donador de NO. Un donador de NO dona óxido nítrico o una especie redox relacionada y, más generalmente, proporciona la bioactividad del óxido nítrico, es decir, la actividad que se identifica con el óxido nítrico, por ejemplo, la vasorrelajación o la estimulación o la inhibición de una proteína receptora, por ejemplo, las proteínas ras, los receptores adrenérgicos, el NFκB. Los donadores de NO, incluyendo los compuestos de S-nitroso, O-nitroso, C-nitroso y N-nitroso y los derivados nitrados de los mismos y los complejos metálicos de NO, pero sin excluir otros compuestos que generan la bioactividad del NO, que son útiles en la presente invención se describen en "*Methods in Nitric Oxide Research*", Feelisch et al. eds., páginas 71-115 (J. S., John Wiley & Sons, Nueva York, 1996). Los donadores de NO que son compuestos de C-nitroso en los que el nitroso está unido a un carbono terciario, que son útiles en el presente documento incluyen aquellos que se describen en la Patente de los EE.UU. nº 6.359.182 y en el documento WO 02/34705. Los ejemplos de compuestos de S-nitroso, incluyendo S-nitrosotioles útiles en la presente invención, incluyen, por ejemplo, S-nitrosoglutatión, S-nitroso-N-acetilpenicilamina, S-nitrosocisteína y el éster etílico de la misma, S-nitroso cisteinil glicina, S-nitroso-gamma-metil-L-homocisteína, S-nitroso-L-homocisteína, S-nitroso-gamma-tio-L-leucina, S-nitroso-delta-tio-L-leucina y S-nitrosoalbúmina. Los ejemplos de otros donadores de NO útiles en la presente invención son nitroprusiato de

sodio (Nipride), nitrito de etilo, isosorbida, nitroglicerina, SIN 1 que es molsidomina, furoxaminas, N-hidroxi(N-nitrosamina) y los perfluorocarbonos que han sido saturados con NO o un donador de NO hidrófobo.

5 La combinación de un inhibidor de la GSNOR con el enantiómero R(+) del amlodipino, un liberador de NO conocido (Zhang X. P. et al., 2002, *J. Cardiovascular Pharmacology* 39, 208-214) también se desvela en el presente documento.

10 En el presente documento también se describe un método para tratar un sujeto aquejado de células patológicamente proliferantes en el que el método comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de la GSNOR. Los inhibidores de la GSNOR son los compuestos como se han definido anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o un profármaco o metabolito de los mismos, en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable. El tratamiento se continúa siempre que los síntomas y/o la patología mejoren.

15 Las células patológicamente proliferantes pueden ser microbios patológicamente proliferantes. Los microbios implicados pueden ser aquellos en los que la GSNOR se expresa para proteger al microbio del estrés nitrosativo o en los que una célula hospedadora infectada con el microbio expresa la enzima, protegiendo de este modo al microbio del estrés nitrosativo. La expresión "microbios patológicamente proliferantes" se utiliza en el presente documento para significar microorganismos patológicos que incluyen pero no se limitan a las bacterias patológicas, 20 los virus patológicos, las clamidias patológicas, los protozoos patológicos, las rickettsias patológicas, los hongos patológicos y los micoplasmas patológicos. Se exponen más detalles sobre los microbios en cuestión en las columnas 11 y 12 de la Patente de los EE.UU. nº 6.057.367. La expresión "células hospedadoras infectadas con microbios patológicos" incluye no sólo las células de mamíferos infectadas con virus patológicos, sino también las células de mamífero que contienen bacterias o protozoos intracelulares, por ejemplo, los macrófagos que contienen 25 *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leper* (lepra) o *Salmonella typhi* (fiebre tifoidea).

Las células patológicamente proliferantes pueden ser helmintos patológicos. La expresión "helmintos patológicos" se utiliza en el presente documento para referirse a los nematodos patológicos, a los trematodos patológicos y a los cestodos patológicos. Se exponen más detalles sobre los helmintos en cuestión en la columna 12 de la Patente de 30 los EE.UU. nº 6.057.367.

Las células patológicamente proliferantes pueden ser células de mamífero patológicamente proliferantes. La expresión "células de mamífero patológicamente proliferantes" como se utiliza en el presente documento significa células del mamífero que crecen en tamaño o número en dicho mamífero con el fin de causar un efecto perjudicial 35 en el mamífero o en sus órganos. La expresión incluye, por ejemplo, las células que proliferan o se agrandan patológicamente que causan la reestenosis, las células que proliferan o se agrandan patológicamente que causan la hipertrofia prostática benigna, las células patológicamente proliferantes que causan la hipertrofia miocárdica y las células proliferantes en los sitios de inflamación tales como las células sinoviales en la artritis o células asociadas a un trastorno de la proliferación celular.

40 Como se utiliza en el presente documento, el término "trastorno proliferativo celular" se refiere a las afecciones en las que el crecimiento de las células no regulado y/o anormal puede conducir al desarrollo de una afección o enfermedad no deseada, que puede ser canceroso o no canceroso, por ejemplo una afección psoriásica. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "afección psoriásica" se refiere a los trastornos que implican la 45 hiperproliferación de los queratinocitos, la infiltración de las células inflamatorias y la alteración de las citocinas. El trastorno proliferativo celular puede ser una afección precancerosa o un cáncer. El cáncer puede ser un cáncer primario o un cáncer metastásico o ambos.

50 Como se utiliza en el presente documento, el término "cáncer" incluye tumores sólidos, tales como cáncer de pulmón, de mama, de colon, de ovario, de páncreas, de próstata, adenocarcinoma, carcinoma escamoso, sarcoma, glioma maligno, leiomiocarcinoma, hepatoma, cáncer de cabeza y cuello, melanoma maligno, cánceres de piel no melanoma; así como tumores y/o neoplasias hematológicas, tales como leucemia, leucemia y linfomas infantiles, mieloma múltiple, enfermedad de Hodgkin, linfomas de origen linfocítico y cutáneo; leucemias aguda y crónicas tales como leucemia linfoblástica aguda, mielocítica aguda o mielocítica crónica, neoplasia de células plasmáticas, 55 neoplasia linfóide y cánceres asociados al SIDA.

Además de las afecciones psoriásicas, los tipos de enfermedades proliferativas que pueden tratarse utilizando las composiciones de la presente invención son los quistes epidérmicos y dermoides, los lipomas, los adenomas, los hemangiomas capilares y cutáneos, los linfangiomas, las lesiones de los nevos, los teratomas, los nefromas, las 60 miofibromatosis, los tumores osteoplásticos, y otras masas displásicas y similares. Las enfermedades proliferativas incluyen las displasias y los trastornos similares.

El tratamiento del cáncer puede comprender una reducción del tamaño del tumor, una disminución del número de tumores, un retraso del crecimiento tumoral, una disminución de las lesiones metastásicas en otros tejidos u órganos 65 distantes del sitio del tumor primario, una mejora de la supervivencia de los pacientes o una mejora de la calidad de vida del paciente o al menos dos de los anteriores.

El tratamiento de un trastorno proliferativo celular pueden comprender una reducción de la tasa de proliferación celular, una reducción de la proporción de células proliferantes, una disminución del tamaño de un área o zona de proliferación celular o una disminución del número o proporción de células que tienen un aspecto o morfología anormal o al menos dos de los anteriores.

5 Los compuestos que se describen en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, un profármaco de los mismos o metabolito de los mismos pueden administrarse en combinación con un segundo agente quimioterapéutico. El segundo agente quimioterapéutico puede seleccionarse entre el grupo que consiste en
 10 tamoxifeno, raloxifeno, anastrozol, exemestano, letrozol, cisplatino, carboplatino, paclitaxel, ciclofosfamida, lovastatina, minosina, gemcitabina, araC, 5-fluorouracilo, metotrexato, docetaxel, goserelina, vincristina, vinblastina, nocodazol, tenipósido, etopósido, epotilona, navelbina, camptotecina, daunorubicina, dactinomicina, mitoxantrona, amsacrina, doxorubicina, epirubicina, idarubicina, imatanib, gefitinib, erlotinib, sorafenib, sunitinib, trastuzumab, rituximab, cetuximab y bevacizumab.

15 Los compuestos que se describen en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, un profármaco de los mismos o metabolito de los mismos, pueden administrarse en combinación con un agente que impone el estrés nitrosativo u oxidativo. Los agentes para la imposición selectiva del estrés nitrosativo para inhibir la proliferación de las células patológicamente proliferantes en terapia de combinación con inhibidores de la GSNOR
 20 en el presente documento y las dosis y vías de administración a este efecto incluyen aquellos que se describen en la patente de los EE.UU. nº 6.057.367. Los agentes complementarios para la imposición del estrés oxidativo (es decir, agentes que aumentan la relación del GSSG (glutatio oxidado) sobre el GSH (glutatio) o la relación del NAD(P) sobre el NAD(P)H o aumentan los derivados del ácido tiobarbitúrico) en terapia de combinación con inhibidores de la GS-FDH en el presente documento incluyen, por ejemplo, L-butionina-S-sulfoximina (BSO), inhibidores de la glutatio reductasa (por ejemplo, BCNU), inhibidores o desacopladores de la respiración mitocondrial y fármacos
 25 que aumentan las especies de oxígeno reactivas (ERO), por ejemplo, la adriamicina, en dosis convencionales con vías de administración convencionales.

Los inhibidores de la GSNOR también pueden coadministrarse con un inhibidor de la fosfodiesterasa (por ejemplo, rolipram, cilomilast, roflumilast, Viagra® (citrate de sildenafil), Cialis® (tadalafil), Levitra® (vardenafil), etc.), un
 30 agonista β , un esteroide o un antagonista de leucotrienos (LTD-4). Aquellos expertos en la materia pueden determinar fácilmente la cantidad terapéuticamente eficaz apropiada dependiendo del trastorno que se desea mejorar.

Los inhibidores de la GSNOR pueden utilizarse como un medio para mejorar la señalización β -adrenérgica. En particular, los inhibidores de la GSNOR solos o en combinación con beta-agonistas podrían usarse para tratar o
 35 proteger contra la insuficiencia cardíaca, u otros trastornos vasculares tales como la hipertensión y el asma. Los inhibidores de la GSNOR también pueden utilizarse para modular los receptores acoplados a proteínas G (GPCR) mediante la potenciación de la proteína-G Gs, conduciendo a la relajación del músculo liso (por ejemplo, las vías respiratorias y los vasos sanguíneos) y mediante la atenuación de la proteína-G Gq, y evitando de esta manera la
 40 contracción del músculo liso (por ejemplo, en las vías respiratorias y en los vasos sanguíneos).

La cantidad terapéuticamente eficaz para el tratamiento de un sujeto aquejado de un trastorno que mejora por la terapia con donadores de NO es la cantidad inhibidora de la GSNOR *in vivo* que causa la mejoría del trastorno que se trate o protege contra un riesgo asociado al trastorno. Por ejemplo, para el asma, una cantidad terapéuticamente
 45 eficaz es una cantidad broncodilatadora eficaz; para la fibrosis quística, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad que mejora eficazmente la obstrucción de las vías respiratorias; para el SDRA, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad que mejora eficazmente la hipoxemia; para la enfermedad cardíaca, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad que alivia la angina de pecho o que induce la angiogénesis eficazmente; para la hipertensión, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad que reduce eficazmente la presión arterial; para los trastornos coronarios isquémicos, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad que aumenta eficazmente el flujo sanguíneo; para la aterosclerosis, una cantidad terapéuticamente eficaz es una
 50 que revierte eficazmente la disfunción endotelial; para el glaucoma, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad que reduce eficazmente la presión intraocular; para las enfermedades que se caracterizan por la angiogénesis, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad que inhibe eficazmente la angiogénesis; para los trastornos en los que existe el riesgo de que se produzca una trombosis, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad que previene eficazmente la trombosis; para los trastornos en los que existe el riesgo de que se produzca una reestenosis, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad que inhibe eficazmente la reestenosis; para las enfermedades inflamatorias crónicas, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad que reduce eficazmente la inflamación; para los trastornos en los que existe el riesgo de que se produzca una
 55 apoptosis, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad que previene eficazmente la apoptosis; para la impotencia, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad con la que se obtiene o se mantiene eficazmente la erección; para la obesidad, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad que causa eficazmente la saciedad; para el ictus, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad que aumenta el flujo sanguíneo o que protege del AIT eficazmente; para la lesión por reperfusión, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad que aumenta la función eficazmente; y para el preacondicionamiento del corazón y del cerebro, una cantidad
 60 terapéuticamente eficaz es una cantidad protectora celular eficaz, por ejemplo, como se mide mediante troponina o

CPK.

La cantidad terapéuticamente eficaz para el tratamiento de un sujeto aquejado por las células patológicamente proliferantes significa una cantidad que inhibe la GSNOR *in vivo* que es una cantidad antiproliferativa eficaz. Dicha cantidad antiproliferativa eficaz como se utiliza en el presente documento significa una cantidad que causa la reducción de la tasa de proliferación de al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 10 %, al menos aproximadamente el 5 % o al menos aproximadamente el 1 %.

I. Usos de la NK3

Los compuestos de fórmula I, en particular los enantiómeros activos que antagonizan el receptor de la NK3 son útiles en la prevención y tratamiento de una amplia variedad de afecciones clínicas que se caracterizan por la sobreestimulación de los receptores de taquicinas, en particular, de la NK1, de la NK2 y de la NK3 y lo más particularmente de la NK3. Estas afecciones pueden incluir trastornos del sistema nervioso central (SNC), tales como ansiedad, depresión, psicosis y esquizofrenia; trastornos neurodegenerativos tales como demencia relacionada con el SIDA, demencia senil de tipo Alzheimer, enfermedad de Alzheimer y síndrome de Down; enfermedades desmielinizantes tales como esclerosis múltiple y esclerosis lateral amiotrófica y otros trastornos neuropatológicos tales como neuropatía diabética o periférica, neuropatía relacionada con el SIDA, neuropatía inducida por quimioterapia, y neuralgia; enfermedades respiratorias tales como enfermedad obstructiva crónica de las vías respiratorias, bronconeumonía, broncoespasmo y asma; enfermedades inflamatorias tales como enfermedad inflamatoria intestinal, psoriasis, fibromialgia, osteoartritis y artritis reumatoide; alergias tales como eczema y rinitis; trastornos de hipersensibilidad tales como hipersensibilidad a la hiedra venenosa; enfermedades oftálmicas tales como conjuntivitis, conjuntivitis primaveral y similares; enfermedades cutáneas tales como dermatitis de contacto, dermatitis atópica, urticaria y otras dermatitis eczematoide; trastornos de adicción tales como alcoholismo; trastornos somáticos relacionados con el estrés; distrofia simpática refleja tal como síndrome hombro/mano; trastornos distímicos; reacciones inmunológicas adversas tales como rechazo de tejidos trasplantados y trastornos relacionados con la potenciación o la supresión inmunitarias tales como lupus eritematoso sistémico; trastornos gastrointestinales (GI) y enfermedades del tracto GI tales como trastornos asociados al control neuronal visceral tales como colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn e incontinencia; trastornos de la función vesical; enfermedades fibrosantes y del colágeno tales como esclerodermia y fasciolosis eosinofílica; trastornos del flujo sanguíneo causados por enfermedades de la vasodilatación y vasoespásticas tales como angina de pecho, migraña y enfermedad de Reynaud; y dolor o nocicepción, por ejemplo, que es atribuible o se asocia a cualquiera de las afecciones precedentes, especialmente la transmisión del dolor en la migraña. Por tanto, estos compuestos se adaptan fácilmente al uso terapéutico para el tratamiento de los trastornos fisiológicos asociados a la sobreestimulación de los receptores de taquicinas, en particular de la NK1, de la NK2 y de la NK3 y lo más particularmente de la NK3.

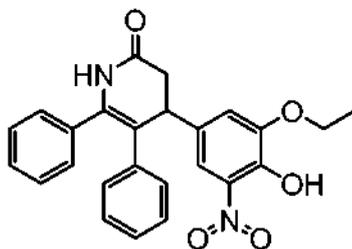
J. Usos en un aparato

Los compuestos que se describen en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o un profármaco o metabolito de los mismos, pueden aplicarse a diversos aparatos en las circunstancias en las que la presencia de dichos compuestos sería beneficioso. Dicho aparato puede ser cualquier dispositivo o recipiente, por ejemplo, los dispositivos implantables en los que un compuesto de la invención puede utilizarse para recubrir una malla quirúrgica o estent cardiovascular antes de la implantación en un paciente. Los compuestos que se describen en el presente documento también pueden aplicarse a diversos aparatos con fines de *in vitro* o para el cultivo de células.

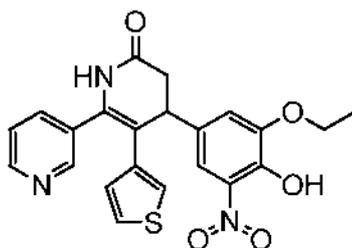
Los compuestos que se describen en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o un profármaco o metabolito de los mismos, también pueden utilizarse como un agente para el desarrollo, el aislamiento o la purificación de compuestos compañeros de unión que se describen en el presente documento, tales como anticuerpos, ligandos naturales y similares. Aquellos expertos en la materia pueden determinar fácilmente usos relacionados para los compuestos que se describen en el presente documento.

Ejemplos

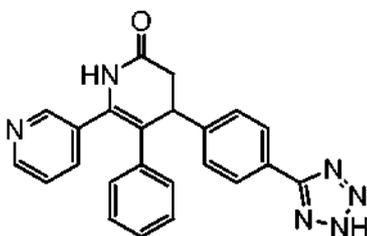
Los ejemplos 1-17 lista enumeran análogos de dihidropiridin-2-(1H)-ona representativos de Fórmula I útiles como inhibidores de la GSNOR y antagonistas de la NK3 de la invención. Los métodos de síntesis que pueden utilizarse para preparar cada compuesto se detallan en los Ejemplos 1-17. En algunos casos, el material de partida no estaba disponible en el mercado. En estos casos, la síntesis de los intermedios se describe en el Ejemplo 18. También se incluyen datos de la espectrometría de masas y datos de la RMN de protón de apoyo para cada compuesto en los Ejemplos 1-17.

Ejemplo 1: Compuesto 1,4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-5,6-difenil-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona

5 Una mezcla de 1,2-difeniletanona (150 mg, 0,76^ommol), 3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrobenzaldehído (194 mg, 0,92^ommol), ácido de Meldrum (132 mg, 0,92^ommol) y acetato de amonio (71 mg, 0,92^ommol) en ácido acético (5 ml) se calentó a reflujo durante la noche. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc:PE = 2:1) y HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 1 en forma de un sólido de color amarillo (40 mg, rendimiento: 13 %). RMN ¹H (DMSO-*d*₆ 300 MHz): δ 10,20 (s, 1H), 9,60 (s, 1H), 7,47 (d, *J* = 3,0 Hz, 1H), 7,24-7,18 (m, 6H), 7,01-6,96 (m, 3H), 6,79 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 4,06 (c, *J* = 6,0 Hz, 2H), 3,96 (d, *J* = 5,1 Hz, 1H), 3,14-3,07 (m, 2H), 1,31 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H); EM (IEN): *m/z* 430,9 [M+H⁺].

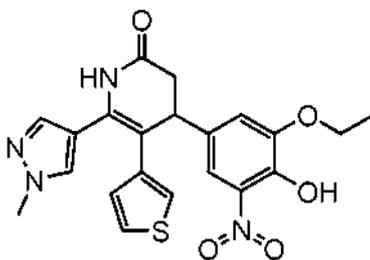
Ejemplo 2: Compuesto 2,4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-6-(piridin-3-il)-5-(tiofen-3-il)-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona

20 Una mezcla de 1-(piridin-3-il)-2-(tiofen-3-il)etanona (Intermedio 1, véase el Ejemplo 18 para la descripción de la síntesis de todos los intermedios) (230 mg, 1,1^ommol), 3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrobenzaldehído (296 mg, 1,4^ommol), ácido de Meldrum (202 mg, 1,4^ommol) y AcONH₄ (108 mg, 1,4^ommol) en AcOH (3 ml) se calentó a reflujo en atmósfera de N₂ durante la noche. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 2 (60 mg, 12 %). RMN ¹H (MeOD 400 MHz): δ 8,70 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 8,67 (s, 1H), 8,30 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,90-7,62 (m, 1H), 7,72-7,60 (m, 1H), 7,27-7,24 (m, 2H), 6,94-6,92 (m, 1H), 6,58 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 4,20-4,11 (m, 3H), 3,30-3,25 (m, 1H), 2,79-2,74 (dd, *J* = 16,2, 3,2 Hz, 1H), 1,45 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H). EM (IEN): *m/z* 438,3 [M+1]⁺.

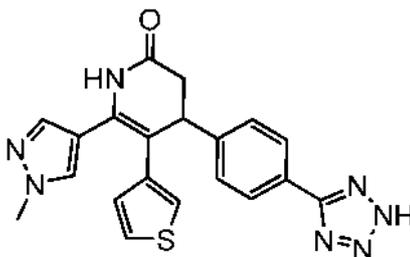
Ejemplo 3: Compuesto 3,4-(4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)-5-fenil-6-(piridin-3-il)-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona

30 Una mezcla de 2-fenil-1-(piridin-3-il)etanona (Intermedio 2) (100 mg, 0,50^ommol), 4-(2H-tetrazol-5-il)benzaldehído (500 mg), ácido de Meldrum (88 mg, 0,61^ommol) y NH₄OAc (47 mg, 0,61^ommol) en AcOH (5 ml) se calentó a reflujo en atmósfera de N₂ durante la noche. La mezcla se concentró a presión reducida y se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 3 (25 mg, rendimiento: 13 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (CD₃OD 400 MHz): δ 8,68-8,50 (m, 2H), 8,21-8,15 (m, 1H), 8,10-8,00 (m, 2H), 7,75-7,60 (m, 3H), 7,20-7,05 (m, 3H), 7,03-6,88 (m, 2H), 4,31-4,20 (m, 1H), 3,45-3,30 (m, 1H), 2,83-2,71 (m, 1H). EM (IEN): *m/z* 395,4 [M+1]⁺.

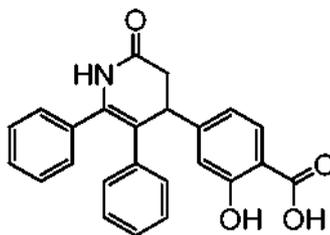
40

Ejemplo 4: Compuesto 4,4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-5-(tiofen-3-il)-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona

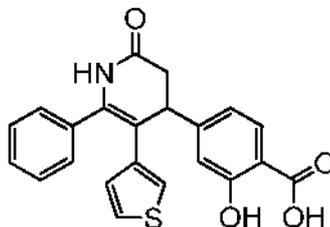
5 Una mezcla de 1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-(tiofen-3-il)etanona (Intermedio 3) (150 mg, 0,73^ommol), 3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrobenzaldehído (185 mg, 0,87^ommol), ácido de Meldrum (125 mg, 0,87^ommol) y AcONH₄ (84 mg, 1,1^ommol) en AcOH (3 ml) se calentó a reflujo en atmósfera de N₂ durante la noche. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 4 en forma de un sólido de color amarillo (20 mg, 6 %). RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 10,20 (s, 1H), 9,43 (s, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,42-7,36 (m, 2H), 7,19-7,11 (m, 1H), 7,06 (s, 2H), 6,70-6,68 (m, 1H), 4,11-4,3 (m, 2H), 3,95-3,92 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,08 (dd, *J* = 16,4, 7,6 Hz, 1H), 2,60-2,52 (m, 1H), 1,34 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H). EM (IEN): *m/z* 440,9 [M+1]⁺.

Ejemplo 5: Compuesto 5,4-(4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-5-(tiofen-3-il)-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona

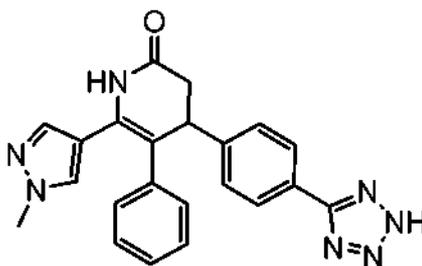
20 Una mezcla de 1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-feniletanona (Intermedio 4) (400 mg, 2,0^ommol), 4-(2H-tetrazol-5-il)benzaldehído (420 mg, 2,4^ommol), ácido de Meldrum (345 mg, 2,4^ommol) y AcONH₄ (185 mg, 2,4^ommol) en AcOH (4 ml) se calentó a reflujo en atmósfera de N₂ durante la noche. La mezcla se concentró al vacío y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 5 (25 mg, 3 %). RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 9,46 (s, 1H), 7,98 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,58-7,48 (m, 3H), 7,25-7,16 (m, 3H), 7,15 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 6,91 (s, 1H), 4,00 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,20 (dd, *J* = 16,0 Hz, 7,6 Hz, 1H), 2,50-2,45 (m, 1H). EM (IEN): *m/z* 398,0 [M+1]⁺.

Ejemplo 6: Compuesto ácido 6,2-hidroxi-4-(2-oxo-5,6-difenil-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico

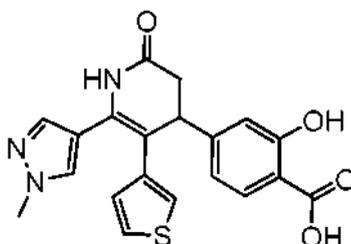
30 Una mezcla de 1,2-difeniletanona (800 mg, 4,0^ommol), ácido de Meldrum (692 mg, 4,8^ommol), 4-formil-2-hidroxibenzoato de metilo (Intermedio 5) (742 mg, 4,0^ommol) y NH₄OAc (370 mg, 4,8^ommol) en AcOH (10 ml) se calentó a reflujo en atmósfera de N₂ durante la noche. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se recogió en MeOH (10 ml) y NaOH acuoso (2 M, 10 ml) y se agitó a 60 °C en atmósfera de N₂ durante 6 horas. La mezcla resultante se enfrió a temperatura ambiente, y después se acidificó con HCl acuoso (2 M) a pH = 4, se extrajo con acetato de etilo (50 ml, 3 veces). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 6 (195 mg, rendimiento del 12 % en 2 etapas) en forma de un sólido de color blancuzco. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11,29 (s, 1H), 9,63 (s, 1H), 7,79 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,36-7,22 (m, 5H), 7,10-6,98 (m, 5H), 6,86-6,79 (m, 2H), 4,00 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,21 (dd, *J* = 16,0, 7,6 Hz, 1H), 2,49-2,41 (m, 1H). EM (IEN): *m/z* 385,7 [M+1]⁺.

Ejemplo 7: Compuesto ácido 7,2-hidroxi-4-(2-oxo-6-fenil-5-(tiofen-3-il)-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico

- 5 Una mezcla de 1-fenil-2-(tiofen-3-il)etanona (Intermedio 6) (300 mg, 1,5^ommol), 4-formil-2-hidroxibenzoato de metilo (Intermedio 5) (325 mg, 1,8^ommol), ácido de Meldrum (260 mg, 1,8^ommol) y AcONH₄ (140 mg, 1,8^ommol) en AcOH (3 ml) se calentó a reflujo durante la noche. La mezcla se concentró al vacío y el residuo se recogió en MeOH (10 ml) y NaOH acuoso (2 M, 10 ml) y se agitó a 40 °C durante la noche. La mezcla resultante se enfrió a temperatura ambiente y después se acidificó con HCl acuoso (2 M, 12 ml) a pH = 5. Le siguió un tratamiento con EtOAc acuoso estándar, es decir, la mezcla se extrajo con EtOAc (3 veces), se lavó con salmuera, después las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 7 (25 mg, rendimiento del 4 % en 2 etapas) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (DMSO-*d*₆ 400 MHz): δ 9,60 (s, 1H), 7,78 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,44-7,36 (m, 3H), 7,35-7,26 (m, 3H), 7,22-7,15 (m, 1H), 7,14-6,98 (m, 2H), 6,82-6,74 (m, 1H), 6,25 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 4,13-4,05 (m, 1H), 3,18 (dd, *J* = 16,2, 8,0 Hz, 1H), 2,46-2,42 (m, 1H). EM (IEN): *m/z* 391,7 [M+1]⁺.

Ejemplo 8: Compuesto 8,4-(4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-5-fenil-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona

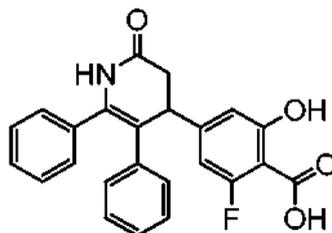
- 20 Una mezcla de 1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-feniletanona (Intermedio 4) (400 mg, 2,0^ommol), 4-(2H-tetrazol-5-il)benzaldehído (420 mg, 2,4^ommol), ácido de Meldrum (345 mg, 2,4^ommol) y AcONH₄ (185 mg, 2,4^ommol) en AcOH (4 ml) se calentó a reflujo en atmósfera de N₂ durante la noche. La mezcla se concentró al vacío y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 8 (25 mg, 3 %). RMN ¹H (DMSO-*d*₆ 400 MHz): δ 9,46 (s a, 1H), 7,98 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,58-7,48 (m, 3H), 7,25-7,16 (m, 3H), 7,15 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 6,91 (s, 1H), 4,00 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,20 (dd, *J* = 16,0 Hz, 7,6 Hz, 1H), 2,50-2,45 (m, 1H). EM (IEN): *m/z* 398,0 [M+1]⁺.

Ejemplo 9: Compuesto ácido 9,2-hidroxi-4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-oxo-5-(tiofen-3-il)-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico

- 35 Una mezcla de 1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-(tiofen-3-il)etanona (Intermedio 3) (300 mg, 1,5^ommol), 4-formil-2-hidroxibenzoato de metilo (Intermedio 5) (315 mg, 1,7^ommol), ácido de Meldrum (245 mg, 1,7^ommol) y AcONH₄ (130 mg, 1,7^ommol) en AcOH (3 ml) se calentó a reflujo en atmósfera de N₂ durante la noche. La mezcla se concentró a presión reducida y se recogió en MeOH (10 ml) y NaOH acuoso (2 M, 10 ml). La mezcla de reacción se agitó a 40 °C durante 5 horas. La mezcla resultante se enfrió a temperatura ambiente y después se acidificó con HCl acuoso (2 M, 12 ml) a pH = 5, seguido de un tratamiento con EtOAc acuoso estándar. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 9 en forma de un sólido de color gris (45 mg, rendimiento del 8 % en 2 etapas). RMN ¹H (DMSO-*d*₆ 400 MHz): δ 11,24 (s a, 1H), 9,41 (s a, 1H),

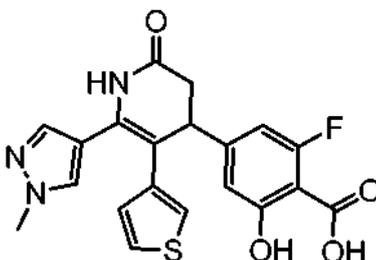
7,73 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,38 (dd, $J = 4,8, 2,8$ Hz, 1H), 7,08 (s, 1H), 7,03 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H), 6,90-6,82 (m, 2H), 6,67 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 3,94 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,12 (dd, $J = 16,0, 7,6$ Hz, 1H), 2,48-2,38 (m, 1H). EM (IEN): m/z 395,9 $[M+1]^+$.

5 **Ejemplo 10: Compuesto ácido 10,2-fluoro-6-hidroxi-4-(2-oxo-5,6-difenil-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico**



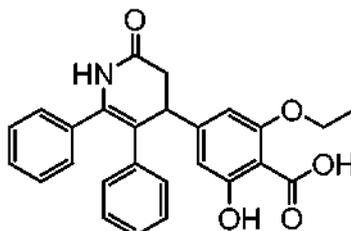
10 Una mezcla de 1,2-difeniletanona (250 mg, 1,3^ommol), 2-fluoro-4-formil-6-hidroxi-benzoato de metilo (Intermedio 7) (252 mg, 1,3^ommol), ácido de Meldrum (230 mg, 1,6^ommol) y NH_4OAc (125 mg, 1,6^ommol) en AcOH (5 ml) se calentó a reflujo en atmósfera de N_2 durante la noche. La mezcla se concentró al vacío y el residuo se recogió en MeOH (5 ml) y NaOH acuoso (2 M, 5 ml). Esto se agitó a 60 °C en atmósfera de N_2 durante 5 horas. La mezcla resultante se enfrió a temperatura ambiente y después se acidificó con HCl acuoso (2 M) a $\text{pH} = 4$, seguido de un tratamiento con EtOAc acuoso estándar. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 10 (28 mg, rendimiento del 5 % en 2 etapas) en forma de un sólido de color gris. RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$ 400 MHz): δ 9,64 (s a, 1H), 7,24-7,21 (m, 5H), 7,12-6,98 (m, 3H), 6,88-6,78 (m, 3H), 6,74 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H), 4,01-3,90 (m, 1H), 3,20 (dd, $J = 16,4, 7,6$ Hz, 1H), 2,49-2,41 (m, 1H). EM (IEN): m/z 403,9 $[M+1]^+$.

20 **Ejemplo 11: Compuesto ácido 11,2-fluoro-6-hidroxi-4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-oxo-5-(tiofen-3-il)-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico**



25 Una mezcla de 1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-(tiofen-3-il)etanona (Intermedio 3) (250 mg, 1,2^ommol), 2-fluoro-4-formil-6-hidroxi-benzoato de metilo (Intermedio 7) (240 mg, 1,2^ommol), ácido de Meldrum (217 mg, 1,5^ommol) y NH_4OAc (116 mg, 1,5^ommol) en AcOH (5 ml) se calentó a reflujo en atmósfera de N_2 durante la noche. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se recogió en MeOH (5 ml) y NaOH 2 M (5 ml). La mezcla de reacción se agitó a 60 °C en atmósfera de N_2 durante 5 horas. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla se acidificó con HCl acuoso (2 M) a $\text{pH} = 4$ seguido de un tratamiento con EtOAc acuoso estándar. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 11 (14 mg, rendimiento del 2 % en 2 etapas) en forma de un sólido de color gris. RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$ 400 MHz): δ 9,42 (s a, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,39 (dd, $J = 4,8, 3,2$ Hz, 1H), 7,10 (s, 1H), 7,06 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 6,75-6,55 (m, 3H), 3,90 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,10 (dd, $J = 16,0, 7,6$ Hz, 1H), 2,49-2,38 (m, 1H). EM (IEN): m/z 413,8 $[M+1]^+$.

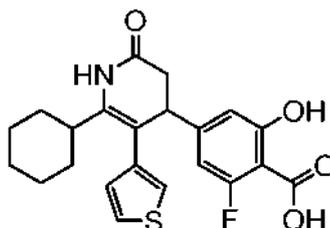
35 **Ejemplo 12: Compuesto ácido 12,2-etoxi-6-hidroxi-4-(2-oxo-5,6-difenil-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico**



40 Una mezcla de 1,2-difeniletanona (216 mg, 1,1^ommol), 2-etoxi-4-formil-6-hidroxi-benzoato de metilo (Intermedio 8) (304 mg, 1,3^ommol), ácido de Meldrum (260 mg, 1,8^ommol) y NH_4OAc (140 mg, 1,8^ommol) en HOAc (5 ml) se calentó a reflujo en atmósfera de N_2 durante la noche. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo resultante se recogió en MeOH (10 ml) y NaOH acuoso (2 M, 10 ml). La mezcla de reacción se agitó a 70 °C en

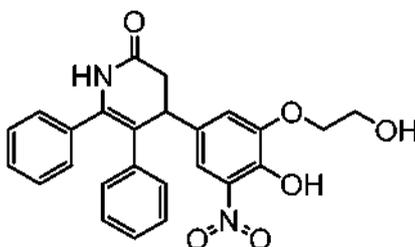
atmósfera de NO durante la noche. La mezcla resultante se enfrió a temperatura ambiente y después se acidificó con HCl acuoso (2 M) a pH = 3, seguido de un tratamiento con EtOAc acuoso estándar. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 12 (22 mg, rendimiento del 5 % en 2 etapas) en forma de un sólido de color blancuzco. RMN ¹H (CD₃OD 400 MHz): δ 7,36-7,26 (m, 5H), 7,10-7,03 (m, 3H), 6,96-6,90 (m, 2H), 6,73 (d, *J* = 0,8 Hz, 1H), 6,67 (s, 1H), 4,24 (c, *J* = 7,2 Hz, 2H), 4,02 (dd, *J* = 7,6, 2,4 Hz, 1H), 3,35-3,25 (m, 1H), 2,68 (dd, *J* = 16,0, 2,8 Hz, 1H), 1,46 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H). EM (IEN): *m/z* 429,8 [M+1]⁺.

Ejemplo 13: Compuesto ácido 13,4-(6-ciclohexil-2-oxo-5-(tiofen-3-il)-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)-2-fluoro-6-hidroxibenzoico



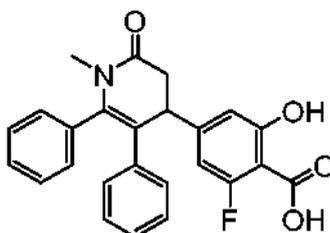
Una mezcla de 1-ciclohexil-2-(tiofen-3-il)etanona (Intermedio 9) (271 mg, 1,3^ommol), 2-fluoro-4-formil-6-hidroxibenzoato de metilo (Intermedio 7) (300 mg, 1,5^ommol), ácido de Meldrum (216 mg, 1,5^ommol) y NH₄OAc (116 mg, 1,5^ommol) en HOAc (5 ml) se sometió a reflujo en atmósfera de N₂ durante la noche. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se recogió en MeOH (10 ml) y NaOH acuoso (2 M, 10 ml). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C en atmósfera de N₂ durante la noche. La mezcla resultante se enfrió y después se acidificó con HCl acuoso (2 M) a pH = 3, seguido de un tratamiento con EtOAc acuoso estándar. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 13 (48 mg, rendimiento del 9 % en 2 etapas) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (CD₃OD 400 MHz): δ 7,38 (dd, *J* = 5,2 Hz, 2,8 Hz, 1H), 7,08 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 6,92 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H), 6,66 (s, 1H), 6,53 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H), 3,84 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,11 (dd, *J* = 16,4, 8,0 Hz, 1H), 2,76-2,66 (m, 1H), 2,54 (dd, *J* = 16,4, 2,0 Hz, 1H), 1,92-1,52 (m, 7H), 1,38-1,18 (m, 3H). EM (IEN): *m/z* 415,8 [M+1]⁺.

Ejemplo 14: Compuesto 14,4-(4-hidroxi-3-(2-hidroxietoxi)-5-nitrofenil)-5,6-difenil-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona



Una mezcla de 1,2-difeniletanona (300 mg, 1,5^ommol), 4-hidroxi-3-(2-hidroxietoxi)-5-nitrobenzaldehído (350 mg, 1,5^ommol), ácido de Meldrum (220 mg, 1,8^ommol) y NH₄OAc (140 mg, 1,8^ommol) en AcOH (5 ml) se calentó a reflujo en atmósfera de N₂ durante la noche. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se recogió en MeOH (5 ml) y se añadió carbonato de potasio (400 mg, 3,0^ommol). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 2 horas. La mezcla se vertió en agua, se acidificó con HCl acuoso (2 M) a pH = 4, seguido de un tratamiento con EtOAc acuoso estándar. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 14 (36 mg, rendimiento del 6 % en 2 etapas) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (DMSO-*d*₆ 400 MHz): δ 9,62 (s a, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,36-7,17 (m, 6H), 7,10-6,96 (m, 3H), 6,85 (d, *J* = 6,8 Hz, 2H), 4,10-4,04 (m, 2H), 4,00 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 3,76 (t, *J* = 4,8 Hz, 2H), 3,17 (dd, *J* = 16,4, 7,2 Hz, 1H), 2,55 (m, 1H). EM (IEN): *m/z* 446,8 [M+1]⁺.

Ejemplo 15: Compuesto ácido 15,2-fluoro-6-hidroxi-4-(1-metil-2-oxo-5,6-difenil-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico



Etapa 1: Síntesis de 2-fluoro-6-hidroxi-4-(2-oxo-5,6-difenil-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoato de metilo:

Una mezcla de 1,2-difeniletanona (300 mg, 1,5°mmol), 2-fluoro-4-formil-6-hidroxibenzoato de metilo (Intermedio 7) (300 mg, 1,5°mmol), ácido de Meldrum (260 mg, 1,8°mmol) y NH₄OAc (140 mg, 1,8°mmol) en AcOH (5 ml) se calentó a reflujo en atmósfera de N₂ durante la noche. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (PE:EtOAc = 5:1) para dar el producto (90 mg, 16 %) en forma de un sólido de color de color amarillo.

Etapa 2: Síntesis de 2 fluoro-6-(metoximetoxi)-4-(2-oxo-5,6-difenil-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoato de metilo:

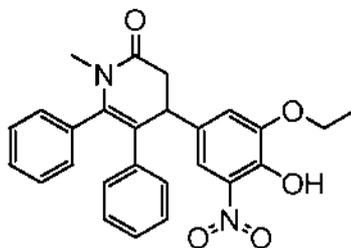
A una mezcla del producto anterior (90 mg, 0,22°mmol) y carbonato de potasio (91 mg, 0,66°mmol) en DMF (5 ml) se le añadió cloro(metoxi)metano (35 mg, 0,44°mmol) a 25 °C y se agitó durante 2 horas. Le siguió un tratamiento con EtOAc acuoso estándar para proporcionar el producto (90 mg, 91 %).

Etapa 3: Síntesis de 2-fluoro-6-(metoximetoxi)-4-(1-metil-2-oxo-5,6-difenil-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoato de metilo:

A una mezcla del producto anterior (90 mg, 0,20°mmol) y carbonato de potasio (80 mg, 0,60°mmol) en DMF (5 ml) se le añadió yodometano (57 mg, 0,40°mmol) a 25 °C y se agitó durante 2 horas. Le siguió un tratamiento con EtOAc acuoso estándar para proporcionar el producto (90 mg, 97 %), que se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa 4: Síntesis del ácido 2-fluoro-6-hidroxi-4-(1-metil-2-oxo-5,6-difenil-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico:

Una mezcla del producto anterior en MeOH (5 ml) y NaOH 2 N (5 ml) se agitó a 60 °C en atmósfera de NO durante 5 horas. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla se acidificó con HCl acuoso (2 M) a pH = 4, seguido de un tratamiento con EtOAc acuoso estándar. El residuo se disolvió en MeOH (10 ml) y se añadió HCl concentrado (0,5 ml). Después de agitarse a 25 °C durante 2 horas, la mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 15 (25 mg, rendimiento del 29 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (DMSO-*d*₆ 400 MHz): δ 7,40-7,26 (m, 5H), 7,08-6,97 (m, 3H), 6,89 (s, 1H), 6,80-6,74 (m, 3H), 3,85 (dd, *J* = 6,4, 2,0 Hz, 1H), 3,28 (dd, *J* = 16,0, 7,2 Hz, 1H), 2,68 (s, 3H), 2,60 (dd, *J* = 15,6, 2,4 Hz, 1H). EM (IEN): *m/z* 417,7 [M+1]⁺.

Ejemplo 16: Compuesto 16,4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-1-metil-5,6-difenil-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona**Etapa 1: Síntesis de 4-(3-etoxi-4-(metoximetoxi)-5-nitrofenil)-5,6-difenil-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona:**

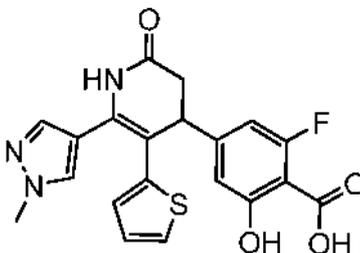
A una mezcla de 4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-5,6-difenil-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona (Compuesto 1, véase el Ejemplo 1) (200 mg, 0,47°mmol) y carbonato de potasio (130 mg, 0,93°mmol) en DMF (5 ml) se le añadió cloro(metoxi)metano (75 mg, 0,93°mmol) a 25 °C y después la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 2 horas. La mezcla se vertió en agua y le siguió un tratamiento con EtOAc acuoso estándar para proporcionar el producto (200 mg, 98 %).

Etapa 2: Síntesis de 4-(3-etoxi-4-(metoximetoxi)-5-nitrofenil)-1-metil-5,6-difenil-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona:

A una mezcla del compuesto anterior (200 mg, 0,42°mmol) y carbonato de potasio (580 mg, 4,2°mmol) en DMF (5 ml) se le añadió yodometano (600 mg, 4,2°mmol) a 25 °C y después la mezcla se agitó durante 2 horas. La mezcla se vertió en agua y le siguió un tratamiento con EtOAc acuoso estándar para proporcionar el producto (200 mg, 97 %).

Etapa 3: Síntesis de 4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-1-metil-5,6-difenil-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona:

A una mezcla del compuesto anterior en MeOH (10 ml) se le añadió HCl concentrado (0,5 ml), después la mezcla se agitó a 25 °C durante 2 horas. La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 16 (120 mg, rendimiento del 66 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (DMSO-*d*₆ 400 MHz): δ 7,52 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 7,48-7,39 (m, 3H), 7,38-7,24 (m, 3H), 7,06-6,98 (m, 3H), 6,79 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 4,20-4,08 (m, 2H), 3,96-3,88 (m, 1H), 3,25 (dd, *J* = 16,0, 6,4 Hz, 1H), 2,68 (s, 3H), 2,65 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 1,37 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H). EM (IEN): *m/z* 444,8 [M+1]⁺.

Ejemplo 17: Compuesto ácido 17,2-fluoro-6-hidroxi-4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-oxo-5-(tiofen-2-il)-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico

5 Una mezcla de 1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-(tiofen-2-il)etanona (Intermedio 12) (250 mg, 1,20^ommol), ácido 2-fluoro-4-formil-6-hidroxibenzoico (Intermedio 11), ácido de Meldrum (202 mg, 1,40^ommol) y NH₄OAc (108 mg, 1,40^ommol) en AcOH (5 ml) se calentó a reflujo en atmósfera de N₂ durante la noche. La mezcla de reacción se vertió en agua y le siguió un tratamiento con EtOAc acuoso estándar. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 %
10 como aditivo) para proporcionar el compuesto 17 (17 mg, rendimiento del 3 %). RMN ¹H (CD₃OD 400 MHz): δ 7,62 (s, 1H), 7,33 (s, 1H), 7,24 (dd, J = 5,2, 1,2 Hz, 1H), 6,90 (dd, J = 5,2, 3,6 Hz, 1H), 6,79 (s, 1H), 6,77 (dd, J = 3,6, 0,8 Hz, 1H), 6,66 (dd, J = 11,6, 1,6 Hz, 1H), 4,05 (dd, J = 8,0, 2,0 Hz, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,25 (dd, J = 16,4, 8,0 Hz, 1H), 2,64 (dd, J = 16,4, 2,0 Hz, 1H). EM (IEN): m/z 413,7 [M+1]⁺.

15 Ejemplo 18: Síntesis de intermedios**Intermedio 1: 1-(piridin-3-il)-2-(tiofen-3-il)etanona**

20 **Etap 1: Síntesis de cloruro de nicotinoilo:** A una solución de ácido nicotínico (2 g, 16,2^ommol) en THF anhidro (30 ml) se le añadió SOCl₂ (2,4 ml, 32,5^ommol). Después de agitar a 80 °C durante 2 horas, la mezcla se concentró al vacío.

25 **Etap 2: Síntesis de 3-oxo-3-(piridin-3-il)-2-(tiofen-3-il)propanoato de etilo:** A una solución de 2-(tiofen-3-il)acetato de etilo (2,3 g, 16,2^ommol) en THF anhidro (20 ml) se le añadió LiHMDS (19,4 ml, 19,44 mmol) a -78 °C. Después de agitar a esa temperatura durante 0,5 h, una solución de cloruro de nicotinoilo (2,8 g, 16,2^ommol) en THF anhidro (10 ml) se añadió a la mezcla de reacción y se agitó a -78 °C durante 4 horas. La mezcla se inactivó con una solución de NH₄Cl y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se concentró al vacío y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (1,7 g, rendimiento del 38 %).

30 **Etap 3: Síntesis de 1-(piridin-3-il)-2-(tiofen-3-il)etanona:** A una solución de 3-oxo-3-(piridin-3-il)-2-(tiofen-3-il)propanoato de metilo (2 g, 7,26^ommol) en DMSO (20 ml) se le añadió una cantidad catalítica de salmuera (0,2 ml). La mezcla de reacción se calentó a 160 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se concentró al vacío y se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el Intermedio 1 (1 g, rendimiento del 68 %).

35 Intermedio 2: Síntesis de 2-fenil-1-(piridin-3-il)etanona

Etap 1: Una mezcla de ácido nicotínico (2 g, 16,2^ommol), clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina (1,6 g, 16,2^ommol), EDCI (3,2 g, 16,2^ommol), HOBT (2,5 g, 16,2^ommol) y Et₃N (6,7 ml, 48,7^ommol) en DCM (30 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla se concentró al vacío y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE:EtOAc = 2:1) para proporcionar el producto (1,4 g, 52 %).

40 **Etap 2:** A una solución del producto anterior (Etap 1) (500 mg, 3,0^ommol) en THF anhidro (10 ml) se le añadió cloruro de bencilmagnesio (2 M/l en THF, 1,8 ml, 3,6^ommol) gota a gota a -78 °C. La mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 2 h, después se inactivó con NH₄Cl acuoso y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se concentró al vacío y se purificó mediante cromatografía en columna (PE:EtOAc = 5:1) para proporcionar el Intermedio 2 (110 mg, 19 %).

45 Intermedio 3: 1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-(tiofen-3-il)etanona

Se siguió el mismo procedimiento de tres etapas que se describe en el Intermedio 1.

50 **Etap 1: Síntesis de cloruro de 1-metil-1H-pirazolo-4-carbonilo:** Se inició con ácido 1-metil-1H-pirazol-4-carboxílico y se utilizó tolueno en lugar de THF.

Etap 2: Síntesis de 3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3-oxo-2-(tiofen-3-il)propanoato de etilo: Se utilizaron el producto en bruto de la etapa 1 y 2-(tiofen-3-il)acetato de etilo. Después de agitar a -78 °C, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche.

55 **Etap 3: Síntesis de 1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-(tiofen-3-il)etanona:** La mezcla de reacción se agitó a 180 °C durante 2 horas. Se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE:EtOAc = 10:1) para proporcionar el Intermedio 3 (160 mg, rendimiento del 61,8 %).

Intermedio 4: 1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-feniletanona

Etap 1: Síntesis de N-metoxi-N,1-dimetil-1H-pirazol-4-carboxamida: Una mezcla de ácido 1-metil-1H-pirazol-4-carboxílico (5,0 g, 39,6^ommol), clorhidrato de *N,O*-dimetilhidroxilamina (4,8 g, 48,0^ommol), clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (9,2 g, 48,0^ommol), hidroxibenzotriazol (6,5 g, 48,0^ommol) y trietilamina (12,1 g, 120^ommol) en diclorometano (100 ml) se agitó a 9-17 °C durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con agua (50 ml) y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (30 ml, 3 veces), las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml) y se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío (un ejemplo de un procedimiento con EtOAc acuoso estándar), después se purificaron mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE:EtOAc = 5:1) para proporcionar el producto (4,6 g, rendimiento del 69 %).

Etap 2: Síntesis de 1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-feniletanona: A una solución de N-metoxi-N,1-dimetil-1H-pirazol-4-carboxamida (4,6 g, 27,2^ommol) en THF anhidro (50 ml) se le añadió cloruro de bencilmagnesio (2,0 M en THF, 16,7 ml, 32,6^ommol) a -78 °C en atmósfera de N₂, después se agitaron a la misma temperatura durante 3 horas. La mezcla se inactivó con una solución saturada de NH₄Cl, seguido de un procedimiento con EtOAc acuoso estándar. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE:EtOAc = 10:1) para proporcionar el Intermedio 4 (4,0 g, rendimiento del 74 %).

Intermedio 5: 4-formil-2-hidroxibenzoato de metilo

Etap 1: Síntesis de trifluorometanosulfonato de 4-formil-2-metoxifenilo: A una mezcla de 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído (10,0 g, 65,7^ommol) y Et₃N (13,0 g, 128,7^ommol) en DCM anhidro (100 ml) se le añadió Tf₂O (28,0 g, 99,2^ommol) gota a gota a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. La mezcla resultante se inactivó con agua (100 ml) seguido de un tratamiento con EtOAc acuoso estándar. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE:EtOAc = 20:1) para proporcionar el producto en forma de un aceite incoloro (17,0 g, rendimiento del 91 %).

Etap 2: Síntesis de 4-formil-2-metoxibenzoato de metilo: Una mezcla del producto de la Etapa 1 (5,0 g, 17,6^ommol), Pd(OAc)₂ (500 mg, 2,2^ommol), dppf (560 mg, 1,0^ommol) y Et₃N (3 ml) en MeOH (30 ml) y DMF (3 ml) se agitó en atmósfera de CO (0,5 MPa) a 80 °C durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (PE:EtOAc = 15:1) para proporcionar el producto en forma de un sólido incoloro (2,6 g, rendimiento del 76 %).

Etap 3: Síntesis de 4-formil-2-hidroxibenzoato de metilo: Una mezcla del producto de la Etapa 2 (2,6 g, 13,4^ommol) y AlCl₃ (3,6 g, 26,8^ommol) en DCM anhidro (50 ml) se calentó a reflujo durante 3 minutos. La mezcla resultante se enfrió y se vertió en agua (100 ml), seguido de un tratamiento con DCM acuoso estándar para proporcionar el Intermedio 5 (2,2 g, rendimiento del 92 %).

Intermedio 6: Síntesis de 1-fenil-2-(tiofen-3-il)etanona

Etap 1: Síntesis de N-metoxi-N-metil-2-(tiofen-3-il)acetamida: Una mezcla de ácido 2-(tiofen-3-il)acético (2,0 g, 14,1^ommol), *O,N*-dimetilhidroxilamina (1,68 g, 16,9^ommol), EDCI (2,95 g, 15,5^ommol), HOBT (2,15 g, 15,5^ommol) y TEA (3,7 ml, 31^ommol) en DCM anhidro (50 ml) se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante dos horas. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂, y la capa orgánica se lavó con una solución acuosa de HCl (0,5 mol/l; 30 ml, 2 veces), NaHCO₃ saturado (30 ml, 2 veces) y salmuera (30 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para proporcionar N-metoxi-N-metil-2-(tiofen-3-il)acetamida en bruto (2,0 g, rendimiento del 76,6 %).

Etap 2: Síntesis de 1-fenil-2-(tiofen-3-il)etanona (Intermedio 2): A la solución de bromobenceno (1,0 g, 6,36^ommol) en THF anhidro (30 ml) se le añadió *n*-BuLi (5,9^ommol, 2,4 ml) a -78 °C en atmósfera de nitrógeno y la mezcla se agitó a -78 °C durante 20 minutos adicionales, se añadió una solución de N-metoxi-N-metil-2-(tiofen-3-il)acetamida (1 g, 5,4^ommol) en THF anhidro (10 ml). La mezcla resultante se agitó a -78 °C en atmósfera de nitrógeno durante aproximadamente 30 minutos, se vertió en una solución acuosa de NH₄Cl, y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se concentraron y se purificaron mediante cromatografía en columna (PE:EtOAc = 20:1) para proporcionar el intermedio 6 (600 mg, rendimiento del 55,0 %).

Intermedio 7: 2-fluoro-4-formil-6-hidroxibenzoato de metilo

Etap 1: Síntesis de trifluorometanosulfonato de 2-fluoro-4-formil-6-metoxifenilo: Se siguió el procedimiento que se describe en el Intermedio 5, Etapa 1, donde se añadió Tf₂O a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a 0 °C. El rendimiento después de la purificación fue del 61 %.

Etap 2: Síntesis de 2-fluoro-4-formil-6-metoxibenzoato de metilo: Una mezcla del compuesto de la etapa 1 (1,1 g, 3,6^ommol), Pd(OAc)₂ (200 mg, 0,89^ommol), dppf (200 mg, 0,36^ommol) y Et₃N (2 ml) en MeOH (50 ml) y DMF (2 ml) se agitó en atmósfera de CO (0,34 MPa) a 80 °C durante la noche. La mezcla resultante se enfrió y se filtró. A un tratamiento con EtOAc acuoso estándar le siguió la purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE:EtOAc = 15:1) para proporcionar el producto en forma de un sólido de color blanco (280 mg, rendimiento del 36 %).

Etapa 3: Síntesis de 2-fluoro-4-formil-6-hidroxibenzoato de metilo: Se siguió un procedimiento que se describe en el Intermedio 5, etapa 3 a partir de 2-fluoro-4-formil-6-metoxibenzoato de metilo (280 mg, 1,3°mmol) y AlCl_3 (350 mg, 2,6°mmol) donde reacción se completó después de calentar a reflujo durante 10 minutos. Se aislaron 250 mg del Intermedio 7, rendimiento del 96 %.

5

Intermedio 8: 2-etoxi-4-formil-6-hidroxibenzoato de metilo

Etapa 1: Síntesis de 4-bromo-3,5-dietoxibenzoato de etilo: Una mezcla de ácido 4-bromo-3,5-dihidroxibenzoico (2,0 g, 8,6°mmol), EtI (6,7 g, 43,0°mmol) y K_2CO_3 (5,9 g, 43,0°mmol) en DMF (20 ml) se agitó a 50 °C durante la noche. Le siguió un tratamiento acuoso con EtOAc acuoso estándar (2,5 g, rendimiento del 93 %).

10

Etapa 2: Síntesis de (4-bromo-3,5-dietoxifenil)metanol: A una solución del producto anterior de la etapa 1 (5,0 g, 15,8°mmol) en THF anhidro (50 ml) se le añadió DIBAL-H (1 M en tolueno, 80 ml, 80,0°mmol) gota a gota a -78 °C en atmósfera de NO y la mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 2 horas. La mezcla resultante se inactivó mediante una solución saturada acuosa de NH_4Cl (50 ml), seguido de un tratamiento de EtOAc acuoso estándar para proporcionar el producto (4,2 g, rendimiento del 98 %).

15

Etapa 3: Síntesis de 2,6-dietoxi-4-(hidroximetil) benzoato de metilo: Una mezcla del producto anterior de la etapa 2 (3,0 g, 10,9°mmol), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (500 mg, 2,2°mmol), dppf (500 mg, 0,90°mmol) y Et_3N (5 ml) en MeOH (50 ml) y DMF (10 ml) se agitó en atmósfera de CO (5 MPa) a 120 °C durante 3 días. La mezcla resultante se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con salmuera (50 ml, 3 veces). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE:EtOAc = 8:1) (1,0 g, rendimiento del 36 %).

20

Etapa 4: Síntesis de 2,6-dietoxi-4-formilbenzoato de metilo: Una mezcla del producto de la Etapa 3 anterior (1,0 g, 3,9°mmol) y MnO_2 (1,0 g, 11,5°mmol) en DCM (30 ml) se calentó a reflujo durante 1 hora. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar el producto (950 mg, rendimiento del 96 %) en forma de un sólido de color blanquecino.

25

Etapa 5: Síntesis de 2-etoxi-4-formil-6-hidroxibenzoato de metilo: Una mezcla de 2,6-dietoxi-4-formilbenzoato de metilo (950 mg, 3,8°mmol) y AlCl_3 (1,0 g, 7,6°mmol) en DCM anhidro (30 ml) se agitó a 10 °C durante 5 minutos. La mezcla resultante se vertió en agua (100 ml) seguido de un tratamiento con EtOAc acuoso estándar. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE:EtOAc = 10:1). Para proporcionar el Intermedio 8 en forma de un sólido blanquecino (500 mg, rendimiento del 59 %).

30

Intermedio 9: 1-ciclohexil-2-(tiofen-3-il)etanona

Etapa 1: Síntesis de cloruro de ciclohexanocarbonilo: Se siguió el procedimiento que se describe en la Etapa 1 del Intermedio 1, partiendo de ácido ciclohexanocarboxílico.

35

Etapa 2: Síntesis de 3-ciclohexil-3-oxo-2-(tiofen-3-il)propanoato de metilo: Se siguió el procedimiento que se describe en la Etapa 2 del Intermedio 1. Se utilizó el producto en bruto de la Etapa 1 y 2-(tiofen-3-il)acetato de etilo. El producto en bruto se utilizó en adelante sin purificación.

40

Etapa 3: Síntesis de 1-ciclohexil-2-(tiofen-3-il)etanona: Se siguió el procedimiento que se describe en la Etapa 3 del Intermedio 1 para proporcionar el Intermedio 9 (352 mg, rendimiento del 43 % en 3 etapas).

Intermedio 10: 4-hidroxi-3-(2-hidroxietoxi)-5-nitrobenzaldehído

Etapa 1: Síntesis de 3-(2-hidroxietoxi)-4-metoxibenzaldehído: Se siguió el procedimiento que se describe en el Intermedio 8, Etapa 1 a partir de 3-hidroxi-4-metoxi-benzaldehído y 2-bromoetanol con las condiciones de reacción de 90 °C durante la noche. Se aislaron 400 mg, rendimiento del 62,5 %.

45

Etapa 2: Síntesis de 4-hidroxi-3-(2-hidroxietoxi)benzaldehído: A la mezcla del producto en bruto de la Etapa 1 (400 mg, 2,0°mmol) en DCM anhidro (10 ml) se le añadió cloruro de aluminio (542 mg, 4,0°mmol) y después la mezcla se calentó a reflujo durante 2 días. A la mezcla se le añadió HCl diluido seguido de un tratamiento con EtOH acuoso estándar. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (130 mg, rendimiento del 35,2 %).

50

Etapa 3: Síntesis de 4-hidroxi-3-(2-hidroxietoxi)-5-nitrobenzaldehído: A la solución de 4-hidroxi-3-(2-hidroxietoxi)benzaldehído en ácido acético (5 ml) se le añadió ácido nítrico al 65 % (34,6 mg, 0,55°mmol) a 0 °C y la mezcla se agitó a 0 °C durante 4 horas. La mezcla de reacción se vertió en agua con hielo seguido de un tratamiento con EtOH acuoso estándar. Se aislaron 110 mg, rendimiento del 88,7 % del intermedio 10.

55

Intermedio 11: ácido 2-fluoro-4-formil-6-hidroxibenzoico

Una mezcla de 2-fluoro-4-formil-6-hidroxibenzoato de metilo (Intermedio 7) (300 mg, 1,50°mmol) y NaOH acuoso (2 M, 10 ml) en MeOH (10 ml) se agitó a 20 °C durante 5 horas. La mezcla se acidificó con HCl acuoso hasta pH = 2 seguido de un tratamiento con EtOH acuoso estándar. El residuo se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

60

65

Intermedio 12: 1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-(tiofen-2-il)etanona

Se siguió el mismo procedimiento de tres etapas que se describe en el Intermedio 1.

- 5 **Etapas 1: Síntesis de cloruro de 1-metil-1H-pirazol-4-carbonilo:** véase el Intermedio 3, Etapa 1.
Etapas 2: Síntesis de 3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3-oxo-2-(tiofen-2-il)propanoato de etilo: Se utilizaron el producto en bruto de la Etapa 1 y 2-(tiofen-2-il)acetato de etilo. El producto en bruto se utilizó en la siguiente etapa.
10 **Etapas 3: Síntesis de 1-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-(tiofen-3-il)etanona:** La mezcla de reacción se agitó a 160 °C durante 4 horas. Se purificó mediante cromatografía en columna (PE:EtOAc = 3:1) para proporcionar el Intermedio 12 (346 mg, rendimiento del 42 % en 3 etapas) en forma de un aceite de color marrón.

Ejemplo 19: Ensayos de la GSNOR

- 15 Se ensayaron *in vitro* varios compuestos por su capacidad para inhibir la actividad de la GSNOR. Los compuestos inhibidores de la GSNOR de los Ejemplos 1-17 tenían una CI_{50} de aproximadamente $<1,0^{\circ}\mu M$. Los compuestos inhibidores de la GSNOR de los Ejemplos 1-2, 4, 6-7, 9-14 y 17 tenían una CI_{50} de aproximadamente menos de $0,1^{\circ}\mu M$. La expresión y la purificación de la GSNOR se describen en *Biochemistry* 2000, 39, 10720-10729.

- 20 **Fermentación de la GSNOR:** Se cultivaron precultivos a partir de picaduras de una reserva de glicerol de la GSNOR en medios 2XYT que contenían 100 $\mu g/ml$ de ampicilina después de una incubación durante la noche a 37 °C. Las células después se añadieron a 2XYT fresco (4 l) que contenía ampicilina y se cultivaron hasta una DO (A_{600}) de 0,6-0,9 a 37 °C antes de la inducción. La expresión de la GSNOR se indujo con arabinosa al 0,1 % en una incubación durante la noche a 20 C.

- 25 **Purificación de la GSNOR:** Se lisó una pasta de células de *E.coli* mediante cavitación con nitrógeno y el lisado aclarado se purificó mediante cromatografía de afinidad de Ni en un FPLC AKTA (Amersham Pharmacia). La columna se eluyó en Tris 20°mM pH 8,0/NaCl 250 mM con un gradiente de imidazol 0-500 mM. Las fracciones eluidas de la GSNOR que contenían la fusión Smt-GSNOR se digirieron durante la noche con Ulp-1 a 4 °C para retirar la etiqueta de afinidad y después volverse a desarrollar en la columna de Ni en las mismas condiciones. La GSNOR se recuperó en la fracción de flujo pasante y se purificó adicionalmente para la cristalografía mediante Q-Sepharose y cromatografía de flujo pasante de heparina en Tris 20°mM pH 8,0, DTT 1°mM, $ZnSO_4$ 10 μM .

- 35 **Ensayo de la GSNOR:** Las soluciones de GSNO y de Enzima/NADH se preparan frescas cada día. Las soluciones se filtran y se dejan calentar a temperatura ambiente. Solución de GSNO: $NaPO_4$ 100°mM (pH 7,4), GSNO 0,480°mM. Se añaden 396 μl de solución de GSNO a una cubeta seguido de 8 μl del compuesto de ensayo en DMSO (o solamente DMSO para el control de la reacción completa) y se mezcla con la punta de la pipeta. Los compuestos que se ensayan se preparan en una concentración madre de 10°mM en DMSO al 100 %. Se hacen diluciones en serie con factor de dilución de 2 en DMSO al 100 %. Se añaden 8 μl de cada dilución a un ensayo de manera que la concentración final de DMSO en el ensayo es al 1 %. Las concentraciones de compuestos ensayados varían entre 100 y 0,003 μM . Solución de Enzima/NADH: $NaPO_4$ 100°mM (pH 7,4), NADH 0,600°mM, GSNO reductasa 1,0 $\mu g/ml$. Se añaden 396 μl de la solución de Enzima/NADH a la cubeta para iniciar la reacción. La cubeta se coloca en el espectrofotómetro Cary 3E UV/Visible y el cambio en la absorbancia a 340 nm/min a 25 °C se registra durante 3 minutos. Los ensayos se realizan por triplicado para cada concentración de compuesto. Las CI_{50} de cada compuesto se calculan utilizando el análisis de la curva estándar en el módulo de cinética enzimática de SigmaPlot.

Condiciones finales del ensayo: $NaPO_4$ 100 mM, pH 7,4, GSNO 0,240°mM, NADH 0,300°mM, GSNO reductasa 0,5 $\mu g/ml$ y DMSO al 1 %. Volumen final: 800 $\mu l/cubeta$.

Ejemplo 20: Ensayo de unión al receptor de la NK3 humano a 10 μM

- La evaluación de la afinidad de los compuestos de ensayo por el receptor de la neurocinina NK3 humano de células CHO transfectadas se realizó utilizando un ensayo de unión de radioligando antagonista. La actividad antagonista se evaluó a una concentración de 10° μM para un subconjunto representativo de los compuestos de ensayo y los resultados se expresaron como el porcentaje de inhibición a esa concentración.

Materiales y métodos:

- 60 Los ensayos de unión al receptor se realizaron utilizando membranas en bruto preparadas a partir de células CHO que expresan el receptor de la NK3 humano. Se utilizó el osanetant (SR142801), un antagonista de la NK3 no peptídico, como ligando y se utilizó el compuesto SB222200 como compuesto de referencia de control positivo. El ensayo se realizó con homogeneizados de membrana celular (24 μg de proteína) que se incubaron durante 120 minutos a 22 °C con [3H]SR142801 0,4 nM en ausencia o en presencia del compuesto de ensayo en un tampón que contenía Hepes 20°mM/NaOH (pH 7,4), NaCl 120°mM, $MnCl_2$ 1°mM, bacitracina al 0,01 %, aprotinina al 0,002 % y BSA al 0,1 %. Después de la incubación, las muestras se filtraron rápidamente al vacío a través de filtros de fibra de

vidrio (GF/B, Packard) que habían sido empapados previamente con PEI al 0,3 %. Los filtros se aclararon varias veces con Tris 50°mM/HCl enfriado con hielo utilizando un recolector de células de 96 muestras (Unifilter, Packard), se secaron y se contaron para la radioactividad en un contador de centelleo (Topcount, Packard) utilizando un cóctel de centelleo (Microscint 0, Packard). Cada compuesto de ensayo se evaluó a una sola concentración de 10°µM. El compuesto de referencia estándar, SB222200, se ensayó en cada experimento. La unión inespecífica se determinó en presencia del compuesto SB222200 10°µM. La unión específica del ligando al receptor se define como la diferencia entre la unión total y la unión inespecífica. Los resultados se expresan como un porcentaje de la unión específica control ((unión específica medida/unión específica control) × 100) obtenido en presencia de los compuestos de ensayo.

Resultados: Los compuestos de los siguientes Ejemplos tuvieron aproximadamente >50 % de inhibición a 10°µM: Ejemplos 1,2 y 4.

Ejemplo 21: Ensayo de unión al receptor de la NK3 humano a 1 µM

La evaluación de la afinidad de los compuestos de ensayo por el receptor de la neurocinina NK3 humano de células CHO transfectadas se realizó utilizando un ensayo de unión de radioligando antagonista. La actividad antagonista se evaluó a una concentración de 1°µM para un subconjunto representativo de los compuestos de ensayo y los resultados se expresaron como el porcentaje de inhibición a esa concentración.

Materiales y métodos:

Los ensayos de unión al receptor se realizaron utilizando membranas en bruto preparadas a partir de células CHO que expresan el receptor de la NK3 humano. Se utilizó el osanetant (SR142801), un antagonista de la NK3 no peptídico, como ligando y se utilizó el compuesto SB222200 como compuesto de referencia de control positivo. El ensayo se realizó con homogeneizados de membrana celular (24 µg de proteína) que se incubaron durante 120 minutos a 22 °C con [³H]SR142801 0,4 nM en ausencia o en presencia del compuesto de ensayo en un tampón que contenía Hepes 20°mM/NaOH (pH 7,4), NaCl 120°mM, MnCl₂ 1°mM, bacitracina al 0,01 %, aprotinina al 0,002 % y BSA al 0,1 %. Después de la incubación, las muestras se filtraron rápidamente al vacío a través de filtros de fibra de vidrio (GF/B, Packard) que habían sido empapados previamente con PEI al 0,3 %. Los filtros se aclararon varias veces con Tris 50°mM/HCl enfriado con hielo utilizando un recolector de células de 96 muestras (Unifilter, Packard), se secaron y se contaron para la radioactividad en un contador de centelleo (Topcount, Packard) utilizando un cóctel de centelleo (Microscint 0, Packard). Cada compuesto de ensayo se evaluó a una sola concentración de 1°µM. El compuesto de referencia estándar, SB222200, se ensayó en cada experimento. La unión inespecífica se determinó en presencia del compuesto SB222200 10°µM. La unión específica del ligando al receptor se define como la diferencia entre la unión total y la unión inespecífica. Los resultados se expresan como un porcentaje de la unión específica control ((unión específica medida/unión específica control) × 100) obtenido en presencia de los compuestos de ensayo.

Resultados: Los compuestos de los siguientes Ejemplos tuvieron aproximadamente ≥50 % de inhibición a 1°µM: Ejemplos 14 y 16.

Ejemplo 22: Ensayo de unión al receptor de la NK3 humano determinada por IC₅₀

La evaluación de la afinidad de los compuestos de ensayo por el receptor de la neurocinina NK3 humano de células CHO transfectadas se realizó utilizando un ensayo de unión de radioligando antagonista. La actividad antagonista de un subconjunto representativo de los compuestos de ensayo se evaluó en un intervalo de concentraciones y los resultados se expresaron como valores de IC₅₀.

Materiales y métodos:

Los ensayos de unión al receptor se realizaron utilizando membranas en bruto preparadas a partir de células CHO que expresan el receptor de la NK3 humano. Se utilizó el osanetant (SR142801), un antagonista de la NK3 no peptídico, como ligando y se utilizó el compuesto SB222200 como compuesto de referencia de control positivo. El ensayo se realizó con homogeneizados de membrana celular (24 µg de proteína) que se incubaron durante 120 minutos a 22 °C con [³H]SR142801 0,4 nM en ausencia o en presencia del compuesto de ensayo en un tampón que contenía Hepes 20°mM/NaOH (pH 7,4), NaCl 120°mM, MnCl₂ 1°mM, bacitracina al 0,01 %, aprotinina al 0,002 % y BSA al 0,1 %. Después de la incubación, las muestras se filtraron rápidamente al vacío a través de filtros de fibra de vidrio (GF/B, Packard) que habían sido empapados previamente con PEI al 0,3 %. Los filtros se aclararon varias veces con Tris 50°mM/HCl enfriado con hielo utilizando un recolector de células de 96 muestras (Unifilter, Packard), se secaron y se contaron para la radioactividad en un contador de centelleo (Topcount, Packard) utilizando un cóctel de centelleo (Microscint 0, Packard). Para la generación de las IC₅₀, los compuestos de ensayo se ensayaron a 8 concentraciones dentro del intervalo de 1×10⁻⁵ a 1×10⁻¹⁰ M (10°µM a 100 pM). El compuesto de referencia estándar, SB222200, se ensayó en cada experimento. La unión inespecífica se determinó en presencia del compuesto SB222200 10°µM. La unión específica del ligando al receptor se define como la diferencia entre la unión total y la unión inespecífica. Los valores de IC₅₀ (concentración que produce una inhibición máxima de la mitad de la unión

específica control) y los coeficientes de Hill (nH) se determinaron mediante análisis de regresión no lineal de las curvas de competición generadas con los valores replicados medios utilizando el ajuste de la curva por la ecuación de Hill ($Y = D + [(A - D)/(1 + (C/C_{50})^{nH})]$), donde Y = unión específica, D = unión específica mínima, A = unión específica máxima, C = concentración del compuesto, $C_{50} = CI_{50}$, y nH = factor de pendiente). Este análisis se realizó utilizando el software desarrollado en Cerep (Hill Software) y se validó por comparación con los datos generados por el software comercial SigmaPlot® 4.0 para Windows® (© 1997 de SPSS Inc.). Las constantes de inhibición (K_i) se calcularon utilizando la ecuación de Cheng Prusoff ($K_i = CI_{50}/(1 + (L/KD))$), donde L = concentración de radioligando en el ensayo y K_D = afinidad del radioligando por el receptor). Se utilizó un gráfico de Scatchard para determinar la K_d .

Resultados: El Compuesto 1 del Ejemplo 1 tuvo una CI_{50} de aproximadamente 1,1 μ M.

Ejemplo 23: Eficacia de los GSNORi en el asma experimental

Modelo de asma experimental:

Un modelo de ratón de asma inducida por ovoalbúmina (OVA) se utiliza para explorar la eficacia de los inhibidores de la GSNOR frente a la broncoconstricción/hiperreactividad de las vías respiratorias inducida por metacolina (MCh). Este es un modelo ampliamente utilizado y bien caracterizado que se presenta con un fenotipo de asma aguda y alérgica con similitudes con el asma humana. La eficacia de los inhibidores de la GSNOR se evaluó utilizando un protocolo profiláctico en el que los inhibidores de la GSNOR se administran antes de la exposición a la MCh. La broncoconstricción en respuesta a la exposición a dosis crecientes de MCh se evalúa utilizando la pletismografía corporal total (P_{enh} ; Buxco). La cantidad de infiltrado eosinofílico en el fluido de lavado broncoalveolar (FLBA) también se determina como una medida de la inflamación pulmonar. El efecto de los inhibidores de la GSNOR se comparan con los vehículos y con Combivent (inhalaado; IH) como control positivo.

Materiales y métodos:

Sensibilización al alérgeno y exposición. Protocolo

Se mezcla OVA (500 μ g/ml) en PBS con volúmenes iguales de sulfato de aluminio y potasio al 10 % (p/v) en agua destilada y se incuban durante 60 min a temperatura ambiente después del ajuste a pH 6,5 utilizando NaOH 10 N. Después de la centrifugación a 750 x g durante 5 min, el sedimento OVA/alumbre se resuspende al volumen original en agua destilada. Los ratones reciben una inyección intraperitoneal (IP) de 100 μ g de OVA (0,2 ml de 500 μ g/ml en solución salina normal) complejada con alumbre el día 0. Los ratones se anestesian mediante la inyección IP de una mezcla de 0,2 ml de ketamina y xilazina (0,44 y 6,3 mg/ml, respectivamente) en solución salina normal y se colocan en una tabla en posición supina. Se ponen en la parte posterior de la lengua de cada animal doscientos cincuenta microgramos (100 μ l de 2,5 mg/ml) de OVA (el día 8) y 125 μ g (50 μ l de 2,5 mg/ml) de OVA (los días 15, 18 y 21).

Pruebas de función pulmonar (P_{enh})

La reactividad *in vivo* de las vías respiratorias a la metacolina se mide 24 horas después de la última exposición a OVA en ratones conscientes que se mueven libremente y que respiran espontáneamente mediante pletismografía corporal total utilizando una cámara Buxco (Wilmington, NC). Los ratones se exponen a solución salina en aerosol o dosis crecientes de metacolina (5, 20 y 50 mg/ml) generadas por un nebulizador ultrasónico durante 2 min. El grado de broncoconstricción se expresa como pausa mejorada (P_{enh}), un valor adimensional calculado, que se correlaciona con la medición de la resistencia de las vías respiratorias, la impedancia y la presión intrapleurales en el mismo ratón. Las lecturas de P_{enh} se toman y se promedian durante 4 min después de cada exposición de nebulización. La P_{ENH} se calcula de la siguiente manera: $P_{enh} = [(T_e/T_r - 1) \times (PEF/PIF)]$, donde T_e es el tiempo de espiración, T_r es el tiempo de relajación, PEF es el flujo espiratorio máximo y PIF es flujo inspiratorio máximo x un coeficiente de 0,67. El tiempo para que la presión de la caja cambie desde un máximo a un porcentaje del máximo definido por el usuario representa el tiempo de relajación. La medición de T_r comenzó a la presión máxima de caja y terminó al 40 %.

Infiltrado eosinofílico en el FLBA

Después de la medición de la hiperreactividad de las vías respiratorias, los ratones se desangran mediante punción cardiaca y después se recoge el FLBA de cualquiera de los dos pulmones o del pulmón derecho después de atar el pulmón izquierdo en el bronquio principal. Las células totales del FLBA se cuentan de una alícuota de 0,05 ml y el fluido restante se centrifuga a 200 x g durante 10 min a 4 °C. Los sedimentos celulares se resuspenden en solución salina que contiene BSA al 10 % y se hacen frotis sobre portaobjetos de vidrio. Los eosinófilos se tiñen durante 5 min con eosina acuosa al 0,05 % y acetona acuosa al acuoso en agua destilada, se aclaran con agua destilada y se tiñen con tinción de contraste azul de metileno al 0,07 %.

Los inhibidores de la GSNOR inhibidores y los inhibidores de la GSNOR controles se reconstituyen en solución salina tamponada con fosfato (PBS), pH 7,4, a concentraciones que varían entre 0,00005 y 3 mg/ml. Los inhibidores de la GSNOR se administran a los ratones (10 ml/kg) en una dosis única ya sea por vía intravenosa (IV) o por vía

oral por sonda nasogástrica. La dosificación se realiza de 30 min a 24 h antes de la exposición a la MCh. El efecto de los inhibidores de la GSNOR se compara con el vehículo PBS dosificado de la misma manera.

Se utiliza Combivent como control positivo en todos los estudios. Combivent (Boehringer Ingelheim) se administra en los pulmones utilizando el dispositivo inhalador que se suministra con el producto, pero que se adapta a la administración a ratones, utilizando una punta de pipeta. Combivent se administra 48 h, 24 h y 1 h antes de la exposición a la MCh. Cada descarga (o dosis) de Combivent proporciona una dosis de 18 µg de bromuro de ipratropio (IpBr) y 103 µg de sulfato de albuterol o aproximadamente 0,9 mg/kg de IpBr y 5 mg/kg de albuterol.

10 *Análisis estadístico*

Los valores del área bajo la curva de la P_{enh} a lo largo de la línea de base, de la solución salina, y de las dosis crecientes de la exposición a la MCh se calculan utilizando GraphPad Prism 5.0 (San Diego, CA) y se expresan como un porcentaje del control de vehículo respectivo (administrado por vía IV u oral). Las diferencias estadísticas entre los grupos de tratamiento y el grupo del control de vehículo respectivo de cada estudio se calculan utilizando un modelo lineal, Dunnetts (JMP 8.0, SAS Institute, Cary, NC). Un valor de $p < 0,05$ entre los grupos de tratamiento y el grupo del control de vehículo respectivo se considera significativamente diferente.

20 **Ejemplo 24: Estudio farmacocinético (PK) de los ratones**

Modelo experimental

El ratón se utiliza para determinar la farmacocinética de los compuestos de la invención. Esta especie se utiliza ampliamente para evaluar la biodisponibilidad de los compuestos mediante la administración de los artículos de ensayo tanto por vía oral (PO) como intravenosa (IV). La eficacia de los compuestos de la invención se compara mediante la evaluación de la exposición plasmática en ratones BALB/c machos ya sea a través de la administración IV o la administración PO en los momentos de máxima actividad.

Materiales y métodos

Administración IV de los compuestos de la invención

Los compuestos de la invención se reconstituyen en una solución salina tamponada con fosfato (PBS)/solución transparente de Solutol al 10 % (HS 15) dando como resultado una concentración de 0,2 mg/ml y se administran a los ratones (2 mg/kg) como una sola dosis IV. Los animales se tratan por la vena lateral de la cola. Las muestras de sangre se recogen en los puntos temporales señalados (0,083, 0,25, 0,5, 1,2, 4, 8, 16, 24 horas) mediante punción cardiaca con anestesia con isoflurano (hasta 1 ml de sangre por animal). La sangre se recoge en tubos que contienen Li-heparina. Las muestras de sangre se mantienen en hielo hasta la centrifugación aproximadamente a los 30 minutos de la recogida. El plasma se transfiere a tubos de polipropileno etiquetados y se congela a -70 °C hasta su análisis mediante CL/EM/EM.

Administración PO de los compuestos de la invención

Los compuestos de la invención se reconstituyen en Propilenglicol al 40 %/Carbonato de propileno al 40 %/20 % de una solución transparente de Sacarosa al 5 %, dando como resultado una concentración de 2 mg/ml y se administran a los ratones (10 mg/kg) como una dosis única por vía oral por sonda nasogástrica. Las muestras de sangre se recogen a las 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24 horas después de la dosis mediante punción cardiaca con anestesia con isoflurano (hasta 1 ml de sangre por animal). La sangre se recoge en tubos que contienen Li-heparina. Las muestras de sangre se mantienen en hielo hasta la centrifugación aproximadamente a los 30 minutos de la recogida. El plasma se transfiere a tubos de polipropileno etiquetados y se congela a -70 °C hasta su análisis mediante CL/EM/EM.

Análisis por CL/EM/EM

Se analizaron las muestras de plasma en cada punto temporal utilizando una CL-EM/EM con un límite menor de cuantificación (LLOQ) de 1 ng/ml. El plasma se analizó para determinar la cantidad del compuesto de la invención en cada muestra y se generaron curvas de regresión para cada uno de los compuestos de la invención en las matrices pertinentes.

Se utilizó el análisis WinNonlin para calcular los parámetros PK para las administraciones IV y PO.

Parámetros PK para la parte IV – $AUC_{última}$; AUC_{INF} ; $T_{1/2}$; Cl ; V_{ss} ; $C_{máx}$; MRT
Parámetros PK para la parte PO - $AUC_{última}$; AUC_{INF} ; $T_{1/2}$; $C_{máx}$; Cl ; MRT.

Además de los parámetros PK anteriores, se calculó la biodisponibilidad (%F).

Resultados: El Compuesto 6 tuvo una biodisponibilidad oral del 22 %.

Ejemplo 25: Eficacia de los inhibidores de la GSNOR en la enfermedad inflamatoria intestinal experimental (EII)

5

Modelo experimental

Se utiliza un modelo agudo de EII inducida por sulfato de sodio de dextrano (DSS) en ratones para explorar la eficacia de los inhibidores de la GSNOR contra esta enfermedad. La EII aguda inducida por DSS es un modelo ampliamente utilizado y bien caracterizado que induce cambios patológicos en el colon similares a los observados en la enfermedad humana. En este modelo y en la enfermedad humana, las células epiteliales dentro de las criptas del colon se rompen, lo que conduce a la disfunción de la barrera epitelial y a la inflamación del tejido, el edema y la ulceración resultantes. La terapia con inhibidores de la GSNOR puede mejorar la EII mediante la restauración de los niveles de s-nitrosoglutatión (GSNO) y por tanto prevenir o revertir la disfunción de la barrera epitelial.

15

La EII experimental se induce por la administración de DSS en el agua de bebida durante varios días. Los inhibidores de la GSNOR se administran diariamente a través de la administración por vía intravenosa (IV). El efecto del tratamiento se evaluó a través de la endoscopia y la histopatología utilizando una escala de cinco puntos que va desde una puntuación = 0 (tejido normal) hasta una puntuación = 4 (daño tisular ulceroso y cambios patológicos marcados). El efecto de los inhibidores de la GSNOR se compara con los controles tratados con el vehículo. El corticoesteroide, prednisolona, se utiliza como control positivo en este estudio y se administra diariamente a través de la administración oral. Los ratones sin tratamiento previo también se evalúan como control de tejido normal.

20

Materiales y Métodos

25

La EII experimental se induce por la administración de DSS al 3 % en el agua de bebida en los días de estudio 0 a 5. Los inhibidores de la GSNOR se reconstituyen a concentraciones de 0,2 y 2 mg/ml en solución salina tamponada con fosfato (PBS), pH 7,4. Los ratones se tratan diariamente a través de la administración IV de 0,1 ml de solución de inhibidor de la GSNOR por ratón para las dosis de 1 y 10 mg/kg/día. La administración del inhibidor de la GSNOR se inició 2 días antes de la administración de DSS y continuó hasta el último día del estudio (días 2 a 7). La PBS se utiliza como control de vehículo y se administra de la misma manera que el inhibidor de la GSNOR. El corticoesteroide, prednisolona, se utiliza como control positivo para el estudio y se administra por vía oral en una dosis de 3 mg/kg/día cada día (días de estudio 2 a 7).

30

El efecto del tratamiento farmacológico se evalúa el día 7 a través de la endoscopia y la histopatología. Los ratones se anestesian primero con isoflurano inhalado y se someten a endoscopia utilizando un endoscopio de veterinaria (Karl Storz Veterinary Endoscopy America, Inc., Goleta, CA). Cada ratón se puntúa según la lesión de la mucosa utilizando los criterios de puntuación de la endoscopia. Una puntuación de la endoscopia de 0 es normal, 1 es la pérdida de la vascularidad, 2 es la pérdida de la vascularidad y friabilidad, 3 es friabilidad y erosiones y 4 es ulceraciones y hemorragias. Después de la endoscopia, los ratones se sacrifican mediante asfixia con dióxido de carbono inhalado. Después, las secciones de colon se fijan en formol, se incluyen en parafina, se seccionan y se tiñen con hematoxilina-eosina. Las secciones de colon se examinan mediante microscopía óptica y se puntúan de forma ciega por un patólogo veterinario certificado con especial experiencia en patología gastrointestinal. Los cambios patológicos en el epitelio, tejido conectivo y submucosa se puntúan basándose en la inflamación, el edema y la necrosis y una puntuación de 0 es normal, 1 es mínimo, 2 es leve, 3 es moderado y 4 es marcado.

40

45

Ejemplo 26: Eficacia de los inhibidores de la GSNOR en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) experimental.

Modelo experimental de la EPOC

50

Se utiliza un modelo agudo de la EPOC inducida por elastasa en ratones para explorar la eficacia de los inhibidores de la GSNOR contra esta enfermedad. La EPOC inducida por elastasa es un modelo ampliamente utilizado y bien caracterizado que induce cambios patológicos en el pulmón similares a los observados en la enfermedad humana. En este modelo y en la enfermedad humana, la obstrucción de las vías respiratorias, la inflamación pulmonar y la dilatación alveolar son evidentes. La terapia con inhibidores de la GSNOR puede mejorar la EPOC a través de las acciones broncodilatadoras y antiinflamatorias de estos compuestos.

55

La EPOC experimental se induce por la administración de las elastasas, papaína y elastasa pancreática porcina (PPE), en el pulmón durante varios días. Los inhibidores de la GSNOR se administran diariamente a través de la administración oral. La eficacia se determina mediante la evaluación de la capacidad de los inhibidores de la GSNOR de atenuar la broncoconstricción en respuesta a la exposición a aerosoles de metacolina (MM), de disminuir la inflamación pulmonar y de reducir la dilatación alveolar en los alvéolos. El efecto de los inhibidores de la GSNOR se compara con los controles tratados con vehículo. Como control positivo, en este estudio se utiliza una combinación oral diaria de un antagonista del receptor 2/receptor 1 de SP CXC (SP CXCR2/1), que bloquea el reclutamiento de neutrófilos y monocitos, y Flovent inhalado (fluticasona; corticoesteroide).

60

65

Materiales y métodos.

La EPOC experimental se induce por la administración de 80 µg de papaína y 20 U/mg de PPE por ratón por día a través de instilación intratraqueal (IT) en los días de estudio 0 a 7. El inhibidor de la GSNOR se reconstituye a concentraciones de 0,01, 0,1 y 1 mg/ml en solución salina tamponada con fosfato (PBS), pH 7,4. Los ratones se tratan diariamente a través de la administración oral (sonda) de 0,1 ml de solución de GSNORi por ratón para las dosis de 0,1, 1 y 10 mg/kg/día. La PBS se utiliza como control de vehículo y se administra a través de la dosificación oral diaria. La pequeña molécula antagonista SP CXCR2/R1 (Schering-Plough/Merck), que bloquea los receptores de las citocinas quimiotácticas para el reclutamiento de los neutrófilos y de los monocitos, se utiliza en combinación con el corticoesteroide, Flovent (Glaxo), como control positivo para el estudio. La SP CXCR2/R1 se dosifica por vía oral a 50 mg/kg/día. El Flovent se dosifica a través de la inhalación de 220 µg/ratón/día. Un grupo de ratones se trata con el inhibidor de la GSNOR, con el control de vehículo o con el control positivo durante 7 días (días de estudio 8 a 14), mientras que un segundo grupo de ratones se trata con el inhibidor GSNOR, con el control del vehículo o con el control positivo durante 14 días (días de estudio 8 a 21).

El efecto del tratamiento se evaluó 7 y 14 días después del tratamiento mediante la medición de la atenuación de la broncoconstricción inducida por metacolina (efecto broncodilatador), la atenuación de la inflamación pulmonar y la reducción de la dilatación alveolar en los alvéolos (14 días después del tratamiento solamente).

20 *Efecto broncodilatador*

La reactividad *in vivo* de las vías respiratorias a la metacolina se mide en ratones conscientes que se mueven libremente y que respiran espontáneamente mediante pletismografía corporal total utilizando una cámara Buxco (Wilmington, NC). Los ratones se exponen a solución salina en aerosol o dosis crecientes de metacolina (5, 20 y 50 mg/ml) generadas por un nebulizador ultrasónico durante 2 min. El grado de broncoconstricción se expresa como pausa mejorada (P_{enh}), un valor adimensional calculado, que se correlaciona con la medición de la resistencia de las vías respiratorias, la impedancia y la presión intrapleurales en el mismo ratón. Las lecturas de P_{enh} se toman y se promedian durante 4 min después de cada exposición de nebulización. La P_{ENH} se calcula de la siguiente manera: $P_{enh} = [(T_e/T_r - 1) \times (PEF/PIF)]$, donde T_e es el tiempo de espiración, T_r es el tiempo de relajación, PEF es el flujo espiratorio máximo y PIF es flujo inspiratorio máximo \times un coeficiente de 0,67. El tiempo para que la presión de la caja cambie desde un máximo a un porcentaje del máximo definido por el usuario representa el tiempo de relajación. La medición de T_r comenzó a la presión máxima de la caja y terminó al 40 %.

35 *Efecto antiinflamatorio*

Después de la medición de la hiperreactividad de las vías respiratorias, los ratones se desangran mediante punción cardiaca y después se recoge el FLBA de cualquiera de los dos pulmones o del pulmón derecho después de atar el pulmón izquierdo en el bronquio principal. Las células totales del FLBA se cuentan y el fluido restante se centrifuga a $200 \times g$ durante 10 min a 4 °C. Los sedimentos celulares se resuspenden en solución salina que contiene albúmina de suero bovino (ASV) al 10 % y se hacen frotis sobre portaobjetos de vidrio utilizando la Cytospin. Las células se tiñen con Diff-Quik para los recuentos diferenciales de glóbulos blancos (GB) a través de microscopía óptica. Las células epiteliales se cuentan y se restan del número total de células. Las proporciones de eosinófilos, macrófagos, neutrófilos y linfocitos se cuentan utilizando criterios morfológicos estándar y se expresan como un porcentaje del número total de glóbulos blancos (GB).

La capacidad del tratamiento para reducir los niveles de neutrófilos y monocitos quimiotácticos en el FLBA también se evalúa como parámetros adicionales del efecto antiinflamatorio. El KC (queratinocito quimiotáctico), también conocido como GRO α (oncogén alfa relacionado con el crecimiento) y la JE (MCP-1, proteína quimiotáctica de monocitos), quimiocinas de reclutamiento de neutrófilos y monocitos, respectivamente, se miden mediante inmunoensayo.

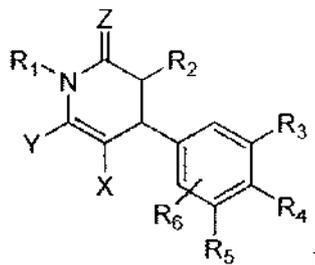
Reducción de la dilatación alveolar

Ambos pulmones se inflan a una presión positiva constante a 25 cm de presión de agua con un formaldehído tamponado al 10 % y después se fijan por perfusión. Los pulmones fijados se incluyeron en parafina, se tiñen con hematoxilina y eosina y se examinan mediante microscopía óptica. La dilatación alveolar se cuantifica morfológicamente mediante el cálculo de la intersección lineal media (L_m) y el diámetro equivalente promedio de los alvéolos (D2).

60

REIVINDICACIONES

1. El compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



5

en donde

X se selecciona entre el grupo que consiste en fenilo, fenilo sustituido, tiofenilo, tiofenilo sustituido, tiazolilo, tiazolilo sustituido, pirazinilo, pirazinilo sustituido, piridinilo y piridinilo sustituido, ciclohexilo, ciclohexilo sustituido; Y se selecciona entre el grupo que consiste fenilo, fenilo sustituido, tiofenilo, tiofenilo sustituido, tiazolilo, tiazolilo sustituido, pirazinilo, pirazinilo sustituido, piridinilo, piridinilo sustituido, furanilo, furanilo sustituido, benzo[d][1,3]dioxolilo, benzo[d][1,3]dioxolilo sustituido, imidazolilo, imidazolilo sustituido, naftalenilo, naftalenilo sustituido, pirrolilo, pirrolilo sustituido, pirazolilo, pirazolilo sustituido, tetrahydrofuranilo, tetrahydrofuranilo sustituido, ciclopentilo, ciclopentilo sustituido, ciclohexilo y ciclohexilo sustituido;

Z se selecciona entre el grupo que consiste en O, S y NR₇;

R₁ y R₂ y R₇ se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁-C₆;

R₃ se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, nitro, ciano, carboxilo, carbamoilo, metilsulfonamido, flúor, cloro, bromo, hidroxilo, metilsulfonilo y metilsulfonilo, isoxazol-4-ilo, alcoxi C₁-C₆, -C(NH)NHOH, ácido sulfónico y acetilo;

R₄ se selecciona entre el grupo que consiste en hidroxilo, carboxilo y tetrazol-5-ilo;

R₅ se selecciona entre el grupo constituido por hidrógeno, hidroxilo, carboxi, cloro, flúor, ciano, -O(CH₂)₁₋₆NMe₂, alquilo C₁-C₆, -O(CH₂)₁₋₆OCH₃, -O(CH₂)₁₋₆OH, acetilo, CF₃ y alcoxi C₁-C₆;

R₆ se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno e hidroxilo en donde

cada sustituyente en el fenilo sustituido, tiofenilo sustituido, tiazolilo sustituido, pirazinilo sustituido, piridinilo sustituido, furanilo sustituido, benzo[d][1,3]dioxolilo sustituido, imidazolilo sustituido, naftalenilo sustituido, pirrolilo sustituido y pirazolilo sustituido, si está presente, se selecciona independientemente entre el grupo que consiste

en: -halo, -OR^e, -OC(O)R^e, -NR^eR^e, -SR^e, -R^e, -CN, -NO₂, -CO₂R^e, -C(O)NR^eR^e, -C(O)R^e, O-OC(O)NR^eR^e, -NR^eC(O)R^e, -NR^eCO₂R^e, -NR^eC(O)NR^eR^e, NR^eSO₂NR^eR^e, -NHC(NH₂)=NH, -NR^eC(NH₂)=NH, -NHC(NH₂)=NR^e, -S(O)R^e, -SO₂R^e, -SO₂NR^eR^e, -NR^eSO₂R^e, -N₃, -CH(Ph)₂, perfluoroalcoxi y perfluoro-alquilo (C₁-C₄); en donde R^e, R^e y R^e se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo (C₁-C₈), hetero-alquilo (C₁-C₈), arilo, heteroarilo, aril-alquilo (C₁-C₄) y ariloxi-alquilo (C₁-C₄); y cada sustituyente en el tetrahydrofuranilo sustituido, ciclopentilo sustituido y ciclohexilo sustituido, si está presente, se selecciona independientemente del

grupo que consiste en -OR^d, =O, =NR^d, =N-OR^d, -NR^dR^d, -SR^d, -halo, -SiR^dR^dR^d, -OC(O)R^d, -C(O)R^d, -CO₂R^d, -CONR^dR^d, -OC(O)NR^dR^d, -NR^dC(O)R^d, -NR^dC(O)NR^dR^d, -NR^dSO₂NR^dR^d, -NR^dSO₂R^d, -NHC(NH₂)=NH, NR^dC(NH₂)=NH, -NHC(NH₂)=NR^d, -S(O)R^d, -SO₂R^d, -SO₂NR^dR^d, -NR^dSO₂R^d, -CN y -NO₂; en donde R^d, R^d y R^d se refieren cada uno independientemente a hidrógeno, alquilo (C₁-C₈) no sustituido, heteroalquilo (C₁-C₈) no sustituido, arilo no sustituido y arilo sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados

independientemente entre -halo, alquilo no sustituido, alcoxi no sustituido, tioalcoxi no sustituido y aril-alquilo (C₁-C₄) no sustituido.

2. El compuesto o la sal de la reivindicación 1 en donde R₁, R₂ y R₇ se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno y metilo; R₅ se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, carboxilo, cloro, flúor, ciano, -O(CH₂)₂NMe₂, alquilo C₁-C₆, -O(CH₂)₂OCH₃, -O(CH₂)₂OH, acetilo, CF₃, metoxi, etoxi, isopropoxi y n-propoxi; y R₆ es hidrógeno.

3. El compuesto o la sal de la reivindicación 1 en donde R₃ se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, nitro e hidroxilo; y R₅ se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, etoxi, flúor y -O(CH₂)₂OH.

4. El compuesto o la sal de la reivindicación 1 en donde X se selecciona entre el grupo que consiste en fenilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo, tiazol-2-ilo, 2-fluorofenilo, p-tolilo, m-tolilo, bifenil-4-ilo, 4-metoxifenilo, 3-clorofenilo, 3,4-diclorofenilo, 3-metoxifenilo, 3,4-dimetoxifenilo, 4-bromofenilo, o-tolilo, 4-clorofenilo, 2-clorofenilo, 3-cianofenilo, 3,4-difluorofenilo, 4-cianofenilo, 3-carbamoilfenilo, pirazin-2-ilo, bifenil-3-ilo, 2-cianofenilo, piridin-4-ilo y piridin-3-ilo, 4-(dimetilamino)fenilo, 3-fluorofenilo, 3-etilfenilo y ciclohexilo; opcionalmente en donde X se selecciona entre el grupo que consiste en fenilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo y piridin-3-ilo.

5. El compuesto o la sal de la reivindicación 1 en donde Y se selecciona entre el grupo que consiste en fenilo, 3-

5 metoxifenilo, p-tolilo, 4-metoxifenilo, 3,5-diclorofenilo, 3-fluorofenilo, 4-bromofenilo, bifenil-4-ilo, 4-fluorofenilo, 4-clorofenilo, 3-clorofenilo, 3,4-dimetoxifenilo, 3-fluoro-4-metoxifenilo, 4-cloro-3-fluorofenilo, 3-cloro-4-fluorofenilo, 3,4-difluorofenilo, 3,5-difluorofenilo, 3,4-diclorofenilo, 4-hidroxifenilo, 2,4-difluorofenilo, furan-3-ilo, 2-clorofenilo, 3-cianofenilo, 4-(dimetilamino)fenilo, 2-fluorofenilo, 4-morfolinofenilo, 4-aminofenilo, piridin-2-ilo, benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo, 4-cianofenilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, 4-acetamidofenilo, tiofen-2-ilo, tiofen-3-ilo, 1-metil-1H-imidazol-4-ilo, naftalen-1-ilo, fenilcarbamato de metilo y naftalen-2-ilo, 4-(metanosulfonamido)fenilo, 1H-pirrol-3-ilo, 1-(fenilsulfonil)-1H-pirrol-3-ilo, furan-2-ilo, 4-(trifluorometil)fenilo, o-tolilo, 1-metil-1H-pirazol-4-ilo, 1-metil-1H-pirazol-3-ilo, 3-cloro-5-fluorofenilo, 3-hidroxifenilo, pirazin-2-ilo, quinolin-6-ilo, isoquinolin-6-ilo, 1-metil-1H-pirazol-5-ilo, tetrahidrofuran-2-ilo, ciclopentilo, tetrahidrofuran-3-ilo y ciclohexilo; opcionalmente en donde Y se selecciona entre el grupo que consiste en fenilo, piridin-3-ilo, 1-metil-1H-pirazol-4-ilo y ciclohexilo.

6. El compuesto o la sal de la reivindicación 1 en donde Z es O.

15 7. El compuesto de la reivindicación 1 seleccionado entre el grupo que consiste en 4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-5,6-difenil-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona; 4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-6-(piridin-3-il)-5-(tiofen-3-il)-3,4-dihidropiridin-2(1H)-ona;

4-(4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)-5-fenil-6-(piridin-3-il)-3,4-dihidropiridin-2(1H)-ona; 4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-5-(tiofen-3-il)-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona; 4-(4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-5-(tiofen-3-il)-3,4-dihidropiridin-2(1H)-ona; ácido 2-hidroxi-4-(2-oxo-5,6-difenil-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico; ácido 2-hidroxi-4-(2-oxo-6-fenil-5-(tiofen-3-il)-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico; 4-(4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-5-fenil-3,4-dihidropiridin-2(1H)-ona; ácido 2-hidroxi-4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-oxo-5-(tiofen-3-il)-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico; ácido 2-fluoro-6-hidroxi-4-(2-oxo-5,6-difenil-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico; ácido 2-fluoro-6-hidroxi-4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-oxo-5-(tiofen-3-il)-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico; ácido 2-etoxi-6-hidroxi-4-(2-oxo-5,6-difenil-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico; ácido 4-(6-ciclohexil-2-oxo-5-(tiofen-3-il)-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)-2-fluoro-6-hidroxibenzoico; 4-(4-hidroxi-3-(2-hidroxietoxi)-5-nitrofenil)-5,6-difenil-3,4-dihidropiridin-2(1H)-ona; ácido 2-fluoro-6-hidroxi-4-(1-metil-2-oxo-5,6-difenil-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico; 4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-1-metil-5,6-difenil-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona; y ácido 2-fluoro-6-hidroxi-4-(6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-2-oxo-5-(tiofen-2-il)-1,2,3,4-tetrahidropiridin-4-il)benzoico; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

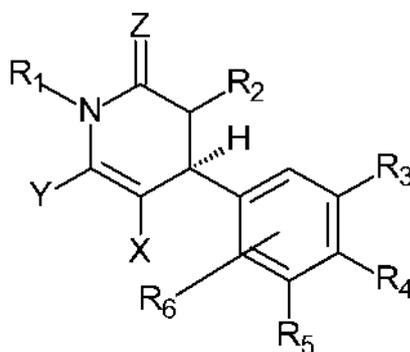
8. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o una sal de acuerdo con cualquier reivindicación anterior junto con un vehículo o un excipiente farmacéuticamente aceptados.

35 9. Un compuesto de fórmula I o una sal del mismo como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad o una afección.

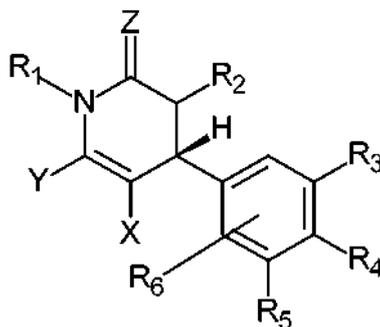
10. Un compuesto o una sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en un método de tratamiento de acuerdo con la reivindicación 9, en donde la enfermedad o la afección son:

- 40 (a) un trastorno que mejora por la terapia con donadores de óxido nítrico; o
(b) se caracteriza por la sobreestimulación del receptor de la NK3.

45 11. Un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se definen en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en un método de tratamiento de acuerdo con la reivindicación 10(a); en donde el compuesto es un compuesto de fórmula:



50 12. Un compuesto de la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se definen en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en un método de tratamiento de acuerdo con la reivindicación 10(b); en donde el compuesto es un compuesto de fórmula:



13. Un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en:

- 5 4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-5,6-difenil-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona;
 4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-6-(piridin-3-il)-5-(tiofen-3-il)-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona;
 4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-5-(tiofen-3-il)-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona;
 4-(4-hidroxi-3-(2-hidroxietoxi)-5-nitrofenil)-5,6-difenil-3,4-dihidropiridin-2(1H)-ona; y
 10 4-(3-etoxi-4-hidroxi-5-nitrofenil)-1-metil-5,6-difenil-3,4-dihidropiridin-2-(1H)-ona;
 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
 para su uso en un método de tratamiento de acuerdo con la reivindicación 10(b).

14. Un compuesto o una sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en un método de tratamiento de acuerdo con la reivindicación 9 en donde la enfermedad o la afección son

- 15 (a) seleccionada entre el grupo que consiste en trastornos pulmonares asociadas a hipoxemia y/o a constricción del músculo liso en los pulmones y/o a infección pulmonar y/o a lesión pulmonar, enfermedad cardiovascular, enfermedad cardíaca, enfermedades caracterizadas por angiogénesis, trastornos en los que existe el riesgo de que se produzca una trombosis, trastornos en los que existe el riesgo de que se produzca una reestenosis, enfermedades inflamatorias crónicas, enfermedades en las que existe el riesgo de que se produzca una apoptosis, impotencia, obesidad causada por comer en respuesta al ansia por los alimentos, ictus, lesión por reperfusión y trastornos en los que es beneficioso el preacondicionamiento del corazón o del cerebro con la protección de óxido nítrico frente a episodios isquémicos posteriores;
 20 seleccionada opcionalmente entre el grupo que consiste en hipertensión pulmonar, SDRA, asma, neumonía, fibrosis pulmonar/enfermedades intersticiales pulmonares, fibrosis quística, EPOC, hipertensión, síndromes coronarios isquémicos, aterosclerosis, insuficiencia cardíaca, glaucoma, arteriopatía coronaria, aterosclerosis, trastornos neurológicos degenerativos, artritis, lesión hepática, impotencia y lesión muscular traumática en el corazón o el pulmón o lesión por aplastamiento; o
 25 (b) seleccionada entre el grupo que consiste en un trastorno del sistema nervioso central, un trastorno neurodegenerativo, una enfermedad desmielinizante, un trastorno neuropatológico, una enfermedad respiratoria, una enfermedad inflamatoria, una alergia, un trastorno de hipersensibilidad, una enfermedad oftálmica, una enfermedad cutánea, un trastorno de adicción, un trastorno somático asociado al estrés, una distrofia simpática refleja, un trastorno distímico, una reacción inmunológica adversa, un trastorno asociado a la potenciación o la supresión inmunitarias, un trastorno gastrointestinal, enfermedades del tracto GI, un trastorno asociado al control neuronal visceral, un trastorno de la función de la vejiga, una enfermedad fibrosante, una enfermedad del colágeno, un trastorno del flujo sanguíneo causado por la vasodilatación, una enfermedad vasoespástica, un trastorno del dolor y un trastorno de la nocicepción;
 30 seleccionada opcionalmente entre el grupo que consiste en ansiedad, depresión, psicosis, esquizofrenia, demencia asociada al SIDA, demencia senil de tipo Alzheimer, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, neuropatía diabética o periférica, neuropatía asociada al SIDA, neuropatía inducida por quimioterapia, neuralgia, enfermedad obstructiva crónica de las vías respiratorias, bronconeumonía, broncoespasmo, asma, enfermedad inflamatoria intestinal, psoriasis, fibromialgia, osteoartritis, artritis reumatoide, eczema, rinitis, hipersensibilidad a la hiedra venenosa, conjuntivitis, conjuntivitis primaveral, dermatitis de contacto, dermatitis atópica, urticaria, dermatitis eccematoide, alcoholismo, trastornos somáticos
 35 asociados al estrés, síndrome de hombro/mano, rechazo de tejidos trasplantados, lupus eritematoso sistémico, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, incontinencia, esclerodermia, fasciolosis eosinofílica, angina de pecho, migraña, enfermedad de Reynaud y dolor de la migraña.

15. Un método de fabricación de una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8, comprendiendo el método la etapa de combinar un compuesto de fórmula I o una sal del mismo como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 con un vehículo o un excipiente farmacéuticamente aceptados.