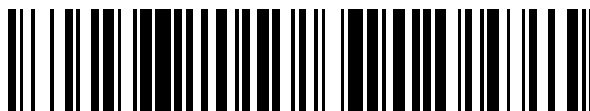


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 558 761**

51 Int. Cl.:

C07D 217/16 (2006.01)

C07D 413/04 (2006.01)

C07D 217/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.05.2004 E 04752676 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.10.2015 EP 1644367**

54 Título: **Compuestos y composiciones inmunosupresores**

30 Prioridad:

19.05.2003 US 471931 P

14.04.2004 US 562182 P

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

08.02.2016

73 Titular/es:

NOVARTIS AG (100.0%)

Lichtstrasse 35

4056 Basel, CH

72 Inventor/es:

PAN, SHIFENG;

GRAY, NATHANAEL S.;

FAN, YI;

GAO, WENQI y

MI, YUAN

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 558 761 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos y composiciones inmunosupresores

Antecedentes de la invención

Campo de la invención

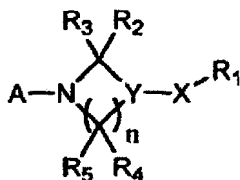
- 5 La invención proporciona una nueva clase de compuestos inmunosupresores útiles en el tratamiento o la prevención de enfermedades o trastornos mediados por interacciones linfocíticas, particularmente enfermedades asociadas con la transducción de señales mediada por receptores EDG.

Antecedentes

- 10 Los receptores EDG pertenecen a una familia de receptores acoplados a proteínas G, activados por lípidos e íntimamente relacionados. Los receptores EDG-1, EDG-3, EDG-5, EDG-6 y EDG-8 (también denominados respectivamente S1P1, S1P3, S1P2, S1P4 y S1P5) son identificados como receptores específicos para la esfingosina-1-fosfato (S1P; del inglés, sphingosine-1-phosphate). Los receptores EDG2, EDG4 y EDG7 (también denominados respectivamente LPA1, LPA2 y LPA3) son receptores específicos para el ácido lisofosfatídico (LPA; del inglés, lysophosphatidic acid). Entre los isotipos del receptor de S1P, EDG-1, EDG-3 y EDG-5 se expresan
15 ampliamente en diversos tejidos, mientras que la expresión de EDG-6 está en gran medida limitada a tejidos linfoides y plaquetas, y la de EDG-8 al sistema nervioso central. Los receptores EDG son responsables de la transducción de señales y se piensa que desempeñan un papel importante en procesos celulares que implican desarrollo, proliferación, mantenimiento, migración, diferenciación, plasticidad y apoptosis de células. Ciertos receptores EDG están asociados con enfermedades mediadas por interacciones linfocíticas, por ejemplo, en el rechazo de trasplantes, enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades infecciosas y
20 cáncer. Una alteración en la actividad del receptor EDG contribuye a la patología y/o sintomatología de estas enfermedades. En consecuencia, las moléculas que por sí mismas alteran la actividad de los receptores EDG son útiles como agentes terapéuticos en el tratamiento de tales enfermedades. En el Documento EP 1430894 A1 se describen derivados de 7-(bencenosulfonamida)indol como inhibidores de la activación linfocítica para uso en el
25 tratamiento de enfermedades autoinmunes e inflamatorias.

Sumario de la invención

Esta solicitud se refiere a compuestos de Fórmula I:



en la que:

- 30 n es 1 o 2;

A es $-(CH_2)_2C(O)OH$;

X es un enlace o es seleccionado de entre [1,2,4]oxadiazol, $-CH_2O-$, $-OCH_2-$, isoxazoles y [1,3,4]oxadiazol;

Y es seleccionado de entre fenilo y benzooxazolilo;

- 35 R_1 es escogido de entre arilo C_{6-10} y heteroarilo C_{2-9} ; en donde todo arilo o heteroarilo de R_1 está opcionalmente sustituido con un radical elegido de entre aril C_{6-10} -alquilo C_{0-4} , heteroaril C_{2-9} -alquilo C_{0-4} , cicloalquil C_{3-8} -alquilo C_{0-4} , heterocicloalquil C_{3-8} -alquilo C_{0-4} y alquilo C_{1-6} ; en donde todo grupo arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo de R_1 puede estar opcionalmente sustituido con de uno a cinco radicales escogidos de entre halo, alquilo C_{1-6} , alcoxilo C_{1-6} , alquilo C_{1-6} sustituido con halo, y alcoxilo C_{1-6} sustituido con halo; y todo grupo alquilo de R_1 puede tener opcionalmente un metileno sustituido por un átomo o grupo escogido de entre $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-NR_7-$ y
40 $-O-$; en donde R_7 es escogido de entre hidrógeno y alquilo C_{1-6} ; y

R_2 , R_3 , R_4 y R_5 son hidrógeno; y las sales, hidratos, solvatos, derivados N-óxido, isómeros ópticos o geométricos seleccionados de entre compuestos cis, compuestos trans y mezclas de los mismos, farmacéuticamente aceptables.

- 45 Un segundo aspecto de la invención es una composición farmacéutica que contiene un compuesto de Fórmula I o un derivado N-óxido, un isómero óptico individual o isómeros geométricos seleccionados de entre compuestos cis, compuestos trans y mezclas de los mismos, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en mezcla con uno o más excipientes adecuados.

La invención describe compuestos de Fórmula (I) para uso en un método para tratar una enfermedad en un animal en el que una alteración de la transducción de señales mediada por el receptor EDG puede prevenir, inhibir o mejorar la patología y/o sintomatología de la enfermedad, método que comprende administrar al animal una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I o un derivado N-óxido, un isómero individual o una mezcla de isómeros del mismo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Un cuarto aspecto de la invención es el uso de un compuesto de Fórmula I en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad en un animal en el que una alteración de la transducción de señales mediada por el receptor EDG contribuye a la patología y/o sintomatología de la enfermedad.

Descripción de las realizaciones preferidas

La invención proporciona compuestos que son útiles en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos mediados por interacciones linfocíticas. También se proporcionan métodos para tratar tales enfermedades o trastornos.

Definiciones

En esta memoria descriptiva, a menos que se defina otra cosa:

El "alquilo", como un grupo y como un elemento estructural de otros grupos, por ejemplo, alquilo sustituido con halo, alcoxilo, acilo, alquiltio, alquilsulfonilo y alquilsulfonilo, puede ser de cadena lineal o ramificada. El "alqueno", como un grupo y como un elemento estructural de otros grupos, contiene uno o más dobles enlaces carbono-carbono y puede ser de cadena lineal o ramificada. Los dobles enlaces pueden estar en configuración cis o trans. El "alquino", como un grupo y como un elemento estructural de otros grupos y compuestos, contiene al menos un triple enlace $C\equiv C$ y puede también contener uno o más dobles enlaces $C=C$, y, en la medida de lo posible, puede ser de cadena lineal o ramificada. Todo grupo cicloalquilo, solo o como un elemento estructural de otros grupos, puede contener de 3 a 8 átomos de carbono, preferiblemente de 3 a 6 átomos de carbono. "Alqueno" y "alqueno" son radicales divalentes derivados de grupos "alquilo" y "alqueno", respectivamente. En esta solicitud, todo grupo alquilo de R^1 puede estar opcionalmente interrumpido por un miembro seleccionado del grupo de $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-NR^{20}-$ y $-O-$ (en donde R^{20} es hidrógeno o alquilo C_{1-6}). Estos grupos incluyen $-CH_2-O-CH_2-$, $-CH_2-S(O)_2-CH_2-$, $-(CH_2)_2-NR^{20}-CH_2-$, $-CH_2-O-(CH_2)_2-$ y similares.

"Ariolo" significa un anillo aromático monocíclico o bicíclico fusionado que contiene de seis a diez átomos de carbono anulares. Por ejemplo, un ariolo C_{6-12} puede ser fenilo, bifenilo o naftilo, preferiblemente fenilo. Un anillo bicíclico fusionado puede estar parcialmente saturado, por ejemplo, 1,2,3,4-tetrahidronaftaleno y similares. "Arieno" significa un radical divalente derivado de un grupo ariolo. Por ejemplo, el arieno, como se usa en esta solicitud, puede ser fenileno, bifenileno, naftileno y similares.

"Halo" o "halógeno" significa F, Cl, Br o I, preferiblemente F o Cl. Los grupos y compuestos alquílicos sustituidos con halo pueden estar parcialmente halogenados o perhalogenados, por lo que, en el caso de una halogenación múltiple, los sustituyentes halógeno pueden ser idénticos o diferentes. Un grupo alquilo perhalogenado preferido es, por ejemplo, el trifluorometilo o el trifluorometoxilo.

"Heteroarilo" significa ariolo, como se define en esta solicitud, con la adición de al menos un componente heteroatómico seleccionado de entre N, O y S, y cada anillo está compuesto de 5 a 6 átomos anulares, a menos que se afirme otra cosa. Por ejemplo, un heteroarilo C_2 incluye oxadiazol, triazol y similares. Un heteroarilo C_9 incluye quinoleína, 1,2,3,4-tetrahidroquinoleína y similares. Un heteroarilo C_{2-9} , como se usa en esta solicitud, incluye tienilo, piridinilo, furanilo, isoxazolilo, benzoxazolilo y benzo[1,3]dioxolilo, preferiblemente tienilo, furanilo y piridinilo. "Heteroarileno" significa heteroarilo, como se define en esta solicitud, con tal de que el conjunto anular comprenda un radical divalente. Un sistema anular heteroarílico bicíclico fusionado puede estar parcialmente saturado, por ejemplo, 2,3-dihidro-1H-isoindol, 1,2,3,4-tetrahidroquinoleína y similares.

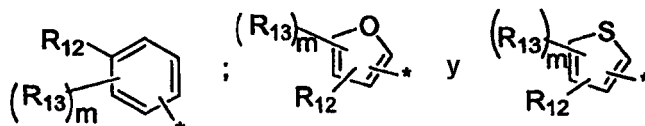
Como se emplea en la presente invención, un compuesto (agente o modulador) selectivo para EDG-1 tiene una especificidad que es selectiva para EDG-1 con respecto a EDG-3 y con respecto a uno o más de EDG-5, EDG-6 y EDG-8. Como se emplea en esta memoria, la selectividad para un receptor EDG (un "receptor selectivo") con respecto a otro receptor EDG (un "receptor no selectivo") significa que el compuesto presenta una potencia mucho mayor en cuanto a inducir actividades mediadas por el receptor EDG selectivo (por ejemplo, EDG-1) que para el receptor EDG específico de S1P no selectivo. Si se realizan mediciones en un ensayo de unión de GTP- γ S (como se describe más adelante en los Ejemplos), un compuesto selectivo para EDG-1 tiene típicamente una EC50 (concentración eficaz que causa el 50% de la respuesta máxima) para un receptor selectivo (EDG-1) que es al menos 5, 10, 25, 50, 100, 500 o 1000 veces menor que su EC50 para un receptor no selectivo (por ejemplo, uno o más de EDG-3, EDG-5, EDG-6 y EDG-8).

Descripción detallada de la invención

La invención proporciona compuestos que son útiles para tratar o prevenir enfermedades o trastornos que son mediados por interacciones linfocíticas. En una realización, para compuestos de Fórmula I, R_1 es fenilo, naftilo,

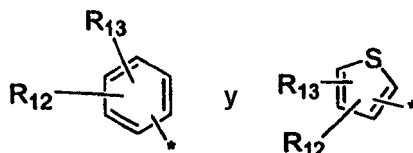
5 furanilo o tienilo opcionalmente sustituidos con aril C₆₋₁₀-alquilo C₀₋₄, heteroaril C₂₋₉-alquilo C₀₋₄, cicloalquil C₃₋₈-alquilo C₀₋₄, heterocicloalquil C₃₋₈-alquilo C₀₋₄ o alquilo C₁₋₆; en donde todo grupo arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo de R₁ puede estar opcionalmente sustituido con de uno a cinco radicales escogidos de entre halo, alquilo C₁₋₆, alcoxilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ sustituido con halo, y alcoxilo C₁₋₆ sustituido con halo; y todo grupo alquilo de R₁ puede tener opcionalmente un metileno sustituido por un átomo o grupo escogido de entre -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -NR₇- y -O-; en donde R₇ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆.

En otra realización, R₁ es escogido de entre:



10 en donde el asterisco es el punto de unión de R₁ con X; m es escogido de entre 1 y 2; R₁₂ es seleccionado de entre hidrógeno, aril C₆₋₁₀-alquilo C₀₋₄, heteroaril C₂₋₉-alquilo C₀₋₄, cicloalquil C₃₋₈-alquilo C₀₋₄ y alquilo C₁₋₆; en donde todo grupo arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo de R₁₂ puede estar opcionalmente sustituido con de uno a tres radicales escogidos de entre halo, alquilo C₁₋₆, alcoxilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ sustituido con halo, y alcoxilo C₁₋₆ sustituido con halo; y todo grupo alquilo de R₁₂ puede tener opcionalmente un metileno sustituido por un átomo o grupo escogido de entre -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -NR₁₀- y -O-; en donde R₁₀ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆; y R₁₃ es escogido de entre halo, alquilo C₁₋₆, alcoxilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ sustituido con halo, y alcoxilo C₁₋₆ sustituido con halo.

En otra realización, R₁ es seleccionado de entre:



20 en donde R₁₂ es seleccionado de entre hidrógeno, fenilo y ciclohexilo; en donde todo fenilo o ciclohexilo de R₁₂ está opcionalmente sustituido con metilo; y R₁₃ es seleccionado de entre trifluorometilo, metilo y etilo.

Los compuestos preferidos de la invención son seleccionados de entre ácido 3-[6-[3-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,2,4]oxadiazol-5-il]-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-(2-trifluorometil-bifenil-4-iloximetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[5-[5-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-isoxazol-3-il]-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-propiónico, ácido 3-[5-[5-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-propiónico, ácido 3-[5-[5-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,3,4]oxadiazol-2-il]-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-propiónico, ácido 3-[2-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-5,7-dihidro-oxazolo[4,5-f]isoindol-6-il]-propiónico, ácido 3-[7-[5-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-[5-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-[5-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,3,4]oxadiazol-2-il]-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-(3-trifluorometil-benciloxi)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benziloxi)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilmetoxi)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[7-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxi)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-(4-ciclohexil-3-metil-fenoximetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-(4-ciclohexil-3-etil-fenoximetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-(2-etil-bifenil-4-iloximetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico y ácido 3-[6-(2-etil-3'-metil-bifenil-4-iloximetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico.

Más adelante, en los ejemplos y la tabla 1, también se muestran otros compuestos preferidos. Formas del compuesto que tienen el grupo hidroxilo o amina en una forma protegida actúan como profármacos. Los profármacos son compuestos que, después de su administración, se convierten en una forma farmacológica activa a través de una o más transformaciones químicas o bioquímicas. Las formas de los compuestos de la presente invención que se convierten fácilmente en el compuesto reivindicado bajo condiciones fisiológicas son profármacos de los compuestos reivindicados. Los ejemplos de profármacos incluyen formas en que un grupo hidroxilo está acilado para formar un éster relativamente lábil, tal como un éster de acetato, y formas en que un grupo amina está acilado con el grupo carboxilato de la glicocola o un L-aminoácido tal como serina, formándose un enlace amida que es particularmente susceptible a la hidrólisis por enzimas metabólicas comunes.

45 Los compuestos de Fórmula I pueden existir en forma libre o en forma de sal, por ejemplo, sales por adición con ácidos inorgánicos u orgánicos. Cuando están presentes grupos hidroxilo, estos grupos pueden estar también presentes en forma de sal, por ejemplo, una sal de amonio o una sal con un metal tal como litio, sodio, potasio, calcio, zinc o magnesio, o una mezcla de los mismos. Los compuestos de Fórmula I y sus sales en forma de hidrato o solvato son también parte de la invención.

5 Cuando los compuestos de Fórmula I tienen centros asimétricos en la molécula, se obtienen diversos isómeros ópticos. La presente invención también abarca enantiómeros, racematos, diastereoisómeros y mezclas de los mismos. Además, cuando los compuestos de Fórmula I incluyen isómeros geométricos, la presente invención abarca compuestos cis, compuestos trans y mezclas de los mismos. Se aplican consideraciones similares en cuanto a los materiales de partida que presentan átomos de carbono asimétricos o enlaces insaturados, como se mencionó anteriormente.

Métodos y composiciones farmacéuticas para tratar estados inmunomoduladores

10 Los compuestos de Fórmula I en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable presentan propiedades farmacológicas valiosas, por ejemplo, propiedades moduladoras de la recirculación de linfocitos, por ejemplo, como se indica mediante los ensayos *in vitro* e *in vivo* del Ejemplo 3, y, por lo tanto, son indicados para terapia. Los compuestos de Fórmula I muestran preferiblemente una EC₅₀ en el intervalo de 1×10^{-11} a 1×10^{-5} M, preferiblemente inferior a 50 nM. Los compuestos presentan selectividad para uno o más receptores EDG/S1P, preferiblemente EDG-1/S1P-1. Los moduladores selectivos de EDG-1/S1P-1 de la presente invención pueden ser identificados examinando la unión de un compuesto a EDG-1/S1P-1 y a uno o más de los otros receptores EDG/S1P (por ejemplo, EDG-3/S1P-3, EDG-5/S1P-2, EDG-6/S1P-4 y EDG-8/S1P-5). Un modulador selectivo de EDG-1/S1P-1 tiene normalmente para el receptor EDG-1/S1P-1 una EC₅₀ en el intervalo de 1×10^{-11} a 1×10^{-5} M, preferiblemente inferior a 50 nM, más preferiblemente inferior a 5 nM. Para uno o más de los otros receptores EDG/S1P tiene también una EC₅₀ que es al menos 5, 10, 25, 50, 100, 500 o 1000 veces mayor que su EC₅₀ para EDG-1/S1P-1. De este modo, algunos de los compuestos moduladores de EDG-1/S1P-1 tendrán para EDG-1/S1P-1 una EC₅₀ que será inferior a 5 nM, mientras que su EC₅₀ para uno o más de los otros receptores EDG/S1P será al menos 100 nM o más. Además de examinando la actividad ligante con respecto a los receptores EDG/S1P, los agentes selectivos para EDG-1/S1P-1 pueden ser también identificados examinando la capacidad de un agente de ensayo para modificar un proceso o una actividad celulares mediados por un receptor EDG/S1P.

25 Por lo tanto, los compuestos de Fórmula I son útiles en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades o trastornos mediados por interacciones linfocíticas, p. ej., en el trasplante, tal como el rechazo agudo o crónico de aloinjertos o xenoinjertos de células, tejidos u órganos o la función retrasada del injerto, la enfermedad del injerto contra el huésped, enfermedades autoinmunes, p. ej., artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, tiroiditis de Hashimoto, esclerosis múltiple, miastenia gravis, diabetes de tipo I o II y los trastornos asociados con ella, vasculitis, anemia perniciososa, síndrome de Sjogren, uveítis, psoriasis, oftalmopatía de Graves, alopecia areata y otras, enfermedades alérgicas, p. ej., asma alérgica, dermatitis atópica, rinitis/conjuntivitis alérgicas, dermatitis alérgica de contacto, enfermedades inflamatorias opcionalmente con reacciones aberrantes subyacentes, p. ej., enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa, asma intrínseca, lesión inflamatoria pulmonar, lesión inflamatoria hepática, lesión inflamatoria glomerular, aterosclerosis, osteoartritis, dermatitis irritante por contacto y otras dermatitis eczematosas, dermatitis seborreica, manifestaciones cutáneas de trastornos inmunológicamente mediados, enfermedad inflamatoria ocular, queratoconjuntivitis, miocarditis o hepatitis, lesión por isquemia/reperfusión, p. ej., infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, isquemia intestinal, insuficiencia renal o choque hemorrágico, choque traumático, linfomas de células T o leucemias de células T, enfermedades infecciosas, p. ej., choque tóxico (p. ej., inducido por superantígenos), choque séptico, síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto o infecciones virales, p. ej., sida, hepatitis viral, infección bacteriana crónica, o demencia senil. Los ejemplos de trasplantes de células, tejidos u órganos sólidos incluyen, p. ej., islotes pancreáticos, células madre, médula ósea, tejido corneal, tejido neuronal, corazón, pulmón, corazón-pulmón combinados, riñón, hígado, intestino, páncreas, tráquea y esófago. Por supuesto, para los usos anteriores, la dosificación requerida variará dependiendo del modo de administración, el estado particular que se va a tratar y el efecto deseado.

45 Además, los compuestos de fórmula I son útiles en la quimioterapia contra el cáncer, particularmente para la quimioterapia cancerosa de tumores sólidos, por ejemplo, el cáncer de mama, o como agentes antiangiogénicos.

Por supuesto, la dosificación requerida variará dependiendo del modo de administración, el estado particular que se va a tratar y el efecto deseado. En general, se indica que se obtienen sistémicamente resultados satisfactorios en dosis diarias de aproximadamente 0,03 a 2,5 mg/kg de peso corporal. Una dosis diaria indicada en el mamífero más grande, por ejemplo, en seres humanos, está en el intervalo de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 100 mg, administrada convenientemente, por ejemplo, en dosis divididas hasta cuatro veces al día o en forma retardada. Las formas de dosificación unitarias adecuadas para administración oral comprenden de aproximadamente 1 a 50 mg de ingrediente activo.

55 Los compuestos de Fórmula I pueden ser administrados por cualquier vía convencional, en particular por vía entérica, por ejemplo, por vía oral, por ejemplo, en forma de tabletas o cápsulas, o por vía parenteral, por ejemplo, en forma de disoluciones o suspensiones inyectables, por vía tópica, por ejemplo, en forma de lociones, geles, ungüentos o cremas, o en una forma nasal o de supositorio. Las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula I en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable en asociación con al menos un vehículo o diluyente farmacéutico aceptable pueden ser fabricadas de manera convencional por mezclado con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

60 Los compuestos de Fórmula I pueden ser administrados en forma libre o en forma de sales farmacéuticamente

aceptables, por ejemplo, como se indicó anteriormente. Tales sales pueden ser preparadas de una manera convencional y presentan el mismo orden de actividad que los compuestos libres.

De acuerdo con lo precedente, la presente invención proporciona además compuestos de Fórmula I para uso en:

- 5 1.1. Un método para prevenir o tratar trastornos o enfermedades mediados por linfocitos, por ejemplo, tales como los indicados anteriormente, en un sujeto que necesita dicho tratamiento, método que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 10 1.2. Un método para prevenir o tratar el rechazo agudo o crónico de trasplantes o enfermedades inflamatorias o autoinmunes mediadas por células T, por ejemplo, como se indicó anteriormente, en un sujeto que necesita dicho tratamiento, método que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 15 1.3. Un método para inhibir o controlar una angiogénesis no regulada, por ejemplo, una angiogénesis mediada por esfingosina-1-fosfato (S1P), en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 15 1.4. Un método para prevenir o tratar enfermedades mediadas por un proceso de neoangiogénesis o asociadas con una angiogénesis no regulada en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 20 2. Un compuesto de fórmula I, en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, para uso como un producto farmacéutico, por ejemplo, en cualquiera de los métodos indicados en los párrafos 1.1 a 1.4 anteriores.
- 20 3. Una composición farmacéutica, por ejemplo, para uso en cualquiera de los métodos de los párrafos 1.1 a 1.4 anteriores, que comprende un compuesto de fórmula I en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para el mismo.
- 25 4. Un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en la preparación de una composición farmacéutica para uso en cualquiera de los métodos de los párrafos 1.1 a 1.4 anteriores.

Los compuestos de fórmula I pueden ser administrados como el único ingrediente activo o junto con, por ejemplo, como un agente adyuvante para, otros fármacos, por ejemplo, agentes inmunosupresores o inmunomoduladores u otros agentes antiinflamatorios, por ejemplo, para el tratamiento o la prevención del rechazo agudo o crónico de aloinjertos o xenoinjertos o de trastornos inflamatorios o autoinmunes, o un agente quimioterapéutico, por ejemplo, un agente antiproliferativo de células malignas. Por ejemplo, los compuestos de fórmula I pueden ser usados en combinación con un inhibidor de calcineurina, por ejemplo, ciclosporina A o FK 506; un inhibidor de mTOR, por ejemplo, rapamicina, 40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina, CCI779, ABT578 o AP23573; una ascomicina que tiene propiedades inmunosupresoras, por ejemplo, ABT-281, ASM981, etc.; corticosteroides; ciclofosfamida; azatiopreno; metotrexato; leflunomida; mizorribina; ácido micofenólico; micofenolato mofetilo; 15-desoxiespergualina o un compuesto inmunosupresor homólogo a, análogo a, o derivado de, la misma; anticuerpos monoclonales inmunosupresores, por ejemplo, anticuerpos monoclonales hacia receptores de leucocitos, por ejemplo, MHC, CD2, 35 CD3, CD4, CD7, CD8, CD25, CD28, CD40, CD45, CD58, CD80, CD86 o sus ligandos; otros compuestos inmunomoduladores, por ejemplo, una molécula ligante recombinante que tiene al menos una porción del dominio extracelular de CTLA4 o una porción mutante de la misma, por ejemplo, al menos una porción extracelular de CTLA4 o una porción mutante de la misma unida a una secuencia proteica no CTLA4, por ejemplo, CTLA4Ig (por ejemplo, denominada ATCC 68629) o un compuesto mutante del mismo, por ejemplo, LEA29Y; inhibidores de moléculas de adhesión, por ejemplo, antagonistas de LFA-1, antagonistas de ICAM-1 o -3, antagonistas de VCAM-4 40 o antagonistas de VLA-4; o un agente quimioterapéutico.

Mediante la expresión "agente quimioterapéutico" se quiere significar cualquier agente quimioterapéutico, e incluye, pero no se limita a:

- i. un inhibidor de la aromatasa;
- 45 ii. un compuesto antiestrogénico, un compuesto antiandrogénico (especialmente en el caso de cáncer de próstata) o un agonista de la gonadorrelina;
- iii. un inhibidor de la topoisomerasa I o un inhibidor de la topoisomerasa II;
- iv. un agente activo en microtúbulos, un agente alquilante, un antimetabolito antineoplásico o un compuesto de platino;
- 50 v. un compuesto que se dirige a/disminuye una actividad proteínica o lípido cinasa o una actividad proteínica o lípido fosfatasa, otro compuesto antiangiogénico o un compuesto que induce procesos de diferenciación celular;
- vi. un receptor de la bradicinina 1 o un antagonista de la angiotensina II;

- vii. un inhibidor de la ciclooxigenasa, un bisfosfonato, un inhibidor de la histona desacetilasa, un inhibidor de la heparanasa (previene la degradación del sulfato de heparán) , por ejemplo, PI-88, un modificador de respuestas biológicas, preferiblemente una lincocina o interferones, por ejemplo, el interferón γ , un inhibidor de la ubiquitinación, o un inhibidor que bloquea rutas antiapoptóticas;
- 5 viii. un inhibidor de isoformas oncogénicas de Ras, por ejemplo, H-Ras, K-Ras o N-Ras, o un inhibidor de la farnesil transferasa, por ejemplo, L-744,832 o DK8G557;
- ix. un inhibidor de la telomerasa, por ejemplo, telomestatina;
- x. un inhibidor de proteasas, un inhibidor de metaloproteinasas matriciales, un inhibidor de la metionina aminopeptidasa, p. ej., bengamida o un derivado de la misma, o un inhibidor de proteosomas, p. ej., PS-341; y/o
- 10 xi. un inhibidor de mTOR.

Como se emplea en esta memoria, la expresión "inhibidor de la aromatasas" se refiere a un compuesto que inhibe la producción de estrógenos, es decir, la conversión de los sustratos androstenodiona y testosterona en estrona y estradiol, respectivamente. La expresión incluye, pero no se limita a, esteroides, especialmente atamestano, exemestano y formestano, y, en particular, a no esteroides, especialmente aminoglutetimida, rogletimida, piridoglutetimida, trilostano, testolactona, ketoconazol, vorozol, fadrozol, anastrozol y letrozol. Una combinación de la invención que comprende un agente quimioterapéutico que es un inhibidor de la aromatasas es particularmente útil para el tratamiento de tumores positivos en cuanto a receptores hormonales, por ejemplo, tumores de mama.

Como se emplea en esta memoria, el término "antiestrogénico" se refiere a un compuesto que antagoniza el efecto de estrógenos a nivel del receptor de estrógenos. El término incluye, pero no se limita a, tamoxifeno, fulvestrant, raloxifeno e hidrocloreuro de raloxifeno. Una combinación de la invención que comprende un agente quimioterapéutico que es un compuesto antiestrogénico es particularmente útil para el tratamiento de tumores positivos en cuanto a receptores de estrógenos, por ejemplo, tumores de mama.

Como se emplea en esta memoria, el término "antiandrogénico" se refiere a cualquier sustancia que es capaz de inhibir los efectos biológicos de hormonas androgénicas, e incluye, pero no se limita a, bicalutamida.

Como se emplea en esta memoria, la expresión "agonista de la gonadorrelina" incluye, pero no se limita a, abarelix, goserrelina y acetato de goserrelina.

Como se emplea en esta memoria, la expresión "inhibidor de la topoisomerasa I" incluye, pero no se limita a, topotecán, irinotecán, 9-nitrocampotecina y el producto de conjugación macromolecular de campotecina PNU-166148 (compuesto A1 en el Documento WO99/17804).

Como se emplea en esta memoria, la expresión "inhibidor de la topoisomerasa II" incluye, pero no se limita a, antraciclina tales como doxorubicina, daunorrubicina, epirubicina, idarrubicina y nemorubicina, las antraquinonas mitoxantrona y losoxantrona, y las podofilotoxinas etopósido y tenipósido.

La expresión "agente activo en microtúbulos" se refiere a agentes estabilizadores de microtúbulos y desestabilizadores de microtúbulos que incluyen, pero no se limitan a, taxanos, por ejemplo, paclitaxel y docetaxel, alcaloides de la vinca, por ejemplo, vinblastina, especialmente sulfato de vinblastina, vincristina, especialmente sulfato de vincristina, y vinorelbina, discodermolidas y epotilonas y derivados de las mismas, por ejemplo, epotilona B o un derivado de la misma.

Como se emplea en esta memoria, la expresión "agente alquilante" incluye, pero no se limita a, busulfán, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalán y nitrosourea (BCNU o Gliadel™).

La expresión "antimetabolito antineoplásico" incluye, pero no se limita a, 5-fluorouracilo, capecitabina, gemcitabina, citarabina, fludarabina, tioguanina, metotrexato y edatrexato.

Como se emplea en esta memoria, la expresión "compuesto de platino" incluye, pero no se limita a, carboplatino, cisplatino y oxaliplatino.

Como se emplea en esta memoria, la expresión "compuestos que se dirigen a/disminuyen una actividad proteínica o lípido cinasa u otros compuestos antiangiogénicos" incluye, pero no se limita a, inhibidores de proteína tirosina cinasa y/o serina y/o treonina cinasa o inhibidores de lípido cinasa, por ejemplo, compuestos que se dirigen a, disminuyen o inhiben la actividad de la familia del factor de crecimiento epidérmico de las receptor tirosina cinasas (EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4 como homodímeros o heterodímeros), la familia del factor de crecimiento endotelial vascular de las receptor tirosina cinasas (VEGFR), los receptores del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR; del inglés, platelet-derived growth factor-receptors), los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR; del inglés, fibroblast growth factor-receptors), el receptor 1 del factor de crecimiento similar a insulina (IGF-1R; del inglés, insulin-like growth factor receptor 1), la familia de receptor tirosina cinasas Trk, la familia de receptor tirosina cinasas Axl, la receptor tirosina cinasa Ret, la receptor tirosina cinasa Kit/SCFR, miembros de la familia c-Abl

- 5 y sus productos de fusión de genes (por ejemplo, BCR-Abl), miembros de la familia de proteína cinasa C (PKC; del inglés, *protein kinase C*) y Raf de las serina/treonina cinasas, miembros de la familia de cinasas MEK, SRC, JAK, FAK, PDK o PI(3), o de la familia de cinasas relacionadas con la cinasa PI(3), y/o miembros de la familia de cinasas dependientes de ciclina (CDK; del inglés, *cyclin-dependent kinase*) y compuestos antiangiogénicos que tienen otro mecanismo para su actividad, por ejemplo, no relacionado con la inhibición de proteína o lípido cinasas.
- 10 Los compuestos que se dirigen a, disminuyen o inhiben la actividad de VEGFR son especialmente compuestos, proteínas o anticuerpos que inhiben el receptor tirosina cinasa de VEGF, inhiben un receptor de VEGF o se unen a VEGF, y, en particular, son aquellos compuestos, proteínas o anticuerpos monoclonales genérica y específicamente descritos en el Documento WO 98/35958, por ejemplo, 1-(4-cloroanilino)-4-(4-piridilmetil)ftalazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, p. ej., el succinato, en el Documento WO 00/27820, p. ej., un derivado amídico del ácido N-aril(tio)antranílico, p. ej., 2-[(4-piridil)metil]amino-N-[3-metoxi-5-(trifluorometil)fenil]benzamida o 2-[(1-óxido-4-piridil)metil]amino-N-[3-trifluorometilfenil]benzamida, o en los Documentos WO 00/09495, WO 00/59509, WO 98/11223, WO 00/27819 y EP 0769947; aquellos como los descritos por M. Prewett et al. en *Cancer Research* 59 (1999), 5209-5218, por F. Yuan et al. en *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, volumen 93, páginas 14.765-14.770, diciembre de 1996, por Z. Zhu et al. en *Cancer Res.* 58, 1998, 3209-3214, y por J. Mordenti et al. en *Toxicologic Pathology*, volumen 27, nº 1, páginas 14-21, 1999; en los Documentos WO 00/37502 y WO 94/10202; Angiostatin™, descrito por M. S. O'Reilly et al., *Cell* 79, 1994, 315-328; Endostatin™, descrito por M. S. O'Reilly et al., *Cell* 88, 1997, 277-285; amidas del ácido antranílico; ZD4190; ZD6474; SU5416; SU6668; o anticuerpos anti-VEGF o anticuerpos anti-receptor de VEGF, por ejemplo, RhuMab.
- 15
- 20 Por anticuerpo se quiere significar anticuerpos monoclonales intactos, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos formados a partir de al menos 2 anticuerpos intactos, y fragmentos de anticuerpo con tal de que presenten la actividad biológica deseada.
- 25 Los compuestos que se dirigen a, disminuyen o inhiben la actividad de la familia del receptor del factor de crecimiento epidérmico son especialmente compuestos, proteínas o anticuerpos que inhiben a miembros de la familia del receptor tirosina cinasa de EGF, por ejemplo, el receptor de EGF, ErbB2, ErbB3 y ErbB4 o se unen a EGF o ligandos relacionados con EGF, o que tienen un efecto inhibitorio dual sobre ErbB y el receptor cinasa de VEGF y, en particular, son aquellos compuestos, proteínas o anticuerpos monoclonales genérica y específicamente descritos en el Documento WO 97/02266, por ejemplo, el compuesto del ejemplo 39, o en los Documentos EP 0564409, WO 99/03854, EP 0520722, EP 0566226, EP 0787722, EP 0837063, US 5.747.498, WO 98/10767, WO 97/30034, WO 97/49688, WO 97/38983 y, especialmente, WO 96/30347 (por ejemplo, el compuesto conocido como CP 358774), WO 96/33980 (por ejemplo, el compuesto ZD 1839) y WO 95/03283 (por ejemplo, el compuesto ZM105180) o PCT/EP02/08780; por ejemplo, trastuzumab (Herpetin®), cetuximab, Iressa, OSI-774, CI-1033, EKB-569, GW-2016, E1.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6.3 o E7.6.3.
- 30
- 35 Los compuestos que se dirigen a, disminuyen o inhiben la actividad de PDGFR son especialmente compuestos que inhiben el receptor de PDGF, por ejemplo, un derivado de N-fenil-2-pirimidina-amina, por ejemplo, imatinib.
- Los compuestos que se dirigen a, disminuyen o inhiben la actividad de miembros de la familia c-Abl y sus productos de fusión de genes son, p. ej., un derivado de N-fenil-2-pirimidina-amina, p. ej., imatinib; PD180970; AG957; o NSC 680410.
- 40 Los compuestos que se dirigen a, disminuyen o inhiben la actividad de miembros de la familia de proteína cinasa C, Raf, MEK, SRC, JAK, FAK y PDK, o miembros de la familia de PI(3) cinasa o relacionada con PI(3) cinasa, y/o miembros de la familia de cinasas dependientes de ciclina (CDK) son especialmente los derivados de estaurosporina descritos en el Documento EP 0296110, p. ej., midostaurina; ejemplos de otros compuestos incluyen, p. ej., UCN-01, safingol, BAY 43-9006, briostatina 1, perifosina; ilmofosina; RO 318220 y RO 320432; GO 6976; Isis 3521; y LY333531/LY379196.
- 45 Otros compuestos antiangiogénicos son, por ejemplo, talidomida (THALOMID) y TNP-470.
- Los compuestos que se dirigen a, disminuyen o inhiben la actividad de una proteína o lípido fosfatasa son, p. ej., inhibidores de fosfatasa 1, fosfatasa 2A, PTEN o CDC25, por ejemplo, ácido ocadaico o un derivado del mismo.
- Los compuestos que inducen procesos de diferenciación celular son, por ejemplo, ácido retinoico, α -, γ - o δ -tocoferol, o α -, γ - o δ -tocotrienol.
- 50 Como se emplea en esta memoria, la expresión "inhibidor de la ciclooxigenasa" incluye, pero no se limita a, por ejemplo, celecoxib (Celebrex®), rofecoxib (Vioxx®), etoricoxib, valdecoxib y un ácido 5-alquil-2-arilaminofenilacético, por ejemplo, ácido 5-metil-2-(2'-cloro-6'-fluoroanilino)fenilacético.
- Como se emplea en esta memoria, la expresión "inhibidor de la histona desacetilasa" incluye, pero no se limita a, MS-27-275, SAHA, piroxamida, FR-901228 y ácido valproico.
- 55 Como se emplea en esta memoria, el término "bisfosfonatos" incluye, pero no se limita a, los ácidos etridrónico, clodrónico, tiludrónico, pamidrónico, alendrónico, ibandrónico, risedrónico y zoledrónico.

Como se emplea en esta memoria, la expresión "inhibidor de metaloproteinasas matriciales" incluye, pero no se limita a, inhibidores peptidomiméticos y no peptidomiméticos de colágeno, derivados de tetraciclina, por ejemplo, el inhibidor peptidomimético de hidroxamato batimastat y su compuesto análogo oralmente biodisponible marimastat, prinomastat, BMS279251, BAY 12-9566, TAA211 y AAJ996.

5 Como se emplea en esta memoria, la expresión "inhibidor de mTOR" incluye, pero no se limita a, rapamicina (sirolimus) o un derivado de la misma, por ejemplo, 32-desoxorrapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32-desoxorrapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32(S)-dihidro-rapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32(S)-dihidro-40-O- (2-hidroxi-etil)-rapamicina y, más preferiblemente, 40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina. Otros ejemplos de derivados de rapamicina incluyen, por ejemplo, CCI779 o 40-[3-hidroxi-2-(hidroximetil)-2-metilpropanoato]-rapamicina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, como se describe en el Documento USP 5,362,718, ABT578 o 40-(tetrazolil)-rapamicina, particularmente 40-epi-(tetrazolil)-rapamicina, por ejemplo, como se describe en el Documento WO 99/15530, o rapálogos como los descritos en, por ejemplo, los Documentos WO 98/02441 y WO 01/14387, p. ej., AP23573.

15 Cuando los compuestos de fórmula I son administrados junto con otra terapia inmunosupresora/inmunomoduladora, antiinflamatoria o quimioterapéutica, las dosificaciones del compuesto inmunosupresor, inmunomodulador, antiinflamatorio o quimioterapéutico coadministrado variarán, por supuesto, dependiendo del tipo de cofármaco empleado, por ejemplo, si es un esteroide o un inhibidor de calcineurina, del fármaco específico empleado, del estado que se va a tratar, etc.

De acuerdo con lo precedente, la presente invención proporciona compuestos de Fórmula (I) para uso en:

20 5. Un método como el anteriormente definido que comprende la coadministración, por ejemplo, concomitantemente o en secuencia, de una cantidad atóxica y terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I y al menos una segunda sustancia farmacológica, por ejemplo, un fármaco inmunosupresor, inmunomodulador, antiinflamatorio o quimioterapéutico, por ejemplo, como el anteriormente indicado. La invención también proporciona:

25 6. Una combinación farmacéutica, por ejemplo, un kit, que comprende a) un primer agente que es un compuesto de fórmula I como el descrito en esta memoria, en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, y b) al menos un coagente, p. ej., un fármaco inmunosupresor, inmunomodulador, antiinflamatorio o quimioterapéutico, p. ej., como el anteriormente descrito. El kit puede comprender instrucciones para su administración.

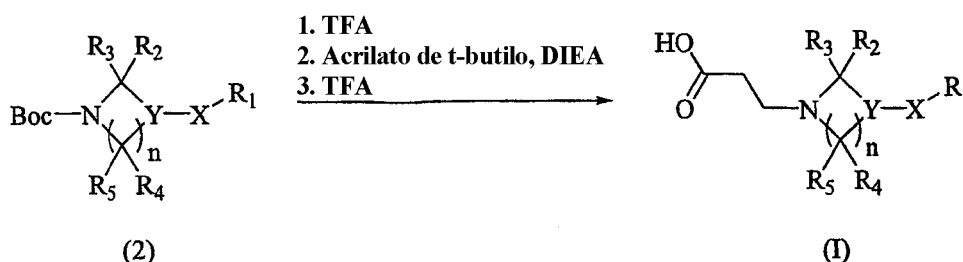
30 Con las expresiones "coadministración" y "administración combinada" o similar, como se utilizan en esta memoria, se quiere abarcar la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un solo paciente, y se pretende incluir regímenes de tratamiento en que los agentes no son necesariamente administrados por la misma vía de administración ni al mismo tiempo.

35 Como se emplea en esta memoria, la expresión "combinación farmacéutica" significa un producto que resulta del mezclamiento o la combinación de más de un ingrediente activo e incluye combinaciones tanto fijas como no fijas de los ingredientes activos. La expresión "combinación fija" significa que ambos ingredientes activos, por ejemplo, un compuesto de fórmula I y un coagente, se administran simultáneamente a un paciente en forma de un único elemento o una sola dosis. La expresión "combinación no fija" significa que ambos ingredientes activos, por ejemplo, un compuesto de fórmula I y un coagente, se administran a un paciente como elementos separados, sea simultánea, concurrente o secuencialmente sin límites específicos de tiempo, en donde tal administración proporciona niveles terapéuticamente eficaces de los 2 compuestos en el cuerpo del paciente. Esto último se aplica también a la terapia de cóctel, p. ej., la administración de 3 o más ingredientes activos.

40 Métodos para preparar compuestos de la invención

45 La presente invención también incluye procesos para la preparación de compuestos inmunomoduladores de la invención. En las reacciones descritas, puede ser necesario proteger grupos funcionales reactivos, p. ej., grupos hidroxilo, amino, imino, tio o carboxilo, cuando estos son deseados en el producto final, para evitar su indeseada participación en las reacciones. Se pueden emplear grupos protectores convencionales de acuerdo con la práctica estándar; véase, p. ej., T. W. Greene y P. G. M. Wuts en "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, 1991.

Se pueden preparar compuestos de Fórmula I procediendo como en el siguiente esquema de reacción:



5 en el que n, X, R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son como se definieron anteriormente para la Fórmula I. Se pueden preparar secuencialmente compuestos de Fórmula I tratando un compuesto de fórmula 2 con un ácido adecuado (por ejemplo, TFA o similar), haciendo reaccionar con acrilato de t-butilo en presencia de una amina adecuada (por ejemplo, DIEA o similar) y eliminando el grupo protector t-butilo con un ácido adecuado (p. ej., TFA o similar). La reacción se desarrolla a una temperatura de aproximadamente 0 a aproximadamente 120 °C y su compleción puede llevar aproximadamente 24 horas.

Procesos adicionales para preparar compuestos de la invención

10 Se puede preparar un compuesto de la invención en forma de sal farmacéuticamente aceptable por adición de ácido haciendo reaccionar la forma de base libre del compuesto con un ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptable. Alternativamente, se puede preparar una sal farmacéuticamente aceptable por adición de base de un compuesto de la invención haciendo reaccionar la forma de ácido libre del compuesto con una base inorgánica u orgánica farmacéuticamente aceptable. Alternativamente, se pueden preparar las formas salinas de los compuestos de la invención empleando sales de los materiales de partida o los productos intermedios.

15 Las formas de ácido libre o base libre de los compuestos de la invención pueden ser preparadas a partir de las correspondientes formas salinas por adición de base o adición de ácido, respectivamente. Por ejemplo, un compuesto de la invención en forma de sal por adición de ácido puede ser convertido en la correspondiente base libre por tratamiento con una base adecuada (p. ej., una disolución de hidróxido amónico, hidróxido sódico, o similar). Un compuesto de la invención en forma de sal por adición de base puede ser convertido en el correspondiente ácido libre por tratamiento con un ácido adecuado (p. ej., ácido clorhídrico, etc.).

20 Se pueden preparar compuestos de la invención en forma no oxidada a partir de N-óxidos de los compuestos de la invención por tratamiento con un agente reductor (por ejemplo, azufre, dióxido de azufre, trifenilfosfina, borohidruro de litio, borohidruro de sodio, tricloruro de fósforo, tribromuro, o similar) en un disolvente orgánico inerte adecuado (p. ej., acetonitrilo, etanol, dioxano acuoso o similar) a una temperatura de 0 a 80 °C.

25 Se pueden preparar derivados profármacos de los compuestos de la invención por métodos conocidos por quienes tienen una experiencia normal en la técnica (para más detalles véase, p. ej., Saulnier et al. (1994), *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, volumen 4, página 1985). Por ejemplo, se pueden preparar profármacos apropiados haciendo reaccionar un compuesto no derivatizado de la invención con un agente de carbamilación adecuado (p. ej., carbonocloridato de 1,1-aciloxialquilo, carbonato de para-nitrofenilo, o similar).

30 Se pueden preparar derivados protegidos de los compuestos de la invención por medios conocidos por quienes tienen una experiencia normal en la técnica. En T. W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3ª edición, John Wiley and Sons, Inc., 1999, se puede hallar una descripción detallada de técnicas aplicables a la creación de grupos protectores y su eliminación.

35 Los compuestos de la presente invención pueden ser convenientemente preparados, o formados durante el proceso de la invención, en forma de solvatos (por ejemplo, hidratos). Los hidratos de los compuestos de la presente invención pueden ser convenientemente preparados por recristalización en una mezcla de disolvente orgánico/agua usando disolventes orgánicos tales como dioxina, tetrahidrofurano y metanol.

40 Los compuestos de la invención pueden ser preparados en forma de sus estereoisómeros individuales haciendo reaccionar una mezcla racémica del compuesto con un agente de resolución ópticamente activo para formar un par de compuestos diastereoisómeros, separando los diastereómeros y recuperando los enantiómeros ópticamente puros. Aunque la resolución de enantiómeros se puede llevar a cabo usando derivados diastereómeros covalentes de los compuestos de la invención, se prefieren complejos disociables (p. ej., sales diastereómeras cristalinas). Los diastereómeros tienen propiedades físicas distintas (p. ej., puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidades, reactividad, etc.) y pueden ser separados fácilmente aprovechándose de estas diferencias. Los diastereómeros pueden ser separados por cromatografía o, preferiblemente, por técnicas de separación/resolución basadas en diferencias de solubilidad. El enantiómero ópticamente puro es luego recuperado, junto con el agente de resolución, por cualquier medio práctico que no dé lugar a racemización. En Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981, se puede hallar una descripción más detallada de las técnicas aplicables a la resolución de estereoisómeros de compuestos a partir de su mezcla racémica.

50 En resumen, los compuestos de Fórmula I pueden ser preparados mediante un proceso que implica:

(a) el anterior esquema de reacción; y

(b) opcionalmente, convertir un compuesto de la invención en una sal farmacéuticamente aceptable;

(c) opcionalmente, convertir una forma salina de un compuesto de la invención en una forma no salina;

55 (d) opcionalmente, convertir una forma no oxidada de un compuesto de la invención en un N-óxido farmacéuticamente aceptable;

(e) opcionalmente, convertir una forma de N-óxido de un compuesto de la invención en su forma no oxidada;

(f) opcionalmente, resolver un isómero individual de un compuesto de la invención a partir de una mezcla de isómeros;

5 (g) opcionalmente, convertir un compuesto no derivatizado de la invención en un derivado profármaco farmacéuticamente aceptable; y

(h) opcionalmente, convertir un derivado profármaco de un compuesto de la invención en su forma no derivatizada.

En tanto que no se describe particularmente la producción de los materiales de partida, los compuestos son conocidos o pueden ser preparados de forma análoga a los métodos conocidos en la técnica o del modo descrito más adelante en los Ejemplos.

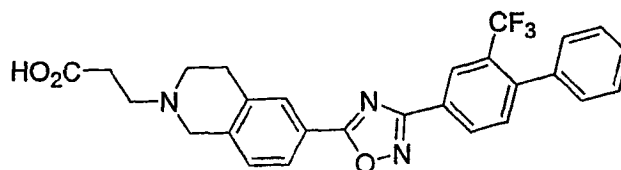
10 Quien tiene experiencia en la técnica apreciará que las transformaciones anteriores son sólo representativas de métodos para la preparación de los compuestos de la presente invención y que otros métodos bien conocidos pueden ser utilizados de manera similar.

Ejemplos

15 Los ejemplos siguientes proporcionan descripciones detalladas de la preparación de compuestos representativos y se presentan para ilustrar, pero no limitar, la presente invención.

Ejemplo 1

Síntesis del ácido 3-{6-[3-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,2,4]oxadiazol-5-il]-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il}-propiónico



20 Se añade SOCl_2 (254 μl , 10 equivalentes) a una suspensión de éster 2-terc-butílico del ácido 3,4-dihidro-1H-isoquinoleína-2,6-dicarboxílico (96 mg, 0,348 milimoles) en tolueno (4 ml). La mezcla es calentada a reflujo durante 3 horas. Se elimina todo el disolvente bajo presión reducida. El residuo es redissuelto en tolueno, y la disolución es sometida dos veces a evaporación hasta sequedad para eliminar el HCl en exceso y es secada bajo vacío elevado durante 2 horas para obtener el éster terc-butílico del ácido 6-clorocarbonil-3,4-dihidro-1H-isoquinoleína-2-carboxílico crudo.

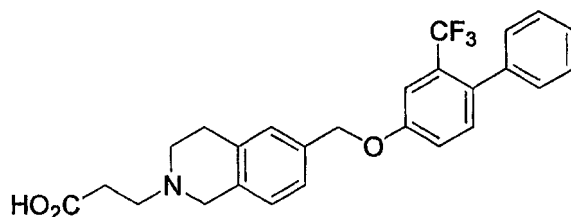
25 En un matraz separado se cargan N-hidroxi-2-trifluorometil-bifenil-4-carboxamida (82 mg, 0,29 milimoles) y DIEA (242 μl , 4 equivalentes) y CH_2Cl_2 (5 ml). La mezcla es enfriada a 0 °C utilizando un baño de hielo-sal. Se disuelve el cloruro de la operación previa en CH_2Cl_2 (2 ml) y se añade lentamente la disolución. Después de la adición, la mezcla resultante es calentada a la temperatura ambiental y es agitada durante 2 horas. Se evapora todo el disolvente y se purifica la mezcla por cromatografía en columna (gel de sílice, EtOAc/hexano, gradiente) para obtener 120 mg del producto deseado. Se disuelve el producto en THF (2 ml) y se mezcla la disolución con TBAF (444 μl , 2 equivalentes) en un vial para microondas. Se calienta la mezcla a 100 °C durante 15 minutos usando irradiación de microondas. Se evapora todo el disolvente y se purifica el residuo por cromatografía en columna (gel de sílice, EtOAc/hexano, gradiente) para obtener 70 mg de éster terc-butílico del ácido 6-[3-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,2,4]oxadiazol-5-il]-3,4-dihidro-1H-isoquinoleína-2-carboxílico.

35 Se añade TFA (2 ml) a una disolución de éster terc-butílico del ácido 6-[3-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,2,4]oxadiazol-5-il]-3,4-dihidro-1H-isoquinoleína-2-carboxílico (68 mg, 0,13 milimoles) en CH_2Cl_2 (1 ml). Se agita la mezcla a temperatura ambiental durante 30 minutos. Se eliminan todos los disolventes bajo presión reducida. Se disuelve la mezcla en CH_3OH (1,5 ml). Luego se añaden DIEA (119 μl , 10 equivalentes) y éster terc-butílico del ácido acrílico (38 μl , 2 equivalentes). Se calienta la mezcla a 90 °C durante 20 minutos usando irradiación de microondas. Se evapora todo el disolvente y se emplea el producto crudo de éster terc-butílico del ácido 3-{6-[3-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,2,4]oxadiazol-5-il]-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il}-propiónico en la operación siguiente sin más purificación.

45 Se añade TFA (1 ml) a una disolución de éster terc-butílico del ácido 3-{6-[3-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,2,4]oxadiazol-5-il]-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il}-propiónico crudo en CH_2Cl_2 (1 ml). Se agita la mezcla a temperatura ambiental durante una hora. Se evaporan todos los disolventes. Se purifica la mezcla por LC preparativa en fase inversa/MS para obtener el ácido 3-{6-[3-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,2,4]oxadiazol-5-il]-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il}-propiónico: $^1\text{H-NMR}$ (DMSO, 400 MHz) δ : 8,52 (s, 1H), 8,38 (d, 1H), 8,15 (s, 1H), 8,10 (d, 1H), 7,68 (d, 1H), 7,50 (m, 4H), 7,38 (m, 2H), 3,20-3,50 (m, 8H), 2,92 (t, 2H); MS (ES^+): (494,10, M+1) $^+$.

Ejemplo 2

Síntesis del ácido 3-[6-(2-trifluorometil-bifenil-4-iloimetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico



5 Se añade una disolución de 4-cloro-3-trifluorometil-fenol (76 mg, 1,23 equivalentes) en CH₂Cl₂ (0,5 ml), PPh₃ (127 mg, 1,5 equivalentes) y 1,1'-(azodicarbonil)-dipiperidina (122 mg, 1,5 equivalentes) a una disolución de éster terc-butílico del ácido 6-hidroximetil-3,4-dihidro-1H-isoquinoleína-2-carboxílico (85 mg, 0,323 milimoles) en CH₂Cl₂ (1,5 ml). Se agita la mezcla a temperatura ambiental durante la noche. Se elimina todo el disolvente bajo presión reducida y se purifica la mezcla por cromatografía en columna (gel de sílice, EtOAc/hexano, gradiente) para obtener 70 mg de éster terc-butílico del ácido 6-(4-cloro-3-trifluorometil-fenoximetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleína-2-carboxílico.

10 Se añade TFA (1 ml) a una disolución de éster terc-butílico del ácido 6-(4-cloro-3-trifluorometil-fenoximetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleína-2-carboxílico (70 mg, 0,158 milimoles) en CH₂Cl₂ (1 ml). Se agita la mezcla a temperatura ambiental durante 30 minutos. Se eliminan todos los disolventes bajo presión reducida. Se disuelve la mezcla en CH₃OH (1,5 ml). Luego se añaden DIEA (269 µl, 10 equivalentes) y éster terc-butílico del ácido acrílico (46 µl, 2 equivalentes). Se calienta la mezcla a 90 °C durante 20 minutos usando irradiación de microondas. Se evapora todo el disolvente y se purifica la mezcla por cromatografía en columna (gel de sílice, EtOAc/hexano, gradiente) para obtener 56 mg de éster terc-butílico del ácido 3-[6-(4-cloro-3-trifluorometil-fenoximetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico.

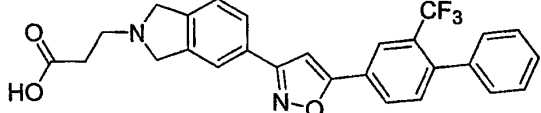
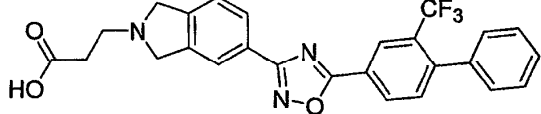
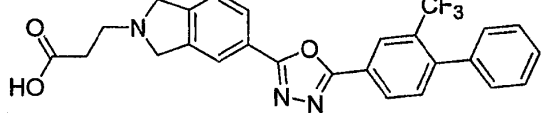
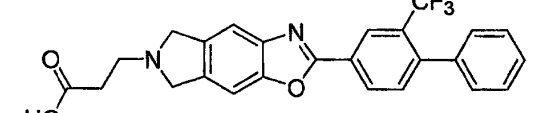
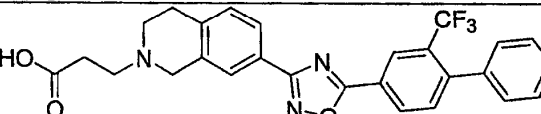
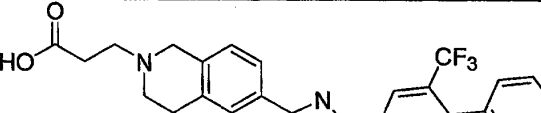
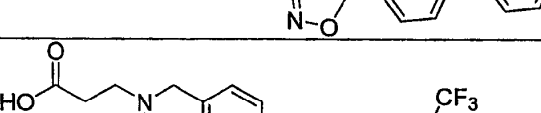
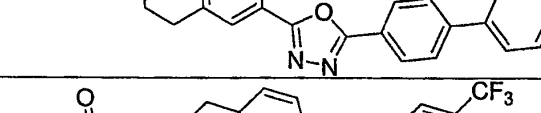
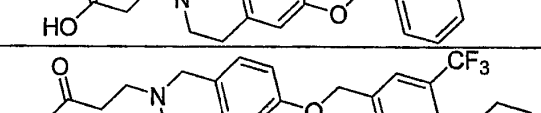
15 Se carga un vial para microondas con éster terc-butílico del ácido 3-[6-(4-cloro-3-trifluorometil-fenoximetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico (56 mg, 0,119 milimoles), ácido fenilborónico (17 mg, 1,2 equivalentes), Pd(OAc)₂ (1,3 mg, 5% en moles), (diciclohexilfosfino)bifenilo (4,2 mg, 10% en moles), KF (21 mg, 3 equivalentes) y THF (0,25 ml). Se calienta la mezcla resultante a 120 °C usando irradiación de microondas durante 20 minutos. Se filtra la mezcla a través de Celite. Se lava varias veces el Celite con EtOAc. Luego se concentra el filtrado para obtener un aceite oscuro. Se purifica la mezcla por cromatografía en columna (gel de sílice, EtOAc/hexano, gradiente) para obtener éster terc-butílico del ácido 3-[6-(2-trifluorometil-bifenil-4-iloimetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico.

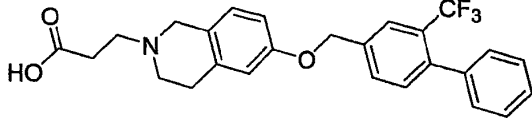
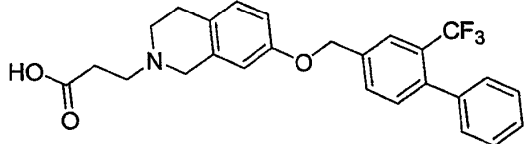
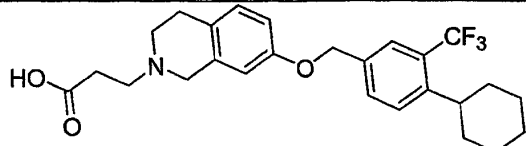
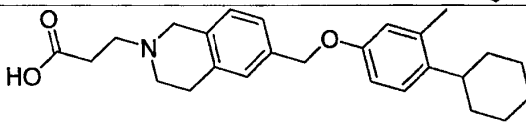
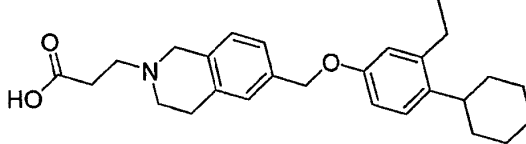
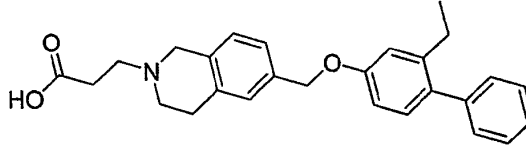
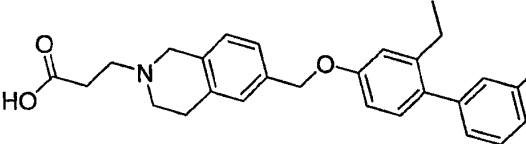
20 Se añade TFA (1 ml) a una disolución de éster terc-butílico del ácido 3-[6-(2-trifluorometil-bifenil-4-iloimetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico (35 mg, 0,068 milimoles) en CH₂Cl₂ (1 ml). Se agita la mezcla a temperatura ambiental durante una hora. Se evaporan todos los disolventes. Se purifica la mezcla mediante LC preparativa en fase inversa/MS para obtener el ácido 3-[6-(2-trifluorometil-bifenil-4-iloimetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico: ¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ: 7,45 (m, 2H), 7,38-7,41 (m, 3H), 7,35 (s, 1H), 7,16-7,23 (m, 5H), 4,85 (s, 2H), 4,54 (s, 2H), 3,68 (m, 2H), 3,60 (t, 2H), 3,27 (t, 2H), 2,96 (t, 2H); MS (ES⁺): (456,20, M+1)⁺.

25 Repitiendo el procedimiento descrito en los ejemplos anteriores, usando materiales de partida apropiados, se obtienen los siguientes compuestos de Fórmula I según se identifican en la Tabla 1.

35

Tabla 1

Compuesto	Estructura	Datos físicos MS ES (M+1)
1		479,2
2		480,2
3		480,2
4		453,1
5		494,2
6		494,2
7		494,2
8		380,1
9		462,2

Compuesto	Estructura	Datos físicos MS ES (M+1)
10		456,2
11		456,2
12		462,3
13		
14		
15		
16		

Ejemplo 3

Los compuestos de Fórmula I presentan actividad biológica

5 A. In vitro: Ensayo de activación de GPCR en que se mide la unión de GTP [γ - 35 S] a membranas preparadas a partir de células CHO que expresan receptores EDG humanos

10 Ensayo de unión de GTP [γ - 35 S] y EDG-1 (S1P₁): Se preparan membranas homogeneizadas a partir de clones de células CHO que expresan establemente una etiqueta c-myc N-terminal de EDG-1 humano. Las células se cultivan en suspensión en dos botellas de rodillo de 850 cm² durante tres o cuatro días antes de la recolección. Las células son separadas por centrifugación, lavadas una vez con PBS frío y resuspendidas en \leq 20 ml de tampón A [HEPES 20 mM, pH de 7,4, EDTA 10 mM, cóctel completo de inhibidores de proteasas exento de EDTA (1 tableta/25 ml)]. La suspensión celular es homogeneizada sobre hielo empleando un homogeneizador Polytron a 30.000 rpm en tres intervalos de 15 segundos cada uno. El producto de homogeneización es primero centrifugado a 2000 rpm durante 10 minutos en una centrifuga de mesa de baja velocidad. Luego se vuelve a centrifugar el sobrenadante, una vez hecho pasar a través de un tamiz celular, a 50.000 x g durante 25 minutos a 4 °C. El sedimento de centrifugación se resuspende en tampón B [glicerol al 15%, HEPES 20 mM, pH de 7,4, EDTA 0,1 mM, cóctel completo de inhibidores de proteasas exento de EDTA (1 tableta/10 ml)]. Se determina la concentración de proteínas de la preparación utilizando el kit del ensayo BCA para proteínas (Pierce) empleando BSA como patrón. Las membranas son separadas en partes alícuotas y se mantienen congeladas a -80 °C.

20 Se preparan en DMSO disoluciones de compuestos de ensayo en concentraciones que varían de 10 mM a 0,01 nM. Se diluye S1P en una disolución de BSA al 4% como testigo positivo. Se diluye la cantidad deseada de la

5 preparación de membranas con tampón de ensayo (HEPES 20 mM, pH de 7,4, NaCl 100 mM, MgCl₂ 10 mM, BSA
 exenta de ácidos grasos al 0,1%, GDP 5 μM) enfriado con hielo y se remueve bien la dilución con formación de
 remolinos. Se distribuyen 2 μl o menos de compuesto en cada pocillo de una placa de ensayo de poliestireno de 96
 pocillos con fondo redondo, lo que va seguido de la adición de 100 μl de membranas diluidas (3-10 μg/pocillo) y el
 10 mantenimiento sobre hielo hasta la adición de GTPγS caliente. Se diluye [³⁵S]-GTPγS 1:1000 (volumen/volumen)
 con tampón de ensayo frío y se añaden 100 μl a cada pocillo. La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiental
 durante 90 minutos antes de que las membranas se recolecten sobre una placa filtrante Perkin-Elmer Unifilter®
 GF/B-96 usando un aparato Packard Filtermate Harvester. Después de varios lavados con tampón de lavado
 (HEPES 20 mM, pH de 7,4, NaCl 100 mM, MgCl₂ 10 mM) y un enjuague con etanol al 95%, se seca el filtro durante
 30 minutos en una estufa a 37 °C. Se añade MicroScint-20 y se sella la placa para el recuento de centelleo en un
 aparato TopCount. Los valores de EC₅₀ se obtienen ajustando las curvas de unión de GTP [³⁵S] (datos brutos)
 con la herramienta de GraphPad Prism para el ajuste de curvas de dosis-respuesta. Se emplean seis o doce
 concentraciones diferentes para generar una curva de concentración-respuesta (usando tres puntos de datos por
 concentración).

15 Se llevan a cabo ensayos de unión de GTP [³⁵S] y EDG-3, -5, -6 y -8 de un modo comparable al ensayo de unión
 de GTP [³⁵S] y EDG-1, usando membranas de células CHO que expresan establemente receptores no etiquetados
 o etiquetados con c-myc C-terminal. Para cada preparación de membranas, se desarrollan primero experimentos de
 titulación con testigo de S1P para determinar la cantidad óptima de membranas que se ha de añadir por pocillo de
 ensayo. Se examinaron compuestos de la invención de acuerdo con el ensayo anterior y se observó que presentan
 20 selectividad para el receptor EDG-1. Por ejemplo, el ácido 3-[6-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxi)-3,4-dihidro-1H-
 isoquinoleín-2-il]-propiónico (compuesto 9) tiene una EC₅₀ de 0,2 nM en el ensayo anterior y es al menos 1000 veces
 más selectivo para EDG-1 que para uno o más de los otros receptores que incluyen EDG-3, EDG-5, EDG-6 y EDG-
 8.

B. In vitro: Ensayo de flujo de calcio FLIPR

25 Se examinan compuestos de la invención en cuanto a actividad agonista sobre EDG-1, EDG-3, EDG-5 y EDG-6 con
 un ensayo de flujo de calcio FLIPR. En resumen, células CHO que expresan un receptor EDG son mantenidas en
 medio F-12K (ATCC), que contiene FBS al 5%, con 500 μg/ml de G418. Antes del ensayo, se siembran las células
 en placas negras de 384 pocillos de fondo claro en una densidad de 10.000 células/pocillo/25 μl en el medio F-12K
 que contiene FBS al 1%. El segundo día, las células son lavadas tres veces (25 μl/cada vez) con tampón de lavado.
 30 Se añaden aproximadamente 25 μl de colorante a cada pocillo y se incuba la mezcla durante 1 hora a 37 °C y CO₂
 al 5%. Luego se lavan las células cuatro veces con tampón de lavado (25 μl/cada vez). Se examina el flujo de calcio
 después de la adición de 25 μl de disolución de SEQ2871 a cada pocillo de células. Se lleva a cabo el mismo
 ensayo con células que expresan cada uno de los diferentes receptores EDG. La titulación en el ensayo de flujo de
 calcio FLIPR se registra a lo largo de un intervalo de 3 minutos y se cuantifica como porcentaje máximo de
 35 respuesta por altura de pico con respecto a la activación de EDG-1.

C. In vivo: Ensayos de exploración para la medición del agotamiento de linfocitos sanguíneos y la evaluación del efecto sobre el corazón

40 Medición de linfocitos circulantes: Los compuestos son disueltos en DMSO, y las disoluciones son diluidas para
 obtener una concentración final de DMSO de 4% (volumen/volumen, concentración final) y luego más diluidas en un
 volumen constante de Tween 80 al 25%/H₂O, volumen/volumen. Se incluyen Tween 80 al 25%/H₂O (200 μl), DMSO
 al 4%, y FTY720 (10 μg) como testigos negativo y positivo, respectivamente. Se administran oralmente 250-300 μl
 de disolución de compuesto a ratones (machos C57b1/6, 6-10 semanas de edad) mediante sonda gástrica bajo una
 corta anestesia con isoflurano.

45 Se recoge sangre del seno retro-orbital 6 y 24 horas después de la administración del fármaco bajo una corta
 anestesia con isoflurano. Se someten las muestras de sangre completa a un análisis hematológico. Se determinan
 las cuentas de linfocitos periféricos empleando un analizador automatizado. Se tiñen subpoblaciones de linfocitos de
 sangre periférica mediante anticuerpos específicos conjugados con fluorocromos y se analizan utilizando un
 separador celular con activación por fluorescencia (FACSCalibur). Se utilizan dos ratones para evaluar la actividad
 de agotamiento de linfocitos de cada compuesto explorado. El resultado es una ED₅₀, que se define como la dosis
 50 eficaz requerida para presentar un 50% de agotamiento de linfocitos sanguíneos. Se examinaron compuestos de la
 invención de acuerdo con el ensayo anterior y se halló que presentan preferiblemente una ED₅₀ inferior a 1 mg/kg,
 más preferiblemente una ED₅₀ inferior a 0,5 mg/kg. Por ejemplo, el ácido 3-[6-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxi)-
 3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico (compuesto 9) presenta una ED₅₀ de 0,2 mg/kg.

55 Evaluación del efecto sobre el corazón: Se determinan los efectos de compuestos sobre la función cardíaca
 utilizando el sistema de exploración por ECG AnonyMOUSE. Se registran electrocardiogramas en ratones
 conscientes (machos C57b1/6, 6-10 semanas de edad) antes y después de la administración de los compuestos.
 Las señales ECG son luego procesadas y analizadas utilizando el software e-MOUSE. Se inyectan i.p. 90 μg de
 compuesto adicionalmente diluido en 200 μl de agua, DMSO al 15%. Se utilizan cuatro ratones para evaluar el
 efecto de cada compuesto sobre el corazón.

D. In vivo: Actividad antiangiogénica

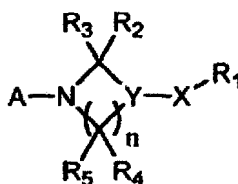
5 Se implantan subcutáneamente cámaras porosas que contienen (i) esfingosina-1-fosfato (5 μ M/cámara) o (ii) VEGF humano (1 μ g/cámara) en 0,5 ml de agar (que contiene heparina, 20 U/ml) al 0,8% (peso/volumen) en las ijadas de ratones. La S1P o el VEGF inducen el crecimiento de tejido vascularizado por toda la cámara. Esta respuesta depende de la dosis y puede ser cuantificada midiendo el peso y el contenido de sangre del tejido. Los ratones se tratan oral o intravenosamente una vez al día con un compuesto de fórmula I, comenzando 4-6 horas antes de la implantación de las cámaras y continuando durante 4 días. 24 horas después de la última dosis, los animales son sacrificados para la medición de los tejidos vascularizados. Se determinan el peso y el contenido de sangre de los tejidos vascularizados por toda la cámara. Los animales tratados con un compuesto de Fórmula I muestran un peso y/o un contenido de sangre reducidos de los tejidos vascularizados en comparación con los animales tratados con vehículo solo. Los compuestos de Fórmula I son antiangiogénicos cuando se administran en una dosis de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 3 mg/kg.

E. In Vitro: actividad antitumoral

15 Se emplea una línea celular de cáncer de mama de ratón originalmente aislada de carcinomas mamarios, por ejemplo, JygMC(A). Antes del procedimiento se ajusta el número de células a 5×10^5 para una siembra en medio fresco. Las células se incuban con medio fresco que contiene timidina 2,5 mM sin FCS durante 12 horas y luego se lavan dos veces con PBS, lo que va seguido de la adición de medio fresco con FCS al 10% y una incubación adicional durante otras 12 horas. A continuación, se incuban las células con medio fresco que contiene timidina 2,5 mM sin FCS durante 12 horas. Para liberar las células del bloque, las células se lavan dos veces con PBS y se vuelven a sembrar en medio fresco con FCS al 10%. Después de una sincronización, las células se incuban con o sin un compuesto de fórmula I en diversas concentraciones, durante 3, 6, 9, 12, 18 o 24 horas. Las células son recolectadas después de un tratamiento con EDTA al 0,2%, fijadas con una disolución de etanol al 70% enfriada con hielo, hidrolizadas con 250 μ g/ml de RNasa A (tipo 1-A; Sigma Chem. Co.) a 37 °C durante 30 minutos, y teñidas con yoduro de propidio en una concentración de 10 mg/ml durante 20 minutos. Después del período de incubación, se determina el número de células tanto contando las células en un dispositivo contador Coulter como mediante el ensayo colorimétrico con SRB. Bajo estas condiciones, los compuestos de fórmula I inhiben la proliferación de las células tumorales en concentraciones que varían de 10^{-12} a 10^{-6} M.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula I:



en la que:

5 n es 1 o 2;

A es $-(CH_2)_2C(O)OH$;

X es un enlace o es seleccionado de entre [1,2,4]oxadiazol, $-CH_2O-$, $-OCH_2-$, isoxazoles y [1,3,4]oxadiazol;

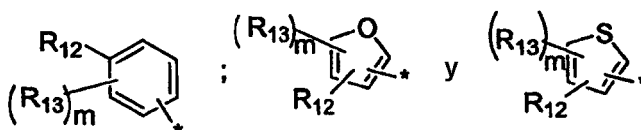
Y es seleccionado de entre fenilo y benzooxazolilo;

10 R₁ es escogido de entre arilo C₆₋₁₀ y heteroarilo C₂₋₉; en donde todo arilo o heteroarilo de R₁ está opcionalmente sustituido con un radical elegido de entre aril C₆₋₁₀-alquilo C₀₋₄, heteroaril C₂₋₉-alquilo C₀₋₄, cicloalquil C₃₋₈-alquilo C₀₋₄, heterocicloalquil C₃₋₈-alquilo C₀₋₄ y alquilo C₁₋₆; en donde todo grupo arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo de R₁ puede estar opcionalmente sustituido con de uno a cinco radicales escogidos de entre halo, alquilo C₁₋₆, alcoxilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ sustituido con halo, y alcoxilo C₁₋₆ sustituido con halo; y todo grupo alquilo de R₁ puede tener opcionalmente un metileno sustituido por un átomo o grupo escogido de entre $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-NR_7-$ y $-O-$; en donde R₇ es escogido de entre hidrógeno y alquilo C₁₋₆; y

R₂, R₃, R₄ y R₅ son hidrógeno; y las sales, hidratos, solvatos, derivados N-óxido, isómeros ópticos o geométricos seleccionados de entre compuestos cis, compuestos trans y mezclas de los mismos, farmacéuticamente aceptables.

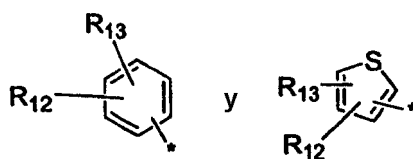
20 2. El compuesto de la Reivindicación 1, en el que R₁ es fenilo, naftilo, furanilo o tienilo opcionalmente sustituidos con aril C₆₋₁₀-alquilo C₀₋₄, heteroaril C₂₋₉-alquilo C₀₋₄, cicloalquil C₃₋₈-alquilo C₀₋₄, heterocicloalquil C₃₋₈-alquilo C₀₋₄ o alquilo C₁₋₆; en donde todo grupo arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo de R₁ puede estar opcionalmente sustituido con de uno a cinco radicales escogidos de entre halo, alquilo C₁₋₆, alcoxilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ sustituido con halo, y alcoxilo C₁₋₆ sustituido con halo; y todo grupo alquilo de R₁ puede tener opcionalmente un metileno sustituido por un átomo o grupo escogido de entre $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-NR_7-$ y $-O-$; en donde R₇ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆.

25 3. El compuesto de la Reivindicación 1, en el que R₁ es escogido de entre:



30 en donde el asterisco es el punto de unión de R₁ con X; m es escogido de entre 1 y 2; R₁₂ es seleccionado de entre hidrógeno, aril C₆₋₁₀-alquilo C₀₋₄, heteroaril C₂₋₉-alquilo C₀₋₄, cicloalquil C₃₋₈-alquilo C₀₋₄, heterocicloalquil C₃₋₈-alquilo C₀₋₄ y alquilo C₁₋₆; en donde todo grupo arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo de R₁₂ puede estar opcionalmente sustituido con de uno a tres radicales escogidos de entre halo, alquilo C₁₋₆, alcoxilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ sustituido con halo, y alcoxilo C₁₋₆ sustituido con halo; y todo grupo alquilo de R₁₂ puede tener opcionalmente un metileno sustituido por un átomo o grupo escogido de entre $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-NR_{10}-$ y $-O-$; en donde R₁₀ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆; y R₁₃ es escogido de entre halo, alquilo C₁₋₆, alcoxilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ sustituido con halo, y alcoxilo C₁₋₆ sustituido con halo.

35 4. El compuesto de la Reivindicación 1, en el que R₁ es seleccionado de entre:



en donde R₁₂ es seleccionado de entre hidrógeno, fenilo y ciclohexilo; en donde todo fenilo o ciclohexilo de R₁₂ está opcionalmente sustituido con metilo; y R₁₃ es seleccionado de entre trifluorometilo, metilo y etilo.

5. El compuesto de la Reivindicación 4, seleccionado de entre ácido 3-{6-[3-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,2,4]oxadiazol-5-il]-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-(2-trifluorometil-bifenil-4-iloximetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-{5-[5-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-isoxazol-3-il]-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-propiónico, ácido 3-[5-[5-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-propiónico, ácido 3-[5-[5-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,3,4]oxadiazol-2-il]-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-propiónico, ácido 3-[2-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-5,7-dihidro-oxazol[4,5-f]isoindol-6-il]-propiónico, ácido 3-[7-[5-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-[5-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-[5-(2-trifluorometil-bifenil-4-il)-[1,3,4]oxadiazol-2-il]-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-(3-trifluorometil-benciloxi)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benziloxi)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilmetoxi)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[7-(2-trifluorometil-bifenil-4-ilmetoxi)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[7-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxi)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-(4-ciclohexil-3-metil-fenoximetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-(4-ciclohexil-3-etil-fenoximetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico, ácido 3-[6-(2-etil-bifenil-4-iloximetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico y ácido 3-[6-(2-etil-3'-metil-bifenil-4-iloximetil)-3,4-dihidro-1H-isoquinoleín-2-il]-propiónico.

6. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la Reivindicación 1 en combinación con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

7. La composición farmacéutica de la Reivindicación 6, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1-5, en combinación con un agente inmunosupresor, un agente inmunomodulador u otro agente antiinflamatorio.

8. La composición farmacéutica de la Reivindicación 6, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1-5, en combinación con uno o más de:

i. un inhibidor de la aromatasas;

ii. un compuesto antiestrogénico, un compuesto antiandrogénico (especialmente en el caso de cáncer de próstata) o un agonista de la gonadorrelina;

iii. un inhibidor de la topoisomerasa I o un inhibidor de la topoisomerasa II;

iv. un agente activo en microtúbulos, un agente alquilante, un antimetabolito antineoplásico o un compuesto de platino;

v. un compuesto que se dirige a/disminuye una actividad proteínica o lípido cinasa o una actividad proteínica o lípido fosfatasa, otro compuesto antiangiogénico o un compuesto que induce procesos de diferenciación celular;

vi. un receptor de la bradicinina 1 o un antagonista de la angiotensina II;

vii. un inhibidor de la ciclooxigenasa, un bisfosfonato, un inhibidor de la histona desacetilasa, un inhibidor de la heparanasa (previene la degradación del sulfato de heparán), por ejemplo, PI-88, un modificador de respuestas biológicas, preferiblemente una linfocina o interferones, un inhibidor de la ubiquitinación, o un inhibidor que bloquea rutas antiapoptóticas;

viii. un inhibidor de isoformas oncogénicas de Ras, por ejemplo, H-Ras, K-Ras o N-Ras, o un inhibidor de la farnesil transferasa, por ejemplo, L-744,832 o DK8G557;

ix. un inhibidor de la telomerasa, por ejemplo, telomestatina;

x. un inhibidor de proteasas, un inhibidor de metaloproteinasas matriciales, un inhibidor de la metionina aminopeptidasa, por ejemplo, bengamida o un derivado de la misma, o un inhibidor de proteosomas, por ejemplo, PS-341; y/o

xi. un inhibidor de mTOR.

9. Un compuesto según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 5 o una composición según las Reivindicaciones 6-8 para uso en la prevención o el tratamiento de trastornos o enfermedades mediados por linfocitos, para prevenir o tratar el rechazo agudo o crónico de trasplantes o enfermedades inflamatorias o autoinmunes mediadas por células T, para inhibir o controlar una angiogénesis no regulada, o para prevenir o tratar enfermedades mediadas por un proceso de neoangiogénesis o asociadas con una angiogénesis no regulada en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la Reivindicaciones 1 o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10. El compuesto o la composición de la Reivindicación 9, en donde la enfermedad o el trastorno es seleccionado de entre rechazo de trasplantes, función retrasada del injerto, enfermedad del injerto contra el huésped, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, tiroiditis de Hashimoto, esclerosis múltiple, miastenia gravis, diabetes de

- 5 tipo I o II y los trastornos asociados con ella, vasculitis, anemia perniciosa, síndrome de Sjogren, uveítis, psoriasis, oftalmopatía de Graves, alopecia areata y otras, enfermedades alérgicas, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, asma intrínseca, lesión inflamatoria pulmonar, lesión inflamatoria hepática, lesión inflamatoria glomerular, aterosclerosis, osteoartritis, dermatitis irritante por contacto, dermatitis eccematosas, dermatitis seborreica, manifestaciones cutáneas de trastornos inmunológicamente mediados, enfermedad inflamatoria ocular, queratoconjuntivitis, miocarditis, hepatitis, lesión por isquemia/reperusión, accidente cerebrovascular, isquemia intestinal, insuficiencia renal, choque hemorrágico, choque traumático, linfomas de células T, leucemias de células T, enfermedades infecciosas y demencia senil.