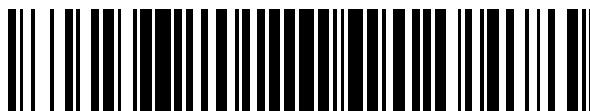


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 553 771**

51 Int. Cl.:

C07D 215/20 (2006.01)

C07D 401/10 (2006.01)

C07D 401/04 (2006.01)

C07D 413/10 (2006.01)

C07D 409/04 (2006.01)

C07D 417/10 (2006.01)

C07D 409/14 (2006.01)

A61K 31/47 (2006.01)

A61K 31/4709 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.10.2011** **E 11831651 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.09.2015** **EP 2624695**

54 Título: **Nuevos compuestos de quinolina sustituidos como inhibidores de la S-nitrosoglutatión reductasa**

30 Prioridad:

16.12.2010 US 423805 P

08.10.2010 US 391225 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.12.2015

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

SUN, XICHENG;
QIU, JIAN y
STOUT, ADAM

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 553 771 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 quinolina sustituidos como inhibidores de la S-nitrosoglutación reductasa

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a nuevos compuestos de quinolina, 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).

10 **Antecedentes**

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 NO para señalar al músculo liso que rodea las paredes de las arteriolas que se relaje, dando 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 y 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 tanto difundir libremente a través de las membranas como unirse a muchas dianas moleculares. Estos atributos hacen del NO 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 lo hace reactivo e inestable, por tanto el NO es de vida corta *in vivo*, teniendo una vida media de 3-5 segundos en condiciones fisiológicas. 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 depósito estable de NO actúa como una fuente de NO bioactivo y, como tal, 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 del sistema cardiovascular, respiratorio, metabólico, gastrointestinal, inmunológico y sistema nervioso central (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., *Nature*, 410: 490-494 (2001)) dentro de las células. Dada esta posición fundamental en el continuo NO-SNO, el GSNO proporciona una diana terapéuticamente prometedora que considerar cuando la modulación del NO está farmacológicamente justificada.

A la luz de esta comprensión 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, ha ido produciéndose una comprensión cada vez mayor del 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.

Los investigadores han identificado recientemente una S-nitrosoglutación reductasa (GSNOR) altamente conservada (Jensen et al., *Biochem J.*, 331: 659-668 (1998); Liu et al., (2001)) lo que es fundamental para esta comprensión del catabolismo del GSNO. La GSNOR también es conocida como formaldehído deshidrogenasa dependiente de glutatión (GSH-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 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).

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 con respecto a 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, de la trombosis y de 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 las levaduras contra el estrés nitrosativo tanto *in vitro* (Liu et al., 2001) como *in vivo* (de Jesús-Berrios et al., 2003).

En conjunto, los datos proponen al GSNO como un ligando fisiológico primario para la enzima S-nitrosoglutación 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*, 116 (4), 617-628 (2004)) y (Que et al., *Science*, 2005, 308, (5728): 1618-1621). De este modo, 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 patogenia 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 al desequilibrio del óxido nítrico.

El óxido nítrico (NO), el S-nitrosoglutación (GSNO) y la S-nitrosoglutación reductasa (GSNOR) regulan la fisiología pulmonar normal y contribuyen a la fisiopatología pulmonar. En condiciones normales, el NO y el GSNO mantienen la fisiología y la función pulmonares normales a través de sus acciones antiinflamatorias y broncodilatadores. La disminución de los niveles de estos mediadores en las enfermedades pulmonares como el asma y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) puede producirse a través de la regulación positiva de la actividad enzimática de la GSNOR. Estos niveles reducidos de NO y GSNO, y por tanto capacidades antiinflamatorias reducidas, son sucesos clave que contribuyen a las enfermedades pulmonares y que pueden revertirse potencialmente a través de la inhibición de la GSNOR.

Se ha demostrado que el S-nitrosoglutación (GSNO) promueve la reparación y/o regeneración de órganos de mamíferos, tales como el corazón (Lima et al., 2010), los vasos sanguíneos (Lima et al., 2010), la piel (Georgii et al., 2010), los ojos o las estructuras oculares (Haq et al., 2007) y el hígado (Prince et al., 2010). La S-nitrosoglutación reductasa (GSNOR) es la principal enzima catabólica del GSNO. Se cree que la inhibición de la GSNOR aumenta el GSNO endógeno.

Las enfermedades inflamatorias intestinales (EII), que incluyen la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, son enfermedades inflamatorias crónicas del tracto gastrointestinal (GI), en las que el NO, el GSNO y la GSNOR pueden ejercer sus influencias. En condiciones normales, el NO y el GSNO funcionan para mantener la fisiología normal del intestino a través de acciones antiinflamatorias y del mantenimiento de la barrera celular epitelial intestinal. En la EII, los niveles reducidos de GSNO y NO son evidentes y es probable que se produzcan a través de la regulación positiva de la actividad de la GSNOR. Los niveles reducidos de estos mediadores contribuyen a la fisiopatología de la EII a través de la interrupción de la barrera epitelial a través de la desregulación de las proteínas implicadas en el mantenimiento de las uniones estrechas epiteliales. Esta disfunción de la barrera epitelial, con la consiguiente entrada de microorganismos desde el lumen y las capacidades antiinflamatorias globales reducidas en presencia de NO y GSNO reducidos, son sucesos clave en la progresión de la EII sobre los que se puede influir potencialmente mediante la dirección/actuación selectiva sobre la GSNOR.

La muerte celular es el suceso fundamental que conduce a la manifestación clínica de la hepatotoxicidad por fármacos, virus y alcohol. El glutatión (GSH) es la molécula redox más abundante en las células y por tanto el determinante más importante del estado redox celular. Los tioles de las proteínas experimentan una amplia serie de modificaciones redox reversibles durante los tiempos de exposición al oxígeno reactivo y a las especies reactivas de nitrógeno, que pueden afectar a la actividad proteínica. El mantenimiento del GSH hepático es un proceso dinámico que se consigue mediante un equilibrio entre las velocidades de síntesis de GSH, de flujo de salida de GSH y de GSSG, de las reacciones del GSH con especies reactivas de oxígeno y especies reactivas de nitrógeno y de la utilización de la GSH peroxidasa. Tanto el GSNO como la GSNOR desempeñan papeles en la regulación del estado redox de las proteínas por el GSH.

Las sobredosis de acetaminofeno son la principal causa de insuficiencia hepática aguda (IHA) en los Estados Unidos, Gran Bretaña y la mayor parte de Europa. Más de 100.000 llamadas a los centros de toxicología de los EE.UU., 56.000 visitas al servicio de urgencias, 2.600 hospitalizaciones y cerca de 500 muertes se atribuyen al acetaminofeno en este país cada año. Aproximadamente, el 60 % de los pacientes se recupera sin necesidad de un trasplante de hígado, el 9 % es trasplantado y el 30 % sucumbe a la enfermedad. La tasa de mortalidad relacionada con el acetaminofeno supera en al menos tres veces el número de muertes debidas a todas las demás reacciones medicamentosas idiosincrásicas combinadas (Lee, *Hepatology* 2008; 38 (Supl. 1): S3-S8).

El trasplante de hígado se ha convertido en el tratamiento principal para los pacientes que padecen insuficiencia hepática fulminante y hepatopatía crónica en fase terminal, así como ciertas hepatopatías metabólicas. Por tanto, la demanda de trasplante ahora excede en gran medida la disponibilidad de donantes de órganos. Se ha estimado que más de 18 000 pacientes están registrados actualmente en la Red Unida para Compartir Órganos (UNOS) y que unos 9.000 pacientes adicionales se añaden a la lista de espera para el trasplante de hígado de cada año, sin embargo, menos de 5000 donantes fallecidos están disponibles para el trasplante.

El documento WO2010019909 desvela inhibidores de pirrol de la S-nitrosoglutación reductasa.

Actualmente, existe en la técnica una gran necesidad de diagnósticos, profilaxis, mejorías y tratamientos para afecciones médicas relacionadas con el aumento de la síntesis de NO y/o el aumento de 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.

Sumario

La presente invención proporciona nuevos compuestos de quinolina como se definen en las reivindicaciones. Estos compuestos son útiles como inhibidores de la S-nitrosoglutatión reductasa ("GSNOR"). También se describen en el presente documento sales, estereoisómeros, profármacos, metabolitos y N-óxidos farmacéuticamente aceptables 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.

En el presente documento también se describe un método de inhibición de la GSNOR 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, estereoisómero, profármaco, metabolito o N-óxido farmacéuticamente aceptables del mismo, en combinación con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. El inhibidor de la GSNOR puede ser un nuevo compuesto de acuerdo con la invención o puede ser un compuesto conocido del que previamente no se sabía que era un inhibidor de la GSNOR.

También se describe en el presente documento un método de tratamiento de un trastorno que mejora mediante 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, estereoisómero, profármaco, metabolito o N-óxido farmacéuticamente aceptables del mismo, en combinación con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. El inhibidor de la GSNOR puede ser un nuevo compuesto de acuerdo con la invención o puede ser un compuesto conocido del que previamente no se sabía que era un inhibidor de la GSNOR.

También se describe en el presente documento es un método de tratamiento de un trastorno proliferativo celular 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, estereoisómero, profármaco, metabolito o N-óxido farmacéuticamente aceptables del mismo, en combinación con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. El inhibidor de la GSNOR puede ser un nuevo compuesto de acuerdo con la invención o puede ser un compuesto conocido del que previamente no se sabía que era un inhibidor de la GSNOR.

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

Aunque en la práctica o en el ensayo de la presente invención pueden utilizarse métodos y materiales similares o equivalentes a los que se describen en el presente documento, los métodos y materiales adecuados se describen a continuación.

Descripción detallada

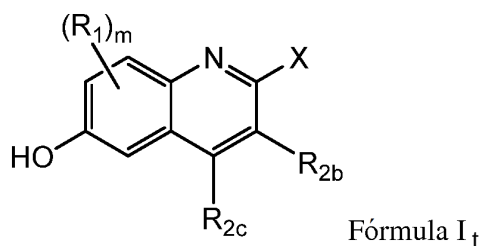
A. Descripción general de la invención

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 diversas 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 las células del músculo liso de ratón, en las levaduras y en las células 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.

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 poca masa y previniendo que la nitrosilación de proteínas alcance niveles tóxicos.

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

En el presente documento se describen agentes farmacéuticos que son inhibidores potentes de la GSNOR. En particular, en algunas realizaciones, la presente invención proporciona análogos de quinolina sustituidos que tienen las estructuras que se representan a continuación (Fórmula I) o una sal, estereoisómero, profármaco, metabolito o N-óxido farmacéuticamente aceptables de los mismos.



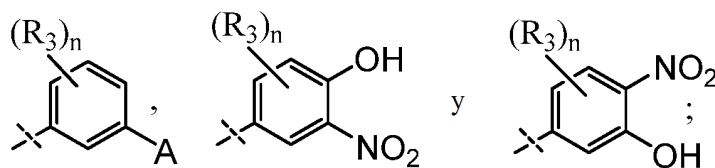
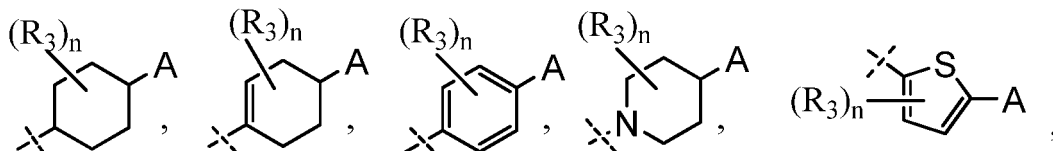
en donde

m se selecciona entre el grupo que consiste en 0, 1, 2 o 3;

R₁ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en cloro, flúor, bromo, ciano y metoxi;

R_{2b} y R_{2c} se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo C₁-C₃, alquilo C₁-C₃ fluorado, ciano, alcoxi C₁-C₃ y N(CH₃)₂;

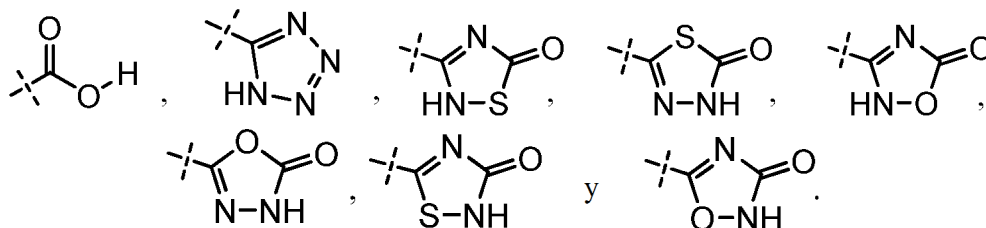
X se selecciona entre el grupo que consiste en



n se selecciona entre el grupo que consiste en 0, 1 y 2;

R₃ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C₁-C₃, alquilo C₁-C₃ fluorado, ciano, hidroxí, alcoxi C₁-C₃ y NR₄R₄' donde R₄ y R₄' se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₃, o R₄ cuando se toma junto con R₄' forma un anillo con 3 a 6 miembros; y

A se selecciona entre el grupo que consiste en



Como se utiliza en este contexto, el término "análogo" se refiere a un compuesto que tiene una estructura química y una función similares a las de los compuestos de Fórmula I que retiene el anillo de quinolina.

Algunos análogos de quinolina 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, se pretende que el término "isómero" abarque todas las formas isoméricas de un compuesto incluyendo las formas tautoméricas del compuesto.

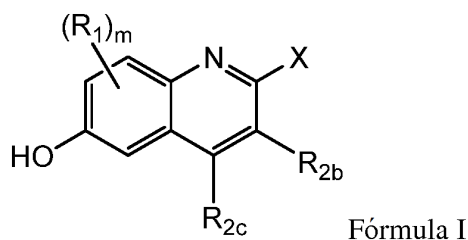
Los compuestos ilustrativos que tienen centros asimétricos pueden existir en diferentes formas enantioméricas y diastereoméricas. Un compuesto puede existir en forma de un isómero óptico o un diastereómero. Por consiguiente, la invención abarca los compuestos en las formas de sus isómeros ópticos, diastereómeros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

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, debe interpretarse que la estructura o la porción de la estructura abarca todos los estereoisómeros del compuesto descrito.

B. Inhibidores de la S-nitrosoglutation reductasa

1. Compuestos de la invención

En el presente documento se describen compuestos que tienen la estructura que se muestra en la Fórmula I y sales, estereoisómeros, profármacos, metabolitos y N-óxidos farmacéuticamente aceptables de los mismos:



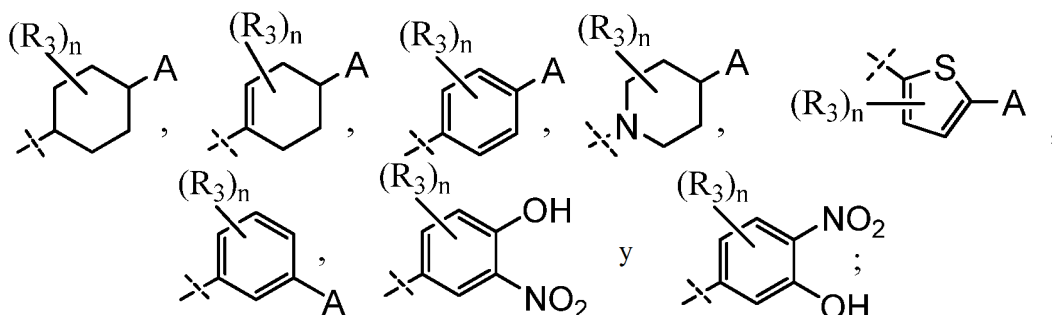
en donde

m se selecciona entre el grupo que consiste en 0, 1, 2 o 3;

R₁ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en cloro, flúor, bromo, ciano y metoxi;

R_{2b} y R_{2c} se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo C₁-C₃, alquilo C₁-C₃ fluorado, ciano, alcoxi C₁-C₃ y N(CH₃)₂;

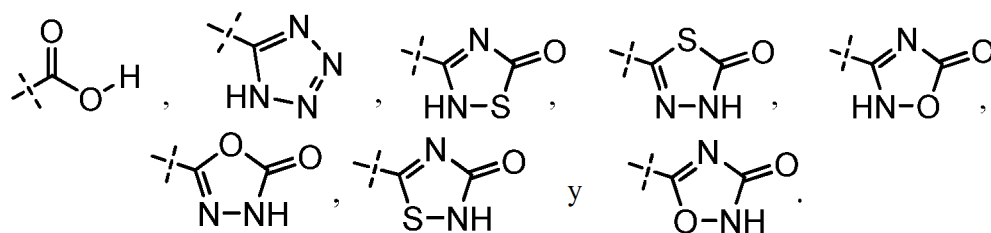
X se selecciona entre el grupo que consiste en



n se selecciona entre el grupo que consiste en 0, 1 y 2;

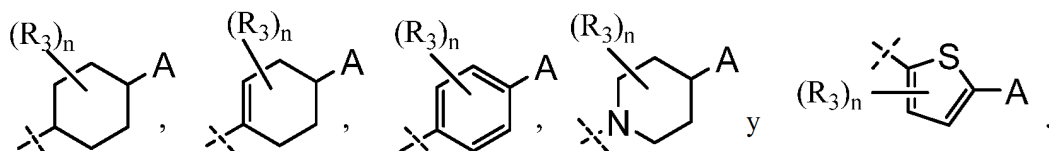
R₃ se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C₁-C₃, alquilo C₁-C₃ fluorado, ciano, hidroxilo, alcoxi C₁-C₃ y NR₄R₄' donde R₄ y R₄' se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₃, o R₄ cuando se toma junto con R₄' forma un anillo con 3 a 6 miembros; y

A se selecciona entre el grupo que consiste en



En un primer aspecto, la invención proporciona un compuesto o una sal, estereoisómero o N-óxido farmacéuticamente aceptables del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1.

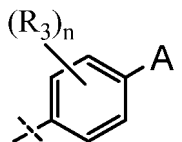
En un aspecto adicional de la invención, R_1 se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en cloro, flúor y bromo; R_3 se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C_1-C_3 , alquilo C_1-C_3 fluorado, ciano, alcoxi C_1-C_3 y NR_4R_4' donde R_4 y R_4' se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C_1-C_3 , o R_4 cuando se toma junto con R_4' forma un anillo con 3 a 6 miembros; y X se selecciona entre el grupo que consiste en



En un aspecto adicional de la invención, R_3 se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo C_1-C_3 , alquilo C_1-C_3 fluorado, ciano, alcoxi C_1-C_3 y NR_4R_4' donde R_4 y R_4' son metilo, o, como alternativa, junto con dicho N forman el anillo aziridin-1-ilo o morfolino.

En un aspecto adicional de la invención, m se selecciona entre el grupo que consiste en 0 y 1; R_{2b} y R_{2c} se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, cloro, flúor, metilo, trifluorometilo, ciano, metoxi y $N(CH_3)_2$; n se selecciona entre el grupo que consiste en 0 y 1; y R_3 se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en flúor, cloro, bromo, metilo, trifluorometilo, ciano, hidroxilo, metoxi y $N(CH_3)_2$.

En un aspecto adicional de la invención, X es



En un aspecto adicional de la invención, A es COOH.

En un aspecto adicional de la invención, los compuestos de Fórmula I adecuados incluyen, pero no se limitan a:

- ácido 4-(6-hidroxi-3-metilquinolin-2-il)benzoico;
- 2-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-3-metilquinolin-6-ol;
- ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
- 2-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)quinolin-6-ol;
- ácido 1-(6-hidroxiquinolin-2-il)piperidin-4-carboxílico;
- ácido (1r,4r)-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico;
- ácido (1s,4s)-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico;
- ácido 3-cloro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
- ácido 2-cloro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
- ácido 2-fluoro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
- 2-(4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)-4-cloroquinolin-6-ol;
- 3-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-(2H)-ona;
- ácido 3-fluoro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
- ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)-3-metoxibenzoico;
- ácido 5-(6-hidroxiquinolin-2-il)tiofeno-2-carboxílico;
- ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohex-3-encarboxílico;
- ácido 4-(3-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
- ácido 4-(4-cloro-3-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
- ácido 4-(3-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
- 3-(2-fluoro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-(4H)-ona;

- 3-(3-fluoro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-(4H)-ona;
 ácido 4-(4-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 2-(2-cloro-4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)quinolin-6-ol;
 5-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,3,4-oxadiazol-2-(3H)-ona;
 5 ácido 3-(dimetilamino)-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 4-(4-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)-3-metilbenzoico;
 ácido 4-(3-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)-3-fluorobenzoico;
 3-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-tiadiazol-5-(2H)-ona;
 10 ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)-3-(trifluorometil)benzoico;
 ácido 4-(6-hidroxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)benzoico;
 1-óxido de 2-(4-carboxifenil)-6-hidroxiquinolina;
 5-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,3,4-tiadiazol-2-(3H)-ona;
 5-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-(2H)-ona;
 15 ácido (1r,4r)-4-(3-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico;
 ácido (1s,4s)-4-(3-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico;
 ácido 3-cloro-4-(4-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 2-(5-(2H-tetrazol-5-il)tiofen-2-il)quinolin-6-ol;
 5-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-tiadiazol-3-(2H)-ona;
 20 ácido 3-fluoro-4-(4-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 1-(6-hidroxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)piperidin-4-carboxílico;
 ácido 4-(5-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido (1r,4r)-4-(6-hidroxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico;
 ácido (1s,4s)-4-(6-hidroxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico;
 25 ácido 4-(5-bromo-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 3-bromo-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 4-(4-(dimetilamino)-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 4-(4-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)-3-metoxibenzoico;
 ácido 3-ciano-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 30 1-óxido de 2-(4-carboxi-2-clorofenil)-6-hidroxiquinolina;
 ácido 4-(3-ciano-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 4-(5-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 4-(8-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 3-hidroxi-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico; y
 35 ácido 3-fluoro-4-(5-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico.

También se describe en el presente documento el ácido 4-(4-amino-6-hidroxiquinolin-2-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 del anillo. Cuando se enumera un sustituyente sin indicar el átomo a través del cual 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 solo 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. También
 50 pueden estar presentes muchos isómeros geométricos de olefinas, dobles enlaces C=N y similares en los compuestos que se describen en el presente documento, y todos los isómeros estables de este tipo se contemplan en la presente invención. Se describen isómeros geométricos cis y trans de los compuestos de la presente invención 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. También se considera que todos los tautómeros de
 55 los compuestos que se muestran o que se describen son parte de la presente invención.

- 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
 60 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.

- 65 **2. Compuestos representativos**

Los ejemplos 1-56 enumeran nuevos análogos de quinolina de Fórmula I representativos. Los métodos de síntesis que pueden utilizarse para preparar cada compuesto se detallan en los Ejemplos 1-56, en relación con los esquemas de síntesis que se representan antes del Ejemplo 1 y en referencia a los intermedios que se describen en el Ejemplo 57. También se incluyen los datos de espectrometría de masas y/o los datos de RMN de protón de apoyo para cada compuesto en los Ejemplos 1-56. La actividad del inhibidor de la GSNOR se determinó mediante el ensayo que se describe en el Ejemplo 58 y se obtuvieron los valores de CI_{50} . Los compuestos inhibidores de la GSNOR de los Ejemplos 1-56 tenían una CI_{50} de aproximadamente $<10^{\circ}\mu M$. Los compuestos inhibidores de la GSNOR de los Ejemplos 1-4, 6, 8, 10-14, 16-35, 37-43, 45-50, y 52-56 tenían una CI_{50} de aproximadamente $<0,5^{\circ}\mu M$. Los compuestos inhibidores de la GSNOR de los Ejemplos 1-4, 8, 10-14, 17-28, 30, 31, 37, 40-41, 43, 46, 48-49, y 52-56 tenían una CI_{50} de aproximadamente $<0,1^{\circ}\mu M$.

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 hasta el 10 % más o menos del término particular.

El término "acilo" 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.

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.

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.

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 alquino puede no estar sustituido o estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes como se describe en el presente documento.

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 (C_1-C_6) 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.

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 C_1-C_6 se reemplaza por una amina de fórmula $-N(R^C)_2$, en donde cada aparición del R^C es independientemente H o alquilo (C_1-C_6). Los ejemplos de grupos aminoalquilo incluyen, pero no se limitan a, $-CH_2NH_2$, $-CH_2CH_2NH_2$, $-CH_2CH_2CH_2NH_2$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$, $-CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$, *t*-butilaminometilo, isopropilaminometilo y similares.

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.

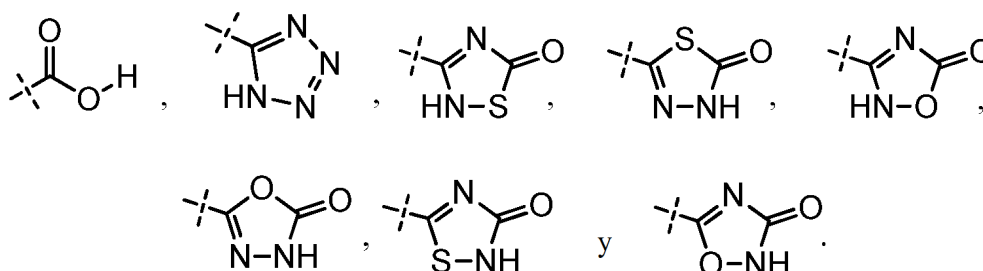
Como se utiliza en el presente documento, el término "bioactividad" indica un efecto sobre uno o más procesos celulares o extracelulares (por ejemplo, a través de la unión, la señalización, etc.) que puede tener un impacto en los procesos fisiológicos o fisiopatológicos.

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.

"Resto ácido" como se usa en el presente documento se define como un ácido carboxílico o un bioisómero de ácido carboxílico. Los bioisómeros son sustituyentes o grupos con propiedades físicas o químicas similares que producen propiedades biológicas muy similares a un compuesto químico. Para una revisión de bioisómeros, véase *J. Med. Chem.*, 2011, 54, 2529-2591. Los ejemplos de "resto ácido" incluyen, pero no se limitan a



"Farmacóforo" se define como "un conjunto de características estructurales de una molécula que se reconoce en un sitio receptor y es responsable de la actividad biológica de esa molécula" (Gund, *Prog. Mol. Subcell Biol.*, 5: págs. 117-143 (1977)).

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 " C_1-C_6 " significa de uno a seis átomos de carbono (C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , C_5 o C_6). El término " C_2-C_6 " incluye de dos a seis átomos de carbono (C_2 , C_3 , C_4 , C_5 o C_6). El término " C_3-C_6 " incluye de tres a seis átomos de carbono (C_3 , C_4 , C_5 o C_6).

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, ciclopentenilo, ciclopentadienilo, 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, (1s,3s)-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.

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

El término "haloalquilo", como se utiliza en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C_1-C_6 en donde uno o más átomos de hidrógeno del grupo alquilo C_1-C_6 se reemplazan por un átomo de halógeno, que puede ser igual 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.

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 $-CH_2-CH_2-O-CH_3$, $-CH_2-CH_2-NH-CH_3$, $-CH_2-CH_2-N(CH_3)-CH_3$, $-CH_2-S-CH_2-CH_3$, $-CH_2-CH_2-S(O)-CH_3$, $-CH_2-CH_2-S(O)_2-CH_3$ y $-CH_2-CH=N-OCH_3$. Pueden estar consecutivos hasta dos heteroátomos, tales como, por ejemplo, $-CH_2-NH-OCH_3$. Cuando se utiliza un sufijo tal como (C_2-C_8) 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- C_2 incluya, por ejemplo, $-CH_2OH$ (un átomo de carbono y un heteroátomo que reemplaza a un átomo de carbono) y $-CH_2SH$.

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.

- 5 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.

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

- 20 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, tianilo, 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, isindolilo, 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.

- 35 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, tetrahidrofuran-2-ilo, tetrahidrofuran-3-ilo, tetrahidrotien-2-ilo, tetrahidrotien-3-ilo, 1-piperazinilo, 2-piperazinilo y similares.

- 40 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.

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

- 50 Como se utiliza en el presente documento, N-óxido, u óxido de amina, se refiere a un compuesto derivado de una amina terciaria por la unión de un átomo de oxígeno al átomo de nitrógeno, R₃N⁺-O⁻. Por extensión, el término incluye los derivados análogos de aminas primarias y secundarias.

- 55 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.

- 65 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 sintetizan 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 los compuestos de este tipo que proporcionan óxido nítrico a su sitio de acción previsto en una forma activa para su propósito previsto, e Y es 1 o 2.

"Reparar" significa la recuperación de la integridad estructural y la función fisiológica normal. A modo de ejemplo, el epitelio respiratorio de las vías respiratorias oral y superior puede reparar los daños causados por una lesión térmica o infección vírica.

"Regeneración" significa la capacidad de un órgano para entrar en un crecimiento no maligno celular, vascular y del estroma para restaurar tejido orgánico funcional. A modo de ejemplo, la curación de heridas implica la regeneración de tejidos y órganos (por ejemplo, piel, mucosa gástrica e intestinal), al igual que el hueso después de una fractura y el hígado después de la eliminación parcial quirúrgica y la exposición a una agresión infecciosa o tóxica.

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, $=\text{O}$), 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, $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}=\text{N}$ o $\text{N}=\text{N}$).

Los sustituyentes para los grupos denominados como alquilo, heteroalquilo, alquilenilo, alquiniilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, cicloalqueniilo y heterocicloalqueniilo pueden seleccionarse entre varios grupos incluyendo $-\text{OR}^d$, $=\text{O}$, $=\text{NR}^d$, $=\text{N-OR}^d$, $-\text{NR}^d\text{R}^{d'}$, $-\text{SR}^d$, $-\text{halo}$, $-\text{SiR}^d\text{R}^{d'}\text{R}^{d''}$, $-\text{OC(O)R}^d$, $-\text{C(O)R}^d$, $-\text{CO}_2\text{R}^d$, $-\text{C(O)NR}^d\text{R}^{d'}$, $-\text{OC(O)NR}^d\text{R}^{d'}$, $-\text{NR}^d\text{C(O)R}^d$, $-\text{NR}^{d''}\text{C(O)NR}^d\text{R}^{d'}$, $-\text{NR}^{d''}\text{SO}_2\text{NR}^d\text{R}^{d'}$, $-\text{NR}^d\text{CO}_2\text{R}^d$, $-\text{NHC(NH}_2)=\text{NH}$, $\text{NR}^d\text{C(NH}_2)=\text{NH}$, $-\text{NHC(NH}_2)=\text{NR}^d$, $-\text{S(O)R}^d$, $-\text{SO}_2\text{R}^d$, $-\text{SO}_2\text{NR}^d\text{R}^{d'}$, $-\text{NR}^d\text{SO}_2\text{R}^d$, $-\text{CN}$ y $-\text{NO}_2$, en un número que va de cero a tres, siendo ejemplares aquellos grupos que tienen cero, uno o dos sustituyentes.

R^d , R^d y $\text{R}^{d''}$ se refieren cada uno independientemente a hidrógeno, alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$) no sustituido, heteroalquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$) no sustituido, arilo no sustituido y arilo sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados entre $-\text{halo}$, alquilo no sustituido, alcoxi no sustituido, tioalcoxi no sustituido y aril-alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_4$) no sustituido. Cuando R^d y $\text{R}^{d'}$ 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, $-\text{NR}^d\text{R}^{d'}$ 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.

- 5 Los sustituyentes ejemplares para los radicales alquilo y heteroalquilo incluyen, pero no se limitan a $-OR^d$, $=O$, $=NR^d$, $=N-OR^d$, $-NR^dR^{d'}$, $-SR^d$, $-halo$, $-SiR^dR^{d'}R^{d''}$, $-OC(O)R^d$, $-C(O)R^d$, $-CO_2R^d$, $-C(O)NR^dR^{d'}$, $-OC(O)NR^dR^{d'}$, $-NR^{d''}C(O)R^d$, $-NR^{d''}C(O)NR^dR^{d'}$, $-NR^{d''}SO_2NR^dR^{d'}$, $-NR^{d''}CO_2R^d$, $-NHC(NH_2)=NH$, $NR^aC(NH_2)=NH$, $-NHC(NH_2)=NR^d$, $-S(O)R^d$, $-SO_2R^d$, $-SO_2NR^dR^{d'}$, $-NR^{d''}SO_2R^d$, $-CN$ y $-NO_2$, donde R^d , $R^{d'}$ y $R^{d''}$ son como se han definido anteriormente. Los sustituyentes típicos pueden seleccionarse entre: $-OR^d$, $=O$, $-NR^dR^{d'}$, $-halo$, $-OC(O)R^d$, $-CO_2R^d$, $-C(O)NR^dR^{d'}$, $-OC(O)NR^dR^{d'}$, $-NR^{d''}C(O)R^d$, $-NR^{d''}CO_2R^d$, $-NR^{d''}SO_2NR^dR^{d'}$, $-SO_2R^d$, $-SO_2NR^dR^{d'}$, $-NR^{d''}SO_2R^d$, $-CN$ y $-NO_2$.

- De manera similar, los sustituyentes para los grupos arilo y heteroarilo son variados y se seleccionan entre: $-halo$, $-OR^e$, $-OC(O)R^e$, $-NR^eR^{e'}$, $-SR^e$, $-R^e$, $-CN$, $-NO_2$, $-CO_2R^e$, $-C(O)NR^eR^{e'}$, $-C(O)R^e$, $-OC(O)NR^eR^{e'}$, $-NR^{e''}C(O)R^e$, $-NR^{e''}CO_2R^e$, $-NR^{e''}C(O)NR^eR^{e'}$, $NR^{e''}SO_2NR^eR^{e'}$, $-NHC(NH_2)=NH$, $-NR^eC(NH_2)=NH$, $-NH-C(NH_2)=NR^e$, $-S(O)R^e$, $-SO_2R^e$, $-SO_2NR^eR^{e'}$, $-NR^{e''}SO_2R^e$, $-N_3$, $-CH(Ph)_2$, perfluoroalcoxi y perfluoro-alquilo (C_1-C_4), 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 (C_1-C_8) no sustituido, hetero-alquilo (C_1-C_8) no sustituido, arilo no sustituido, heteroarilo no sustituido, aril-alquilo (C_1-C_4) no sustituido y ariloxi-alquilo (C_1-C_4) 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.

- 25 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 $-T-C(O)-(CH_2)_q-U-$, en donde T y U son independientemente $-NH-$, $-O-$, $-CH_2-$ 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 $-J-(CH_2)_r-K-$, en donde J y K son, independientemente, $-CH_2-$, $-O-$, $-NH-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2NR^f-$ 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 $-(CH_2)_s-X-(CH_2)_t-$, 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 (C_1-C_6) 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.

- 40 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.

- 50 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-nitrosoglutatión 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

- 60 La invención abarca composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de la invención 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, incorporado en el presente documento por referencia. Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención también pueden comprender uno o más agentes activos que no sean compuestos de la presente invención.

- 65 También se describen en el presente documento composiciones farmacéuticas que comprenden nuevos

compuestos que se describen en el presente documento, composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos conocidos de los que previamente no se sabía que tenían actividad inhibidora de la GSNOR o una combinación de las mismas.

5 Los compuestos de la invención 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 de la invención 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.

35 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.

45 El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que comprenda, por ejemplo, agua, etanol, poliál (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.

55 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 puede conseguirse 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.

En una realización, los compuestos de la invención se preparan 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. nº 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 de acuerdo con la invención 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 suspensorios, 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 alginico, 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 fñas 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 de la invención

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 de la invención

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 quinolinas 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.

El proceso de la invención, cuando se lleva a cabo como se indica en el presente documento, puede 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.

El proceso de la invención, cuando se realiza como se indica en el presente documento, puede 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 desvelan. Los métodos comprenden la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención a un paciente que lo necesite. Las composiciones de la invención también pueden utilizarse para la terapia profiláctica.

En el presente documento también se describen métodos de tratamiento que utilizan un compuesto que es: (1) un compuesto nuevo que se describe en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero del mismo, un profármaco del mismo, un metabolito del mismo o un N-óxido 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 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un estereoisómero del mismo, un profármaco del mismo, un metabolito del mismo o un N-óxido 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, 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 estereoisómero del mismo, un profármaco del mismo, un metabolito del mismo o un N-óxido del mismo.

- 5 El paciente puede ser cualquier animal, doméstico, ganado 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.

- 10 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 de la presente invención 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, va desde 1 µg/kg a 10 g/kg y a menudo va desde 10 µg/kg a 1 g/kg o 10 µg/kg a 100 mg/kg de peso corporal del sujeto que se trata, por día.

20 H. Usos de la GSNOR

- 25 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.

- 30 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.

- 35 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, (por ejemplo, la 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, la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), la enfermedad de Crohn, la colitis y la psoriasis); trastornos intestinales funcionales (por ejemplo, síndrome del intestino irritable (SII)); 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 inducido por fármacos, el isquémico o el alcohólico)); impotencia; la apnea del sueño; la curación de heridas diabéticas; 45 infecciones cutáneas; tratamiento de la psoriasis; 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, trastornos del sistema nervioso central, (SNC) (por ejemplo, ansiedad, depresión, psicosis y esquizofrenia); e infecciones causadas por bacterias (*por ejemplo*, 50 tuberculosis, ejemplo, infecciones por *C. difficile*, entre otras).

- El trastorno puede ser la lesión hepática. La lesión hepática puede incluir, por ejemplo, la toxicidad hepática aguda. La toxicidad hepática aguda puede dar como resultado insuficiencia hepática aguda. La insuficiencia hepática aguda (IHA) es un efecto adverso con los fármacos poco frecuente pero potencialmente letal relacionado que a menudo conduce a un trasplante hepático (TH) o a la muerte. El acetaminofeno es la causa más común de toxicidad hepática aguda e insuficiencia hepática aguda, aunque la toxicidad hepática aguda puede deberse a otros agentes, tales como el alcohol y otros fármacos. Independientemente de si se produce como resultado de una sola sobredosis o después de la ingestión supratrapéutica repetida, la progresión de la intoxicación por acetaminofeno puede clasificarse en cuatro etapas: efectos tóxicos preclínicos (una concentración de alanina aminotransferasa sérica normal), lesión hepática (una concentración elevada de alanina aminotransferasa), insuficiencia hepática (lesión hepática con encefalopatía hepática) y la recuperación. Mientras haya suficiente glutatión presente, el hígado está protegido de lesiones. Las sobredosis de acetaminofeno (ya sea una única gran ingestión o la ingestión supratrapéutica repetida) pueden agotar las reservas de glutatión hepático y permitir que se produzca la lesión hepática. Los compuestos de la invención son capaces de tratar y/o prevenir la lesión hepática y/o la toxicidad hepática aguda. Las cantidades apropiadas de los compuestos de la presente invención pueden ser una cantidad suficiente para tratar y/o prevenir la lesión hepática y puede determinarse sin experimentación indebida por medio de

ensayos preclínicos y/o clínicos. Por ejemplo, la cantidad para tratar puede ser al menos 0,001 mg/kg, al menos 0,002 mg/kg, al menos 0,003 mg/kg, al menos 0,004 mg/kg, al menos 0,005 mg/kg, al menos 0,006 mg/kg, al menos 0,007 mg/kg, al menos 0,008 mg/kg, al menos 0,009 mg/kg, al menos 0,01 mg/kg, al menos 0,02 mg/kg, al menos 0,03 mg/kg, al menos 0,04 mg/kg, al menos 0,05 mg/kg, al menos 0,06 mg/kg, al menos 0,07 mg/kg, al menos 0,08 mg/kg, al menos 0,09 mg/kg, al menos 0,1 mg/kg, al menos 0,2 mg/kg, al menos 0,3 mg/kg, al menos 0,4 mg/kg, al menos 0,5 mg/kg, al menos 0,6 mg/kg, al menos 0,7 mg/kg, al menos 0,8 mg/kg, al menos 0,9 mg/kg, al menos 1 mg/kg, al menos 1,5 mg/kg, al menos 2 mg/kg, al menos 2,5 mg/kg, al menos 3 mg/kg, al menos 3,5 mg/kg, al menos 4 mg/kg, al menos 4,5 mg/kg, al menos 5 mg/kg, al menos 6 mg/kg, al menos 7 mg/kg, al menos 8 mg/kg, al menos 9 mg/kg, al menos 10 mg/kg, al menos 15 mg/kg, al menos 20 mg/kg, al menos 30 mg/kg, al menos 40 mg/kg, al menos 50 mg/kg, al menos 60 mg/kg, al menos 70 mg/kg, al menos 80 mg/kg, al menos 90 mg/kg, al menos 100 mg/kg. La dosificación puede ser por hora, cuatro veces, dos veces o una vez al día o cuatro veces, dos veces o una vez por semana o cada semana o cada dos semanas, cada tres semanas o mensualmente.

El trastorno puede ser un daño traumático (incluyendo la cirugía y el daño térmico), infeccioso, tóxico, por envejecimiento y e isquémico de los órganos de conocida capacidad de regeneración, tales como la piel, mucosa gástrica, epitelio de las vías respiratorias y estructuras cartilaginosas, el hígado, las estructuras neuronales tales como la médula espinal, la médula ósea y el hueso. Los inventores han demostrado que la inhibición de la GSNOR mediante el uso de moléculas pequeñas altamente específicas trata, repara y favorece la regeneración de los tejidos de mamíferos. A modo de ejemplo, los inhibidores de moléculas pequeñas son eficaces en el tratamiento y la promoción de la reparación y regeneración del tejido pulmonar de mamífero dañado por la instilación de un agente químico conocido por causar lesión pulmonar grave (elastasa pancreática porcina) (Blonder et al., *ATS 2011* referencia del resumen). Las cantidades apropiadas de compuestos de la presente invención pueden ser una cantidad suficiente para regenerar tejidos/órganos y pueden determinarse sin experimentación indebida por parte medio de ensayos preclínicos y clínicos.

El trastorno puede ser un daño traumático (incluyendo la cirugía y el daño térmico), infeccioso, tóxico, por envejecimiento y e isquémico de los órganos de poca conocida capacidad de regeneración. Los ejemplos incluyen la regeneración de: corazón, pulmón, riñón, sistema nervioso central, sistema nervioso periférico, tejido vascular periférico, hígado, páncreas, glándula adrenal, tiroides, testículos, ovario, retina, lengua, hueso, vejiga, esófago, laringe, timo, bazo, estructuras cartilaginosas de la cabeza y estructuras cartilaginosas de las articulaciones. Las cantidades apropiadas de los compuestos de la presente invención pueden ser una cantidad suficiente para regenerar tejidos/órganos y pueden determinarse sin experimentación indebida por medio de ensayos preclínicos y clínicos.

Por ejemplo la implantación y la regeneración de órganos y estructuras *in vivo* y *ex vivo*, incluyendo las células madre. Las cantidades apropiadas de los compuestos de la presente invención pueden ser una cantidad suficiente para regenerar tejidos/órganos y pueden determinarse sin experimentación indebida por medio de ensayos preclínicos y/o clínicos.

Los compuestos de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o un profármaco, estereoisómero, metabolito o N-óxido 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.

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.

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 estereoisómero, profármaco, metabolito o N-óxido de los mismos, en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable. El tratamiento se continúa siempre que los síntomas y/o la patología mejoren.

5 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, 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 solo 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 *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 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 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.

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 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.

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, leiomiomas, 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, 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 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 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.

Los compuestos que se describen en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, un estereoisómero de los mismos, un profármaco de los mismos, un metabolito de los mismos o un N-óxido de los mismos pueden administrarse en combinación con un segundo agente quimioterapéutico. El segundo agente quimioterapéutico puede seleccionarse entre el grupo que consiste en 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.

Los compuestos que se describen en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, un estereoisómero de los mismos, un profármaco de los mismos, un metabolito de los mismos o un N-óxido 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 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 (glutathión oxidado) sobre el GSH (glutathión) 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 glutathión reductasa (por ejemplo, BCNU), inhibidores o desacopladores de la respiración mitocondrial y fármacos 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® (citrato de sildenafil), Cialis® (tadalafilo), Levitra® (vardenafilo), etc.), un 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 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 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 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 cantidad 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 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 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 En un aparato

Los compuestos que se describen en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o un estereoisómero, un profármaco, un metabolito o un N-óxido 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.

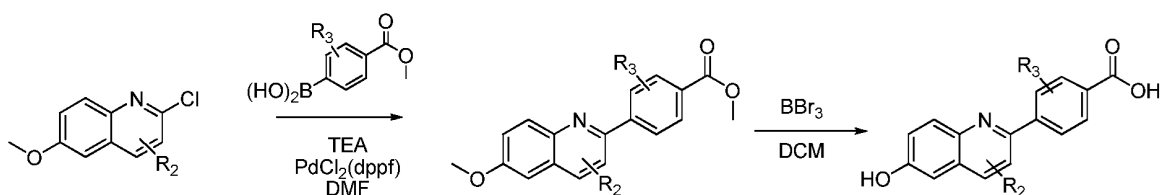
Los compuestos que se describen en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, un estereoisómero, un profármaco, un metabolito o un N-óxido de los mismos, también pueden utilizarse como un agente para el desarrollo, el aislamiento o la purificación de compuestos compañeros 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 de la presente invención.

Ejemplos

Los Ejemplos 1-56 enumeran nuevos análogos de quinolina representativos de Fórmula I útiles como inhibidores de la invención de la GSNOR. Los esquemas ejemplares a continuación ilustran algunos métodos generales de preparación de los análogos de quinolina de Fórmula I. Los métodos sintéticos que pueden utilizarse para preparar cada compuesto se describen en los Ejemplos 1-56. También se incluyen los datos de espectrometría de masas y/o los datos de RMN de protón de apoyo para cada compuesto en los Ejemplos 1-56. Los detalles de síntesis de los intermediarios correspondientes se detallan en el Ejemplo 57.

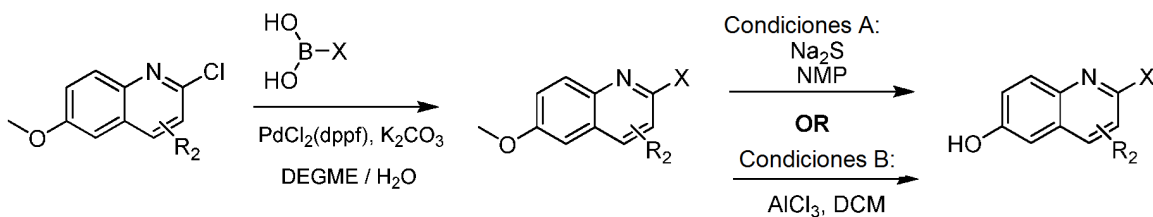
Los Esquemas 1-5 a continuación ilustran métodos generales para la preparación de análogos de quinolina.

Esquema 1



Para un ejemplo detallado del Esquema General 1 véase el Compuesto 1 en el Ejemplo 1.

Esquema 2



Para un ejemplo detallado del Esquema 2, condiciones A, véase el Compuesto 2 en el Ejemplo 2.

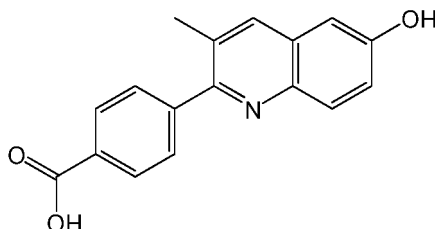
Para un ejemplo detallado del Esquema 2, condiciones B, véase el Compuesto 8 en el Ejemplo 8.

Para un ejemplo detallado del Esquema 5, Compuesto A, véase el Compuesto 33 en el Ejemplo 33.

Para un ejemplo detallado del Esquema 5, Compuesto B, véase el Compuesto 24 en el Ejemplo 24.

5 Para un ejemplo detallado del Esquema 5, Compuesto C, véase el Compuesto 23 en el Ejemplo 23.

Ejemplo 1: Compuesto 1: ácido 4-(6-hidroxi-3-metilquinolin-2-il)benzoico



10

Se siguió el Esquema 1

Etapas 1: Síntesis de 4-(6-metoxi-3-metilquinolin-2-il)benzoato de metilo:

15 A una mezcla de 2-cloro-6-metoxi-3-metilquinolina (100 mg, 0,482°mmol), ácido 4-(metoxicarbonil)fenilborónico (184 mg, 1,02°mmol), TEA (0,35 ml, 2,41°mmol) y PdCl₂ (dppf) (35 mg, 0,048°mmol) se le añadieron 2 ml de DMF en atmósfera de argón. Después, la mezcla se agitó durante 2,5 horas a 120 °C en un reactor de microondas. Después, la mezcla en bruto se diluyó con agua (25 ml) y se extrajo con EtOAc (25 ml, 2 veces). Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron para proporcionar 250 mg de material en bruto. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna con un gradiente de EtOAc al 5 % en hexanos a EtOAc al 8 % en hexanos para proporcionar 37 mg (rendimiento del 25 %) de 4-(6-metoxi-3-metilquinolin-2-il)benzoato de metilo.

20

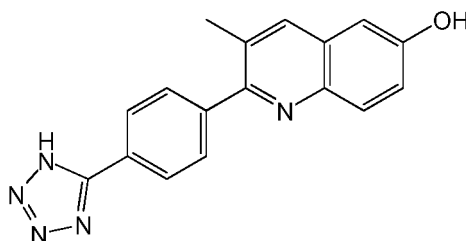
Etapas 2: Síntesis de ácido 4-(6-hidroxi-3-metilquinolin-2-il)benzoico

25

Se disolvió 4-(6-metoxi-3-metilquinolin-2-il)benzoato de metilo (37 mg, 0,121°mmol) en 2 ml de DCM y se añadió BBr₃ (150 µl). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 día seguido de la adición de 10 ml de F₂O. La solución se agitó vigorosamente durante 1 h seguido de filtración de los sólidos. Los sólidos se lavaron con H₂O y se secaron al vacío para proporcionar 9,5 mg (rendimiento del 28 %) del Compuesto 1. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 8,37 (s, 1H), 8,10 (d, 2H), 7,94 (d, 1H), 7,78 (d, 2H), 7,42-7,39 (dd, 1H), 7,24-7,23 (d, 1H), 2,43 (s, 3H). EM (IEN): *m/z* 280,10 [M+H]⁺.

30

Ejemplo 2: Compuesto 2: 2-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-3-metilquinolin-6-ol



35

Se siguió el Esquema 2: Condiciones A

Etapas 1: Síntesis de 2-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-6-metoxi-3-metilquinolina.

40

A una mezcla de 2-cloro-6-metoxi-3-metilquinolina (100 mg, 0,482°mmol), ácido 4-(1H-tetrazol-5-il)fenilborónico (91,2 mg, 0,482°mmol), K₂CO₃ (199 mg, 1,45°mmol) y PdCl₂ (dppf) (17,6 mg, 0,024°mmol) se le añadieron 7 ml de DEGME y 3 ml de H₂O en atmósfera de argón. La mezcla se agitó a 150 °C en un reactor de microondas durante 1,5 horas. La mezcla en bruto se diluyó con NaOH 1 N (10 ml) y se acidificó lentamente a un pH de 4,0 utilizando HCl conc. Los sólidos se filtraron para proporcionar 128 mg (rendimiento del 84 %) del producto deseado.

45

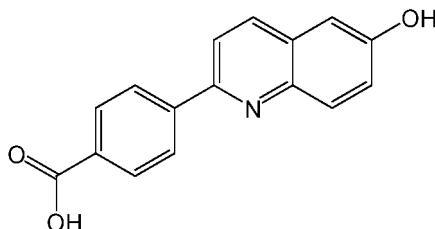
Etapas 2: Síntesis de (2-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-3-metilquinolin-6-ol).

Se disolvió 2-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-6-metoxi-3-metilquinolina (128 mg, 0,40°mmol) en 5 ml de NMP y se añadió Na₂S (47 mg, 0,60°mmol) a la misma. Después, la mezcla se agitó durante 4 horas a 140 °C en un reactor de microondas. Después de la concentración al vacío el producto en bruto se disolvió en 5 ml de NaOH 1 N y se

50

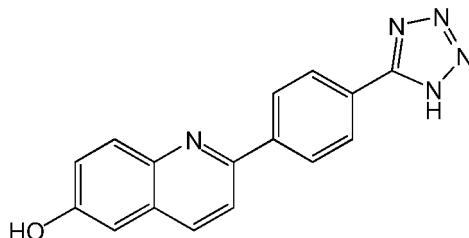
acidificó lentamente con HCl 1 N hasta un pH de 4. Los sólidos se filtraron y secaron al vacío para proporcionar 46,2 mg (rendimiento del 38 %) del Compuesto 2. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 10,10-10,00 (sa, 1H), 8,18-8,15 (d, 2H), 8,08 (s, 1H), 7,87-7,84 (m, 3H), 7,30-7,26 (d, 1H), 7,13 (s, 1H), 2,45 (s, 3H). EM (IEN): m/z 304,11 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5 **Ejemplo 3: Compuesto 3: ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico**



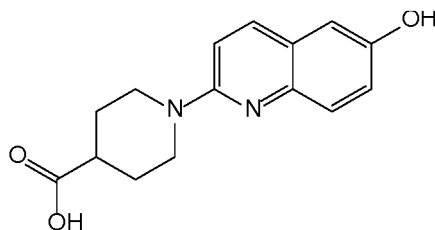
10 Se siguió el Esquema 2, Condiciones A: Materiales de partida: 2-cloro-6-metoxiquinolona (Intermedio 1) (100 mg, 0,52 mmol) y ácido (4-(metoxycarbonil)fenil)borónico. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 13,06-12,90 (sa, 1H), 10,14 (s, 1H), 8,36-8,33 (d, 2H), 8,30-8,27 (d, 1H), 8,11-8,6 (m, 3H), 7,97-7,94 (d, 1H), 7,38-7,34 (dd, 1H), 7,20 (s, 1H). EM (IEN): m/z 266,08 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

15 **Ejemplo 4: Compuesto 4: 2-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)quinolin-6-ol**



20 Se siguió el Esquema 2, Condiciones A: Materiales de partida: 2-cloro-6-metoxiquinolona (Intermedio 1) y (4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)borónico. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 10,15 (s, 1H), 8,45 (d, 2H), 8,31-8,28 (d, 1H), 8,22-8,12 (m, 3H), 7,98-7,95 (d, 1H), 7,39-7,35 (dd, 1H), 7,21 (s, 1H). EM (IEN): m/z 290,08 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

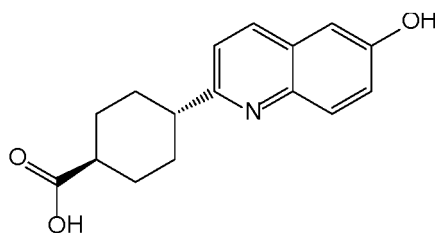
Ejemplo 5: Compuesto 5: ácido 1-(6-hidroxiquinolin-2-il)piperidin-4-carboxílico



25 **Etapla 1: Síntesis de 4-(6-metoxiquinolín-2-il)piperidin-4-il-carboxilato de etilo:** Se trató piperidina-4-carboxilato de etilo (100 mg) con 2-cloro-6-metoxiquinolona (Intermedio 1) (90 mg) en MeCN (0,8 ml) y TEA (100 mg) en un tubo sellado a 180 °C durante 6 h en un reactor de microondas. Después del tratamiento acuoso con EtOAc y la purificación en columna, eluyendo con EtOAc/hexano, se proporcionó 4-(6-metoxiquinolín-2-il)piperidin-4-il-carboxilato de etilo (90 mg) en forma de un sólido.

30 **Etapla 2: Síntesis del Compuesto 5:** Se trató 4-(6-metoxiquinolín-2-il)ciclohexanocarboxilato de etilo (90 mg) con etanotiolato de sodio (150 mg) en NMP (2 ml) a 100 °C durante 48 h. El producto deseado (50 mg) se purificó mediante una columna de intercambio catiónico Dowex 50W X8, eluyendo con agua y solución de NH_4OH 2 N. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 7,82 (1H, d, J = 9 Hz), 7,42 (1H, d, J = 9 Hz), 7,13 (1H, d, J = 9 Hz), 7,08 (1H, dd, J = 3, 9 Hz), 6,93 (1H, d, J = 3 Hz), 4,2-4,4 (2H, m), 2,88-2,97 (2H, m), 2,15-2,21 (1H, m), 1,80-1,86 (2H, m), 1,45-1,60 (1H, m) ppm. EM (IEN): m/z 273,0 $[\text{M}+1]^+$.

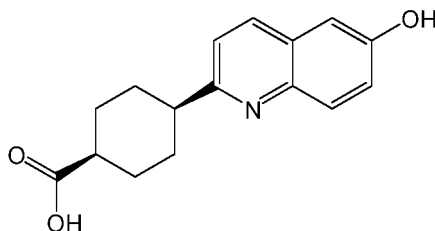
40 **Ejemplo 6: Compuesto 6: ácido (1r,4r)-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico**



Etapla 1: Síntesis de (1r,4r)-4-(6-metoxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxilato de metilo y (1s,4s)-4-(6-metoxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxilato de metilo: Se disolvió 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohex-3-enocarboxilato de metilo (261 mg) (Compuesto 16) en EtOAc (10 ml) y se mezcló con Pd/C al 10 % (38,5 mg). El sistema se sometió a vacío durante un tiempo corto y se cargó con hidrógeno. Este procedimiento se repitió tres veces. La mezcla de reacción se agitó en atmósfera hidrógeno durante 3 h. Después de la filtración para retirar el catalizador y la concentración a presión reducida, las mezclas resultantes se separaron mediante cromatografía en gel de sílice eluyendo con EtOAc/hexano para proporcionar (1s,4s)-4-(6-metoxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxilato de metilo (153 mg) y (1r,4r)-4-(6-metoxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxilato de metilo (72 mg) por separado.

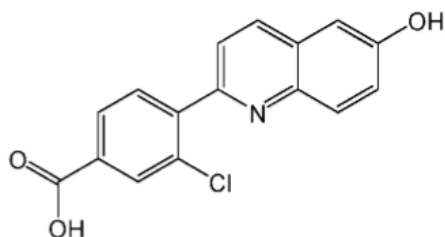
Etapla 2: Síntesis del Compuesto 6: Se siguió el procedimiento que se describe en la Etapa 2 del Ejemplo 5, a partir de (1r,4r)-4-(6-metoxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxilato de metilo (72 mg, producto anterior) para proporcionar el Compuesto 6 deseado. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 8,03 (1H, d, *J* = 9 Hz), 7,75 (1H, d, *J* = 9 Hz), 7,33 (1H, d, *J* = 9 Hz), 7,24 (1H, dd, *J* = 3, 9 Hz), 7,08 (1H, d, *J* = 3 Hz), 3,30 (1H, m), 2,76 (1H, m), 2,25-1,90 (4H, m) 1,75-1,50 (4H, m) ppm. EM (IEN): *m/z* 272,0 [M+1]⁺.

Ejemplo 7: Compuesto 7: ácido (1s,4s)-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico



Se siguió el procedimiento que se describe en la Etapa 2 del Ejemplo 5, a partir de (1s,4s)-4-(6-metoxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxilato de metilo (72 mg, véase el Ejemplo 6 Etapa 1 para la síntesis) para proporcionar el Compuesto 7 deseado. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 7,97 (1H, d, *J* = 9 Hz), 7,74 (1H, d, *J* = 9 Hz), 7,26 (1H, dd, *J* = 3, 9 Hz), 7,24 (1H, d, *J* = 9 Hz), 7,08 (1H, d, *J* = 3 Hz), 3,34 (1H, m), 2,75 (1H, m), 2,25-1,50 (8H, m) ppm. EM (IEN): *m/z* 272,0 [M+1]⁺.

Ejemplo 8: Compuesto 8: ácido 3-cloro-4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzoico



Se siguió el Esquema 2, Condiciones B:

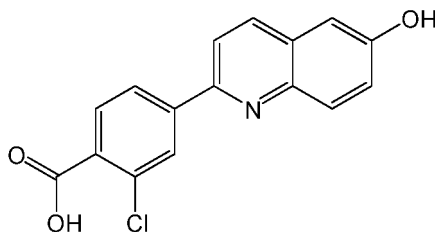
Etapla 1: Síntesis de ácido 3-cloro-4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzoico:

Una mezcla de 2-cloro-6-metoxiquinolina (Intermedio 1) (200 mg, 1,04 mmol), ácido 4-carboxi-2-clorofenilborónico (247 mg, 1,24 mmol) y K₂CO₃ (369 mg, 2,70 mmol) en DEGME/H₂O (7,0 ml/2,0 ml) se desgasificó tres veces en atmósfera de N₂. Después, se añadió PdCl₂ (dppf) (75 mg, 0,104 mmol) y la mezcla se calentó a 110 °C durante 3 horas en atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se filtró. El filtrado se lavó con salmuera (20 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para proporcionar ácido 3-cloro-4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzoico (150 mg, rendimiento del 46 %) en forma de un sólido de color amarillo, que se utilizó para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapla 2: Síntesis del Compuesto 8: A una suspensión de ácido 3-cloro-4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzoico

(150 mg, 0,479°mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (5 ml) se le añadió AlCl₃ (320 mg, 2,40°mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante la noche. La mezcla se inactivó con solución saturada de NH₄Cl (10 ml) y la capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂/MeOH (v/v = 10:1, 30 ml, 3 veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para proporcionar el producto en bruto, que se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar ácido 3-cloro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico (25 mg, rendimiento del 18 %). RMN ¹H (DMSO, 400 MHz): δ 10,20 (s a, 1H), 8,30 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 8,10-8,00 (m, 2H), 7,95 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,80 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,72 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,38 (dd, J = 6,4, 2,8 Hz, 1H), 7,22 (d, J = 2,4 Hz, 1H), EM (IEN): m/z 299,9 [M+H]⁺.

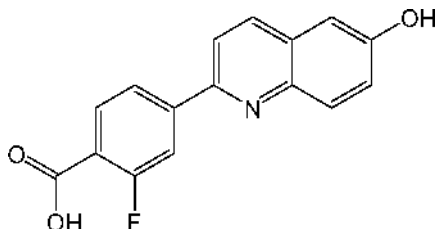
10 Ejemplo 9: Compuesto 9: ácido 2-cloro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico



Se siguió el Esquema 3:

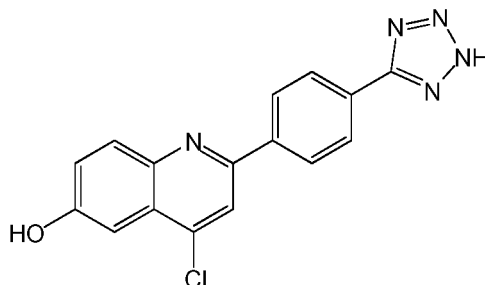
Una mezcla de 2-cloroquinolin-6-ol (Intermedio 2) (50 mg, 0,270°mmol), ácido 4-borono-2-clorobenzoico (55 mg, 270°mmol), K₂CO₃ (75 mg, 0,540°mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (25 mg, 0,0306°mmol) en 2-(2-metoxietoxi)etanol (1,5 ml) y agua (0,4 ml) se agitó en atmósfera de N₂ a 130 °C durante 3 horas. La mezcla resultante se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 9 (33 mg, rendimiento del 40 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz): δ 8,39 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 8,29 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 8,16-8,02 (m, 4H), 7,47 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,25 (d, J = 2,4 Hz, 1H). EM (IEN): m/z 298,0 [M-1]⁻.

25 Ejemplo 10: Compuesto 10: ácido 2-fluoro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico



Se siguió el Esquema 3: Materiales de partida: 2-cloroquinolin-6-ol (Intermedio 2) y ácido 4-borono-2-fluorobenzoico. RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz): δ 8,54 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 8,20-8,06 (m, 3H), 8,06-7,96 (m, 2H), 7,55 (dd, J = 9,2, 2,4 Hz, 1H), 7,32 (d, J = 2,8 Hz, 1H). EM (IEN): m/z 283,6 [M+H]⁺.

30 Ejemplo 11: Compuesto 11: 2-(4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)-4-cloroquinolin-6-ol



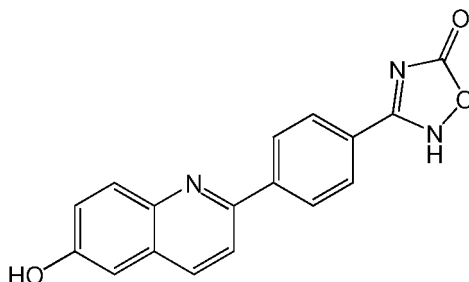
Etapla 1: Síntesis de 4-(4-cloro-6-metoxiquinolin-2-il)benzonitrilo: Se siguió el Esquema 2, Etapa 1, partiendo de ácido 4-cianofenilborónico y 2,4-dicloro-6-metoxiquinolona, donde el disolvente que se utilizó fue DMF, y el catalizador que se utilizó fue Pd(PPh₃)₄. La mezcla se calentó a 100 °C durante 3 h, se dejó enfriar y después se vertió en agua con hielo. El sólido resultante se aisló mediante filtración, se lavó con agua y se secó seguido de recristalización en metanol para proporcionar el producto deseado.

Etapla 2: Síntesis de 4-(4-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzonitrilo: Se siguió el procedimiento para el Esquema 1,

etapa 2, con un tratamiento con acetato de etilo/acuoso. La purificación mediante TLC preparativa proporcionó el producto deseado.

Etapa 3: Síntesis de 2-(4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)-4-cloroquinolin-6-ol: Se siguió el Esquema 4, Ruta A. A una solución de 4-(4-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzonitrilo (65 mg, 0,23^ommol) en tolueno (2 ml), se le añadió TMSN₃ (455 mg, 4,18^ommol) y Bu₂SnO (15 mg, 0,069^ommol) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a reflujo durante la noche. Los extractos volátiles se retiraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar el Compuesto 11 (10 mg, 13,5 %). RMN ¹H (MeOD-*d*₄, 500 MHz): δ 8,34 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 8,21 (s, 1H), 8,19 (s, 2H), 8,07 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,51 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 7,47 (dd, *J* = 2,5 Hz, *J* = 9,5 Hz, 1H). EM (IEN): *m/z* 324,0 [M+1]⁺.

Ejemplo 12: Compuesto 12: 3-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5 (2H)-ona

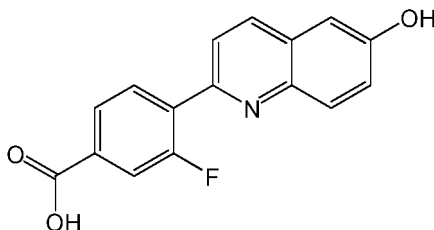


Etapa 1: Síntesis de 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzonitrilo: Se siguió el Esquema 3 a partir de 2-cloroquinolin-6-ol (Intermedio 2) y ácido 4-cianofenilborónico y utilizando una solución de 1,4-dioxano:H₂O. La reacción se ejecutó a 100 °C en un reactor de microondas durante 1 hora. A un tratamiento con acetato de etilo le siguió la cromatografía en columna (gradiente del 5 % al 50 % de EtOAc en hexanos).

Etapa 2: Síntesis de N-hidroxi-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)bencimidamida. Véase el Esquema 4, Ruta B. Se disolvió 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzonitrilo (900 mg, 3,68^ommol) en 25 ml de EtOH y se le añadió NH₂OH·HCl (500 mg, 7,36^ommol) y TEA (1,5 ml). La mezcla se agitó a 80 °C durante 2 horas seguido de concentración al vacío. Los sólidos en bruto se suspendieron a continuación en 25 ml de H₂O y se agitaron durante 1 hora. La filtración y el secado de los sólidos proporcionaron el producto deseado (800 mg, rendimiento del 78 %).

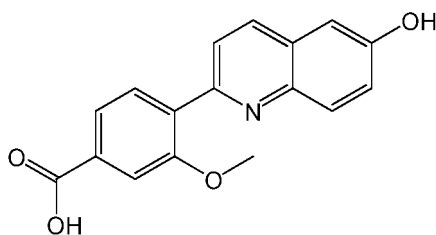
Etapa 3: Síntesis de (3-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-(2H)-ona): Se disolvió N-hidroxi-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)bencimidamida (800 mg, 2,86^ommol) en 25 ml de THF y CDI (557 mg, 3,44^ommol) y se añadió TEA (0,2 ml). La mezcla se agitó a 65 °C durante 2 horas, seguido de concentración al vacío. El material en bruto se disolvió en 10 ml de NaOH 1 N y se filtró a través de celita. Después, la mezcla se acidificó con HCl 1 N hasta un pH de 4,5 y los sólidos se filtraron y se secaron. Los sólidos se suspendieron en 10 ml de EtOAc durante la noche a 50 °C seguido de filtración para proporcionar el Compuesto 12 (315 mg, rendimiento del 36 %). RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 10,19 (s, 1H), 8,42 (d, 2H), 8,28 (d, 1H), 8,14-8,11 (d, 1H), 8,00-7,94 (m, 3H), 7,39-7,35 (dd, 1H), 7,21 (s, 1H). EM (IEN): *m/z* 306,44 [M+H]⁺.

Ejemplo 13: Compuesto 13: ácido 3-fluoro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico



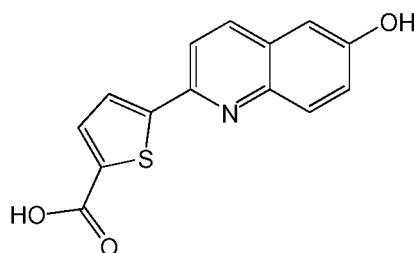
Se siguió el Esquema 3: Materiales de partida: 2-cloroquinolin-6-ol y ácido 4-borono-3-fluorobenzoico. RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz): δ 8,31 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,94-7,86 (m, 3H), 7,81-7,74 (m, 2H), 7,35 (dd, *J* = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,15 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H). EM (IEN): *m/z* 283,6 [M+H]⁺.

Ejemplo 14: Compuesto 14: ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)-3-metoxibenzoico



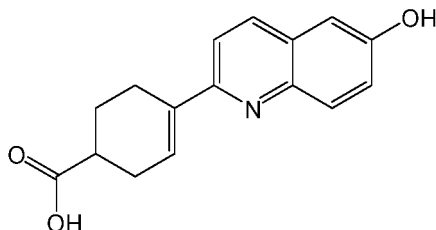
Se siguió el Esquema 3: Materiales de partida: 2-cloroquinolin-6-ol y ácido 4-borono-3-metoxibenzoico. RMN ^1H (CD $_3$ OD, 400 MHz): δ 8,81 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 8,14 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 8,10 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,89 (dd, J = 6,8, 1,6 Hz, 2H), 7,85 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,69 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,48 (d, J = 2,8 Hz, 1H). EM (IEN): m/z 295,7 [M+H] $^+$.

Ejemplo 15: Compuesto 15: ácido 5-(6-hidroxiquinolin-2-il)tiofeno-2-carboxílico



Se siguió el Esquema 3: Materiales de partida: 2-cloroquinolin-6-ol y ácido 5-boronotiofeno-2-carboxílico. RMN ^1H (CD $_3$ OD, 400 MHz): δ 8,25 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,97 (dd, J = 9,2, 3,2 Hz, 2H), 7,88-7,82 (m, 2H), 7,41 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,19 (d, J = 2,4 Hz, 1H). EM (IEN): m/z 271,6 [M+H] $^+$.

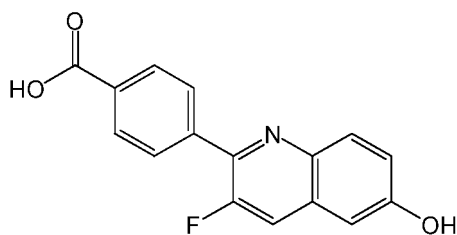
Ejemplo 16: Compuesto 16: ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohex-3-enocarboxílico



Etapla 1: Síntesis de 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohex-3-enocarboxilato de metilo: Se siguió el Esquema 3: Materiales de partida: 2-cloroquinolin-6-ol y 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)ciclohex-3-enocarboxilato de metilo.

Etapla 2: Síntesis de ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohex-3-enocarboxílico: Las condiciones básicas de hidrólisis con LiOH proporcionaron el producto final deseado. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 12,24 (1H, s), 9,92 (1H, s), 8,04 (1H, d, J = 9 Hz), 7,75 (1H, d, J = 9 Hz), 7,66 (1H, d, J = 9 Hz), 7,24 (1H, dd, J = 3, 9 Hz), 7,08 (1H, d, J = 3 Hz), 6,74 (1H, s), 3,30 (1H, m), 2,84 (1H, m), 2,50 (4H, m), 2,08 (1H, m), 1,71 (1H, m) ppm. EM (IEN): m/z 270,0 [M+1] $^+$.

Ejemplo 17: Compuesto 17: ácido 4-(3-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico



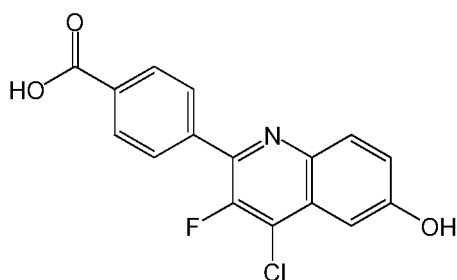
Etapla 1: Síntesis de ácido 4-(4-cloro-3-fluoro-6-metoxiquinolin-2-il)benzoico: Se siguió el Esquema 3, donde los materiales de partida eran 2,4-dicloro-3-fluoro-6-metoxiquinolina (Intermedio 3) y ácido 4-boronobenzoico donde el producto en bruto se purificó mediante columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 1/1) para proporcionar una mezcla

del compuesto ácido 4-(4-cloro-3-fluoro-6-metoxiquinolin-2-il)benzoico y ácido 4-(3-fluoro-6-metoxiquinolin-2-il)benzoico, que se utilizó para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa 2: Síntesis de ácido 4-(3-fluoro-6-metoxiquinolin-2-il)benzoico: A una solución de la mezcla de la Etapa 1 en MeOH absoluto (5 ml) se le añadió Pd/C (Pd al 10 %, 100 mg). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 hora en atmósfera de H₂. Los sólidos se separaron por filtración y el filtrado se concentró para proporcionar el producto (60 mg, rendimiento en dos etapas del 66 %).

Etapa 3: Síntesis de ácido 4-(3-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico: Se siguió el Esquema 2, etapa 2, condiciones B. RMN ¹H (DMSO, 400 MHz): δ 13,35 (s a, 1H), 10,40 (s a, 1H), 8,25 (d, J = 12,8 Hz, 1H), 8,27 (s, 4H), 8,01 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,40 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 7,25 (d, J = 2,8 Hz, 1H).

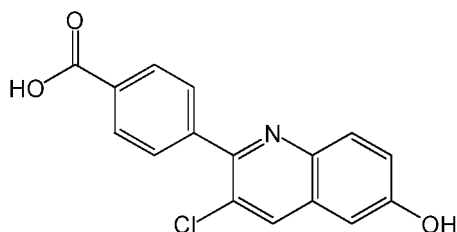
Ejemplo 18: Compuesto 18: ácido 4-(4-cloro-3-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico



Etapa 1: Síntesis de ácido 4-(4-cloro-3-fluoro-6-metoxiquinolin-2-il)benzoico: Síntesis descrita en la Etapa 1 del Ejemplo 17.

Etapa 2: Síntesis de ácido 4-(4-cloro-3-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico: Se siguió el Esquema 2, Etapa 2, condiciones B. RMN ¹H (DMSO, 400 MHz): δ 13,25 (s a, 1H), 10,75 (s a, 1H), 8,10 (s, 4H), 8,05 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,41 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,35 (d, J = 2,4 Hz, 1H).

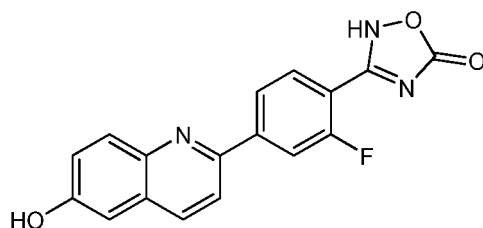
Ejemplo 19: Compuesto 19: ácido 4-(3-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico



Etapa 1: Síntesis de ácido 4-(3-cloro-6-metoxiquinolin-2-il)benzoico: Se siguió el Esquema 3 donde los materiales de partida fueron 2,3-dicloro-6-metoxiquinolina (Intermedio 4) y ácido 4-boronobenzoico.

Etapa 2: Síntesis de ácido 4-(4-cloro-3-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico: Se siguió el Esquema 2, Etapa 2, condiciones B. RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz): δ 8,35 (s, 1H), 8,17 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,95 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,80 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,40 (dd, J = 9,2, 2,4 Hz, 1H), 7,15 (d, J = 2,8 Hz, 1H). EM (IEN): m/z 299,8 [M+H]⁺.

Ejemplo 20: Compuesto 20: 3-(2-fluoro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-(4H)-ona

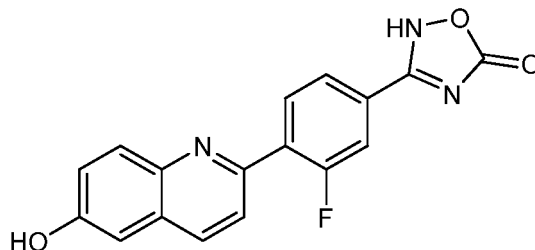


Etapa 1: Síntesis de 2-fluoro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzonitrilo: Se siguió el Esquema 3 partiendo de 2-cloroquinolin-6-ol (Intermedio 2) y ácido 4-ciano-3-fluorofenilborónico donde el producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice.

Etapa 2 y 3: Síntesis de 3-(2-fluoro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-(4H)-ona. Se siguió el

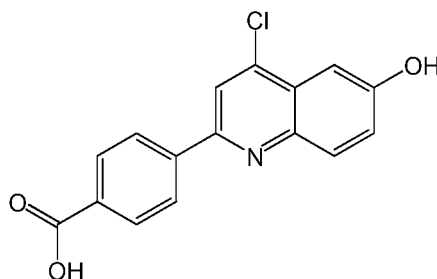
Esquema 4, Ruta B, Etapa 1: Después de retirar el disolvente al vacío, el producto en bruto 2-fluoro-N-hidroxi-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzimidamida se recogió sin purificación. Se siguió el Esquema 4, ruta B, etapa 2: La purificación en columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 10 % en DCM proporcionó el producto deseado. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 10,22 (1H, s), 8,27-8,33 (2H, m), 8,16 (1H, d, *J* = 9 Hz), 7,91-7,99 (2H, m), 7,66 (1H, d, *J* = 9 Hz), 7,39 (1H, dd, *J* = 3, 9 Hz), 7,21 (1H, d, *J* = 3 Hz) ppm. EM (IEN): *m/z* 324,0 [M+1]⁺.

Ejemplo 21: Compuesto 21: 3-(3-fluoro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-(4H)-ona



Se siguió el procedimiento descrito para el Compuesto 20 del Ejemplo 20 a partir de 2-cloroquinolin-6-ol (Intermedio 2) y ácido 4-ciano-2-fluorofenilborónico. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 10,22 (1H, s), 8,27-8,33 (2H, m), 7,97 (1H, d, *J* = 9 Hz), 7,77-7,82 (2H, m), 7,39 (1H, dd, *J* = 3, 9 Hz), 7,21 (1H, d, *J* = 3 Hz) ppm. EM (IEN): *m/z* 324,0 [M+1]⁺.

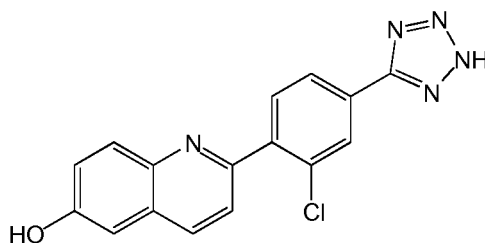
Ejemplo 22: Compuesto 22: ácido 4-(4-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico



Etapa 1: Síntesis de 4-(4-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzonitrilo: Se siguió la Etapa 2 del Esquema 1 a partir de 4-(4-cloro-6-metoxiquinolin-2-il)benzonitrilo (véase la etapa 1 del Ejemplo 11 para la síntesis).

Etapa 2: Síntesis de ácido 4-(4-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico: Una solución de 4-(4-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzonitrilo (40 mg, 0,14 mmol), HCl concentrado (1 ml) y dioxano (1 ml) se calentó a 90 °C durante la noche. La mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar el Compuesto 22 (10 mg, rendimiento: 23 %). RMN ¹H (MeOD-*d*₄, 500 MHz): 8,16 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 8,10 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 8,07 (s, 1H), 7,96 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,41 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 7,35 (dd, *J* = 3,0 Hz, *J* = 9,0 Hz, 1H). EM (IEN): *m/z* 300 [M+1]⁺.

Ejemplo 23: Compuesto 23: 2-(2-cloro-4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)quinolin-6-ol



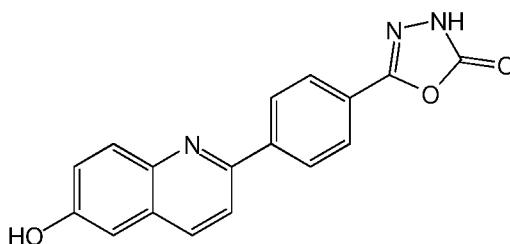
Procedimiento de ejemplo para el Esquema 5, Compuesto C.

Etapa 1: Síntesis de 3-cloro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzamida: Una mezcla de ácido 3-cloro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico (Compuesto 8, Ejemplo 8) (400 mg, 1,33 mmol) y SOCl₂ (10 ml) se calentó a reflujo durante 1 hora, después se concentró a presión reducida para proporcionar el producto en bruto (400 mg) en forma de sólido de color blanco mate. A este sólido se le añadió NH₄OH (10 ml) y la mezcla de reacción se agitó a 30 °C durante 1 hora. La mezcla resultante se acidificó con HCl acuoso (2 M) hasta pH = 6 y se extrajo con EtOAc (50 ml, 3 veces), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para proporcionar el producto en bruto (360 mg) en forma de un sólido.

Etapla 2: Síntesis de 3-cloro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzonitrilo: Una mezcla de 3-cloro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzamida (360 mg) en bruto, TFAA (505 mg, 2,40°mmol) y Et₃N (364 mg, 3,62°mmol) en DCM (20 ml) se agitó a 30 °C durante la noche. La mezcla resultante se suspendió en agua (50 ml) y se extrajo con EtOAc (50 ml, 3 veces). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 10/1) para proporcionar el producto (250 mg, rendimiento en 3 etapas del 67 %) en forma de un sólido.

Etapla 3: Síntesis de 2-(2-cloro-4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)quinolin-6-ol: Una mezcla de 3-cloro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzonitrilo (230 mg, 0,819°mmol), NaN₃ (55 mg, 0,820°mmol) y LiCl (70 mg, 1,64°mmol) en monometiléter de dietilenglicol (5 ml) se calentó a reflujo durante 4 horas. La mezcla resultante se enfrió, se filtró a través de una almohadilla de gel de sílice y se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 23 (32 mg, rendimiento del 12 %). RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz): δ 8,52 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,21 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 8,04 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,92-7,82 (m, 2H), 7,54 (dd, J = 9,2, 2,0 Hz, 1H), 7,34 (d, J = 2,0 Hz, 1H). EM (IEN): m/z 323,6 [M+H]⁺.

Ejemplo 24: Compuesto 24: 5-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,3,4-oxadiazol-2-(3H)-ona



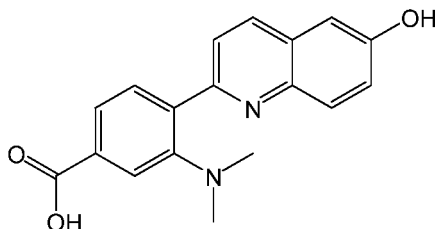
Procedimiento de ejemplo para el Esquema 5, Compuesto B.

Etapla 1: Síntesis de 2-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoil)hidrazinacarboxilato de *terc*-butilo: Una mezcla de ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico (Compuesto 3, Ejemplo 3) (200 mg, 0,754°mmol), EDCI (145 mg, 0,754°mmol) y BocNHNH₂ (100 mg, 0,754°mmol) en DCM (10 ml) y DMF (10 ml) se agitó a 25 °C durante la noche, seguido de un tratamiento acuoso/EtOAc. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 1/1) para proporcionar el producto (200 mg, rendimiento del 70 %) en forma de un sólido de color amarillo.

Etapla 2: Síntesis de 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzohidrazida: Una mezcla de 2-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoil)hidrazinacarboxilato de *terc*-butilo (240 mg, 0,633°mmol) y HCl/MeOH (20 ml, 4 M) se agitó a 25 °C durante la noche. La mezcla resultante se concentró a presión reducida a sequedad para proporcionar el producto (120 mg, rendimiento del 68 %).

Etapla 3: Síntesis de 5-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,3,4-oxadiazol-2-(3H)-ona: Una mezcla de 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzohidrazida (90 mg, 0,322°mmol) y CDI (454 mg, 3,22°mmol) en DCM (20 ml) se calentó a reflujo durante la noche. La mezcla resultante se enfrió a temperatura ambiente, seguido de un tratamiento acuoso/EtOAc. El producto en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 24 (18 mg, rendimiento del 11 %). RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz): δ 8,64-8,48 (m, 1H), 8,38-7,96 (m, 6H), 7,66-7,24 (m, 2H). EM (IEN): m/z 305,7 [M+H]⁺.

Ejemplo 25: Compuesto 25: ácido 3-(dimetilamino)-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico



Etapla 1: Síntesis de 3-amino-4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzoato de metilo: Se siguió el Esquema 2, etapa 1, a partir de ácido 2-amino-4-(metoxicarbonil)fenilborónico y 2-cloro-6-metoxiquinolína, con una purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 8/1) para proporcionar el producto.

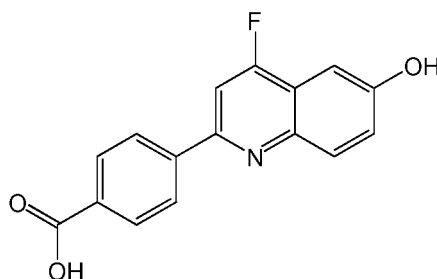
Etapla 2: Síntesis de 3-(dimetilamino)-4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzoato de metilo: A una solución del compuesto anterior (400 mg, 1,30°mmol) en MeOH/CH₂Cl₂ (10 ml/20 ml) se le añadió HCHO acuoso (37 % en agua, 0,4 ml), seguido de NaBH₃CN (327 mg, 5,19°mmol) y ZnCl₂ (348 mg, 2,60°mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 30 °C

durante 6 horas. La mezcla se inactivó con agua con hielo, la capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (30 ml, 3 veces), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (30 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró al vacío para proporcionar el producto (400 mg, rendimiento del 92 %).

- 5 **Etapla 3: Síntesis de 3-(dimetilamino)-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoato de metilo:** Se siguió el Esquema 2, etapa 2, condiciones B, donde el producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 5/1) para proporcionar el producto deseado.

- 10 **Etapla 4: Síntesis de ácido 3-(dimetilamino)-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico:** A una solución del compuesto anterior (290 mg, 0,901 mmol) en THF/MeOH (8 ml/4 ml) se le añadió LiOH acuoso (1 M, 4 ml). La mezcla se agitó a 30 °C durante 3 horas. La mezcla se diluyó con H_2O (10 ml), la capa acuosa se neutralizó con HCl 2 M a pH 7. A un tratamiento acuoso/ CH_2Cl_2 le siguió la cromatografía en columna de gel de sílice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ = 10/1) para proporcionar el Compuesto 25 (80 mg, rendimiento del 29 %). RMN ^1H (MeOD- d_4 , 400 MHz): δ 8,15 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,95 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,87-7,81 (m, 2H), 7,76 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,60 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,38 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 7,20 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 2,65 (s, 6H). EM (IEN): m/z 308,9[M+H] $^+$.
- 15

Ejemplo 26: Compuesto 26: ácido 4-(4-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico

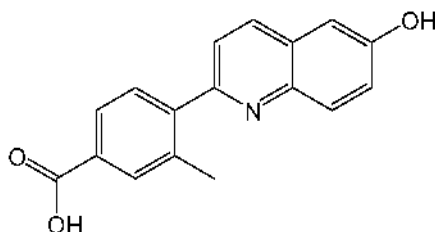


- 20 **Etapla 1: Síntesis de 4-(4-fluoro-6-metoxiquinolin-2-il)benzonitrilo:** Una mezcla de 4-(4-cloro-6-metoxiquinolin-2-il)benzonitrilo (véase el Ejemplo 11, Etapa 1) (1 g, 3,4 mmol), CsF (5,2 g, 34 mmol) y $n\text{-Bu}_4\text{NBR}$ (109 mg, 0,34 mmol) en DMSO (10 ml) se calentó a 150 °C durante 2 h. A un tratamiento acuoso/EtOAc le siguió la purificación mediante cromatografía en columna (PE/EA = 10/1) para proporcionar el producto deseado (300 mg, 31,7 %).
- 25

- Etapla 2: Síntesis de 4-(4-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzonitrilo:** Se siguió la Etapa 2 del Esquema 1, donde un tratamiento acuoso/EtOAc de siguió de cromatografía en columna (PE:EA = 4:1) para proporcionar el producto deseado.
- 30

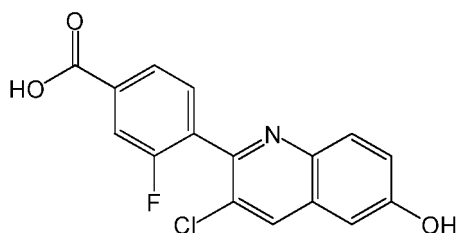
- Etapla 3: Síntesis de ácido 4-(4-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico:** Una mezcla del producto anterior (100 mg, 0,38 mmol) y NaOH (152 mg, 3,8 mmol) en 1,4-dioxano/ H_2O (1 ml/1 ml) se calentó a reflujo durante la noche. Los extractos volátiles se retiraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa y después TLC preparativa (EtOAc) para proporcionar el Compuesto 26 (10 mg, 9,3 %). RMN ^1H (MeOD- d_4 , 500 MHz): 8,22-8,17 (m, 4H), 8,04 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 7,79 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 7,43 (dd, J = 2,5 Hz, J = 9,0 Hz, 1H), 7,31 (d, J = 2,0 Hz, 1H). EM (IEN): m/z 284,0 [M+1] $^+$.
- 35

Ejemplo 27: Compuesto 27: ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)-3-metilbenzoico



- 40 Se siguió el Esquema 3: Materiales de partida: 2-cloroquinolin-6-ol y 3-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 10,45 (s a, 1H), 8,61-8,46 (m, 1H), 8,03 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,92 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,78 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,50 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,35 (s, 1H), 2,42 (s, 3H). EM (IEN): m/z 279,9 [M+H] $^+$.
- 45

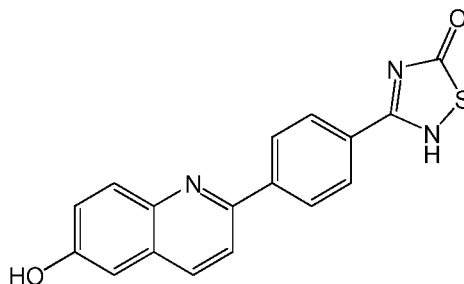
Ejemplo 28: Compuesto 28: ácido 4-(3-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)-3-fluorobenzoico



Etapla 1: Síntesis de ácido 4-(3-cloro-6-metoxiquinolin-2-il)-3-fluorobenzoico: Esquema 3: a partir de 2,3-dicloro-6-metoxiquinolona (Intermedio 4) y ácido 4-borono-3-fluorobenzoico. Se realizó un tratamiento acuoso/EtOAc seguido de purificación mediante columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 1/1) para proporcionar el producto deseado.

Etapla 2: Síntesis de ácido 4-(3-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)-3-fluorobenzoico: Esquema 1, etapa 2: donde la reacción se calentó a reflujo durante 18 horas, seguido de un tratamiento con acuoso/EtOAc con MeOH al 10 %. La purificación mediante HPLC preparativa proporcionó el Compuesto 28. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 13,45 (s a, 1H), 10,39 (s a, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,94-7,88 (m, 2H), 7,80 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 7,67 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 7,38 (dd, J = 6,8, 2,4 Hz, 1H), 7,21 (d, J = 2,8 Hz, 1H). EM (IEN): m/z 317,8 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ejemplo 29: Compuesto 29: 3-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-tiadiazol-5-(2H)-ona

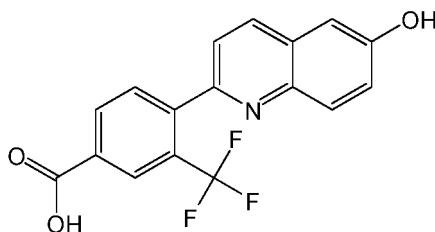


Etapla 1: Síntesis de N-hidroxi-4-(6-metoxiquinolin-2-il)bencimidamida: Esquema 4, ruta B, etapa 1: Se suspendió 4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzonitrilo (preparado a través del esquema 3) (780 mg, 3,00 $^{\circ}$ mmol) en metanol (10 ml) y se añadieron clorhidrato de hidroxilamina (639 mg, 10,7 $^{\circ}$ mmol) y K_2CO_3 (414 mg, 3,00 $^{\circ}$ mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 12 horas. Se añadió agua (15 ml) y el sólido precipitado se recogió por filtración, se lavó con etanol (5 ml) y se secó a alto vacío para proporcionar el producto (600 mg).

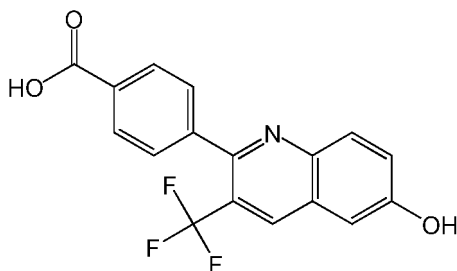
Etapla 2: Síntesis de 3-(4-(6-metoxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-tiadiazol-5-(2H)-ona: Esquema 4, ruta B, etapa 2: A una solución del producto anterior (450 mg) en THF (10 ml) se le añadió TCDI (410 mg, 2,30 $^{\circ}$ mmol) y la mezcla se agitó a 30 $^{\circ}\text{C}$ durante 3 horas. Después de la terminación de la reacción, el disolvente se retiró para proporcionar el producto (300 mg).

Etapla 3: Síntesis de 3-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-tiadiazol-5-(2H)-ona: Esquema 1, etapa 2: La reacción se calentó a reflujo durante la noche, seguido de un tratamiento acuoso/EtOAc y purificación mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 29. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 13,50 (s a, 1H), 8,40-8,26 (m, 3H), 8,18-8,4 (m, 3H), 7,95 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,36 (dd, J = 9,0, 2,4 Hz, 1H), 7,20 (d, J = 2,7 Hz, 1H). EM (IEN): m/z 322,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

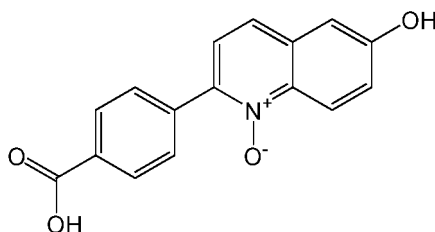
Ejemplo 30: Compuesto 30: ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)-3-(trifluorometil)benzoico



Se siguió el Esquema 3: comenzando con 2-cloroquinolin-6-ol y 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-(trifluorometil)benzoato de metilo (Intermedio 5). RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 10,21 (s a, 1H), 8,35-8,25 (m, 3H), 7,89 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,79 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,57 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,38 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,23 (d, J = 2,4 Hz, 1H). EM (IEN): m/z 333,7 $[\text{M}+\text{H}]^+$. F:

Ejemplo 31: Compuesto 31: ácido 4-(6-hidroxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)benzoico

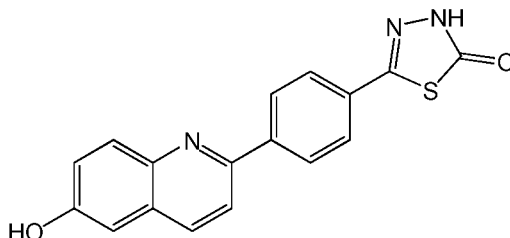
5 Se siguió el Esquema 3: comenzando con ácido 4-carboxifenilborónico y 2-cloro-3-(trifluorometil)quinolin-6-ol (Intermedio 6). RMN ^1H (DMSO, 400 MHz): δ 13,10 (s a, 1H), 10,45 (s a, 1H), 8,84 (s, 1H), 8,02 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,97 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,60 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,50 (dd, $J = 9,2, 2,8$ Hz, 1H), 7,40 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H). EM (IEN): m/z 333,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

10 Ejemplo 32: Compuesto 32: 1-óxido de 2-(4-carboxifenil)-6-hidroxiquinolina

15 **Etapla 1: Síntesis de 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoato de metilo:** Esquema 1, etapa 1, a partir de ácido 4-(metoxycarbonilo)fenilborónico y 2-cloroquinolin-6-ol, utilizando Na_2CO_3 en lugar de TEA.

Etapla 2: Síntesis de 1-óxido de 6-hidroxi 2-(4-(metoxycarbonil)fenil)quinolina: A una solución del compuesto anterior (200 mg, 0,72 mmol) en 1,4-dioxano (5 ml) se le añadió mCPBA (372 mg, 2,16 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante tres días. Los extractos volátiles se retiraron a presión reducida. El residuo se repartió entre una solución saturada de Na_2CO_3 (10 ml) y EtOAc (20 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (10 ml), se secó sobre Na_2SO_4 , se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el producto (40 mg, 18,9 %).

25 **Etapla 3: Síntesis de 1-óxido de 2-(4-carboxifenil)-6-hidroxiquinolina:** Una solución del compuesto anterior (40 mg, 0,14 mmol) y NaOH (16 mg, 0,41 mmol) en 1,4-dioxano/agua (1,5 ml /0.5 ml) se calentó a 80 °C durante 2 h. Los extractos volátiles se retiraron al vacío. El residuo se repartió entre agua (8 ml) y EtOAc (10 ml). La fase acuosa se separó, se acidificó con HCl 1 N a pH = 5. El precipitado resultante se filtró, se lavó con agua y EtOH y se secó al vacío para producir el Compuesto 32 (10 mg, 25,6 %). RMN ^1H (MeOD- d_4 , 500 MHz): 8,61 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 8,20 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 8,04-7,99 (m, 3H), 7,65 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,48 (dd, $J = 2,0$ Hz, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,30 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H); EM (IEN): m/z 282,0 $[\text{M}+1]^+$.

Ejemplo 33: Compuesto 33: 5-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,3,4-tiadiazol-2-(3H)-ona

35 Procedimiento de ejemplo para el Esquema 5, Compuesto A.

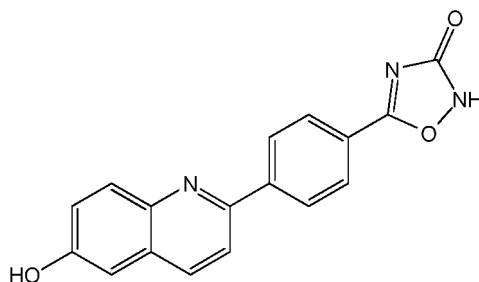
40 **Etapla 1: Síntesis 2-(4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzoil)hidrazinacarboxilato de terc-butilo:** Esquema 5, etapa 1 de la ruta A (véase Ejemplo 24, etapa 1) a partir de ácido 4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzoico (preparado siguiendo el Esquema 3).

Etapla 2: Síntesis de 2-(4-(6-metoxiquinolin-2-il)fenilcarbonotioil)hidrazinacarboxilato de terc-butilo: Una

mezcla del compuesto anterior (2,30 g, 5,85°mmol) y reactivo de Lawesson (2,30 g, 5,69°mmol) en tolueno anhidro (150 ml) se calentó a reflujo durante la noche. La mezcla resultante se concentró al vacío. El residuo se lavó con MeOH y el sólido se aisló. El filtrado se concentró al vacío y el residuo se purificó mediante columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 3/1) para proporcionar el 2-(4-(6-metoxiquinolin-2-il)fenilcarbonotioil)hidrazinacarboxilato de *tert*-butilo en bruto (2,00 g).

Etapla 3: Síntesis de 5-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,3,4-2-tiadiazol-(3H)-ona: Una mezcla de 2-(4-(6-metoxiquinolin-2-il)fenilcarbonotioil)hidrazinacarboxilato de *tert*-butilo (500 mg, 1,49°mmol) y AlCl₃ (600 mg, 4,50°mmol) en DCM anhidro (50 ml) se calentó a reflujo durante la noche. La reacción se enfrió, seguido de un tratamiento acuoso/EtOAc. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar el Compuesto 33 (35 mg, rendimiento del 7 %) en forma de un sólido. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 13,22 (s a, 1H), 10,22 (s a, 1H), 8,40-8,28 (m, 3H), 8,11 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,98 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,86 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,38 (dd, *J* = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,22 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H). EM (IEN): *m/z* 321,7 [M+H]⁺.

Ejemplo 34: Compuesto 34: 5-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-3 (2H)-ona

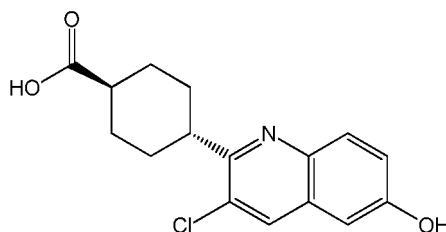


Etapla 1: Síntesis de 4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzamida: A una suspensión de 4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzonitrilo (5,00 g, 15,4°mmol, preparado siguiendo el Esquema 2, Etapa 1 partiendo del Intermedio 1 y ácido 4-cianofenilborónico) en DMSO (40 ml) se le añadió NaOH acuoso (1 M, 10 ml). La mezcla se enfrió a 0 °C. Se le añadió el H₂O₂ acuoso gota a gota (30 %, 30 ml). Después de la adición, la mezcla se agitó a 0 °C durante 30 minutos. La mezcla se inactivó con solución saturada de Na₂SO₃ (100 ml) y se filtró. El precipitado se lavó con H₂O (50 ml) y MeOH (50 ml). La torta del filtro se secó a alto vacío para proporcionar el producto deseado (5,50 g, rendimiento: 99+ %) en forma de un sólido.

Etapla 2: Síntesis de 5-(4-(6-metoxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-ol: A una suspensión de 4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzamida (2,00 g, 7,19°mmol) en DCE (20 ml) se le añadió cloruro de oxalilo (1,10 g, 8,99°mmol) rápidamente a 30 °C. La mezcla se calentó a 70 °C durante 16 horas. El disolvente se retiró al vacío para proporcionar un sólido de color amarillo (2,00 g), que se utilizó directamente sin purificación adicional. Una suspensión de este material (2,00 g) en TMSN₃ (30 ml) se calentó a 90 °C durante dos días. El exceso de TMSN₃ se retiró al vacío y el residuo se diluyó con EtOH (200 ml). La mezcla se filtró y el filtrado se concentró para proporcionar 5-(4-(6-metoxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-ol (700 mg, rendimiento en dos etapas: 30 %) en forma de un sólido.

Etapla 3: Síntesis de 5-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-ol: Se siguió el Esquema 2, etapa 2, condiciones B, para proporcionar el Compuesto 34 (60 mg, rendimiento: 18 %) en forma de un sólido. RMN ¹H (DMSO 400 MHz): δ 12,90 (s a, 1H), 10,15 (s a, 1H), 8,45 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 8,30 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 8,15-8,10 (m, 3H), 7,92 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,5 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 7,20 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H). EM (IEN): *m/z* 305,9 [M+H]⁺.

Ejemplo 35: Compuesto 35: ácido (1*r*,4*r*)-4-(3-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico



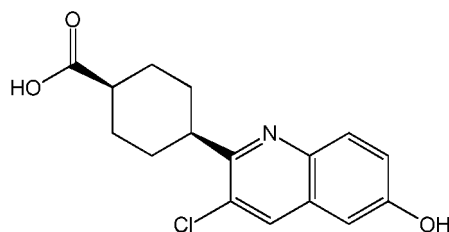
Etapla 1 Síntesis 4-(3-cloro-6-metoxiquinolin-2-il)ciclohex-3-enocarboxilato de etilo: Se siguió el Esquema 2, Etapa 1 (véase el Ej 8, Etapa 1) a partir de 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)ciclohex-3-enocarboxilato de etilo y 2,3-dicloro-6-metoxiquinolina (Intermedio 4).

Etapla 2: Síntesis 4-(3-cloro-6-metoxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxilato de etilo: Al 4-(3-cloro-6-metoxiquinolin-2-il)ciclohex-3-enocarboxilato de etilo (900 mg, 2,60°mmol) en EtOH (40 ml) se le añadió Rh(PPh₃)₃Cl

(90,0 mg 0,0900 mmol). La mezcla se agitó a 30 °C durante 4 días en atmósfera de H₂ (103,42 kPa). La mezcla se filtró y el filtrado se concentró para proporcionar el producto en bruto, que se purificó mediante columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 10/1) para proporcionar el producto deseado (234 mg, rendimiento del 26 %).

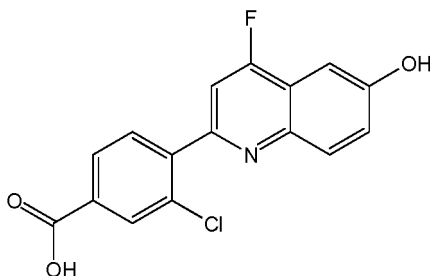
- 5 **Etapas 3: Síntesis de ácido (1*r*,4*r*)-4-(3-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico:** A una mezcla de 4-(3-cloro-6-metoxiquinolin-2-il)ciclohex-3-enocarboxilato de etilo (200 mg, 0,580 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (10 ml) se le añadió BBr₃ (0,3 ml, 2,9 mmol) gota a gota a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 horas. Se añadió agua (10 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (30 ml, 3 veces). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml, 2 veces), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar el producto en bruto, que se purificó mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) para proporcionar ácido (1*r*,4*r*)-4-(3-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico (Compuesto 35, 65 mg, rendimiento del 37 %) en forma de un sólido y ácido (1*s*,4*s*)-4-(3-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico (Compuesto 36, 26 mg, rendimiento del 15 %) en forma de un sólido. La estructura se confirmó mediante NOE. Datos para el Compuesto 35: RMN ¹H (DMSO 400 MHz): δ 10,08 (s a, 1H), 8,27 (s, 1H), 7,79 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,26 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,08 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 3,18 (tt, J_{aa} = 12,0 Hz, J_{ea} = 3,2 Hz, 1H), 2,28 (tt, J_{aa} = 12,0 Hz, J_{ea} = 3,2 Hz, 1H), 2,03 (d, J = 10,4 Hz, 2H), 1,91 (d, J = 10,8 Hz, 2H), 1,72-1,60 (m, 2H), 1,55-1,40 (m, 2H). EM (IEN): *m/z* 306,0 [M+H]⁺.

Ejemplo 36: Compuesto 36: ácido (1*s*,4*s*)-4-(3-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico



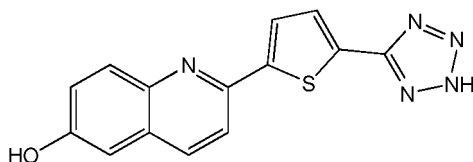
Véase el Ejemplo 35 para la síntesis. RMN ¹H (DMSO 400 MHz): δ 10,11 (s a, 1H), 8,28 (s, 1H), 7,82 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,27 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,09 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 3,32-3,19 (m, 1H), 2,70-2,60 (m, 1H), 2,25-2,14 (m, 2H), 1,85-1,70 (m, 4H), 1,70-1,58 (m, 2H). EM (IEN): *m/z* 306,0 [M+H]⁺.

Ejemplo 37: Compuesto 37: ácido 3-cloro-4-(4-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico



- 30 Se siguió el Esquema 2, condiciones B a partir de 2-cloro-4-fluoro-6-metoxiquinolona (Intermedio 7) y ácido 4-carboxi-2-clorofenilborónico. RMN ¹H (MeOD 400 MHz): δ 8,20 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 8,10 (dd, J = 8,0, 1,6 Hz, 1H), 8,02 (d, J = 9,2, 1,2 Hz, 1H), 7,75 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,52-7,45 (m, 2H), 7,47 (d, J = 2,4 Hz, 1H). EM (IEN): *m/z* [M+H]⁺.

35 **Ejemplo 38: Compuesto 38: 2-(5-(2H-tetrazol-5-il)tiofen-2-il)quinolin-6-ol**

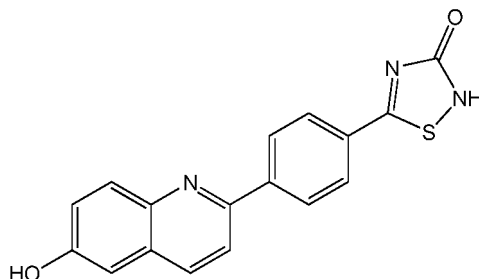


- 40 **Etapas 1 y 2: Síntesis de 5-(6-hidroxiquinolin-2-il) tiofeno-2-carbonitrilo:** Se siguió la síntesis de dos etapas que se muestra en el Esquema 1 a partir de 2-cloro-6-metoxiquinolona y ácido 5-cianotiofen-2-ilborónico, con variaciones menores: la base utilizada en la etapa 1 era carbonato de sodio y el disolvente era DME (dimetoxietano)/agua. En la etapa 2, después de inactivar con agua con hielo, se realizó una extracción de acetato de etilo estándar seguida de la purificación por TLC preparativa (PE:EA = 1:1).

45 **Etapas 3: Síntesis de 2-(5-(2H-tetrazol-5-il)tiofen-2-il)quinolin-6-ol:** Se siguió el Esquema 4, ruta A. RMN ¹H

(DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 10,15 (s, 1H), 8,23 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 8,05 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,99 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 7,86 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,78 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H), 7,34 (dd, *J* = 2,5, 9,0 Hz, 1H), 7,17 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H). EM (IEN): *m/z* [M+1]⁺.

5 **Ejemplo 39: Compuesto 39: 5-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-tiadiazol-3-(2H)-ona**

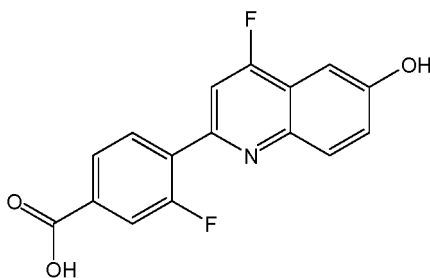


10 **Etapla 1: Síntesis de 4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzotioamida:** A una suspensión de 4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzamida (véase el Ejemplo 34 etapa 1 para la síntesis, 3,00 g, 10,8^ommol) en tolueno anhidro (50 ml) se le añadió Reactivo de Lawessen (2,60 g, 6,44^ommol). La mezcla se calentó a reflujo durante 3 horas. La mezcla se diluyó con MeOH (50 ml) y se separó por filtración. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto en bruto, que se purificó mediante columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 1/1) para proporcionar el producto (1,30 g, rendimiento del 41 %) en forma de un sólido.

15 **Etapla 2 y 3: Síntesis de 5-(4-(6-metoxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-tiadiazol-3-(2H)-ona:** A una solución de 4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzotioamida (500 mg, 1,07^ommol) en DCE (10 ml) se le añadió cloruro de oxalilo (0,3 ml, 3,9 mmol) gota a gota a 0 °C. La mezcla se calentó a 90 °C durante 2 horas. Se añadió TMSN₃ gota a gota (0,8 ml, 5,7^ommol). La mezcla se agitó a 100 °C durante 2 horas. Se añadió agua (10 ml) a la mezcla. La mezcla se filtró y la torta del filtro se lavó con IPA (20 ml) para proporcionar el producto (280 mg, rendimiento del 49 %).

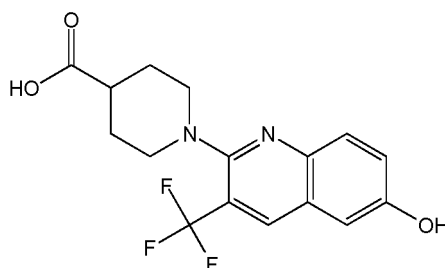
20 **Etapla 4: Síntesis de 5-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-tiadiazol-3-(2H)-ona:** Se siguió el Esquema 2, Etapa 2, condiciones B para la desmetilación. RMN ¹H (DMSO 400 MHz): δ 12,76 (s a, 1H), 10,16 (s a, 1H), 8,41 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 8,29 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 8,15-8,2 (m, 3H), 7,95 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,36 (dd, *J* = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,19 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), EM (IEN): *m/z* 321,9 [M+H]⁺.

Ejemplo 40: Compuesto 40: ácido 3-fluoro-4-(4-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico



30 El compuesto se preparó siguiendo el Esquema 2, condiciones B, a partir de 2-cloro-4-fluoro-6-metoxiquinolona (Intermedio 7) y ácido 4-carboxi-2-fluorofenilborónico. Nota: En la etapa 2, después de purificación mediante HPLC preparativa, las fracciones recogidas se neutralizaron inmediatamente con NaHCO₃ saturado a pH 6, seguido de extracción con EtOAc/MeOH (v/v = 10/1, 50 ml, 3 veces). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para proporcionar el producto deseado. RMN ¹H (MeOD 400 MHz): δ 8,10-8,00 (m, 2H), 7,98 (dd, *J* = 8,0, 1,2 Hz, 1H), 7,85 (dd, *J* = 11,6, 1,2 Hz, 1H), 7,62 (dd, *J* = 11,6, 2,0 Hz, 1H), 7,45 (dd, *J* = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,31 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H). EM (IEN): *m/z* 301,8 [M+H]⁺.

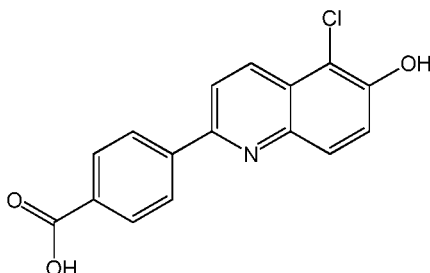
40 **Ejemplo 41: Compuesto 41: ácido 1-(6-hidroxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)piperidin-4-carboxílico**



Etapla 1: Síntesis de 1-(6-metoxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)piperidin-4-carboxilato de etilo: A una solución de 2-cloro-6-metoxi-3-(trifluorometil)quinolina (1,00 g, 3,85°mmol) (véase el Intermedio 6, Etapa 8 para la síntesis) en IPA (5 ml) se le añadió 4-piperidincarboxilato de metilo (5,50 g, 38,5°mmol) y Et₃N (1,17 g, 11,6°mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 48 horas. La mezcla se diluyó con agua (100 ml) y se extrajo con DCM (100 ml, 3 veces), las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (200 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto en bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 15/1) para proporcionar el producto (600 mg, rendimiento del 43 %) en forma de un sólido.

Etapla 2: Síntesis de ácido 1-(6-hidroxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)piperidin-4-carboxílico: A una solución de 1-(6-metoxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)piperidin-4-carboxilato de etilo (300 mg, 0,815°mmol) en DCM (5 ml) se le añadió BBr₃ (0,4 ml, 4,08°mmol) gota a gota a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 20 horas. Se añadió agua (10 ml) gota a gota a la mezcla a 0 °C. La mezcla se concentró al vacío, después se diluyó con EtOAc (150 ml), se filtró y se concentró al vacío. La purificación mediante HPLC preparativa (0,1 % de TFA como aditivo) proporcionó el Compuesto 41 (26 mg, rendimiento del 9,4 %) en forma de un sólido. RMN ¹H (MeOD 400 MHz): δ 8,51 (s, 1H), 7,82 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,41 (dd, J = 8,8, 2,8 Hz, 1H), 7,21 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 3,55-3,49 (m, 2H), 3,13-3,02 (m, 2H), 2,58-2,49 (m, 1H), 2,09-2,00 (m, 2H), 1,93-1,82 (m, 2H). EM (IEN): m/z 340,7 [M+H]⁺.

Ejemplo 42: Compuesto 42: ácido 4-(5-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico

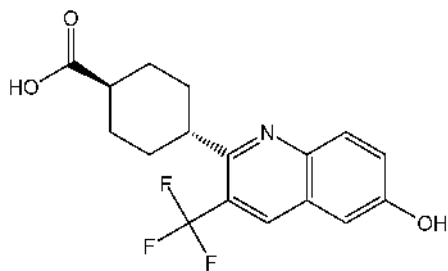


Etapla 1 Síntesis de 4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzoato de metilo: Una mezcla de 2-cloro-6-metoxiquinolina (Intermedio 1, 200 mg, 1,0°mmol), ácido 4-(metoxycarbonil)fenilborónico (205 mg, 1,1°mmol), Pd(dppf)Cl₂ (366 mg, 0,5°mmol) y carbonato de sodio (212 mg, 2,0°mmol) en 1,4-dioxano/agua (3 ml/0,6 ml) se calentó a 120 °C por microondas durante 1 h. Se filtraron los precipitados; se lavaron con EA (10 ml), acetona (10 ml) y agua (10 ml) por separado; se secaron para proporcionar el producto (120 mg, 40,9 %).

Etapla 2: Síntesis de 4-(5-cloro-6-metoxiquinolin-2-il)benzoato de metilo: A una solución del producto anterior (100 mg, 0,34°mmol) en AcOH (2 ml) se le añadió SO₂Cl₂ (55 mg, 0,41°mmol). La mezcla de reacción se calentó a 60 °C durante 3 h. Después, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Los precipitados se filtraron, se lavaron con AcOH (10 ml, 3 veces) y se secaron para proporcionar el producto en forma de un polvo (100 mg, 90,1 %).

Etapla 3: Síntesis de ácido 4-(5-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico: Se siguió el Esquema 1, etapa 2, con una purificación mediante HPLC preparativa para proporcionar el producto. RMN ¹H (DMSO-d₆, 500 MHz): 8,50 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 8,32 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 8,25 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,10 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,96 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 7,62 (d, J = 9,0 Hz, 1H); EM (IEN): m/z 300,0 [M+1]⁺.

Ejemplo 43: Compuesto 43: ácido (1r,4r)-4-(6-hidroxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico

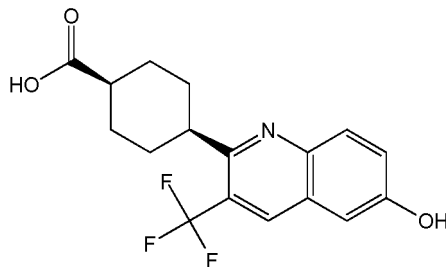


Etapa 1: Síntesis de 4-(6-metoxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)ciclohex-3-enocarboxilato de etilo: Se siguió el Esquema 2, Etapa 1 (véase el Ejemplo 8, Etapa 1) a partir de 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)ciclohex-3-enocarboxilato de etilo y 2-cloro-6-metoxi-3-(trifluorometil)quinolina (véase el Intermedio 6, Etapa 8 para la síntesis), con una purificación mediante cromatografía en columna (PE/EtOAc = 10/1).

Etapa 2: Síntesis de 4-(6-metoxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)ciclohexanocarboxilato de etilo: Se siguió la etapa 2 del Compuesto 35 con 0,15 equivalentes de catalizador a 20 °C durante 4 días en atmósfera de H₂ (103,42 kPa).

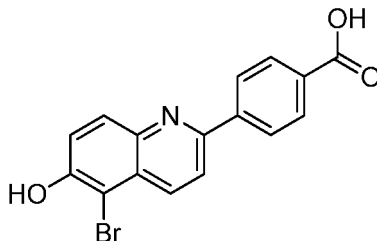
Etapa 3: Síntesis de ácido (1*r*,4*r*)-4-(6-hidroxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico: Se siguió la etapa 3 del Compuesto 35, donde la reacción se agitó a 10 °C durante 20 horas antes de inactivar con agua. Se purificó el producto en bruto mediante HPLC preparativa para proporcionar 4-(6-metoxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)ciclohexanocarboxilato de etilo (Compuesto 43, 109 mg, rendimiento del 29 %) en forma de un sólido y ácido (1*s*,4*s*)-4-(6-hidroxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico (Compuesto 44, 25 mg, rendimiento del 7 %) en forma de un sólido. Datos del Compuesto 43: RMN ¹H (DMSO 400 MHz): δ 10,27 (s a, 1H), 8,61 (s, 1H), 7,89 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,44 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,32 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 3,01-2,91 (m, 1H), 2,40-2,30 (m, 1H), 2,00-1,90 (m, 2H), 1,95-1,78 (m, 4H), 1,53-1,38 (m, 2H). EM (IEN): *m/z* 339,9 [M+H]⁺.

Ejemplo 44: Compuesto 44: ácido (1*s*,4*s*)-4-(6-hidroxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico



Véase Ejemplo 43 para la síntesis. RMN ¹H (DMSO 400 MHz): δ 10,26 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 7,89 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,43 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,31 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 3,09-2,95 (m, 1H), 2,75-2,62 (m, 1H), 2,28-2,16 (m, 2H), 1,98-1,80 (m, 2H), 1,60-1,55 (m, 4H). EM (IEN): *m/z* 339,9 [M+H]⁺.

Ejemplo 45: Compuesto 45: ácido 4-(5-bromo-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico

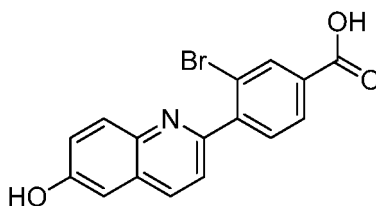


Etapa 1: Síntesis de 4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzoato de metilo: Una mezcla de 2-cloro-6-metoxiquinolina (Intermedio 1, véase el documento US 61/391.225 y el ejemplo 57 para la síntesis) (200 mg, 1,0°mmol), ácido 4-(metoxycarbonil)fenilborónico (205 mg, 1,1°mmol), Pd(dppf)Cl₂ (366 mg, 0,5°mmol) y carbonato de sodio (212 mg, 2,0°mmol) en 1,4-dioxano/agua (3 ml/0,6 ml) se calentó a 120 °C por microondas durante 1 h. Se filtraron los precipitados; se lavaron con EtOAc (10 ml), acetona (10 ml) y agua (10 ml) por separado; se secaron para proporcionar el producto en forma de un sólido de color negro. (120 mg, 40,9 %).

Etapa 2: Síntesis de 4-(5-bromo-6-metoxiquinolin-2-il)benzoato de metilo: A una solución de 4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzoato de metilo (630 mg, 2,15°mmol) en DCM (9 ml) se le añadió Br₂ (0,3 ml, 6,45°mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después, la mezcla se repartió entre salmuera y DCM. El precipitado se filtró y se secó para proporcionar el producto en forma de un sólido (800 mg, 100 %). EM (IEN): *m/z* 373,0 [M+1]⁺.

Etapa 3: Síntesis del Compuesto 45: A una solución del producto de la etapa anterior (150 mg, 0,40°mmol) en DCM (5 ml) se le añadió BBr₃ (0,38 ml, 4,0°mmol) y se agitaron a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió agua (20 ml) cuidadosamente, la mezcla se extrajo con EtOAc (20 ml, 3 veces), se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar el Compuesto 45 en forma de un polvo gris (40 mg, 29,2 %). EM (IEN): *m/z* 346,0 [M+1]⁺. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 500 MHz): 8,48 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 8,35 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 8,25 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 8,10 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H), 8,01 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,60 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H) ppm.

Ejemplo 46: Compuesto 46: ácido 3-bromo-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico

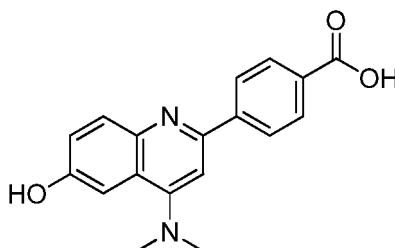


Etapa 1: Síntesis de 3-amino-4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzoato de metilo: A una mezcla del compuesto 2-cloro-6-metoxiquinolina (1,70 g, 8,78°mmol), ácido 2-amino-4-(metoxicarbonil)fenilborónico (2,05 g, 10,5°mmol) y K₂CO₃ (2,43 g, 17,6°mmol) en monometil éter de etilenglicol/H₂O (35 ml/5 ml) se le añadió Pd(dppf)Cl₂ (158 mg, 0,193°mmol) en atmósfera de N₂. Después, la mezcla se calentó a 80 °C durante 3 horas. Después del tratamiento acuoso con extracción con EtOAc, el producto en bruto resultante se purificó mediante columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 15/1 a 3/1) para proporcionar el producto (500 mg, rendimiento del 19 %) en forma de un sólido de color amarillo.

Etapa 2: Síntesis de 3-bromo-4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzoato de metilo: A una mezcla del producto anterior (200 mg, 0,649°mmol) en HBr (40 %)/H₂O (5 ml/5 ml) se le añadió NaNO₂ (44,8 mg, 0,649°mmol) en H₂O (3 ml) gota a gota a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 minutos. Se añadió CuBr (186 mg, 1,30°mmol) y la mezcla se agitó a 25 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se basificó con NaOH acuoso (2 M) a pH = 7-8, se extrajo con EtOAc (30 ml, 3 veces). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto (205 mg, rendimiento del 85 %) en forma de un sólido de color amarillo.

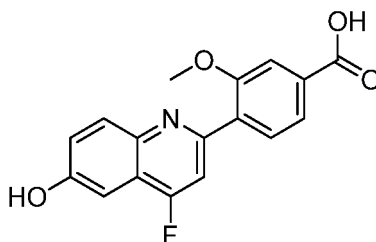
Etapa 3: Síntesis del Compuesto 46: A una solución del producto anterior (205 mg, 0,550°mmol) en DCM anhidro (6 ml) se le añadió BBr₃ (0,26 ml, 2,8°mmol, *d* = 2,64 g/ml) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 48 horas. La mezcla de reacción se inactivó con H₂O (30 ml) y se filtró, la torta del filtro se lavó con EtOAc (10 ml) para proporcionar el compuesto 46 (90 mg, rendimiento del 48 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 10,27 (s a, 1H), 8,36 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 8,24 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 8,06 (dd, *J* = 8,0, 1,6 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,76 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,71 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,41 (dd, *J* = 9,2, 2,4 Hz, 1H), 7,26 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H). CL-EM pureza: 94,8 %. EM (IEN): *m/z* 343,9 [M+H]⁺.

Ejemplo 47: Compuesto 47: ácido 4-(4-(dimetilamino)-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico



Se mezclaron 30 mg de ácido 4-(4-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico (Compuesto 26) con 1°mmol de Me₂NH•HCl y 0,5 ml de DIEA en 3 ml de DMF y se calentaron a 160 °C durante 30 minutos. El disolvente se evaporó a sequedad y se añadió agua. El sólido se filtró y se lavó con agua y se secó. El producto en bruto se trituroó con acetona para obtener 10,5 mg del Compuesto 47. RMN ¹H (DMSO-*d*₆ 300 MHz TMS): δ 13,2 (b, 1H), 10,28 (s, 1H), 8,22 (m, 2H), 8,11 (d, 1H), 7,99 (d, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,39 (d, 1H), 7,26 (s, 1H), 3,24 (s, 6H), EM (IEN): *m/z* = 309,30 [M+1]⁺.

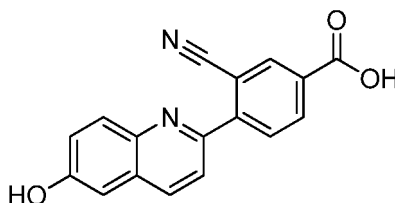
Ejemplo 48: Compuesto 48: ácido 4-(4-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)-3-metoxibenzoico



Etapla 1: Síntesis de 2-cloro-4-fluoroquinolin-6-ol: Una mezcla de solución de 2-cloro-4-fluoro-6-metoxiquinolina (Intermedio 7, véase el documento US 61/391.225 y el ejemplo 57 para la síntesis) (280 mg, 1,32^ommol) y BBr₃ (0,3 ml, 3,2^ommol, 2,64 g/ml) en DCM (5 ml) se agitó a 20 °C durante 12 horas. El tratamiento acuoso con extracción con DCM proporcionó el producto en bruto, que se purificó mediante columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 50/1) para proporcionar el producto (177 mg, rendimiento del 69 %) en forma de un sólido de color blanco.

Etapla 2: Síntesis del Compuesto 48: Una mezcla del producto anterior (133 mg, 0,670^ommol), ácido 4-(dihidroxiboril)-3-metoxibenzoico (156 mg, 0,801^ommol), K₂CO₃ (278 mg, 2,01^ommol), Pd(dppf)Cl₂ (30 mg, 0,026^ommol) en DMF (3 ml) y H₂O (0,6 ml) se agitó en atmósfera de N₂ a 130 °C durante 2,5 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se acidificó con HCl acuoso (1 M) hasta pH = 6 y se extrajo con EtOAc (30 ml, 3 veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante columna de gel de sílice (DCM/MeOH = 15/1) para proporcionar el Compuesto 48 (10,5 mg, rendimiento del 5 %) en forma de un sólido de color blanquecino. RMN ¹H (CD₃OD 400 MHz TMS): δ 8,01 (dd, J = 8,8, 1,2 Hz, 1H), 7,88-7,76 (m, 3H), 7,63 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 7,43 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,33 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 3,98 (s, 3H). EM (IEN): m/z 313,8 [M+H]⁺.

Ejemplo 49: Compuesto 49: ácido 3-ciano-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico



Etapla 1: Síntesis de 3-amino-4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzoato de 2-metoxietilo: Se siguió el procedimiento de acoplamiento descrito en la etapa 1 del Compuesto 46, a partir de 2-cloro-6-metoxiquinolina (1,70 g, 8,78^ommol) y ácido 2-amino-4-(metoxicarbonil)fenilborónico (2,05 g, 10,5^ommol). Nota: se produjo un intercambio de éster entre el compuesto deseado y el disolvente. Se obtuvo el producto (1,10 g, rendimiento del 35 %) en forma de un sólido de color amarillo.

Etapla 2: Síntesis de 3-bromo-4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzoato de 2-metoxietilo: A una mezcla del producto anterior (500 mg, 1,42^ommol) en HBr (40 %)/H₂O (10 ml/10 ml) se le añadió NaNO₂ (97,9 mg, 1,42^ommol) en N₂O (5 ml) gota a gota a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 minutos. Se añadió CuBr (407 mg, 2,84^ommol) y la mezcla se agitó a 25 °C durante 2 horas, después se basificó con NaOH acuoso (2 M) a pH = 7-8 y se extrajo con EtOAc (20 ml, 3 veces). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar el producto (580 mg, rendimiento del 98 %) en forma de un sólido de color amarillo.

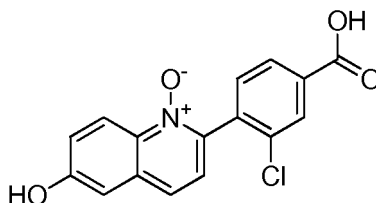
Etapla 3: Síntesis de 3-ciano-4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzoato de 2-metoxietilo: A una solución del producto anterior (580 mg, 1,40^ommol) en DMF (15 ml) se le añadió Zn(CN)₂ (329 mg, 2,80^ommol) y Pd(PPh₃)₄ (162 mg, 140^ommol). La mezcla resultante se agitó a 120 °C en atmósfera de N₂ durante 16 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se filtró y el filtrado se diluyó con EtOAc (60 ml), se lavó con H₂O (20 ml, 3 veces) y salmuera (20 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar el producto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 50/1 a 10/1) para proporcionar el producto (180 mg, rendimiento del 36 %) en forma de un sólido de color amarillo.

Etapla 4: Síntesis de 3-ciano-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoato de 2-hidroxietilo: A una solución del producto anterior (180 mg, 0,497^ommol) en DCM anhidro (10 ml) se le añadió BBr₃ (0,24 ml, 2,5^ommol, d = 2,64 g/ml) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 2 horas. Se añadió agua (20 ml), después se basificó con NaOH acuoso (2 M) a pH = 7-8 y se extrajo con DCM (30 ml, 3 veces). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar el producto (100 mg, rendimiento del 60 %) en forma de un sólido de color blanquecino.

Etapla 5: Síntesis del Compuesto 49: A una solución del producto anterior (100 mg, 0,299^ommol) en MeOH (5 ml) y

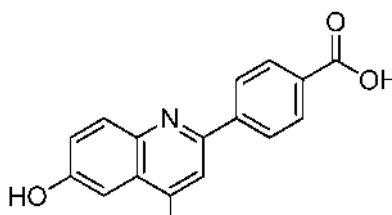
THF (5 ml) se le añadió LiOH·H₂O (25,1 mg, 0,598°mmol). La mezcla se agitó a 25 °C durante 16 horas. La mezcla de reacción se acidificó con HCl 1 N a pH = 5-6 y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (20 ml, 3 veces). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron para proporcionar el producto en bruto. El producto en bruto se lavó con EtOAc (10 ml) para proporcionar el Compuesto 49 (35 mg, rendimiento del 45 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 13,66 (s a, 1H), 10,32 (s a, 1H), 8,40 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 8,37 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 8,32 (dd, *J* = 8,0, 1,6 Hz, 1H), 8,16 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,02-7,90 (m, 2H), 7,42 (dd, *J* = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,25 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H). EM (IEN): *m/z* 290,6 [M+H]⁺.

Ejemplo 50: Compuesto 50: 1-óxido de 2-(4-carboxi-2-clorofenil)-6-hidroxiquinolina



A una solución de ácido 3-cloro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico (Compuesto 8) (620 mg) en HOAc (8 ml) se le añadió ácido 3-cloroperbenzoico (puro al 77 %, 1,19 g). La mezcla resultante se calentó a 90 °C durante 3 horas. Después de la eliminación del HOAc a presión reducida, la mezcla resultante se trituró con DCM y se recrystalizó en EtOH/agua dos veces para proporcionar el producto deseado (245 mg) en forma de sólidos incoloros. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz TMS): δ 10,49 (1H, s), 8,43 (1H, d, *J* = 9 Hz), 8,06 (1H, d, *J* = 3 Hz), 8,01 (1H, dd, *J* = 9 y 3 Hz), 7,82 (1H, d, *J* = 6 Hz), 7,69 (1H, d, *J* = 6 Hz), 7,47 (1H, d, *J* = 9 Hz), 7,37 (1H, dd, *J* = 9 y 3 Hz), 7,31 (1H, d, *J* = 3 Hz) ppm; EM (IEN): *m/z* 316, [M+H]⁺.

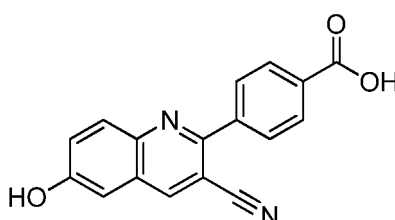
Ejemplo 51: Compuesto 51: ácido 4-(4-amino-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico



Etapla 1: Síntesis de 4-(4-amino-6-metoxiquinolin-2-il)benzoato de metilo: Una solución de la mezcla del Intermedio 8 (4,70 g, 22,5°mmol), ácido 4-metoxycarbonilfenilborónico (4,01 g, 22,5°mmol), K₂CO₃ (6,53 g, 47,2°mmol), Pd(dppf)Cl₂ (470 mg, 0,407°mmol) en DMF (20 ml) y H₂O (4 ml) se agitó en atmósfera de N₂ a 130 °C durante 5 horas. La mezcla se enfrió, se acidificó con HCl acuoso (1 M) hasta pH = 6 y se extrajo con EtOAc (80 ml, 3 veces). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (150 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron al vacío. El residuo se lavó con EtOAc (50 ml), la mezcla se filtró y después se concentró para proporcionar el producto (3,20 g, rendimiento del 46 %) en forma de un sólido de color blanquecino.

Etapla 2: Síntesis del Compuesto 51: Una mezcla del producto anterior (300 mg, 0,97°mmol) y BBr₃ (1 ml, 10,5°mmol, 2,64 g/ml) en DCM (10 ml) se agitó a 20 °C durante 72 horas. Se añadió agua (20 ml) y se extrajo con DCM (20 ml, 3 veces), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío para proporcionar el producto en bruto. La tritución con MeOH (20 ml) proporcionó el Compuesto 51 (29,0 mg, rendimiento del 11 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz TMS): δ 13,52 (s a, 1H), 10,53 (s a, 1H), 8,74 (s a, 2H), 8,20 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 8,01-7,96 (m, 3H), 7,65 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 7,56 (dd, *J* = 9,2, 2,4 Hz, 1H), 6,98 (s, 1H). EM (IEN): *m/z* 280,9 [M+H]⁺.

Ejemplo 52: Compuesto 52: ácido 4-(3-ciano-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico

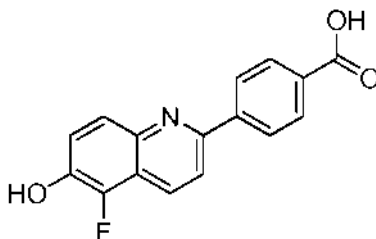


Etapla 1: Síntesis de 2-cloro-6-metoxiquinolina-3-carbonitrilo: A una mezcla de 2-cloroquinolina-3-carboxaldehído (1,00 g, 4,50°mmol) en THF (30 ml) se le añadieron $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (30 ml, 25 %) y I_2 (1,26 g, 4,90°mmol), la mezcla se agitó a 20 °C durante 8 horas. El tratamiento acuoso con extracción con EtOAc proporcionó el producto en bruto. La purificación mediante columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 10/1 a 2/1) proporcionó el producto (370 mg, rendimiento del 38 %) en forma de un sólido de color amarillo.

Etapla 2: Síntesis de ácido 4-(3-ciano-6-metoxiquinolín-2-il)benzoico: A una mezcla del producto anterior (75,0 mg, 0,350°mmol) en DMF/ H_2O (5 ml/1 ml) se le añadieron ácido 4-carboxifenilborónico (57,0 mg, 0,350°mmol), K_2CO_3 (73,0 mg, 0,525°mmol) y $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (20,0 mg, $2,73 \times 10^{-3}$ °mmol), la mezcla de reacción se desgasificó (3 veces) y se calentó a 100 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se acidificó con HCl acuoso (1 M) a pH = 6, se extrajo con EtOAc (5 ml, 3 veces); Las capas orgánicas se lavaron con salmuera (5 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y concentraron al vacío. La purificación mediante columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 4/1 a 0/1) proporcionó el producto (45,0 mg, rendimiento del 42 %) en forma de un sólido de color amarillo.

Etapla 3: Síntesis del Compuesto 52: A una solución del producto anterior (80,0 mg, 0,263°mmol) en DCM (2,5 ml) se le añadió BBR_3 (0,4 ml) gota a gota. La mezcla resultante se agitó a 30 °C en atmósfera de N_2 durante 24 horas. El tratamiento acuoso con extracción con EtOAc proporcionó el producto en bruto. La purificación mediante HPLC preparativa (TFA al 0,1 % como aditivo) proporcionó el Compuesto 52 (6,0 mg, rendimiento del 8 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ^1H ($\text{MeOD}-d_6$ 400 MHz): δ 8,78 (s, 1H), 8,22 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 8,5-8,1 (m, 3H), 7,56 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,28 (d, J = 2,4 Hz, 1H). EM (IEN): m/z 290,8 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

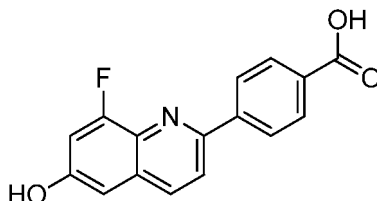
Ejemplo 53: Compuesto 53: ácido 4-(5-fluoro-6-hidroxiquinolín-2-il)benzoico



Etapla 1: Síntesis de 4-(5-fluoro-6-metoxiquinolín-2-il)benzoato de metilo: A una solución de 4-(6-metoxiquinolín-2-il)benzoato de metilo (véase el Compuesto 45, etapa 1 para la síntesis) (250 mg, 0,85°mmol) en MeCN (5 ml) se le añadió selectfluoro (453 mg, 1,28°mmol). La mezcla de reacción se calentó a 50 °C durante la noche. El disolvente se retiró a presión reducida, seguido de tratamiento acuoso con extracción con DCM para proporcionar el producto en forma de un sólido de color marrón (300 mg, 113 %).

Etapla 2: Síntesis del Compuesto 53: A una solución del producto anterior (300 mg, 0,96°mmol) en DCM (2 ml) se le añadió BBR_3 (2,4 g, 9,6°mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se añadió agua (40 ml) cuidadosamente. Los precipitados se recogieron y se purificaron mediante HPLC preparativa para proporcionar el Compuesto 53 en forma de un polvo de color marrón (76,8 mg, 25,9 %). RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz TMS): 8,45 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 8,35 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 8,22 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 8,10 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,84 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 7,56 (t, J = 9,5 Hz, 1H) ppm. EM (IEN): m/z 284,1 $[\text{M}+1]^+$.

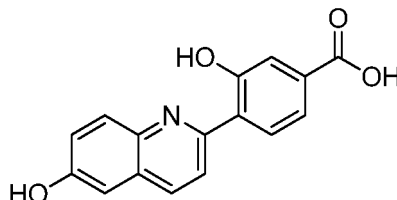
Ejemplo 54: Compuesto 54: ácido 4-(8-fluoro-6-hidroxiquinolín-2-il)benzoico



Etapla 1: Síntesis de 4-(8-fluoro-6-hidroxiquinolín-2-il)benzoato de metilo: Siguiendo la condición general de acoplamiento de Suzuki, se trató acetato de 2-cloro-8-fluoroquinolín-6-ilo (Intermedio 9) (89,3 mg) con ácido (4-(metoxycarbonil)fenil)borónico (74 mg), $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (cat.) y bicarbonato de sodio (69 mg) en dioxano (2 ml) y agua (0,4 ml) a 100 °C con calentamiento por microondas durante 2 horas. Después del tratamiento acuoso, una purificación en columna de gel de sílice ultrarrápida proporcionó una mezcla de 4-(8-fluoro-6-hidroxiquinolín-2-il)benzoato de metilo y 4-(6-acetoxi-8-fluoroquinolín-2-il)benzoato de metilo (120 mg) en forma de sólidos de color marrón claro.

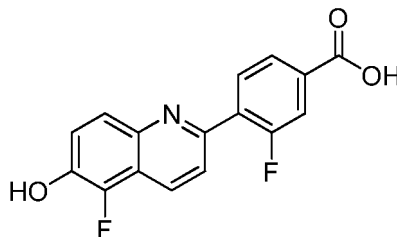
Etapla 2: Síntesis del Compuesto 54: Una mezcla de 4-(8-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoato de metilo y 4-(6-acetoxi-8-fluoroquinolin-2-il)benzoato de metilo (120 mg) se hidrolizó con NaOH 2 N (4 ml) en MeOH (4 ml). El producto deseado ácido 4-(8-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico (65 mg) se recogió mediante filtración después de la acidificación con HCl 12 N. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz TMS): δ 8,36-8,33 (3H, m), 8,18 (1H, d, J = 9 Hz), 8,09 (2H, d, J = 9 Hz), 7,24 (1H, dd, J = 12 y 3 Hz), 7,09 (1H, d, J = 3 Hz) ppm, EM (IEN): m/z 284, $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ejemplo 55: Compuesto 55: ácido 3-hidroxi-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico



Se suspendieron 70 mg de ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)-3-metoxibenzoico (Compuesto 14) en 10 ml de DCM y se añadieron 0,25 ml de BBr_3 . La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. Se añadieron 20 ml de agua para inactivar la reacción. El DCM se retiró por evaporación y el precipitado se filtró y se lavó con agua y se secó para obtener 29 mg de ácido 3-hidroxi-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico. RMN ^1H (DMSO- d_6 300 MHz TMS): δ 10,34 (s, 1H), 8,45 (d, 1H), 8,30 (d, 1H), 8,24 (d, 1H), 7,97 (d, 1H), 7,46 (m, 3H), 7,26 (d, 1H), EM (IEN): m/z = 282,30 $[\text{M}+1]^+$.

Ejemplo 56: Compuesto 56: ácido 3-fluoro-4-(5-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico



Etapla 1: Síntesis de 3-fluoro-4-(6-metoxiquinolin-2-il)benzoato de metilo: Una mezcla de 2-cloro-6-metoxiquinolona (Intermedio 1) (300 mg, 1,55 $^{\circ}$ mmol), 3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo (Intermedio 10) (415 mg, 1,48 $^{\circ}$ mmol), $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (110 mg, 0,15 $^{\circ}$ mmol) y carbonato de sodio (320 mg, 3,0 $^{\circ}$ mmol) en 1,4-dioxano/agua (6 ml/1 ml) se calentó a 120 $^{\circ}\text{C}$ en irradiación de microondas durante 4 h. El precipitado se filtró y se lavó con EA. El filtrado combinado se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (PE/EA = 30/1) para proporcionar el producto (220 mg, 46 %) en forma de un sólido de color blanco. EM (IEN): m/z 312,2 $[\text{M}+1]^+$.

Etapla 2: Síntesis de 3-fluoro-4-(5-fluoro-6-metoxiquinolin-2-il)benzoato de metilo: A una solución del producto anterior (260 mg, 0,835 $^{\circ}$ mmol) en CH_3CN (30 ml) se le añadió Selectfluor (296 mg, 0,835 $^{\circ}$ mmol). La mezcla de reacción se calentó a 50 $^{\circ}\text{C}$ durante 3 h y se concentró. El residuo se repartió entre agua (20 ml) y DCM (20 ml). La fase acuosa se separó y se extrajo con DCM (20 ml, 2 veces). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (PE/EA = 30/1) para proporcionar el producto (190 mg, en bruto). EM (IEN): m/z 330,1 $[\text{M}+1]^+$.

Etapla 3: Síntesis del Compuesto 56: A una solución enfriada con hielo del producto anterior (190 mg, 0,577 $^{\circ}$ mmol) en DCM (2 ml) se le añadió BBr_3 (1,45 g, 5,77 $^{\circ}$ mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente y se inactivó lentamente con agua (40 ml). El precipitado se recogió y se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar el Compuesto 56 en forma de un polvo de color marrón (140 mg, 81 %). RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz TMS): δ 8,47 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,15 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,97 (dd, J = 2,5 Hz, 1H), 7,93 (dd, J = 1,5 Hz, 1H), 7,82-7,86 (m, 2H), 7,57 (t, J = 9,0 Hz, 1H) ppm; EM (IEN): m/z 302,1 $[\text{M}+1]^+$.

Ejemplo 57: Síntesis de los Intermedios

Intermedio 1: Síntesis de 2-cloro-6-metoxiquinolona

Etapla 1: Síntesis de 1-óxido de 6-metoxiquinolona: A una solución de 6-metoxiquinolona (2,00 g, 12,6 $^{\circ}$ mmol) en AcOH (10 ml) se le añadió H_2O_2 (30 % en agua, 1,9 ml, 18,9 $^{\circ}$ mmol), la mezcla se calentó a 70 $^{\circ}\text{C}$ durante 21 horas. La mezcla se basificó con NaOH 2 M a pH 8-9 y se extrajo con CH_2Cl_2 (200 ml), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y concentró para proporcionar el producto en bruto, que se

purificó mediante columna de gel de sílice (EtOAc/MeOH = 10/1) para proporcionar 1-óxido de 6-metoxiquinolina (1,20 g, 55 %) en forma de un sólido.

Etap 2: Síntesis de 6-metoxiquinolín-2-ol: Una solución de 1-óxido de 6-metoxiquinolina (300 mg, 1,71°mmol) en Ac₂O (5,0 ml) se calentó a reflujo durante 2 horas. El disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se disolvió en EtOAc (50 ml), la capa orgánica se lavó con salmuera (10 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para proporcionar el producto en bruto que se purificó mediante columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 1/2) para proporcionar 6-metoxiquinolín-2-ol (200 mg, rendimiento del 67 %).

Etap 3: Síntesis de 2-cloro-6-metoxiquinolína: Una solución de 6-metoxiquinolín-2-ol (400 mg, 2,29°mmol) en POCl₃ (5,0 ml) se calentó a reflujo durante 2 horas. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se disolvió en EtOAc (50 ml), la capa orgánica se lavó con NaHCO₃ saturado (30 ml, 2 veces), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para proporcionar el producto en bruto, que se purificó mediante columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 10/1) para proporcionar 2-cloro-6-metoxiquinolína (380 mg, rendimiento del 86 %) en forma de un sólido. RMN ¹H (CDCl₃ 400 MHz): δ 7,92 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,85 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,32-7,25 (m, 2H), 7,00 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 3,86 (s, 3H).

Intermedio 2: Síntesis de 2-cloroquinolín-6-ol

A una solución de 2-cloro-6-metoxiquinolína (Intermedio 1) (2,00 g, 10,4°mmol) en DCM anhidro (100 ml) se le añadió BBr₃ (6 ml, 62,2°mmol) gota a gota a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 2 horas, después se inactivó con solución acuosa saturada de NH₄Cl (50 ml) y se filtró. El filtrado se extrajo con CH₂Cl₂/MeOH (v/v = 10/1, 30 ml, 2 veces) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar 2-cloroquinolín-6-ol (1,30 g, rendimiento del 70 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (CDCl₃ 300 MHz): δ 7,95 (t, J = 8,1 Hz, 2H), 7,35 (dd, J = 6,0, 3,3 Hz, 2H), 7,13 (d, J = 2,7 Hz, 1H).

Intermedio 3: Síntesis de 2,4-dicloro-3-fluoro-6-metoxiquinolína

Etap 1: Síntesis de ácido 2-fluoromalónico: A una solución de 2-fluoromalonato de dietilo (5,00 g, 28,1°mmol) en EtOH (100 ml) se le añadió LiOR•H₂O (2,70 g, 64,3°mmol) a 25 °C. La mezcla se calentó a 50 °C durante 16 horas. La mezcla se filtró para recoger los sólidos. El filtrado se concentró a sequedad para obtener el aceite. El aceite y el sólido se disolvieron en H₂O (30 ml) y MTBE (100 ml), la mezcla se acidificó mediante la adición de HCl concentrado a pH 1, la capa acuosa se extrajo con MTBE (30 ml, 2 veces), las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar ácido 2-fluoromalónico (3,00 g, rendimiento del 88 %) en forma de un sólido.

Etap 2: Síntesis de 2,4-dicloro-3-fluoro-6-metoxiquinolína: Una suspensión de ácido fluoromalónico (1,00 g, 8,13°mmol) en POCl₃ (10 ml) se calentó a 85 °C para disolver el sólido. La mezcla se enfrió a 60 °C y se añadió *p*-anisidina (900 mg, 7,32°mmol) en porciones durante 1 hora. Después de la adición, la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 horas. El disolvente se retiró al vacío. La mezcla se diluyó con agua con hielo y se basificó mediante la adición de NH₃•H₂O a pH 9. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (30 ml, 3 veces), las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar el producto en bruto, que se purificó mediante columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 10/1) para proporcionar 2,4-dicloro-3-fluoro-6-metoxiquinolína (650 mg, rendimiento del 36 %). RMN ¹H (CDCl₃ 300 MHz): δ 7,92 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,41-7,31 (m, 2H), 4,00 (s, 3H).

Intermedio 4: Síntesis de 2,3-dicloro-6-metoxiquinolína

Etap 1: Síntesis de 2-cloro-N-(4-metoxifenil)acetamida: Una mezcla de 4-metoxianilina (5,00 g, 40,6°mmol), ácido cloroacético (8,6 g, 91,5°mmol), EDCI (12,0 g, 61,2°mmol), HOBT (8,4 g, 61,3°mmol) y NMM (13 ml, 122°mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (50 ml) se agitó a 30 °C durante 3 horas. La mezcla se inactivó con agua con hielo y después se extrajo con CH₂Cl₂ (30 ml, 2 veces). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar el producto en bruto, que se purificó mediante columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 5/1) para proporcionar el producto (1,60 g, rendimiento del 20 %).

Etap 2: Síntesis de 2,3-dicloro-6-metoxiquinolína: Se añadió POCl₃ (1,6 ml, 17,5°mmol) gota a gota a DMF (0,29 ml, 3,80°mmol) a 0 °C. Después de la adición, se añadió 2-cloro-N-(4-metoxifenil)acetamida (500 mg, 2,50°mmol) en porciones. La mezcla se agitó a 25 °C durante 15 minutos y se calentó a 75 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se inactivó con agua de hielo y se neutralizó mediante NaOH 2 M a pH 7. A Un tratamiento acuoso con EtOAc le siguió la purificación mediante columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 20/1) para proporcionar el Intermedio 4 (50 mg, rendimiento del 9 %). RMN ¹H (CDCl₃ 400 MHz): δ 8,06 (s, 1H), 7,81 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,30 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 6,92 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 3,87 (s, 3H).

Intermedio 5: Síntesis de 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-3-(trifluorometil)benzoato de metilo

A una mezcla de 4-bromo-3-(trifluorometil)benzoato de metilo (1,00 g, 3,53°mmol), bis(pinacolato)diboro (1,79 g, 7,06°mmol) y KOAc (1,04 g, 10,6°mmol) en DMSO (15 ml) se le añadió Pd(PPh₃)₄ (816 mg, 0,706°mmol) en atmósfera de N₂. Después, la mezcla se calentó a 120 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió seguido de un tratamiento acuoso/EtOAc y proporcionó el producto en bruto (2,3 g) en forma de un aceite amarillo.

Intermedio 6: Síntesis de 2-cloro-3-(trifluorometil)quinolin-6-ol

Etapla 1: Síntesis de (5-metoxi-2-nitrofenil)metanol: A una solución de ácido 5-metoxi-2-nitrobenzoico (20,0 g, 0,102 mol) en THF anhidro (200 ml) se le añadió SOCl₂ (20 ml), la mezcla se calentó a reflujo durante 4 horas. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se disolvió en THF anhidro (100 ml). La solución se añadió gota a gota a una suspensión de NaBH₄ (7,70 g, 0,202 mol) en THF anhidro (100 ml) y DMF (140 ml) a 0 °C durante un periodo de 30 minutos. La mezcla se agitó a 30 °C durante 3 horas, después se inactivó con agua con hielo (100 ml) y se basificó mediante NaOH 2 M a pH 8. A un tratamiento con EtOAc le siguió la eliminación del disolvente al vacío y la purificación mediante cromatografía en columna (PE/EtOAc = 1/1) para proporcionar el producto (12,0 g, rendimiento del 66 %).

Etapla 2: Síntesis de *terc*-butil(5-metoxi-2-nitrobenciloxi)dimetilsilano: A una solución de (5-metoxi-2-nitrofenil)metanol (12,0 g, 65,6°mmol) en THF anhidro (200 ml) y DMF (20 ml) se le añadió imidazol (9,80 g, 144°mmol). Después, se añadió TBSCl (11,8 g, 78,6°mmol) en porciones a 0 °C y la mezcla se agitó a 30 °C durante 2 horas. La mezcla se inactivó con agua con hielo (100 ml). A un tratamiento con EtOAc le siguió la eliminación del disolvente al vacío y la purificación mediante cromatografía en columna (PE/EtOAc = 10/1) para proporcionar el producto (16,0 g, rendimiento del 84 %) en forma de un aceite de color amarillo.

Etapla 3: Síntesis de 2-((*terc*-butildimetilsililoxi)metil)-4-metoxianilina: A una solución de *terc*-butil(5-metoxi-2-nitrobenciloxi)dimetilsilano (14,0 g, 47,1°mmol) en EtOH (200 ml) se le añadió Pd/C al 10 % (1,40 g), la mezcla se agitó a 30 °C durante 2 horas en atmósfera de H₂ (275,79 kPa). Los sólidos se separaron por filtración y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el producto (14,0 g) en forma de un aceite amarillo. RMN ¹H (DMSO 400 MHz): δ 6,75 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 6,60-6,55 (m, 2H), 4,55 (s, 2H), 4,40 (s a, 2H), 3,61 (s, 3H), 0,90 (s, 9H), 0,09 (s, 6H).

Etapla 4: Síntesis de N-(2-((*terc*-butildimetilsililoxi)metil)-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoropropanamina: Una mezcla de 2-((*terc*-butildimetilsililoxi)metil)-4-metoxianilina (14,0 g), ácido 3,3,3-trifluoro-propiónico (7,30 g, 57,0°mmol), EDCI (15,0 g, 76,5°mmol), HOBt (11,0 g, 80,2°mmol) y NMM (22 ml, 157°mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (200 ml) se agitó a 20 °C durante 2 horas. La mezcla se diluyó con CH₂Cl₂ (100 ml), la capa orgánica se lavó con HCl 1 M (100 ml), H₂O (100 ml) y salmuera (100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró hasta proporcionar el producto.

Etapla 5: Síntesis de 3,3,3-trifluoro-N-(2-(hidroximetil)-4-metoxifenil)propanamida: A una solución de N-(2-((*terc*-butildimetilsililoxi)metil)-4-metoxifenil)-3,3,3-trifluoropropanamina (20,0 g) en THF anhidro (200 ml) se le añadió una solución de TBAF (16,6 g, 63,6°mmol) en THF anhidro (60 ml). La mezcla se agitó a 35 °C durante 30 minutos. La mezcla se inactivó con agua con hielo. A un tratamiento acuoso/EtOAc le siguió la eliminación de los extractos volátiles al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (PE/EtOAc = 1/2) para proporcionar el producto deseado. RMN ¹H (CDCl₃ 400 MHz): δ 8,60 (s a, 1H), 7,82 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,85 (dd, J = 9,2, 3,2 Hz, 1H), 6,75 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 4,65 (s, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,23 (c, J = 10,4 Hz, 2H).

Etapla 6: Síntesis de 3,3,3-trifluoro-N-(2-formil-4-metoxifenil)propanamida: A una solución de 3,3,3 trifluoro-N-(2-(hidroximetil)-4-metoxifenil)propanamida (6,30 g, 23,9°mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (200 ml) se le añadió MnO₂ (20,0 g, 229°mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 16 horas. La mezcla se separó por filtración y el filtrado se concentró para proporcionar el producto deseado (5,30 g, rendimiento del 84 %).

Etapla 7: Síntesis de 6-metoxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-(1H)-ona: A una solución de 3,3,3-trifluoro-N-(2-formil-4-metoxifenil)propanamida (5,30 g, 20,3°mmol) en DMF (100 ml) se le añadió K₂CO₃ (14,0 g, 101°mmol). La mezcla se calentó a 60 °C durante 1,5 horas. La mezcla se diluyó con EtOAc (200 ml) y se separó por filtración. El filtrado se lavó con H₂O (100 ml) y salmuera (100 ml), se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró al vacío para proporcionar el producto deseado (4,60 g, rendimiento del 94 %). RMN ¹H (CDCl₃ 300 MHz): δ 12,25 (s a, 1H), 8,18 (s, 1H), 7,40 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,25 (dd, J = 9,0, 2,7 Hz, 1H), 7,02 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 3,87 (s, 3H).

Etapla 8: Síntesis de 2-cloro-6-metoxi-3-(trifluorometil)quinolina: Una solución de 6-metoxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-(1H)-ona (4,60 g, 18,9°mmol) en POCl₃ (30 ml) se calentó a reflujo durante 2,5 horas. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se neutralizó mediante NaOH 2 M a pH 7. A un tratamiento con EtOAc le siguió la eliminación de los extractos volátiles a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (PE/EtOAc = 15/1) para proporcionar el producto deseado (4,60 g, rendimiento del 94 %).

Etapla 9: Síntesis de 2-cloro-3-(trifluorometil)quinolin-6-ol: A una solución del producto anterior (1,00 g,

3,83 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (20 ml) se le añadió BBr₃ (3,0 ml, 31,8°mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 horas. La mezcla se inactivó con agua con hielo (10 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (30 ml, 3 veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida para proporcionar el Intermedio 6 (600 mg, rendimiento de 63 %) en forma de un sólido. RMN ¹H (CDCl₃ 400 MHz): δ 8,37 (s, 1H), 8,00 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,48 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 7,22 (d, J = 2,8 Hz, 1H).

Intermedio 7: Síntesis de 2-cloro-4-fluoro-6-metoxiquinolona

Etapas 1: Síntesis de 2,4-dicloro-6-metoxiquinolona: Una mezcla de *p*-anisidina (100 g, 0,813 mol) y ácido malónico (85,0 g, 0,817 mol) en POCl₃ (500 ml) se calentó a reflujo durante 6 horas. El exceso de POCl₃ se retiró al vacío y el residuo se neutralizó con NaOH 8 M a pH 7. La capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (300 ml, 3 veces), se lavó con salmuera (500 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 15/1) proporcionó el producto deseado (35,0 g, rendimiento: 19 %).

Etapas 2: Síntesis de 2-cloro-6-metoxiquinolona-4-amina: Una suspensión de 2,4-dicloro-6-metoxiquinolona (5,00 g, 22,0°mmol) en NH₃ (g)/MeOH (saturado, 40 ml) se calentó a 150 °C durante 16 horas en un tubo sellado. El disolvente se retiró y el residuo se diluyó con MeOH (20 ml). La mezcla se separó por filtración y el filtrado se concentró para proporcionar el producto en bruto. La purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 2/1) proporcionó el producto (7,50 g, rendimiento: 55 %) en forma de un sólido.

Etapas 3: Síntesis de 2-cloro-4-fluoro-6-metoxiquinolona: Una solución de 2-cloro-6-metoxiquinolona-4-amina (4,50 g, 21,6°mmol) en HF-piridina (45 ml) se enfrió a -10-0 °C. Después, se añadió NaNO₂ (1,80 g, 26,1°mmol) en porciones y la mezcla se agitó a 0 °C durante 1 hora y a 30 °C durante 1 hora. Después, la mezcla se calentó a 65 °C durante 1,5 horas. La mezcla se inactivó con agua con hielo (100 ml); la capa acuosa se neutralizó con NaOH 2 M a pH 7. La mezcla se filtró y el filtrado se extrajo con EtOAc (50 ml, 3 veces), la capa orgánica se lavó con salmuera (100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 15/1) proporcionó el Intermedio 7 (3,60 g, rendimiento: 40 %). RMN ¹H (CDCl₃ 400 MHz): δ 7,92 (dd, J = 9,2, 1,6 Hz, 1H), 7,40 (dd, J = 9,2, 2,8 Hz, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,10 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 3,97 (s, 3H).

Intermedio 8: Síntesis de 2-cloro-6-metoxiquinolona-4-amina

Etapas 1: Síntesis de 2,4-dicloro-6-metoxiquinolona: Una mezcla de *p*-anisidina (100 g, 0,813 mol) y ácido malónico (85,0 g, 0,817 mol) en POCl₃ (500 ml) se calentó a reflujo durante 6 horas. El exceso de POCl₃ se retiró al vacío y el residuo se neutralizó con NaOH 8 M a pH 7. La capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (300 ml, 3 veces), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (500 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío para proporcionar el producto en bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 15/1) para proporcionar 2,4-dicloro-6-metoxiquinolona (35,0 g, rendimiento: 19 %) en forma de un sólido de color blanco.

Etapas 2: Síntesis del Intermedio 8: Una suspensión de 2,4-dicloro-6-metoxiquinolona (5,00 g, 22,0°mmol) en NH₃ (g)/MeOH (saturado, 40 ml) se calentó a 150 °C durante 16 horas en un tubo sellado. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se diluyó con MeOH (20 ml). La mezcla se separó por filtración y el filtrado se concentró para proporcionar el producto en bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 2/1) para proporcionar 2-cloro-6-metoxiquinolona-4-amina (7,50 g, rendimiento: 55 %) en forma de un sólido de color amarillo.

Intermedio 9: Síntesis de acetato de 2-cloro-8-fluoroquinolona-6-ilo

Etapas 1: Síntesis de 3-cloro-N-(2-fluoro-4-hidroxifenil)propanamida: Se mezcló 4-amino-3-fluorofenol (3,4 g) con cloruro de 3-cloropropanoilo (3,56 g) en acetona (60 ml) y se calentó a reflujo durante 3 horas. Después del tratamiento acuoso con EtOAc/agua, las capas orgánicas aisladas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice para proporcionar el producto (2,95 g) en forma de un sólido de color marrón claro.

Etapas 2: Síntesis de 8-fluoro-6-hidroxi-3,4-dihidroquinolona-2-(1H)-ona: Se mezcló 3-cloro-N-(2-fluoro-4-hidroxifenil)propanamida (2,1 g) con AlCl₃ anhidro (7 g) y se calentó a 160 °C durante la noche. La mezcla resultante se trató con HCl 1 N y se extrajo con EtOAc. Después del aislamiento de la capa orgánica y eliminación de los disolventes a presión reducida, el producto en bruto deseado (1,8 g) se recogió en forma de sólidos de color marrón claro.

Etapas 3: Síntesis de acetato de 8-fluoro-2-oxo-1,2,3,4-tetrahidroquinolona-6-ilo: Se trató 8-fluoro-6-hidroxi-3,4-dihidroquinolona-2-(1H)-ona (0,574 g) en bruto con cloruro de acetilo (330 mg) y TEA (0,68 ml) en DCM (8 ml) durante 2 h. Después del tratamiento acuoso con EtOAc/agua, el producto en bruto se purificó mediante una cromatografía en columna ultrarrápida para proporcionar el producto deseado (382 mg) en forma de sólidos incoloros.

Etapla 4: Síntesis de acetato de 8-fluoro-2-hidroxiquinolin-6-ilo: A una solución de acetato de 8-fluoro-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-ilo (718 mg) en tolueno (8 ml) se le añadió DDQ (1,2 g). La solución resultante se calentó a 70 °C durante 48 h. Después del tratamiento acuoso con EtOAc, el producto en bruto se purificó mediante una cromatografía en columna de sílice ultrarrápida para proporcionar el producto puro (550 mg) en forma de un sólido incoloro.

Etapla 5: Síntesis del Intermedio 9: A una solución de acetato de 8-fluoro-2-hidroxiquinolin-6-ilo (550 mg) en DMF (6 ml) se le añadió POCl₃ (0,6 ml). Después, la mezcla se calentó a 80 °C durante un par de horas. Después del tratamiento acuoso, el producto deseado, el acetato de 2-cloro-8-fluoroquinolin-6-ilo (380 mg) se obtuvo mediante cromatografía en columna de sílice ultrarrápida.

Intermedio 10: Síntesis de 3-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoato de metilo

Etapla 1: Síntesis de 4-bromo-3-fluorobenzoato de metilo: A una solución de ácido 4-bromo-3-fluorobenzoico (4 g, 18°mmol) en metanol (10 ml) se le añadió gota a gota dicloruro de oxalilo (4,6 g, 36°mmol). La reacción se calentó a 60 °C durante la noche y se añadió lentamente en agua con hielo y se extrajo con DCM (50 ml, 2 veces). Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron para proporcionar el producto deseado (3,7 g, 88 %) en forma de un sólido de color marrón.

Etapla 2: Síntesis del Intermedio 10: A una solución de 4-bromo-3-fluorobenzoato de metilo (1 g, 4,29 mmol) en 1,4-dioxano (20ml) se le añadieron Pin₂B₂ (1,31 g, 5,15°mmol), acetato de potasio (1,26 g, 12,87°mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (106,2 mg, 0,128°mmol). El sistema se sometió a vacío y se volvió a llenar con N₂. La mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 17 h. La mezcla se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (PE/EA = 15/1) para proporcionar el Intermedio 10 (950 mg, 79 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (CDCl₃ 500 MHz TMS): δ 7,80 (t, J = 1,5 Hz, 2H), 7,67 (d, J = 10 Hz, 1H), 3,92 (s, 3H), 1,37 (s, 12H) ppm.

Ejemplo 58: Ensayos de la GSNOR

Se ensayaron *in vitro* diversos compuestos por su capacidad para inhibir la actividad de la GSNOR. Los compuestos inhibidores de la GSNOR de los Ejemplos 1-56 tenían una Cl₅₀ de aproximadamente <10°µM. Los compuestos inhibidores de la GSNOR de los Ejemplos 1-4, 6, 8, 10-14, 16-35, 37-43, 45-50 y 52-56 tenían una Cl₅₀ de aproximadamente <0,5°µM. Los compuestos inhibidores de la GSNOR de los Ejemplos 1-4, 8, 10-14, 17-28, 30, 31, 37, 40-41, 43, 46, 48-49 y 52-56 tenían una Cl₅₀ de aproximadamente <0,1°µM.

La expresión y la purificación de la GSNOR se describen en *Biochemistry* 2000, 39, 10720-10729.

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 µg/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 (A₆₀₀) 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.

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, ZnSO₄ 10 µM.

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: NaPO₄ 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 del 1 %. Las concentraciones de los compuestos ensayados varían entre 100 y 0,003 µM. Solución de Enzima/NADH: NaPO₄ 100°mM (pH 7,4), NADH 0,600°mM, GSNO reductasa 1,0 µg/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 Cl₅₀ de cada compuesto se calculan utilizando el análisis de la curva estándar en el módulo de cinética enzimática de SigmaPlot.

Condiciones finales del ensayo: NaPO₄ 100 mM, pH 7,4, GSNO 0,240°mM, NADH 0,300°mM, GSNO reductasa

0,5 µg/ml y DMSO al 1 %. Volumen final: 800 µl/cubeta.

Ejemplo 59: Eficacia de los GSNORi en el asma experimental

5 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 en el que los inhibidores de la GSNOR se administran después de la sensibilización a la OVA y la exposición de las vías respiratorias, y antes de la exposición a la MCh. La broncoconstricción en respuesta a la exposición a dosis crecientes de MCh se evaluó utilizando la pletismografía corporal total (P_{enh} ; Buxco). La cantidad de infiltrado eosinofílico en el fluido de lavado broncoalveolar (FLBA) también se determinó como una medida de la inflamación pulmonar. El efecto de los inhibidores de la GSNOR se compararon con los vehículos y con Combivent (inhulado; IH) como control positivo.

Materiales y métodos:

20 Sensibilización al alérgeno y protocolo de exposición

Se mezcló OVA (500 µg/ml) en PBS con volúmenes iguales de sulfato de aluminio y potasio al 10 % (p/v) en agua destilada y se incubaron durante 60 min a temperatura ambiente después del ajuste a pH 6,5 utilizando NaOH 10 N. Después de la centrifugación a 750 × g durante 5 min, el sedimento OVA/alumbre se resuspendió al volumen original en agua destilada. Los ratones recibieron una inyección intraperitoneal (IP) de 100 µg de OVA (0,2 ml de 500 µg/ml en solución salina normal) complejada con alumbre el día 0. Los ratones se anestesiaron 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 colocaron en una tabla en posición supina. Se ponen en la parte posterior de la lengua de cada animal doscientos cincuenta microgramos (100 µl de 2,5 mg/ml) de OVA (el día 8) y 125 µg (50 µl 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 midió 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 expusieron 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 expresó 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 intrapleuraleal en el mismo ratón. Las lecturas de P_{enh} se tomaron y se promediaron 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 × 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 comienza a la presión máxima de la caja y termina al 40 %.

Infiltrado eosinofílico en el FLBA

Después de la medición de la hiperreactividad de las vías respiratorias, los ratones se desangraron mediante punción cardíaca y después se recogió 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 contaron de una alícuota de 0,05 ml y el fluido restante se centrifugó a 200 × g durante 10 min a 4 °C. Los sedimentos celulares se resuspendieron en solución salina que contenía BSA al 10 % y se hicieron frotis sobre portaobjetos de vidrio. Los eosinófilos se tiñeron durante 5 min con eosina acuosa al 0,05 % y acetona acuosa al 5 % en agua destilada, se aclararon con agua destilada y se tiñeron con tinción de contraste azul de metileno al 0,07 %. De forma alternativa, los eosinófilos y otros leucocitos se tiñeron con DiffQuik.

Inhibidores de la GSNOR y controles

Los inhibidores de la GSNOR se reconstituyeron en solución salina tamponada con fosfato (PBS), pH 7,4, o carboximetilcelulosa al 0,5 % p/v en concentraciones que varían entre 0,00005 y 3 mg/ml. Los inhibidores de la GSNOR se administraron 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 realizó de 30 min a 72 h antes de la exposición a la MCh. Los efectos de los inhibidores de la GSNOR se compararon con el vehículo dosificado de la misma manera.

Se utilizó Combivent como control positivo en todos los estudios. El Combivent (Boehringer Ingelheim) se administró en los pulmones utilizando el dispositivo inhalador que se suministra con el producto, pero que está adaptado a la administración a ratones, utilizando una punta de pipeta. El Combivent se administró 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.

Análisis estadísticos

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 calcularon utilizando GraphPad Prism 5.0 (San Diego, CA) y se expresaron 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 calcularon utilizando un la ANOVA de una sola dirección, las pruebas post-hoc de Dunnetts o Bonferroni o la prueba-t (JMP 8.0, SAS Institute, Cary, NC o Microsoft Excel). Un valor de $p < 0,05$ entre los grupos de tratamiento y el grupo del control de vehículo respectivo se consideró significativamente diferente.

Resultados

En el modelo OVA de asma, el Compuesto 8 (Ejemplo 8) redujo de forma significativa ($p < 0,05$) la infiltración eosinofílica en el LBA en un 37 % del control de vehículo cuando se administró por medio de tres dosis orales de 10 mg/kg 48 h, 24 h y 1 h antes de la evaluación.

En el modelo OVA de asma, el Compuesto 3 (Ejemplo 3) redujo de forma significativa ($p < 0,05$) la infiltración eosinofílica en el LBA en un 42 % del control de vehículo cuando se administró por medio de tres dosis orales de 10 mg/kg 48 h, 24 h y 1 h antes de la evaluación.

En el modelo OVA de asma, el Compuesto 27 (Ejemplo 27) redujo de forma significativa ($p < 0,05$) la infiltración eosinofílica en el LBA en un 23 % del control de vehículo cuando se administró por medio de tres dosis orales de 10 mg/kg 48 h, 24 h y 1 h antes de la evaluación.

En el modelo OVA de asma, el Compuesto 4 (Ejemplo 4) redujo de forma significativa ($p < 0,05$) la AHR inducida por MCh en un 19 % del control de vehículo y redujo la infiltración eosinofílica en el LBA en un 20 % del control de vehículo cuando se administró en una dosis única IV de 10 mg/kg 24 h antes de la evaluación.

Ejemplo 60: Estudio farmacocinético (PK) en los ratonesModelo experimental

El ratón se utilizó 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 comparó 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 métodosAdministración IV de los compuestos de la invención

Los compuestos de la invención se reconstituyeron 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 administraron a los ratones (2 mg/kg) como una sola dosis IV. Los animales se trataron por la vena lateral de la cola. Las muestras de sangre se recogieron en los puntos temporales señalados (0,083, 0,25, 0,5, 1,2, 4, 8, 16, 24 horas) mediante punción cardíaca con anestesia con isoflurano (hasta 1 ml de sangre por animal). La sangre se recogió en tubos que contenían Li-heparina. Las muestras de sangre se mantuvieron en hielo hasta la centrifugación aproximadamente a los 30 minutos de la recogida. El plasma se transfirió a tubos de polipropileno etiquetados y se congeló a -70 °C hasta su análisis mediante CL/EM/EM.

Administración PO de los compuestos de la invención

Los compuestos de la invención se reconstituyeron 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 administraron a los ratones (10 mg/kg) como una dosis única por vía oral por sonda nasogástrica. Las muestras de sangre se recogieron a las 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 y 24 horas después de la dosis mediante punción cardiaca con anestesia con isoflurano (hasta 1 ml de sangre por animal). La sangre se recogió en tubos que contenían Li-heparina. Las muestras de sangre se mantuvieron en hielo hasta la centrifugación aproximadamente a los 30 minutos de la recogida. El plasma se transfirió a tubos de polipropileno etiquetados y se congeló 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 farmacocinéticos para las administraciones tanto IV como PO.

Parámetros farmacocinéticos para la parte IV – AUC_{última}; AUC_{INF}; T_{1/2}; Cl; Vss; C_{máx}; MRT

Parámetros farmacocinéticos para la parte PO - AUC_{última}; AUC_{INF}; T_{1/2}; C_{máx}; Cl; MRT.

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

Se ensayaron los compuestos de los Ejemplos 3, 4, 8, 13, 19, 27 y 28 y todos tuvieron una biodisponibilidad oral de más del 9 %. Los compuestos de los Ejemplos 3, 8, 13 y 27 tuvieron una biodisponibilidad oral de más del 45 %.

Ejemplo 61: eficacia de los inhibidores de la GSNOR en la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) experimentalDescripción general de los modelos:

Se utilizaron modelos agudos y crónicos 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 y crónica inducidas por DSS son modelos ampliamente utilizados y bien caracterizados que inducen cambios patológicos en el colon similares a los observados en la enfermedad humana. En estos modelos 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.

Modelo profiláctico agudo:

La EEI experimental se indujo mediante la administración de DSS en el agua de bebida de ratones macho C57B1/6 (N = de 8 a 10 ratones por grupo) durante 6 días consecutivos. El GSNORi se dosificó por vía oral en dosis de 0,1 a 10 mg/kg/día durante 10 días comenzando dos días antes y continuando dos días después de la exposición al DSS. Dos días después de la exposición al DSS, el efecto del GSNORi se evaluó de forma ciega a través de la endoscopia y la histopatología utilizando una escala de cinco puntos que van desde una puntuación = 0 (tejido normal) hasta una puntuación = 4 (daño tisular ulceroso y cambios patológicos marcados). También se evaluaron los niveles de citocinas circulantes implicadas en las vías de la inflamación. El efecto del GSNORi se comparó con los controles tratados con vehículo. El corticoesteroide, prednisolona, se utilizó como control positivo en este estudio y se administró diariamente a 3 mg/kg/día a través de la dosificación oral. También se evaluaron ratones no tratados (N = 5) como un control de tejido normal.

Modelo de tratamiento crónico:

La EEI experimental se indujo mediante la administración de DSS en el agua de bebida de ratones macho C57B1/6 (N = de 10 a 12 ratones por grupo) durante 6 días consecutivos. El GSNORi se dosificó por vía oral en dosis de 10 mg/kg/día durante 14 días comenzando un día después de cesar la exposición al DSS. La eficacia del GSNORi se evaluó de forma ciega a través de la endoscopia después de 7 días y de 14 días de administración del GSNORi y a través de la histopatología después de 14 días de administración del GSNORi utilizando una escala de cinco puntos que van desde una puntuación = 0 (tejido normal) hasta una puntuación = 4 (daño tisular ulceroso y cambios patológicos marcados). También se evaluaron los niveles de citocinas circulantes implicadas en las vías de la inflamación. El efecto del GSNORi se comparó con los controles tratados con vehículo. El corticoesteroide,

prednisolona, se utilizó como control positivo en este estudio y se administró diariamente a 3 mg/kg/día a través de la dosificación oral. También se evaluaron ratones no tratados (N = 5) como un control de tejido normal.

Resultados:

5 El Compuesto 3 (Ejemplo 3) atenuó la lesión de colon y redujo los niveles de citocinas implicadas en las respuestas inflamatorias en un modelo de ratón de EII aguda inducida por DSS. El porcentaje de ratones que presentaron puntuaciones de lesión de colon graves a través de las evaluaciones endoscópicas e histopatológicas disminuyó significativamente ($p < 0,05$) en un 38 % a un 88 % del control de vehículo después del tratamiento por vía oral con el
10 Compuesto 3 a 0,1, 1 o 10 mg/kg/día durante 10 días consecutivos utilizando una pauta posológica profiláctica. El Compuesto 3 también restableció las citocinas inflamatorias circulantes hacia los niveles observados en los ratones no tratados. Estos efectos del Compuesto 3 fueron comparables o superiores a los observados para la prednisolona.

15 El Compuesto 8 (Ejemplo 8) atenuó la lesión de colon en un modelo de ratón de EII aguda inducida por DSS. El porcentaje de ratones que presentaron puntuaciones de lesión de colon graves a través de las evaluaciones endoscópicas e histopatológicas disminuyó en un 44 % o un 26 %, respectivamente, del control de vehículo después del tratamiento por vía oral con el Compuesto 8 a 10 mg/kg/día durante 10 días consecutivos utilizando una pauta posológica profiláctica.

20 El Compuesto 19 (Ejemplo 19) atenuó la lesión de colon en un modelo de ratón de EII aguda inducida por DSS. El porcentaje de ratones que presentaron puntuaciones de lesión de colon graves a través de las evaluaciones endoscópicas disminuyó en un 31 % del control de vehículo después del tratamiento por vía oral con el Compuesto 19 a 10 mg/kg/día durante 10 días consecutivos utilizando una pauta posológica profiláctica.

25 El Compuesto 13 (Ejemplo 13) atenuó la lesión de colon en un modelo de ratón de EII crónica inducida por DSS. El porcentaje de ratones que presentaron puntuaciones de lesión de colon graves a través de las evaluaciones endoscópicas e histopatológicas disminuyó significativamente ($p < 0,05$) en un 52 % o 53 %, respectivamente, del control de vehículo después del tratamiento oral con el Compuesto 13 a 10 mg/kg/día durante un máximo de 14 días consecutivos utilizando una pauta posológica de tratamiento.

30 **Ejemplo 62: Eficacia de los inhibidores de la GSNOR en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) experimental**

Modelos de EPOC de humo de cigarrillo de corta duración

35 La eficacia de los inhibidores de la GSNOR se evaluó en un modelo de ratón de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) inducida por la exposición al humo del cigarrillo de corta duración (4 días u 11 días). La infiltración de células inflamatorias en el fluido de lavado broncoalveolar (FLBA) y los niveles en el FLBA de quimiocinas implicadas en la inflamación y en la renovación/repación del tejido se midieron para evaluar la influencia de los
40 inhibidores de la GSNOR en algunos de los sucesos tempranos asociados a la iniciación y progresión de la EPOC.

Descripción general de los modelos:

45 La eficacia de los inhibidores de la GSNOR contra la EPOC se exploró utilizando modelos de EPOC inducida por el humo de cigarrillo en ratones aguda (4 días) y subcrónica (11 días). La exposición de los animales al humo de cigarrillo proporciona un modelo de la EPOC en el que la lesión es inducida por el mismo agente causante que en la enfermedad humana y en el que la lesión presenta similitudes con la enfermedad humana, incluyendo la obstrucción de las vías respiratorias, la dilatación alveolar y la participación de las respuestas inflamatorias en estas alteraciones anatomopatológicas. En modelos animales, los cambios en las características anatomopatológicas pulmonares solo
50 son evidentes después de la exposición al humo del cigarrillo de duración prolongada (varios meses), con lo que los modelos crónicos son prohibitivos como herramientas de detección eficaces. Más recientemente, los modelos que exploran las respuestas inflamatorias de la exposición al humo del cigarrillo de corta duración (2 semanas o menos) en ratones se han utilizado como herramientas para la detección de la eficacia y los mecanismos de acción de nuevas terapias contra la EPOC. Las funciones clave de la inflamación en la iniciación y la progresión de la EPOC,
55 hacen que estos modelos de corta duración sean relevantes para los ensayos iniciales de la eficacia de nuevas terapias.

60 Modelo de exposición al humo aguda (4 días): Se expusieron ratones C57B1/6 hembras (N = 8 por grupo) al humo del cigarrillo utilizando una cámara de exposición de todo el cuerpo. Los ratones se expusieron diariamente durante 4 días consecutivos a 4 ciclos de humo de 6 cigarrillos secuenciales (Kentucky 3R4F sin filtro) con un intervalo libre de humo de 30 minutos entre los ciclos. Los inhibidores de la GSNOR se administraron diariamente a través de la administración oral de 10 mg/kg/día durante 7 días a comenzando 2 días antes de la exposición al humo y continuando 1 día después de la exposición. Los efectos de los inhibidores de la GSNOR se evaluaron mediante la cuantificación del número de células totales, leucocitos y leucocitos diferenciales en el FLBA a través de microscopía
65 óptica y los niveles de quimiocinas del FLBA a través de ELISA aproximadamente 24 h después de la última exposición al humo. El efecto de los inhibidores de la GSNOR se comparó con los controles tratados con vehículo.

El inhibidor de la PDE4, roflumilast, se utilizó como control positivo para el estudio. Un grupo de ratones no tratados (N = 8) se expuso al aire y se utilizó como control negativo para el estudio.

Modelo de exposición al humo aguda subcrónica (11 días): Se expusieron ratones C57B1/6 hembras (N = 8 por grupo) al humo del cigarrillo generado con los cigarrillos Marlboro 100 sin filtros. Los tiempos de exposición fueron 25 min el día 1 del estudio, 35 min el día 2 del estudio y 45 min los días de estudio 3 a 11. Los inhibidores de la GSNOR se administraron una hora antes de la exposición al humo de cada día. Los inhibidores de la GSNOR se dosificaron por vía oral a 1 a 10 mg/kg/día durante 11 días. Los efectos de los inhibidores GSNOR se evaluaron mediante la cuantificación del número de células totales, leucocitos y leucocitos diferenciales en el FLBA a través de microscopía óptica 24 h después de la última exposición. El efecto de los inhibidores de la GSNOR se comparó con los controles tratados con vehículo y se expresó como porcentaje de inhibición del aumento del número de células del FLBA inducido por el humo del cigarrillo. El roflumilast se utilizó como control positivo para el estudio y se dosificó a 5 mg/kg/día. Un grupo de ratones no tratados (N = 10) se expuso al aire y se trataron con el vehículo como control negativo para el estudio.

Resultados:

El Compuesto 3 (Ejemplo 3) atenuó los cambios inducidos por el humo en el infiltrado celular del FLBA y en las quimiocinas inflamatorias del FLBA. El Compuesto 3 disminuyó significativamente ($p < 0,05$) el total de células, leucocitos, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos del FLBA en un 66 %, 80 %, 75 %, 84 % y 95 %, respectivamente, en comparación con los controles tratados con vehículo cuando se dosificó por vía oral a 10 mg/kg/día durante 7 días en el modelo de humo agudo de 4 días. Estos efectos del Compuesto 3 fueron comparables o superiores a los observados para el roflumilast. El Compuesto 3 también restauró las quimiocinas del FLBA hacia los niveles observados en ratones no tratados. En el modelo subcrónico de 11 días, el Compuesto 3 inhibió el aumento inducido por el humo en las células totales ($p < 0,05$), macrófagos, neutrófilos ($p < 0,05$), eosinófilos y linfocitos ($p < 0,05$) del FLBA en un 25 %, 24 %, 41 %, 70 % y 49 %, respectivamente, cuando se dosificó por vía oral a 10 mg/kg/día durante 11 días. Cuando se dosificó por vía oral a 5 mg/kg/día, el Compuesto 3 inhibió las células totales, macrófagos, neutrófilos ($p < 0,05$) y linfocitos ($p < 0,05$) del FLBA en un 22 %, 23 %, 29 % y 46 %, respectivamente.

El Compuesto 8 (Ejemplo 8) inhibió significativamente ($p < 0,05$) el aumento inducido por el humo en las células totales, macrófagos, neutrófilos y linfocitos del FLBA en un 35 % a 48 %, 24 % a 43 %, 41 % a 70 % y 49 a 65 %, respectivamente, cuando se dosificó por vía oral a 1 a 10 mg/kg/día durante 11 días en el modelo subcrónico de 11 días. No hubo respuesta de efecto a la dosis con 1, 5 o 10 mg/kg/día. Los efectos del Compuesto 8 fueron comparables a los de roflumilast.

El Compuesto 13 (Ejemplo 13) inhibió significativamente ($p < 0,05$) el aumento inducido por el humo en las células totales, macrófagos, neutrófilos y linfocitos del FLBA en un 56 %, 53 %, 67 % y 60 %, respectivamente, cuando se dosificó por vía oral a 1 mg/kg/día durante 11 días en el modelo subcrónico de 11 días. Estos efectos del Compuesto 13 fueron comparables a los de roflumilast.

El Compuesto 27 (Ejemplo 27) inhibió significativamente ($p < 0,05$) el aumento inducido por humo en las células totales, macrófagos, neutrófilos y linfocitos del FLBA en un 44 %, 41 %, 64 % y 46 %, respectivamente, cuando se dosificó por vía oral a 1 mg/kg/día durante 11 días en el modelo subcrónico de 11 días. Estos efectos del Compuesto 27 fueron comparables a los de roflumilast.

Ejemplo 63: Un estudio exploratorio en ratón de la toxicidad del acetaminofeno

La inhibición de la S-nitrosoglutatión reductasa (GSNOR) ha demostrado previamente en nuestras manos que mejora las manifestaciones negativas de la lesión gastrointestinal en modelos animales. Como una extensión de estas observaciones, los efectos de los inhibidores del S-nitrosoglutatión (GSNO) o de la GSNOR (GSNORi) sobre la toxicidad hepática inducida por acetaminofeno (ACAP) pueden evaluarse en un modelo de ratón de lesión hepática. Se recogen muestras de sangre para los ensayos de la función hepática y se recogen muestras de tejidos al final del estudio para el examen histopatológico.

Materiales y Métodos

GSNORi, GSNO, acetaminofeno (ACAP, Sigma) Vehículos (jeringas de 1/2 cc para la dosificación), isoflurano, jeringas de 18 1 cc, agujas w/26 g para la extracción de sangre, 90 tubos separadores de suero para química clínica.

Diseño general del estudio: Los animales (5/grupo) se aclimatan durante al menos 3 días antes de la dosificación. El Día de Estudio 1, se administra el tratamiento de acetaminofeno (300 mg/kg PO) una sola vez = 0 a animales en ayunas. Dos horas más tarde, se administran por vía intravenosa el GSNORi (10 mg/kg/dosis) o el GSNO (5 mg/kg/dosis) a los grupos de tratamiento. El GSNORi o el GSNO se administran a las 24 y 48 horas después de la administración inicial a los grupos de tratamiento. Se observan los ratones para determinar signos de toxicidad clínica y la sangre se recoge 6, 24 y 72 horas después de la administración del ACAP para los ensayos de función hepática: fosfatasa alcalina (ALK); alanina aminotransferasa (ALT); aspartato aminotransferasa (AST); gamma

glutamilttransferasa (GGT) y bilirrubina total (TBILI). Los hígados se recogieron a las 72 horas para el examen histopatológico.

Esquema del estudio

5

Grupo	Tratamiento	Dosis	Concentración del fármaco	N
1	ACAP PO	300 mg/kg	10 ml/kg	5
2	Solución salina PO	0 mg/kg	10 ml/kg	5
3	GSNORi IV	10 mg/kg	1 mg/ml	5
4	GSNO IV	5 mg/kg	1 mg/ml	5
5	GSNORi IV + ACAP	10 m/k/300 m/k	1 mg/ml	5
6	GSNO IV + ACAP	5 m/k/300 m/k	1 mg/ml	5

Calendario del estudio:

10	Día -6	Se reciben los ratones y se colocan en jaulas normales
	Día -1	Los animales ayunan durante la noche
	Día 0	Se pesan, ACAP PO tiempo = 0, tiempo = 2 GSNO o GSNORi IV se sangran todos los grupos 6 horas después del ACAP
	Día 1	Se pesan, se sangran todos los grupos para las PFH, GSNO o GSNORi IV de las 24 h
	Día 2	Se pesan, GSNO o GSNORi IV
15	Día3	Se sangran para las PFH de las 72 h, se recogen los hígados para el peso y la histología

Preparación del vehículo, del GSNO y del GSNORi

El artículo de control de vehículo es suero salino tamponado con tampón fosfato (PBS) (que no contenga calcio, potasio o magnesio) ajustado a pH 7,4. Los componentes del vehículo se pesan en un recipiente sobre una balanza tarada y llevados al volumen con agua purificada (p/v). La solución madre 10× se mezcla utilizando un agitador magnético, según sea necesario. Después, la solución madre se diluye 10 veces con agua desionizada en una relación de 1:9 (v/v). El GSNO se calienta a temperatura ambiente antes de la preparación de las soluciones. Antes de su uso, la solución de PBS se burbujea con nitrógeno. Las soluciones de GSNO 1 mg/ml se mantienen en frío (es decir, se mantienen un baño de hielo) y protegidos de la luz y se utilizan dentro de las 4 horas siguientes a la preparación. Preparación del GSNORi, la concentración de 1 mg/ml se reconstituye en tampón fosfato salino (PBS), pH 7,4. El GSNORi se administra a los ratones (10 ml/kg) en una sola dosis (IV) diaria. La dosificación se realiza 2 horas después de la administración del ACAP y después 26 y 50 horas más tarde. Los efectos del GSNO o del GSNORi se comparan con el ACAP y vehículo de solución salina dosificados de la misma manera.

Cálculos: Pesos corporales medios, pesos medios del hígado y criterios de valoración de patología clínica ($\pm$ DS) con la prueba T y ANOVA (alfa = 0,05) en comparación con el grupo de control de vehículo. Los datos de patología clínica se preparan como valores medios a menos que los datos no se distribuyen normalmente, en cuyo caso, los valores medios pueden presentarse con el intervalo de valores máximo y mínimo.

Ejemplo 64: Un estudio exploratorio para evaluar la actividad del GSNORi frente a la fibrosis causada por la EHNA en ratones STAM

La inhibición de la S-nitrosoglutatión reductasa (GSNOR) ha demostrado previamente en nuestras manos que mejora las manifestaciones negativas de la lesión gastrointestinal y las lesiones por ACAP en modelos de ratón. Como una extensión de estas observaciones, los efectos de la capacidad de los inhibidores de la GSNOR (GSNORi) para revertir la actividad fibrótica en la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) inducida por enfermedad hepática se evalúa en ratones STAM (molécula adaptadora de transducción de señal). En estos ratones se ven cambios secuenciales desde la esteatosis hepática a la fibrosis a las dos semanas y existen similitudes con la histopatología de la EHNA humana.

Materiales y Métodos

GSNORi, Telmisartán, Vehículos (jeringas de 1/2 cc para la dosificación), isoflurano, jeringas de 18 1 cc, agujas w/26 g para extracción de sangre, 90 tubos separadores de suero para química clínica.

Diseño general del estudio: Los animales (6/grupo) se aclimatan antes de comenzar el estudio. A las 4 semanas de edad los animales se ponen a dieta, el grupo 1 (ratones normales) recibe una dieta normal, mientras que los grupos de 2-4 (ratones STAM) se ponen en una dieta rica en grasas durante la duración del estudio. En la Semana de Estudio 7 a los ratones comienzan la dosificación diaria oral con el GSNORi y se sacrifican en la Semana de Estudio 9. Los ratones se observan para determinar signos de toxicidad clínica y se recoge sangre/tejido para los análisis hepáticos: triglicéridos plasmáticos (TG); Alanina aminotransferasa (ALT); Aspartato aminotransferasa (AST); Expresión Génica: Timp-1, α -SMA, colágeno 3, TNF- α y MCP-1, así como el examen histopatológico

mediante tinción HE para determinar la puntuación de la actividad (EHNA) y tinción Sirius-roja (área fibrótica).

Esquema del Estudio

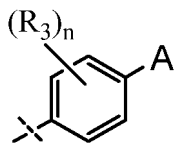
	Grupo Tratamiento	Dieta	Dosis	Concentración del fármaco	N
1	normal	DN	0 mg/kg	0ml/kg	6
2	STAM + vehículo	DRG	10 mg/kg	1 mg/ml	6
3	STAM + GSNORi IV	DRG	10 mg/kg	1 mg/ml	6
4	STAM + Telmisartán	DRG	10 mg/kg	1 mg/ml	6
DN: dieta normal, DRG: dieta rica en grasas					

5 **Cálculos:** Pesos corporales medios, pesos medios del hígado y criterios de valoración de patología clínica ($\pm$ DS) con la prueba T y ANOVA (alfa = 0,05) en comparación con el grupo de control de vehículo. Los datos de patología clínica se preparan como valores medios a menos que los datos no se distribuyen normalmente, en cuyo caso, los valores medios pueden presentarse con el intervalo de valores máximo y mínimo.

10

$N(CH_3)_2$.

4. El compuesto o la sal de la reivindicación 3 en donde X es



5. El compuesto o la sal de la reivindicación 4 en donde A es COOH.

6. El compuesto de la reivindicación 1 seleccionado entre el grupo que consiste en

ácido 4-(6-hidroxi-3-metilquinolin-2-il)benzoico;
 2-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-3-metilquinolin-6-ol;
 ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 2-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)quinolin-6-ol;
 ácido 1-(6-hidroxiquinolin-2-il)piperidin-4-carboxílico;
 ácido (1r,4r)-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico;
 ácido (1s,4s)-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico;
 ácido 3-cloro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 2-cloro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 2-fluoro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 2-(4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)-4-cloroquinolin-6-ol;
 3-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-(2H)-ona;
 ácido 3-fluoro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)-3-metoxibenzoico;
 ácido 5-(6-hidroxiquinolin-2-il)tiofeno-2-carboxílico;
 ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohex-3-encarboxílico;
 ácido 4-(3-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 4-(4-cloro-3-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 4-(3-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 3-(2-fluoro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-(4H)-ona;
 3-(3-fluoro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-(4H)-ona;
 ácido 4-(4-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 2-(2-cloro-4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)quinolin-6-ol;
 5-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,3,4-oxadiazol-2-(3H)-ona;
 ácido 3-(dimetilamino)-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 4-(4-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)-3-metilbenzoico;
 ácido 4-(3-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)-3-fluorobenzoico;
 3-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-tiadiazol-5-(2H)-ona;
 ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)-3-(trifluorometil)benzoico;
 ácido 4-(6-hidroxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)benzoico;
 1-óxido de 2-(4-carboxifenil)-6-hidroxiquinolina;
 5-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,3,4-tiadiazol-2-(3H)-ona;
 5-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-(2H)-ona;
 ácido (1r,4r)-4-(3-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico;
 ácido (1s,4s)-4-(3-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico;
 ácido 3-cloro-4-(4-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 2-(5-(2H-tetrazol-5-il)tiofen-2-il)quinolin-6-ol;
 5-(4-(6-hidroxiquinolin-2-il)fenil)-1,2,4-tiadiazol-3-(2H)-ona;
 ácido 3-fluoro-4-(4-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 1-(6-hidroxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)piperidin-4-carboxílico;
 ácido 4-(5-cloro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido (1r,4r)-4-(6-hidroxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico;
 ácido (1s,4s)-4-(6-hidroxi-3-(trifluorometil)quinolin-2-il)ciclohexanocarboxílico;
 ácido 4-(5-bromo-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 3-bromo-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 4-(4-(dimetilamino)-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 4-(4-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)-3-metoxibenzoico;
 ácido 3-ciano-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 1-óxido de 2-(4-carboxi-2-clorofenil)-6-hidroxiquinolina;
 ácido 4-(3-ciano-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;
 ácido 4-(5-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico;

ácido 4-(8-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico; y
 ácido 3-fluoro-4-(5-fluoro-6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico.

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 7. El compuesto o la sal de la reivindicación 6 en donde el compuesto es ácido 3-cloro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico.
- 10 8. El compuesto o la sal de la reivindicación 6 en donde el compuesto es ácido 3-fluoro-4-(6-hidroxiquinolin-2-il)benzoico.
9. El compuesto o la sal de la reivindicación 6 en donde el compuesto es ácido 4-(6-hidroxiquinolin-2-il)-3-metilbenzoico.
- 15 10. El uso de un compuesto de Fórmula I como se define en la reivindicación 1 o en la reivindicación 6 como inhibidor *in vitro* de la GSNOR.
- 20 11. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o una sal de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 con un vehículo o un excipiente farmacéuticamente aceptables.
12. Un compuesto o una sal como se definen en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 11 para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad o afección.
- 25 13. Un compuesto o una sal como se definen en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 11 para su uso en un método de tratamiento de asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedad inflamatoria intestinal o fibrosis quística.
- 30 14. El uso de un compuesto o de una sal de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de asma, EPOC, enfermedad inflamatoria intestinal o fibrosis quística.
15. Un método de preparación de un compuesto de Fórmula I o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se definen en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.