

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 565 345**

51 Int. Cl.:

A01N 43/16 (2006.01)

A61K 31/381 (2006.01)

A61K 31/41 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01)

A61K 31/382 (2006.01)

A61K 31/4245 (2006.01)

A61K 31/433 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.02.2011 E 11742796 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.02.2016 EP 2533638**

54 Título: **Nuevos inhibidores de la reductasa de s-nitrosoglutatión**

30 Prioridad:

12.02.2010 US 303952 P

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

04.04.2016

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**SUN, XICHENG y
QIU, JIAN**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 565 345 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 inhibidores de la reductasa de s-nitrosoglutatión

5 **Campo de la invención**

La presente invención está dirigida a nuevos compuestos, a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos y a métodos para la elaboración y el uso de los mismos. Estos compuestos son útiles como inhibidores de la reductasa de s-nitrosoglutatión (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 juega un importante papel en el control de diversos acontecimientos biológicos. Por ejemplo, el endotelio utiliza NO para señalar al músculo liso circundante de las paredes de las arteriolas que se relaje, dando como resultado una vasodilatación y un aumento en el flujo sanguíneo a los tejidos hipóxicos. El NO también está implicado en la regulación de la proliferación del músculo liso, en la función de las plaquetas y en la neurotransmisión, y desempeña un papel en la defensa del hospedador. Aunque el NO es muy reactivo y tiene una vida de unos pocos segundos, puede tanto difundir libremente a través de las membranas como unirse a muchos objetivos moleculares. Estos atributos hacen que el NO sea una molécula de señalización ideal capaz de controlar acontecimientos biológicos entre células adyacentes y dentro de las células.

El NO es un radical libre gaseoso, lo que lo hace muy reactivo e inestable, por lo que el NO tiene una vida corta *in vivo*, teniendo una semivida de 3 - 5 segundos en condiciones fisiológicas. En presencia de oxígeno, el NO puede combinarse con tioles para generar una clase biológicamente importante de aductos estables de NO denominados S-nitrosotioles (SNO). Se ha postulado que este conjunto estable de NO actúa como una fuente de NO bioactivo y como tal parece ser críticamente importante en la salud y en la enfermedad, dada la importancia del NO en la homeostasis celular (Stamler et al., Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., 89: 7674 - 7677 (1992)). Los SNO proteicos juegan importantes papeles en la función de los sistemas cardiovascular, respiratorio, metabólico, gastrointestinal, inmunitario y nervioso central (Foster et al., Trends in Molecular Medicine, 9 (4): 160 - 168, (2003)). Uno de los SNO más estudiados en los sistemas biológicos es el S-nitrosoglutatión (GSNO) (Gaston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 90: 10957 - 10961 (1993)), un incipiente regulador clave en la señalización del NO, dado que es un eficaz agente de transnitrosación y parece mantener un equilibrio con otras proteínas S-nitrosadas (Liu et al., Nature, 410: 490 - 494 (2001)) de las células. Dada la posición crucial en el continuo NO-SNO, el GSNO proporciona un prometedor objetivo terapéutico a tener en consideración cuando la modulación por el NO está garantizada farmacológicamente.

A la luz de esta comprensión del GSNO como un regulador clave de la homeostasis del NO y de los niveles celulares de SNO, los estudios se han centrado en el análisis de la producción endógena de GSNO y de SNO proteicos, que se producen cascada abajo de la producción del radical NO por parte de las enzimas sintetasas de óxido nítrico (NOS). Más recientemente se ha producido una creciente comprensión del catabolismo enzimático del GSNO que tiene un importante papel en el manejo de las concentraciones disponibles de GSNO y consecuentemente, del NO y de los SON disponibles.

Fundamental para esta comprensión del catabolismo del GSNO, los investigadores han identificado recientemente una reductasa de s-nitrosoglutatión (GSNOR) muy conservada (Jensen et al., Biochem J., 331: 659 - 668 (1998); Liu et al., (2001)). La GSNOR se conoce también como deshidrogenasa de formaldehído dependiente de glutatión (GSH-FDH), deshidrogenasa de alcohol 3 (ADH-3) (Uotila y Koivusalo, Coenzymes and Cofactors., D. Dolphin, ed. páginas 517 - 551 (Nueva York, John Wiley & Sons, 1989)) y deshidrogenasa de alcohol 5 (ADH-5). Importantly, la GSNOR muestra una mayor actividad hacia el GSNO que hacia otros sustratos (Jensen et al., 1998; Liu et al., 2001) y parece mediar en 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 lo tanto, el GSNO puede acumularse en los compartimentos biológicos en los que la actividad de la GSNOR es baja o está ausente (por ejemplo, en el fluido que reviste las vías aéreas) (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 las SNO-proteínas (Liu et al., 2001). El control enzimático preciso sobre los niveles ambientales de GSNO, y por lo tanto de SNO-proteínas, aumenta la posibilidad de que el GSNO / la GSNOR pueda jugar un papel en todo el hospedador en funciones fisiológicas y patológicas que incluyen la protección frente al estrés nitrosante, en el que el NO es producido en exceso sobre las necesidades fisiológicas. De hecho, el GSNO se ha implicado específicamente en procesos fisiológicos que varían desde el impulso de respiración (Lipton et al., Nature, 413: 171 - 174 (2001)) hasta la regulación del regulador transmembranal 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 de las plaquetas (de Belder et al., Cardiovasc Res.; 28 (5): 691 - 4 (1994)); (Z. Kaposzta, et al., Circulation; 106 (24): 3057 - 3062, (2002)), así como en la defensa del hospedador (de Jesús-Berrios et al., Curr. Biol., 13: 1963 - 1968 (2003)). Otros estudios han averiguado que la GSNOR protege a las

células de levadura frente al estrés nitrosante tanto *in vitro* (Liu et al., 2001) como *in vivo* (de Jesús-Berrios et al., (2003)).

En conjunto, los datos sugieren que el GSNO es un ligando fisiológico primario de la enzima reductasa de s-nitrosoglutatión (GSNOR), que cataboliza el GSNO y consecuentemente 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, 308 (5728): 1618 - 1621 (2005)). Como tal, esta enzima juega un papel central en la regulación del NO bioactivo local y sistémico. Dado que las alteraciones en la biodisponibilidad del NO se han relacionado con la patogenia de numerosos estados patológicos, incluyendo hipertensión, aterosclerosis, trombosis, asma, trastornos gastrointestinales, inflamación y cáncer, los agentes que regulan la actividad de la GSNOR son candidatos a agentes terapéuticos para el tratamiento de las enfermedades relacionadas con un desequilibrio en el NO.

El óxido nítrico (NO), el S-nitrosoglutatión (GSNO) y la reductasa de s-nitrosoglutatión (GSNOR) regulan la fisiología pulmonar normal y contribuyen a la fisiopatología pulmonar. En condiciones normales, el NO y el GSNO mantienen la fisiología pulmonar normal y funcionan a través de sus acciones antiinflamatorias y broncodilatadoras. Una reducción en los niveles de estos mediadores en enfermedades pulmonares tales como asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) puede producirse a través de una regulación por aumento de la actividad de la enzima GSNOR. Estos reducidos niveles de NO y de GSNO, y las reducidas capacidades antiinflamatorias, son los acontecimientos que contribuyen a las enfermedades pulmonares y que pueden ser potencialmente revertidos a través de una inhibición de la GSNOR.

Las enfermedades inflamatorias del intestino (EII), incluyendo la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, son trastornos inflamatorios crónicos del tracto gastrointestinal (GI), en los que el NO, el GSNO y la GSNOR pueden ejercer diversas influencias. En condiciones normales, la función del NO y del GSNO funciona para mantener la fisiología intestinal normal a través de acciones antiinflamatorias y del mantenimiento de la barrera celular epitelial intestinal. En las EII, son evidentes unos niveles reducidos de GSNO y de NO y probablemente se producen a través de una regulación por aumento de la actividad de la GSNOR. La reducción en los niveles de estos mediadores contribuye a la fisiopatología de las EII a través de una desestabilización de la barrera epitelial mediante una disregulación 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 la luz y las reducidas capacidades antiinflamatorias globales en presencia de menos NO y GSNO, son acontecimientos clave en la progresión de las EII que pueden ser potencialmente afectados mediante un direccionamiento a la GSNOR.

Actualmente existe una gran necesidad en la técnica para el diagnóstico, la profilaxis, la mejora y los tratamientos de afecciones médicas relacionadas con un aumento en la síntesis de NO y/o un aumento en la bioactividad del NO. Además, hay una significativa necesidad de nuevos compuestos, composiciones y métodos para la prevención, la mejora o la reversión de otros trastornos relacionados con el NO. La presente invención satisface estas necesidades.

El documento WO2009/026657A1 describe compuestos flavonoides que son agonistas del PPAR-gamma y/o agonistas dobles del PPAR alfa / gamma.

El documento WO97/32872A1 describe flavonas sustituidas con sulfamato presuntamente adecuadas para su uso como inhibidores tanto de la actividad de la sulfatasa de estrona como de la actividad de la aromatasas.

Sumario

La presente invención proporciona los compuestos según se definen en las reivindicaciones. Estos compuestos son útiles como inhibidores de la reductasa de s-nitrosoglutatión ("GSNOR"). La invención engloba sales, profármacos, metabolitos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos. También están englobadas por la invención 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 ser preparadas en cualquier forma de dosificación adecuada farmacéuticamente aceptable.

En el presente documento también se describe un método para la inhibición de la GSNOR en un sujeto en necesidad de la misma. Dicho método comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende al menos un inhibidor de la GSNOR o de una sal, un profármaco, un metabolito o un estereoisómero del mismo farmacéuticamente aceptable, junto 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 para el tratamiento de un trastorno mejorado por una terapia donante de NO en un sujeto en necesidad de la misma. Dicho método comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende al menos un inhibidor de la GSNOR o una sal del mismo, un profármaco, un metabolito o un estereoisómero del mismo farmacéuticamente aceptable, junto 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 para el tratamiento de un trastorno proliferativo celular en un sujeto en necesidad del mismo. Dicho método comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende al menos un inhibidor de la GSNOR o una sal, un profármaco, un metabolito o un estereoisómero del mismo farmacéuticamente aceptable, junto 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 descritos en el presente documento engloban la administración junto con uno o más agentes activos secundarios. Dicha administración puede ser secuencial o en una composición de combinación.

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

Descripción detallada

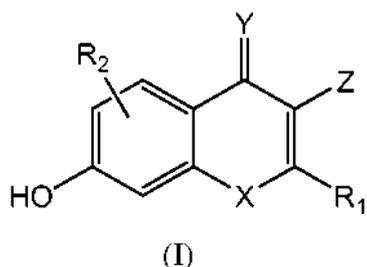
A. Descripción general de la invención

Hasta hace poco se sabía que la reductasa de s-nitrosoglutatión (GSNOR) oxidaba el aducto de formaldehído glutatión, el S-hidroximetilglutatión. Desde entonces la GSNOR ha sido identificada en varias bacterias, levaduras, plantas y animales, y está bien conservada. Las proteínas de *E. coli*, de *S. cerevisiae* y los macrófagos de ratón comparten más del 60 % de identidad en la secuencia de aminoácidos. Se ha detectado actividad de la GSNOR (es decir, la descomposición del GSNO cuando hay presente NADH como cofactor necesario) en *E. coli*, en los macrófagos de ratón, en las células endoteliales de ratón, en las células de músculo liso de ratón, en levaduras y en células humanas HeLa, epiteliales y monocitos. La información de la secuencia de nucleótidos y de aminoácidos de la GSNOR humana puede obtenerse en las bases de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI) con los números de acceso M29872, NM_000671. La información de la secuencia de nucleótidos y de aminoácidos de la GSNOR de ratón puede obtenerse en las bases de datos del NCBI con el número de acceso NM_007410. En la secuencia de nucleótidos están subrayados el sitio de inicio y el sitio de detención. CDS designa la secuencia codificante. SNP designa un polimorfismo de nucleótido individual. Otras secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de la GSNOR relacionadas, incluyendo las de otras especies, pueden encontrarse en la Solicitud de Patente de EE.UU. 2005/0014697.

Según se describe en el presente documento, se ha demostrado que la GSNOR funciona *in vivo* e *in vitro* para metabolizar el S-nitrosoglutatión (GSNO) y los S-nitrosotioles proteicos (SNO) para modular la bioactividad del NO, mediante el control de los niveles intracelulares de los compuestos donantes de NO de baja masa y evitando que la nitrosilación de las proteínas alcance unos niveles tóxicos.

Tomando esto como base, se infiere que la inhibición de esta enzima potencia la bioactividad en enfermedades en las que está indicada una terapia donante de NO, que inhibe la proliferación de las células con una proliferación patológica y aumenta la bioactividad del NO en enfermedades en las que esto es beneficioso.

La presente invención proporciona agentes farmacéuticos que son potentes inhibidores de la GSNOR. En particular, se proporcionan análogos que tienen las estructuras representadas a continuación (Fórmula I), o una sal, un estereoisómero, un profármaco o un metabolito de los mismos farmacéuticamente aceptables.

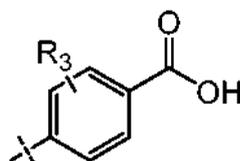


en la que

X se selecciona de entre el grupo que consiste en O y S;

Y se selecciona de entre el grupo que consiste en O y S;

Z se selecciona de entre el grupo que consiste en Z₁, Z₂, Z₃ y Z₄, en las que Z₁ es



con la condición de que Z únicamente es Z₄ cuando al menos uno de X o Y es S;

10 R₁ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₇), haloalquilo (C₁-C₆), arilalquilo (C₁-C₄) no sustituido, arilalquilo (C₁-C₆) sustituido, heteroalquilo (C₁-C₆), arilo sustituido o no sustituido y heteroarilo sustituido o no sustituido;

R₂ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano y alcoxi (C₁-C₆);

15 R₃ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo (C₁-C₆), haloalquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), ciano y N,N-dimetilamino;

R₄ se selecciona de entre el grupo que consiste en tetrazol, oxadiazolona, tiadiazolona, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo; y

R₅ se selecciona de entre el grupo que consiste en carboxi, tetrazol, oxadiazolona, tiadiazolona, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo.

20 Además, en cualquiera de las composiciones descritas en el presente documento, puede estar excluido específicamente uno o más compuestos o subgéneros de los compuestos.

25 Según se usa en este contexto, el término "análogo" se refiere a un compuesto que tiene una estructura química y una función similar a las de los compuestos de Fórmula I que conserva el sistema anular central.

30 Algunos de los análogos descritos en el presente documento también pueden existir en varias formas estereoisómeras, incluyendo isómeros de configuración, geométricos y conformacionales, así como existir en varias formas tautómeras, particularmente aquellas que difieren en el punto de unión de un átomo de hidrógeno. Según se usa en el presente documento, el término "estereoisómero" pretende incluir dichas formas isómeras de un compuesto que incluyen las formas tautómeras del compuesto.

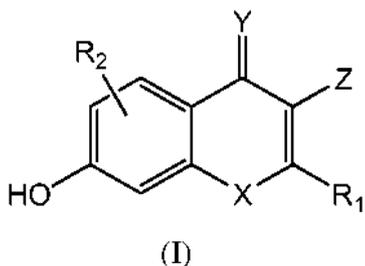
35 Algunos compuestos ilustrativos que tienen centros asimétricos pueden existir en diferentes formas enantiómeras y diastereómeras. Un compuesto puede existir en forma de un isómero óptico o de un diastereómero. Por consiguiente, la invención engloba compuestos en las formas de sus isómeros ópticos,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

40 Debería apreciarse que si existe una discrepancia entre una estructura representada y un nombre proporcionado a esa estructura, prevalece la estructura representada. Además, si la estereoquímica de una estructura o de una porción de una estructura no está indicada con, por ejemplo, líneas en negrita, en cuña o punteadas, debe interpretarse que la estructura o la porción de la estructura engloba todos los estereoisómeros del compuesto descrito.

B. Inhibidores de la S reductasa de s-nitrosoglutatión

1. Compuestos inventivos

5 En uno de sus aspectos, la presente invención proporciona un compuesto que tiene una estructura mostrada en la Fórmula I, o una sal, un estereoisómero, un profármaco o un metabolito del mismo farmacéuticamente aceptable:

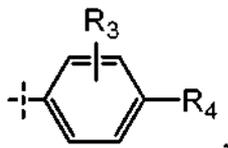


en la que

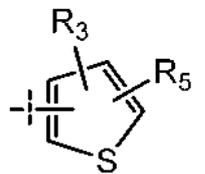
10

X se selecciona de entre el grupo que consiste en O y S;
 Y se selecciona de entre el grupo que consiste en O y S;
 Z se selecciona de entre el grupo que consiste en Z₁, Z₂, Z₃ y Z₄, en las que
 Z₁ es

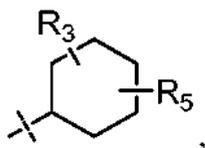
15



Z₂ es

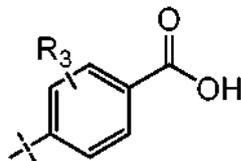


Z₃ es



20

y Z₄ es



25

con la condición de que Z únicamente es Z₄ cuando al menos uno de X o Y es S;
 R₁ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₇), haloalquilo (C₁-C₆), arilalquilo (C₁-C₄) no sustituido, arilalquilo (C₁-C₆) sustituido, heteroalquilo (C₁-C₆), arilo sustituido o no sustituido y heteroarilo sustituido o no sustituido;
 R₂ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano y alcoxi (C₁-C₆);
 R₃ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo (C₁-C₆), haloalquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), ciano y N,N-dimetilamino;
 R₄ se selecciona de entre el grupo que consiste en tetrazol, oxadiazolona, tiadiazolona, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo; y
 R₅ se selecciona de entre el grupo que consiste en carboxi, tetrazol, oxadiazolona, tiadiazolona, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo.

35

En un aspecto adicional de la invención, R₄ se selecciona de entre el grupo que consiste en tetrazol, 1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona-5-ilo, 1,3,4-tiadiazol-2(3H)-ona-5-ilo, 1,2,4-tiadiazol-3(2H)-ona-5-ilo, 1,2,4-oxadiazol-3(2H)-ona-5-ilo, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo; y R₅ se

selecciona de entre el grupo que consiste en carboxi, tetrazol, 1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona-5-ilo, 1,3,4-tiadiazol-2(3H)-ona-5-ilo, 1,2,4-tiadiazol-3(2H)-ona-5-ilo, 1,2,4-oxadiazol-3(2H)-ona-5-ilo, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo.

5 En un aspecto adicional de la invención, R₁ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, CF₃, CF₂H, CF₂CH₃, CF₂CH₂CH₃, metilo, isopropilo, isobutilo, ciclopentilo, CH₂OCH₃, SCH₃, bencilo, 4-carboxi bencilo, tiofen-2-ilo y tiofen-3-ilo;

R₂ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, flúor, cloro, metoxi y ciano; y

10 R₃ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, flúor, cloro, metilo, CF₃, metoxi, ciano y N,N-dimetil-amino.

En un aspecto adicional de la invención, R₁ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, CF₃, CF₂H, metilo y 4-carboxibencilo;

R₂ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno y flúor;

15 R₃ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, flúor, cloro y metilo;

R₄ se selecciona de entre el grupo que consiste en tetrazol, 1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona-5-ilo, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo; y

R₅ se selecciona de entre el grupo que consiste en carboxi, tetrazol, 1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona-5-ilo, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo.

20 En un aspecto adicional de la invención, R₄ se selecciona de entre el grupo que consiste en tetrazol, 1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo; y

R₅ se selecciona de entre el grupo que consiste en carboxi, tetrazol, 1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo.

25 En un aspecto adicional de la invención, X se selecciona de entre el grupo que consiste en O y S. En otro aspecto de la invención, X es O. En otro aspecto más de la invención, X es S.

30 En un aspecto adicional de la invención, Y se selecciona de entre el grupo que consiste en O y S. En otro aspecto de la invención Y es O. En otro aspecto más de la invención, Y es S.

En un aspecto adicional de la invención, algunos compuestos adecuados de Fórmula I incluyen, pero sin limitación:

35 3-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-2-(trifluorometil)-4H-cromen-4-ona;

ácido 5-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)tiofen-2-carboxílico;

ácido (trans)-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) ciclohexanocarboxílico;

ácido (cis)-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) ciclohexanocarboxílico;

3-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-2-(difluorometil)-7-hidroxi-4H-cromen-4-ona;

3-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-2-metil-4H-cromen-4-ona;

40 ácido 4-(2-(4-carboxibencil)-7-hidroxi-4-oxo-4H-tiocromen-3-il) benzoico;

ácido 4-(7-hidroxi-2-metil-4-oxo-4H-tiocromen-3-il) benzoico;

3-(4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona;

4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)-N-(metilsulfonil) benzamida;

3-(4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)fenil)-1,2,4-tiadiazol-5(4H)-ona;

45 3-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-2-metil-4H-tiocromen-4-ona;

ácido 5-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)tiofen-3-carboxílico;

3-((trans)-4-(1H-tetrazol-5-il)ciclohexil)-7-hidroxi-2-(trifluorometil)-4H-cromen-4-ona;

N-hidroxi-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzamida;

3-(2-cloro-4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-2-(trifluorometil)-4H-cromen-4-ona;

50 3-(3-cloro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona;

3-(3-fluoro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona;

3-(3-cloro-4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-2-(trifluorometil)-4H-cromen-4-ona;

3-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-4H-cromen-4-ona; y

55 5-(4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)fenil)-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona.

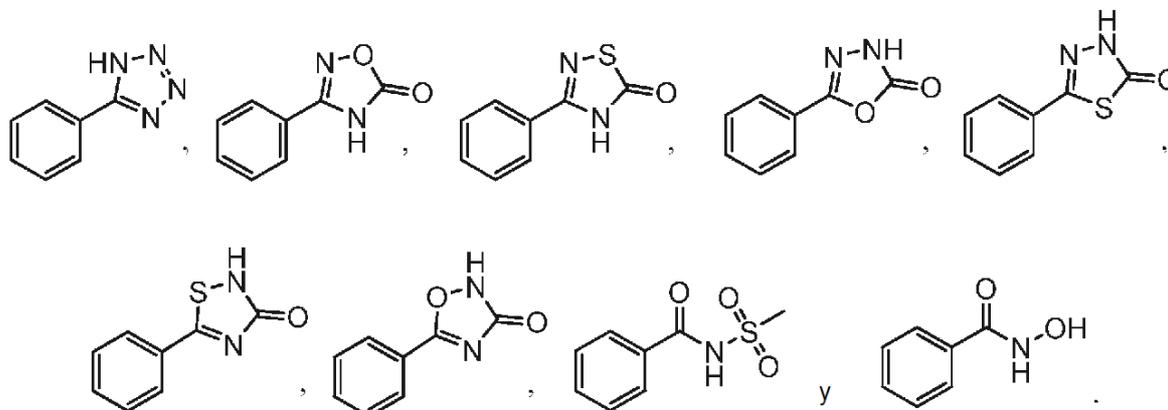
En una forma de realización más, el compuesto ácido 3-fluoro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzoico es un compuesto de la invención.

60 En una forma de realización más, el compuesto ácido 4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)-3-metilbenzoico es un compuesto de la invención.

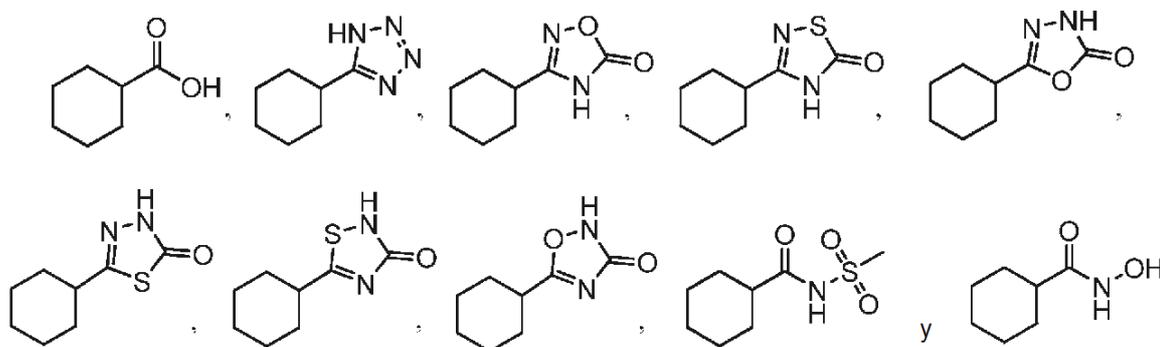
En una forma de realización más, el compuesto ácido 4-(8-fluoro-7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzoico es un compuesto de la invención.

65 Algunos ejemplos de Z₁ en los que R₄ es tetrazol, 1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona-5-ilo, 1,3,4-tiadiazol-2(3H)-ona-5-ilo, 1,2,4-tiadiazol-3(2H)-ona-5-ilo, 1,2,4-oxadiazol-

3(2H)-ona-5-ilo, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo incluyen, respectivamente



5 Algunos ejemplos de Z₃ en los que R₅ es carboxi, tetrazol, 1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona-5-ilo, 1,3,4-tiadiazol-2(3H)-ona-5-ilo, 1,2,4-tiadiazol-3(2H)-ona-5-ilo, 1,2,4-oxadiazol-3(2H)-ona-5-ilo, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo incluyen, respectivamente



10 Cuando se muestra que un enlace con un sustituyente atraviesa un enlace que conecta dos átomos de un anillo, entonces dicho sustituyente puede estar unido a cualquier átomo del anillo. Cuando se menciona un sustituyente sin indicar el átomo a través del cual se une dicho sustituyente 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 de variables son permisibles, pero únicamente si dichas combinaciones dan como resultado
15 compuestos estables.

Los compuestos descritos en el presente documento pueden tener centros asimétricos. Los compuestos de la presente invención que contienen un átomo sustituido asimétricamente pueden ser aislados en una forma ópticamente activa o racémica. En la técnica se conoce bien cómo preparar formas ópticamente activas, tal como
20 mediante una resolución de las formas racémicas o mediante una síntesis a partir de materiales de partida ópticamente activos. También puede haber presentes muchos isómeros geométricos de olefinas, dobles enlaces C=N y similares en los compuestos descritos en el presente documento, y todos esos isómeros estables están contemplados en la presente invención. Se describen los isómeros geométricos cis y trans de los compuestos de la presente invención, y pueden ser aislados como una mezcla de isómeros o como formas isómeras individuales. Se
25 consideran todas las formas isómeras quirales, diastereómeras, racémicas y geométricas de una estructura, salvo que esté indicada específicamente la estereoquímica específica o una forma isómera. Todos los tautómeros de los compuestos mostrados escritos también son considerados parte de la presente invención.

Debe apreciarse que los isómeros que surgen de dicha asimetría (por ejemplo, todos los enantiómeros y diastereómeros) están incluidos en el ámbito de la invención, a menos que se indique de otro modo. Dichos isómeros pueden obtenerse en una forma sustancialmente pura mediante las técnicas clásicas de separación y mediante una síntesis controlada estereoquímicamente. Adicionalmente, las estructuras y los otros compuestos y fracciones analizados en esta solicitud también incluyen todos los tautómeros de los mismos. Los alquenos pueden incluir la geometría E o Z, donde sea apropiado.
35

2. Compuestos representativos

Los ejemplos proporcionados a continuación recogen los nuevos análogos representativos de la invención. Los métodos de síntesis que pueden usarse para la preparación de cada compuesto se detallan en los Ejemplos 1 - 24,

con referencia a los intermedios descritos en el Ejemplo 25. Los datos de apoyo de la espectrometría de masas y/o los datos de la RMN de protón para cada compuesto también están incluidos en los Ejemplos 1 - 22. La actividad inhibitoria de la GSNOR fue determinada mediante el ensayo descrito en el Ejemplo 26 y se obtuvieron los valores de la CI_{50} para los Ejemplos 1 - 22. Los compuestos inhibidores de la GSNOR de los Ejemplos 1 - 22 tenían una CI_{50} de aproximadamente $< 1 \mu M$. Los compuestos inhibidores de la GSNOR de los Ejemplos 1 - 3, 5 - 6, 8 - 9, 11 - 12, 14, 16 - 22 tenían una CI_{50} de aproximadamente menos de $0,1 \mu M$.

C. Definiciones

Según se usa en el presente documento, "aproximadamente" será comprendido por las personas expertas habituales en la técnica y variará hasta cierto punto dependiendo del contexto en el que se use. Si hay usos del término que no están claros para las personas expertas habituales en la técnica dado el contexto en el que se usa, "aproximadamente" significará hasta más o menos el 10 % del término en particular.

El término "acilo" incluye compuestos y fracciones que contienen el radical acetilo (CH_3CO-) o un grupo carbonilo al que está unido un residuo de alquilo inferior de cadena lineal o ramificada.

El término "alquilo", según se usa en la presente memoria, se refiere a un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que tiene el número indicado de átomos de carbono. Por ejemplo, se entiende que alquilo (C_1-C_6) incluye, pero sin limitación 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 según se describe en el presente documento.

El término "alqueno", según se usa en la presente memoria, se refiere a un hidrocarburo insaturado de cadena lineal o ramificada que tiene el número indicado de átomos de carbono y al menos un doble enlace. Algunos ejemplos de un grupo alqueno (C_2-C_8) incluyen, pero sin limitación, 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 e isocteno. Un grupo alqueno puede no estar sustituido o estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes según se describe en el presente documento.

El término "alquino", según se usa en la presente memoria, se refiere a un hidrocarburo insaturado de cadena lineal o ramificada que tiene el número indicado de átomos de carbono y al menos un triple enlace. Algunos ejemplos de un grupo alquino (C_2-C_8) incluyen, pero sin limitación, 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 según se describe en el presente documento.

El término "alcoxi", según se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo -O-alquilo que tiene el número indicado de átomos de carbono. 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", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo (normalmente con entre uno y seis átomos de carbono) en el que uno o más de los átomos de hidrógeno del grupo alquilo C_1-C_6 está sustituido por una amina de fórmula $-N(R^c)_2$, en la que cada aparición de R^c es independientemente -H o alquilo (C_1-C_6). Algunos ejemplos de grupos aminoalquilo incluyen, pero sin limitación, $-CH_2NH_2$, $-CH_2CH_2NH_2$, $-CH_2CH_2CH_2NH_2$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$, $-CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$, t-butilaminometilo, isopropilaminometilo y similares.

El término "arilo", según se usa en la presente memoria, se refiere a un sistema anular aromático monocíclico, bicíclico o tricíclico de entre 5 y 14 miembros. Algunos 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 según se describe a continuación en el presente documento. Algunos 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.

Según se usa en el presente documento, el término "bioactividad" indica un efecto sobre uno o más procesos celulares o extracelulares (por ejemplo, a través de una unión, una señalización, etc.) que puede impactar en los procesos fisiológicos o fisiopatológicos.

El término "carbonilo" incluye compuestos y fracciones que contienen un carbono conectado por un doble enlace a un átomo de oxígeno. Algunos ejemplos de fracciones que contienen un carbonilo incluyen, pero sin limitación, aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, amidas, ésteres, anhídridos, etc.

65

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

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

El término "cicloalquilo", según se usa en la presente memoria, se refiere a un sistema anular hidrocarbonado monocíclico, bicíclico o tricíclico no aromático saturado o insaturado de entre 3 y 14 miembros. En esta clase están incluidos los grupos cicloalquilo que están condensados con un anillo de benceno. Algunos grupos cicloalquilo representativos incluyen, pero sin limitación, 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, 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 y biciclo[4.3.1]decano. Un grupo cicloalquilo puede no estar sustituido o estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes según se describe a continuación en el presente documento.

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

El término "haloalquilo", según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C₁-C₆ en el que uno o más de los átomos de hidrógeno del grupo alquilo C₁-C₆ están sustituidos por un átomo de halógeno, que pueden ser iguales o diferentes. Algunos ejemplos de grupos haloalquilo incluyen, pero sin limitación, 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 junto con otro término, significa, a menos que se indique de otro modo, un alquilo estable de cadena lineal o ramificada, o combinaciones de los mismos, que consiste en átomos de carbono y entre uno y tres heteroátomos seleccionados de entre el grupo que consiste en O, N y S y en los que los átomos de nitrógeno y de azufre pueden estar opcionalmente oxidados, y el heteroátomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado. El (los) heteroátomo(s) de O, N y S puede(n) estar ubicado(s) en cualquier posición del grupo heteroalquilo. Algunos ejemplos incluyen -CH₂-CH₂-O-CH₃, -CH₂-CH₂-NH-CH₃, -CH₂-CH₂-N(CH₃)-CH₃, -CH₂-S-CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-S(O)-CH₃, -CH₂-CH₂-S(O)₂-CH₃ y -CH₂-CH=N-OCH₃. Hasta dos heteroátomos pueden ser consecutivos, por ejemplo, -CH₂-NH-OCH₃. Cuando se usa un prefijo tal como (C₂-C₈) para referirse a un grupo heteroalquilo, se entiende que el número de carbonos (de 2 a 8, en este ejemplo) incluye asimismo los heteroátomos. Por ejemplo, se entiende que un grupo C₂-heteroalquilo incluye, por ejemplo, -CH₂OH (un átomo de carbono y un heteroátomo sustituyendo un átomo de carbono) y -CH₂SH.

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

Según se usa en el presente documento, "arilalquilo" se refiere a un grupo alquil-arilo, en el que el grupo arilalquilo está unido covalentemente a la estructura química definida a través del grupo alquilo. Un ejemplo de un grupo arilalquilo es un grupo bencilo (-CH₂-C₆H₅). Un grupo arilalquilo puede estar opcionalmente sustituido, es decir, el grupo arilo y/o el grupo alquilo pueden estar sustituidos según se divulga en el presente documento.

El término "heteroarilo", según se usa en la presente memoria, se refiere a un anillo de heterociclo aromático con entre 5 y 14 miembros y que tiene al menos un heteroátomo seleccionado de entre nitrógeno, oxígeno y azufre y que contiene al menos 1 átomo de carbono, incluyendo sistemas anulares monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos. Algunos 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, cinolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, pirimidilo, azepinilo, oxepinilo, quinoxalinilo y oxazolilo. Un grupo heteroarilo puede no estar sustituido o estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes según se describe a continuación en el presente documento.

Según se usa en el presente documento, se entiende que el término "heteroátomo" incluye oxígeno (O), nitrógeno (N) y azufre (S).

Según se usa en el presente documento, el término "heterociclo" se refiere a sistemas anulares de entre 3 y 14 miembros que son saturados, insaturados o aromáticos, y que contienen entre 1 y 4 heteroátomos seleccionados independientemente de 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 sistemas anulares monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos. Los sistemas anulares bicíclicos y tricíclicos pueden englobar 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, donde sea químicamente aceptable. Algunos heterociclos incluyen los heteroarilos como se han definido anteriormente. Algunos ejemplos representativos de heterociclos incluyen, pero sin limitación, aziridinilo, oxiranilo, tiiranilo, triazolilo, tetrazolilo, azirinilo, diaziridinilo, diazirinilo, oxaziridinilo, azetidinoilo, azetidinoilo, oxetanoilo, tietanilo, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, pirrolilo, oxazinilo, tiazinilo, diazinilo, dioxanilo, triazinilo, tetrazinilo, imidazolilo, tetrazolilo, pirrolidinilo, isoxazolilo, furanilo, furazanilo, piridinilo, oxazolilo, benzoxazolilo, benzoisoxazolilo, tiazolilo, benzotiazolilo, tienilo, pirazolilo, triazolilo, pirimidinilo, bencimidazolilo, isoindolilo, indazolilo, benzodiazolilo, benzotriazolilo, benzoxazolilo, benzoisoxazolilo, purinilo, indolilo, isoquinolinilo, quinolinilo y quinazolinilo. Un grupo heterociclo puede no estar sustituido o estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes según se describe a continuación en el presente documento.

El término "heterocicloalquilo," por sí mismo o junto con otros términos, representa, a menos que se indique de otro modo, versiones cíclicas de "heteroalquilo." Además, un heteroátomo puede ocupar la posición en la que el heterociclo está unido al resto de la molécula. Algunos 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.

El término "hidroxialquilo," según se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo que tiene el número indicado de átomos de carbono en el que uno o más de los átomos de hidrógeno del grupo alquilo está sustituido por un grupo -OH. Algunos ejemplos de grupos hidroxialquilo incluyen, pero sin limitación, -C₂OH, -CH₂CH₂OH, -CH₂CH₂CH₂OH, -CH₂CH₂CH₂CH₂OH, -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂OH, -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂OH y versiones ramificadas de los mismos.

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

Según se usa en el presente documento, N-óxido, u óxido de amina, se refiere a un compuesto derivado de una amina terciaria mediante 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.

Según se usa en la presente memoria y a menos que se indique de otro modo, el término "estereoisómero" significa un estereoisómero de un compuesto que está sustancialmente exento de otros estereoisómeros de ese compuesto. Por ejemplo, un compuesto estereoquímicamente puro que tiene un centro quiral estará sustancialmente exento del enantiómero opuesto del compuesto. Un compuesto estereoquímicamente puro que tiene dos centros quirales centers estará sustancialmente exento de los otros diastereoisómeros del compuesto. En algunas formas de realización, un compuesto estereoquímicamente puro comprende más de aproximadamente el 80 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 20 % en peso de los 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.

Según se usa en el presente documento, "proteína" se usa de forma sinónima con "péptido", "polipéptido" o "fragmento de péptido". Un polipéptido, una proteína, un péptido o un fragmento de péptido "purificado" está sustancialmente exento de material celular o de otras proteínas contaminantes de la célula, del tejido o de la fuente no celular a partir de la cual se obtiene la secuencia de aminoácidos, o sustancialmente exento de precursores químicos o de otros productos químicos cuando es sintetizado químicamente.

Según se usa en el presente documento, se entiende que "modular" se refiere a un aumento o a una disminución en los niveles de un péptido o de un polipéptido, o a un aumento o a una disminución en la estabilidad o en la actividad de un péptido o de un polipéptido. Se entiende que el término "inhibir" se refiere a una disminución en los niveles de un péptido o de un polipéptido o a una disminución en la estabilidad o en la actividad de un péptido o de un polipéptido. En las formas de realización preferidas, el péptido que está modulado o inhibido es el S-nitrosoglutatión (GSNO) o S-n trosotioles proteicos (SNO).

Según se usan aquí, los términos "óxido nítrico" y "NO" engloban especies de óxido nítrico sin carga y de óxido nítrico cargado, incluyendo particularmente el ión nitrosonio (NO⁺) y el ión nitroxilo (NO⁻). La forma reactiva del óxido nítrico puede ser proporcionada por el óxido nítrico gaseoso. Los compuestos tienen la estructura X-NO_y en la que X es una fracción que libera, proporciona o transfiere óxido nítrico, incluyendo cualquiera y todos aquellos compuestos que proporcionan óxido nítrico en su sitio previsto de acción en una forma activa para su uso previsto, e Y es 1 o 2.

Según se utiliza en el presente documento, el término "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia legislativa de un gobierno federal o estatal, o recogido en la Farmacopea de EE.UU. o en otra Farmacopea reconocida generalmente, para su uso en animales y, más particularmente, en seres humanos. El término "vehículo"

se refiere a un diluyente, un adyuvante, un excipiente o un vehículo con el que se administra el producto terapéutico e incluye, pero sin limitación, líquidos estériles tales como agua y aceites.

5 Una "sal farmacéuticamente aceptable" o "sal" de un compuesto de la invención es un producto del compuesto divulgado que contiene un enlace iónico, y se produce normalmente haciendo reaccionar el compuesto divulgado con un ácido o con una base, adecuados para ser administrados a un sujeto. Una sal farmacéuticamente aceptable puede incluir, pero sin limitación, sales de adición ácida, incluyendo clorhidratos, fosfatos, sulfatos, hidrogenosulfatos, alquilsulfonatos, arilsulfonatos, arilalquilsulfonatos, acetatos, benzoatos, citratos, maleatos, fumaratos, succinatos, lactatos y tartratos; cationes de metales alcalinos tales como Li, Na y K, sales de metales alcalinotérreos tales como Mg o Ca, o sales de aminas orgánicas.

15 Una "composición farmacéutica" es una formulación que comprende los compuestos divulgados 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. Algunos ejemplos de vías de administración incluyen, pero sin limitación, oral y parenteral, por ejemplo, la administración intravenosa, intradérmica, subcutánea, por inhalación, tópica, transdérmica, transmucosal y rectal.

20 El término "sustituido", según se usa en el presente documento, significa que uno cualquiera o más hidrógenos del átomo designado están sustituidos por una selección de entre el grupo indicado, con la condición de que no se supere la valencia normal del átomo indicado y de que la sustitución dé como resultado un compuesto estable. Cuando un sustituyente es ceto (es decir, =O), entonces están sustituidos 2 hidrógenos del átomo. Los dobles enlaces del anillo, según se usa en la presente memoria, son dobles enlaces que se forman entre dos átomos adyacentes del anillo (por ejemplo, C=C, C=N o N=N).

25 Los sustituyentes de los grupos denominados alquilo, heteroalquilo, alquileo, alqueno, alquino, cicloalquilo, heterocicloalquilo, cicloalqueno y heterocicloalqueno pueden seleccionarse de entre diversos grupos que incluyen -OR^d, =O, =NR^d, =N-OR^d, -NR^dR^{dm}, -SR^d, -halo, -SiR^dR^{dm}R^{dmm}, -OC(O)R^d, -C(O)R^d, -CO₂R^d, -CONR^dR^{dm}, -OC(O)NR^dR^{dm}, -NR^dC(O)R^d, -NR^{dmm}C(O)NR^dR^{dm}, -NR^{dmm}SO₂NR^dR^{dm}, -NR^dCO₂R^d, -NHC(NH₂)=NH, -NR^{at}C(NH₂)=NH, -NHC(NH₂)=NR^d, -S(O)R^d, -SO₂R^d, -SO₂NR^dR^{dm}, -NR^dSO₂R^d, -CN y -NO₂, en un número que varía entre cero y tres, siendo ilustrativos aquellos grupos que tienen cero, uno o dos sustituyentes.

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

35 Normalmente, un grupo n alquilo o heteroalquilo tendrá entre cero y tres sustituyentes, siendo ilustrativos de la presente invención aquellos grupos que tienen dos o menos sustituyentes. Un radical alquilo o un radical heteroalquilo puede no estar sustituido o estar monosustituido. En algunas formas de realización, un radical alquilo o heteroalquilo no estará sustituido.

40 Algunos ejemplos de sustituyentes para los radicales alquilo y heteroalquilo incluyen, pero sin limitación -OR^d, =O, =NR^d, =N-OR^d, -NR^dR^{dm}, -SR^d, -halo, -SiR^dR^{dm}R^{dmm}, -OC(O)R^d, -C(O)R^d, -CO₂R^d, -CONR^dR^{dm}, -OC(O)NR^dR^{dm}, -NR^dC(O)R^d, -NR^{dmm}C(O)NR^dR^{dm}, -NR^{dmm}SO₂NR^dR^{dm}, -NR^dCO₂R^d, -NHC(NH₂)=NH, -NR^{at}C(NH₂)=NH, -NHC(NH₂)=NR^d, -S(O)R^d, -SO₂R^d, -SO₂NR^dR^{dm}, -NR^dSO₂R^d, -CN y -NO₂, en los que R^d, R^{dm} y R^{dmm} son como se han definido anteriormente. Algunos sustituyentes típicos puede seleccionarse de entre: -OR^d, =O, -NR^dR^{dm}, -halo, -OC(O)R^d, -CO₂R^d, -C(O)NR^dR^{dm}, -OC(O)NR^dR^{dm}, -NR^dC(O)R^d, -NR^dCO₂R^d, -NR^{dmm}SO₂NR^dR^{dm}, -SO₂R^d, -SO₂NR^dR^{dm}, -NR^dSO₂R^d, -CN y -NO₂.

45 De forma similar, los sustituyentes de los grupos arilo y heteroarilo son diversos y se seleccionan de entre: -halo, -OR^e, -OC(O)R^e, -NR^eR^{em}, -SR^e, -R^e, -CN, -NO₂, -CO₂R^e, -C(O)NR^eR^{em}, -C(O)R^e, -OC(O)NR^eR^{em}, -NR^eC(O)R^e, -NR^eCO₂R^e, -NR^eC(O)NR^eR^{em}, -NR^eSO₂NR^eR^{em}, -NHC(NH₂)=NH, -NR^eC(NH₂)=NH, -NH-C(NH₂)=NR^e, -S(O)R^e, -SO₂R^e, -SO₂NR^eR^{em}, -NR^eSO₂R^e, -N₃, -CH(Ph)₂, perfluoroalcoxi y perfluoroalquilo (C₁-C₄), en un número que varía desde cero hasta el número total de valencias abiertas del sistema anular aromático.

50 R^e, R^{em} y R^{em} se seleccionan independientemente de entre hidrógeno, alquilo (C₁-C₈) no sustituido, heteroalquilo (C₁-C₈) no sustituido, arilo no sustituido, heteroarilo no sustituido, arilalquilo (C₁-C₄) no sustituido y ariloxialquilo (C₁-C₄) no sustituido. Normalmente, un grupo arilo o heteroarilo tendrá entre cero y tres sustituyentes, siendo ilustrativos en la presente invención aquellos grupos que tienen dos o menos sustituyentes. En una forma de realización de la invención, un grupo arilo o heteroarilo no estará sustituido o estará monosustituido. En otra forma de realización, un grupo arilo o heteroarilo no estará sustituido.

55 Dos de los sustituyentes de átomos adyacentes de un anillo de arilo o de heteroarilo en un grupo arilo o heteroarilo según se describe en el presente documento pueden estar opcionalmente sustituidos con un sustituyente de la fórmula -T-C(O)-(CH₂)_q-U-, en la que T y U son independientemente -NH-, -O-, -CH₂- o un enlace sencillo y q es un

número entero de 0 a 2. Como alternativa, dos de los sustituyentes de átomos adyacentes del anillo de arilo o de heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos con un sustituyente de la fórmula $-J-(CH_2)_r-K-$, en la que 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 estar opcionalmente sustituido por un doble enlace. Como alternativa, dos de los sustituyentes de átomos adyacentes del anillo de arilo o de heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos con un sustituyente de la fórmula $-(CH_2)_s-X-(CH_2)_t-$, en la que s y t son independientemente números enteros de 0 a 3 y X es $-O-$, $-NR^f-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$ o $-S(O)_2NR^{af}-$. El sustituyente R^f de $-NR^f-$ y $-S(O)_2NR^f-$ se selecciona de entre hidrógeno o alquilo (C_1-C_6) no sustituido.

Se entiende que "compuesto estable" y "estructura estable" indican un compuesto que es lo suficientemente robusto para sobrevivir al aislamiento hasta un grado útil de pureza a partir de una mezcla de reacción y para su formulación en un agente terapéutico eficaz.

Según se usa en la presente memoria, el término "cantidad terapéuticamente eficaz" significa generalmente la cantidad necesaria para mejorar al menos un síntoma de un trastorno que se va a prevenir, reducir o tratar según se describe en el presente documento. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", dado que se refiere a los inhibidores de la GSNOR de la presente invención, debe significar la dosis del inhibidor de la GSNOR que proporciona la respuesta farmacológica específica para la cual se administra el inhibidor de la GSNOR en un número significativo de sujetos en necesidad de dicho tratamiento. Se enfatiza que una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de la GSNOR que es administrado a un sujeto en particular en un caso en particular no será siempre eficaz en el tratamiento de las afecciones / enfermedades descritas en el presente documento, incluso aunque los expertos en la técnica consideren que dicha dosis es una cantidad terapéuticamente eficaz.

El término "muestra biológica" incluye, pero sin limitación, muestras de sangre (por ejemplo, de suero, de plasma o de sangre completa), de orina, de saliva, de sudor, de leche materna, de secreciones vaginales, de semen, de folículos pilosos, de piel, de dientes, de huesos, de uñas o de otras secreciones, de fluidos corporales, de tejidos o de células. De acuerdo con la invención, los niveles de la GSNOR en la muestra biológica pueden ser determinados mediante los métodos descritos en la Publicación de la Solicitud de Patente de EE.UU. Nº 2005/0014697.

D. Composiciones farmacéuticas

La invención engloba composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de la invención descrito en el presente documento y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. Algunos vehículos adecuados se describen en "Remington: The Science and Practice, Twentieth Edition," publicado por Lippincott Williams & Wilkins. Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención también pueden comprender uno o más agentes activos de compuestos no inventivos.

Las composiciones farmacéuticas según se describen en el presente documento pueden comprender los nuevos compuestos descritos en el presente documento, las composiciones farmacéuticas pueden comprender compuestos conocidos de los que previamente no se sabía que tenían una actividad inhibidora de la GSNOR, o una combinación de los mismos.

Los compuestos de la invención pueden ser utilizados en cualquier forma de dosificación farmacéuticamente aceptable, incluyendo, pero sin limitación, formas de dosificación inyectables, dispersiones líquidas, geles, aerosoles, ungüentos, cremas, formulaciones liofilizadas, polvos secos, comprimidos, cápsulas, formulaciones de liberación controlada, formulaciones de fusión rápida, formulaciones de liberación retardada, formulaciones de liberación prolongada, formulaciones de liberación pulsátil, formulaciones mixtas de liberación inmediata y controlada, etc. Específicamente, los compuestos de la invención descritos en el presente documento pueden formularse: (a) para una administración seleccionada de entre el grupo que consiste en una administración por vía oral, pulmonar, intravenosa, intraarterial, intratecal, intraarticular, rectal, oftálmica, colónica, parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, local, bucal, nasal y tópica; (b) en una forma de dosificación seleccionada de entre el grupo que consiste en dispersiones líquidas, geles, aerosoles, ungüentos, cremas, comprimidos, sobrecillos y cápsulas; (c) en una forma de dosificación seleccionada de entre el grupo que consiste en formulaciones liofilizadas, polvos secos, formulaciones de fusión rápida, formulaciones de liberación controlada, formulaciones de liberación retardada, formulaciones de liberación prolongada, formulaciones de liberación pulsátil, formulaciones mixtas de liberación inmediata y controlada; o (d) cualquier combinación de las mismas.

Para las infecciones respiratorias puede usarse una formulación por inhalación para conseguir unas elevadas concentraciones locales. Las formulaciones adecuadas para su inhalación incluyen polvos secos o aerosolizados o soluciones, dispersiones o suspensiones vaporizadas susceptibles de ser dispensadas mediante un inhalador o un nebulizador en la cavidad endobronquial o nasal de los pacientes infectados para el tratamiento de las infecciones bacterianas del tracto respiratorio superior e inferior.

Las soluciones o las suspensiones usadas para su aplicación parenteral, intradérmica o subcutánea pueden comprender uno o más de los siguientes componentes: (1) un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, 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 con bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. Una preparación parenteral puede estar contenida en ampollas, en jeringas desechables o en viales de dosis múltiples hechos de vidrio o de plástico.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para su uso inyectable pueden comprender soluciones o dispersiones acuosas estériles (cuando sean solubles en agua) y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o de dispersiones inyectables estériles. Para la administración intravenosa, algunos vehículos adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremophor EL (BASF, Parsippany, N.J.), o solución salina tamponada con fosfato (PBS). En todos los casos, la composición debe ser estéril y debe ser fluida hasta el punto de que exista una fácil jeringabilidad. La composición farmacéutica debe ser estable en las condiciones de elaboración y de almacenamiento, y debe preservarse frente a la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos.

El vehículo puede ser un disolvente o un medio de dispersión que comprende, por ejemplo, agua, etanol, un poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares) y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de una dispersión, y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de 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 en la composición agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol o sorbitol, y sales inorgánicas tales como cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede conseguirse mediante la inclusión en la composición de un agente que retarde la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles pueden ser preparadas mediante la incorporación del reactivo activo en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de los ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de una esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan mediante la incorporación de al menos un compuesto de la invención en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y cualquier otro ingrediente requerido. En el caso de los polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, algunos métodos a modo de ejemplo de preparación incluyen secado a vacío y liofilización, produciendo ambos un polvo de un compuesto de la invención más cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una solución previamente filtrada estéril de los mismos.

Las composiciones orales incluyen generalmente un diluyente inerte o un vehículo comestible. Pueden estar incluidas, por ejemplo, en cápsulas de gelatina, o comprimidas en comprimidos. Con el fin de una administración terapéutica oral, el compuesto de la invención puede ser incorporado con excipientes y usado en forma de comprimidos, de tabletas o de cápsulas. Las composiciones orales también pueden prepararse mediante el uso de un vehículo fluido para su uso como un enjuague bucal, en el que el compuesto del vehículo fluido se aplica por vía oral y se enjuaga y se expectora o se ingiere. Como parte de la composición pueden incluirse agentes ligantes y/o materiales adyuvantes farmacéuticamente compatibles.

Para una administración mediante inhalación, los compuestos son administrados en forma de un nebulizador de aerosol desde un recipiente presurizado o un dispensador que contiene un propulsor adecuado, por ejemplo, un gas tal como dióxido de carbono, un líquido nebulizado o un polvo seco desde un dispositivo adecuado. Para una administración transmucosal o transdérmica, en la formulación se usan unos penetrantes apropiados para la barrera que va ser atravesada. Dichos penetrantes son conocidos generalmente en la técnica, e incluyen, por ejemplo, para una administración transmucosal, detergentes, sales biliares y derivados del ácido fusídico. La administración transmucosal puede llevarse a cabo mediante el uso de aerosoles nasales o de supositorios. Para la administración transdérmica, los reactivos activos se formulan en ungüentos, bálsamos, geles o cremas, como se sabe de forma general en la técnica. Los reactivos también pueden prepararse en forma de supositorios (por ejemplo, con bases para supositorios convencionales tales como manteca de cacao y otros glicéridos) o enemas de retención para su administración rectal.

En una forma de realización, los compuestos de la invención se preparan con vehículos que los protegerán frente a una rápida eliminación desde el cuerpo. Por ejemplo, puede usarse una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de administración microencapsulados. Pueden usarse polímeros biodegradables biocompatibles, tales como etilenoacetato de vinilo, polianhidridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de dichas formulaciones serán evidentes para los expertos en la técnica.

También pueden usarse suspensiones liposómicas (incluyendo liposomas dirigidos a las células infectadas con anticuerpos monoclonales contra los antígenos víricos) como vehículos farmacéuticamente aceptables. Éstos pueden prepararse de acuerdo con los métodos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, según se

describe en la Patente de EE.UU. N° 4.522.811.

Además, pueden prepararse suspensiones de los compuestos de la invención en forma de suspensiones para inyección oleosas apropiadas. Algunos 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. Para la administración también pueden usarse aminopolímeros policatiónicos no lipídicos. Opcionalmente, la suspensión también puede incluir estabilizantes 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 una forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosis. La forma de dosificación unitaria, según se usa en la presente memoria, se refiere a unidades físicamente individuales adecuadas como dosis unitarias para el sujeto que se va a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada del compuesto de la invención calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación de las formas de dosificación unitarias de la invención estará dictada por, y será directamente dependiente de, las características únicas del compuesto de la invención y del efecto terapéutico en particular que se va a conseguir y de las limitaciones inherentes a la técnica de la combinación de dicho agente activo para el tratamiento de individuos.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención que comprenden al menos un compuesto de la invención pueden comprender uno o más excipientes farmacéuticos. Algunos ejemplos de dichos excipientes incluyen, pero sin limitación, agentes ligantes, agentes de relleno, agentes lubricantes, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, conservantes, tampones, agentes humectantes, disgregantes, agentes efervescentes y otros excipientes. Dichos excipientes son conocidos en la técnica. Algunos ejemplos de excipientes incluyen: (1) agentes ligantes que incluyen diversas celulosas y polivinilpirrolidona reticulada, celulosa microcristalina, tal como Avicel® PH101 y Avicel® PH102, celulosa microcristalina silicificada (ProSolv SMCC™), goma de tragacanto y gelatina; (2) agentes de relleno tales como diversos almidones, lactosa, lactosa monohidratada 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, glucolato sódico de almidón y mezclas de los mismos; (4) lubricantes, incluyendo agentes que actúan sobre la fluidez de un polvo para ser comprimido, incluyen estearato de magnesio, dióxido de silicio coloidal, tal como Aerosil® 200, talco, ácido esteárico, estearato de calcio y gel de sílice; (5) deslizantes, 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 bencilico, compuestos fenólicos tales como fenol, o compuestos cuaternarios tales como cloruro de benzalconio; (7) diluyentes tales como rellenos inertes farmacéuticamente aceptables, tales como celulosa microcristalina, lactosa, fosfato de calcio dibásico, sacáridos y/o mezclas de cualquiera de los anteriores; algunos ejemplos de diluyentes incluyen celulosa microcristalina, tal como Avicel® PH101 y Avicel® PH102; lactosa tal como lactosa monohidratada, 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, sacarina, xilitol, sacarina de sodio, ciclamato, aspartamo y acesulfamo; (9) agentes saborizantes, tales como menta, salicilato de metilo, aroma de naranja, Magnasweet® (marca registrada de MAFCO), sabor a chicle, sabor a frutas y similares; y (10) agentes efervescentes, incluyendo pares efervescentes tales como un ácido orgánico y un carbonato o un bicarbonato. Algunos ácidos orgánicos adecuados incluyen, por ejemplo, ácido cítrico, tartárico, málico, fumárico, adípico, succínico y alginico, y anhídridos y sales ácidas. Algunos carbonatos y bicarbonatos adecuados incluyen, por ejemplo, carbonato de sodio, bicarbonato de sodio, carbonato de potasio, bicarbonato de potasio, carbonato de magnesio, glicincarbonato de sodio, carbonato de L-lisina y carbonato de arginina. Como alternativa, únicamente puede estar presente el componente de bicarbonato de sodio del par efervescente.

E. Kits que comprenden las composiciones de la invención

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

F. Métodos de preparación de los compuestos de la invención

Los compuestos de la invención pueden ser sintetizados fácilmente mediante el uso de las metodologías sintéticas conocidas o a través de una modificación de las metodologías sintéticas conocidas. Como reconocerá fácilmente el artesano experto, las metodologías descritas a continuación permiten la síntesis de análogos con diversos sustituyentes. Algunos métodos de síntesis a modo de ejemplo se describen en la siguiente sección de Ejemplos.

Si fuera necesario, puede conseguirse una purificación y una separación adicional de los enantiómeros y los diastereómeros mediante procedimientos rutinarios conocidos en la técnica. Por lo tanto, por ejemplo, la separación de los enantiómeros de un compuesto puede conseguirse mediante el uso de una HPLC quiral y de técnicas cromatográficas relacionadas. Los diastereómeros pueden ser separados de una forma similar. Sin embargo, en algunos casos, los diastereómeros pueden ser separados simplemente físicamente, tal como, por ejemplo, mediante una precipitación o una cristalización controladas.

Cuando el proceso según se describe en el presente documento se lleva a cabo según se prescribe en el presente documento, puede llevarse a cabo convenientemente a unas temperaturas que son accesibles rutinariamente en la técnica. Por ejemplo, el proceso puede llevarse a cabo a una temperatura en el intervalo de desde aproximadamente 25 °C hasta aproximadamente 110 °C. Por ejemplo, la temperatura puede estar en el intervalo de desde aproximadamente 40 °C hasta aproximadamente 100 °C. Por ejemplo, la temperatura puede estar en el intervalo de desde aproximadamente 50 °C hasta aproximadamente 95 °C.

Las etapas sintéticas que requieren una base se llevan a cabo mediante el uso de cualquier base orgánica o inorgánica conveniente. Normalmente, la base no es nucleófila. Por lo tanto, la base puede ser seleccionada de entre carbonatos, fosfatos, hidróxidos, alcóxidos, sales de disilazanos y aminas terciarias.

Cuando el proceso descrito en el presente documento se lleva a cabo según se describe en el presente documento, puede estar sustancialmente completado después de entre varios minutos y varias horas, dependiendo de la naturaleza y de la cantidad de los reactivos y de la temperatura de reacción. La determinación de cuándo está sustancialmente completa la reacción puede evaluarse convenientemente mediante técnicas rutinarias 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 para la prevención o el tratamiento (por ejemplo, para aliviar uno o más de los síntomas de) afecciones médicas mediante el uso de uno o más de los compuestos divulgados. Los métodos comprenden la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención a un paciente que la necesita. El método puede usarse para una terapia profiláctica.

El compuesto usado en los métodos de tratamiento descritos en el presente documento puede ser: (1) un nuevo compuesto descrito en el presente documento, o una sal del mismo, un profármaco del mismo, un metabolito del mismo o un estereoisómero del mismo farmacéuticamente aceptable; (2) un compuesto que era conocido antes de la presente invención, pero que no se sabía que el compuesto era un inhibidor de la GSNOR, o una sal del mismo, un profármaco del mismo, un metabolito del mismo o un estereoisómero del mismo farmacéuticamente aceptable; o (3) un compuesto que era conocido antes de la presente invención y que se sabía que el compuesto era un inhibidor de la GSNOR, pero que no se sabía que el compuesto era útil para los métodos de tratamiento descritos en el presente documento, o una sal del mismo, un profármaco del mismo, un metabolito del mismo o un estereoisómero del mismo farmacéuticamente aceptable.

El paciente puede ser cualquier animal, doméstico, de ganado o salvaje, incluyendo, pero sin limitación, gatos, perros, caballos, cerdos y vacas, y preferentemente pacientes humanos. Según se usa en el presente documento, los términos paciente y sujeto pueden usarse de forma intercambiable.

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

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

H. Usos de la GSNOR

En los sujetos con unos elevados niveles perjudiciales de la GSNOR o de actividad de la GSNOR, la modulación puede conseguirse, por ejemplo, mediante la administración de uno o más de los compuestos divulgados que desestabilizan o regulan por disminución la función de la GSNOR, o disminuyen los niveles de la GSNOR. Estos compuestos pueden ser administrados con otros agentes inhibidores de la GSNOR, tales como anticuerpos o fragmentos de anticuerpos anti-GSNOR, GSNOR antisentido, ARNi o moléculas pequeñas, u otros inhibidores, solos o junto con otros agentes según se describe con detalle en el presente documento.

En el presente documento también se describe un método para el tratamiento de un sujeto que padece un trastorno mejorado por una terapia donante de NO. Dicho método comprende la administración a un sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de la GSNOR.

5 Los trastornos pueden incluir trastornos pulmonares relacionados con una hipoxemia y/o con una constricción del músculo liso de los pulmones y de las vías aéreas y/o con una infección pulmonar y/o con una inflamación pulmonar y/o con una lesión pulmonar (por ejemplo, hipertensión pulmonar, ARDS, asma, neumonía, fibrosis pulmonar / enfermedades pulmonares intersticiales, fibrosis quística, EPOC); una enfermedad cardiovascular y una enfermedad cardíaca (por ejemplo, hipertensión, síndromes coronarios isquémicos, aterosclerosis, insuficiencia cardíaca, glaucoma); enfermedades caracterizadas por una angiogénesis (por ejemplo, enfermedad arterial coronaria); trastornos en los que hay riesgo de que se produzca una trombosis; trastorno en los que hay riesgo de que se produzca una reestenosis; enfermedades inflamatorias (por ejemplo, demencia relacionada con el SIDA, enfermedad inflamatoria del intestino (EII), enfermedad de Crohn, colitis y psoriasis); trastornos funcionales del intestino (por ejemplo, síndrome del intestino irritable (IBS)); enfermedades en las que hay riesgo de que se produzca una apoptosis (por ejemplo, insuficiencia cardíaca, aterosclerosis, trastornos neurológicos degenerativos, artritis y lesiones hepáticas (isquémicas o alcohólicas)); impotencia; apnea del sueño; curación de heridas en diabéticos; infecciones cutáneas; tratamiento de la psoriasis; obesidad causada por una hiperfagia en respuesta a una ansiedad por la comida; apoplejía; lesiones por reperfusión (por ejemplo, lesiones musculares traumáticas en el corazón o en el pulmón, o lesiones por aplastamiento); y trastornos en los que es beneficioso un preacondicionamiento del corazón o del cerebro para una protección del NO frente a posteriores eventos isquémicos, trastornos del sistema nervioso central (SNC) (por ejemplo, ansiedad, depresión, psicosis y esquizofrenia); e infecciones causadas por bacterias (por ejemplo, tuberculosis, infecciones por *C. difficile*, entre otras).

25 Los compuestos de la presente invención o una sal de los mismos, o un profármaco, un estereoisómero o un metabolito de los mismos farmacéuticamente aceptable, pueden ser administrados junto con un donante de NO. Un donante de NO dona óxido nítrico o especies redox relacionadas, y de forma más general proporciona bioactividad de óxido nítrico, esto es, una actividad que se identifica con la del óxido nítrico, por ejemplo, una vasorrelajación o una estimulación o una inhibición de una proteína de un receptor, por ejemplo, una proteína ras, un receptor adrenérgico, NFκB. Los donantes de NO, que incluyen los compuestos S-nitroso, O-nitroso, C-nitroso y N-nitroso y los derivados nitro de los mismos y los complejos metálicos de NO, pero sin excluir otros compuestos generadores de bioactividad de NO, útiles en el presente documento, se describen en "Methods in Nitric Oxide Research," Feelisch et al. eds., páginas 71 - 115 (J. S., John Wiley & Sons, Nueva York, 1996). Los donantes 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 los descritos en la Patente de EE.UU. Nº 6.359.182 y en el documento WO 02/34705. Algunos ejemplos de compuestos S-nitroso, incluyendo S-nitrosotioles útiles en el presente documento, incluyen, por ejemplo, S-nitrosoglutatión, S-nitroso-N-acetilpenicilamina, S-nitroso-cisteína y éster de etilo 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. Algunos ejemplos de otros donantes de NO útiles en el presente documento son nitroprusiato de sodio (niprida), nitrito de etilo, isosorbida, nitroglicerina, SIN 1 que es molsidomina, furoxaminas, N-hidroxi (N-nitrosamina) y perfluorocarbonos que han sido saturados con NO o con un donante de NO hidrófobo.

45 La combinación de un inhibidor de la GSNOR de acuerdo con la presente invención, con el enantiómero R(+) de amlodipino, un conocido liberador de NO (Zhang et al., J. Cardiovasc. Pharm. 39: 208 - 214 (2002)), también es una forma de realización de la presente invención.

50 En el presente documento también se describe un método para el tratamiento de un sujeto que padece una proliferación patológica de células, en el que el método comprende la administración a dicho sujeto de 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 de los mismos, o un profármaco o un metabolito o un estereoisómero de los mismos farmacéuticamente aceptable, junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable. El tratamiento se continúa siempre que mejoren los síntomas y/o la patología.

55 La proliferación patológica de las células puede ser una proliferación patológica de microbios. Los microbios implicados pueden ser aquellos en los que la GSNOR es expresada para proteger al microbio del estrés nitrosante o cuando una célula hospedadora infectada por el microbio expresa la enzima, protegiendo así al microbio del estrés nitrosante. El término "proliferación patológica de microbios" se usa en el presente documento para referirse a microorganismos patógenos que incluyen, pero sin limitación, bacterias patógenas, virus patógenos, Chlamydia patógena, protozoos patógenos, Rickettsia patógena, hongos patógenos y mycoplasmas patógenos. Un mayor detalle sobre los microbios pertinentes se establece en las columnas 11 y 12 de la Patente de EE.UU. Nº 6.057.367. El término "células hospedadoras infectadas por microbios patógenos" incluye no sólo las células de mamífero infectadas por virus patógenos, 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).

65

La proliferación patológica de las células puede ser una proliferación patológica de helmintos. El término "helmintos patológicos" se usa en el presente documento para referirse a los nematodos patógenos, a los trematodos patógenos y a los cestodos patógenos. Un mayor detalle sobre los helmintos pertinentes se establece en la columna 12 de la Patente de EE.UU. N° 6.057.367.

5 La proliferación patológica de las células puede ser una proliferación patológica de células de mamífero. El término "proliferación patológica de células de mamífero" según se usa en el presente documento significa las células de mamífero que crecen en tamaño o en número en dicho mamífero hasta que provocan un efecto perjudicial en el mamífero o en sus órganos. El término incluye, por ejemplo, la proliferación o el aumento patológico de las células
10 que provoca una reestenosis, la proliferación o el aumento patológico de las células que provoca una hiperplasia prostática benigna, la proliferación patológica de las células que provoca una hipertrofia miocárdica y la proliferación de células en sitios inflamatorios tales como de células sinoviales en la artritis o de las células relacionadas con un trastorno de proliferación celular.

15 Según se usa en el presente documento, el término "trastorno de proliferación celular" se refiere a afecciones en las que el crecimiento de las células no regulado y/o anormal puede conducir al desarrollo de una afección o de una enfermedad no deseada, que puede ser cancerosa o no cancerosa, por ejemplo, una afección psoriática. Según se usa en el presente documento, el término "afección psoriática" se refiere a trastornos que implican una hiperproliferación de los queratinocitos, una infiltración de las células inflamatorias y una alteración en las citocinas.
20 El trastorno de proliferación celular puede ser una afección precancerosa o un cáncer. El cáncer puede ser un cáncer primario o un cáncer metastásico, o ambos.

Según se usa en el presente documento, el término "cáncer" incluye tumores sólidos, tales como de pulmón, de mama, de colon, de ovario, de páncreas, de próstata, adenocarcinoma, carcinoma escamoso, sarcoma, glioma
25 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, leucemias y linfomas infantiles, mieloma múltiple, enfermedad de Hodgkin, linfomas de origen linfocítico y cutáneo, leucemia aguda y crónica, tal como leucemia linfoblástica aguda, mielocítica aguda o mielocítica crónica, neoplasmas de las células plasmáticas, neoplasmas linfoides y cánceres relacionados con el SIDA.

30 Además de las afecciones psoriáticas, los tipos de enfermedades proliferativas que pueden ser tratadas mediante el uso de las composiciones de la presente invención son quistes epidérmicos y dermoides, lipomas, adenomas, hemangiomas capilares y cutáneos, linfangiomas, lesiones de nevi, teratomas, nefromas, miofibromatosis, tumores osteoplásicos y otras masas displásicas, y similares. Las enfermedades proliferativas pueden incluir displasias y
35 trastornos similares.

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

El tratamiento de un trastorno de proliferación celular según se describe en el presente documento puede comprender una reducción en la velocidad de proliferación celular, una reducción en la proporción de células en
45 proliferación, una disminución en el tamaño de un área o de una zona de proliferación celular o una disminución en el número o en la proporción de células que tienen un aspecto o una morfología anormal, o al menos dos de las anteriores.

Los compuestos de la presente invención o una sal de los mismos, un profármaco de los mismos, un estereoisómero de los mismos o un metabolito de los mismos farmacéuticamente aceptable, pueden ser administrados junto con un
50 segundo agente quimioterapéutico. El segundo agente quimioterapéutico puede seleccionarse de 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, daunomicina, dactinomicina, mitoxantrona, amsacrina, doxorubicina, epirubicina, idarrubicina, imatanib, gefitinib, erlotinib, sorafenib, malato de sunitinib, trastuzumab, rituximab, cetuximab y bevacizumab.

Los compuestos de la presente invención o una sal de los mismos, un profármaco de los mismos, un estereoisómero de los mismos o un metabolito de los mismos farmacéuticamente aceptable, pueden ser administrados junto con un
60 agente que imponga un estrés nitrosante u oxidante. Algunos agentes para imponer selectivamente un estrés nitrosante para inhibir la proliferación de células en proliferación patológica en una terapia de combinación con los inhibidores de la GSNOR del presente documento y las dosis y las vías de administración de los mismos, incluyen los divulgados en la Patente de EE.UU. N° 6.057.367. Algunos agentes complementarios para imponer un estrés oxidante (es decir, los agentes que aumentan la proporción entre el GSSG (glutatión oxidado) y el GSH (glutatión) o
65 la proporción entre el NAD(P) y el NAD(P)H o que aumentan los derivados del ácido tiobarbitúrico) en una terapia de combinación con los inhibidores de la GSNOR del presente documento incluyen, por ejemplo, L-butionin-S-

sulfoximina (BSO), inhibidores de la reductasa de glutatión (por ejemplo, BCNU), inhibidores o desacoplantes de la respiración mitocondrial y fármacos que aumentan las especies de oxígeno reactivas (ROS), por ejemplo, adriamicina, en las dosis habituales con las vías de administración habituales.

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

10 Los inhibidores de la GSNOR pueden usarse como un medio para mejorar la señalización β -adrenérgica. En particular, los inhibidores de la GSNOR, solos o junto con agonistas β , podrían usarse para el tratamiento o la protección frente a una insuficiencia cardíaca, o en otros trastornos vasculares tales como hipertensión y asma. Los inhibidores de la GSNOR también pueden usarse para modular los receptores acoplados a proteínas G (GPCR) mediante la potenciación de la proteína G Gs, dando lugar a una relajación del músculo liso (por ejemplo, en las vías aéreas y en los vasos sanguíneos) y mediante una atenuación de la proteína G Gq, impidiendo así la contracción del músculo liso (por ejemplo, en las vías aéreas y en los vasos sanguíneos).

15 La cantidad terapéuticamente eficaz para el tratamiento de un sujeto que padece un trastorno mejorado mediante una terapia donante de NO es la cantidad inhibidora de la GSNOR *in vivo* que provoca una mejora en el trastorno que se está tratando o que protege frente a un riesgo relacionado con el 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 eficaz para mejorar la obstrucción de las vías respiratorias; para el ARDS, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad eficaz para mejorar la hipoxemia; para la enfermedad cardíaca, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad eficaz para aliviar la angina o inducir una angiogénesis; para la hipertensión, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad eficaz para reducir la presión arterial; para los trastornos coronarios isquémicos, una cantidad terapéutica es una cantidad eficaz para aumentar el flujo sanguíneo; para la aterosclerosis, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad eficaz para revertir la disfunción endotelial; para el glaucoma, una cantidad terapéutica es una cantidad eficaz para reducir la presión intraocular; para las enfermedades caracterizadas por una angiogénesis, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad eficaz para inhibir la angiogénesis; para los trastornos en los que existe el riesgo de que se produzca una trombosis, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad eficaz para prevenir una trombosis; para los trastornos en los que existe el riesgo de que se produzca una reestenosis, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad eficaz para inhibir la reestenosis; para las enfermedades inflamatorias crónicas, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad eficaz para reducir la inflamación; para los trastornos en los que existe el riesgo de que se produzca una apoptosis, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad eficaz para prevenir una apoptosis; para la impotencia, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad eficaz para conseguir o mantener una erección; para la obesidad, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad eficaz para provocar saciedad; para la apoplejía, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad eficaz para aumentar el flujo sanguíneo o proteger frente a un TIA; para las lesiones por reperfusión, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad eficaz para aumentar una función; y para el precondicionamiento del corazón y del cerebro, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad eficaz protectora celular, por ejemplo, medida mediante la troponina o la CPK.

20 La cantidad terapéuticamente eficaz para el tratamiento de un sujeto que padece un trastorno de proliferación celular significa una cantidad inhibidora de la GSNOR *in vivo* que es una cantidad antiproliferativa eficaz. Dicha cantidad antiproliferativa eficaz según se usa en el presente documento significa una cantidad que provoca una reducción en la velocidad de proliferación de al menos aproximadamente el 20 %, de al menos aproximadamente el 10 %, de al menos aproximadamente el 5 % o de al menos aproximadamente el 1 %.

50 I. Usos en un aparato

Los compuestos de la presente invención o una sal de los mismos, o un profármaco o un metabolito o un estereoisómero de los mismos farmacéuticamente aceptable, pueden ser aplicados en diversos aparatos en unas circunstancias en las que la presencia de dichos compuestos podría ser beneficiosa. Dicho aparato puede ser cualquier dispositivo o recipiente, por ejemplo, dispositivos implantables en los que puede usarse un compuesto de la invención para recubrir una malla quirúrgica o una endoprótesis cardiovascular antes de su implantación en un paciente. Los compuestos de la invención también pueden ser aplicados en diversos aparatos con fines de ensayos *in vitro* o para el cultivo de células.

60 Los compuestos de la presente invención o una sal de los mismos, o un profármaco, un estereoisómero o un metabolito de los mismos farmacéuticamente aceptable, también pueden usarse como un agente para el desarrollo, el aislamiento o la purificación de compañeros de unión de los compuestos de la invención, tales como anticuerpos, ligandos naturales y similares. Los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente los usos relacionados para los compuestos de la presente invención.

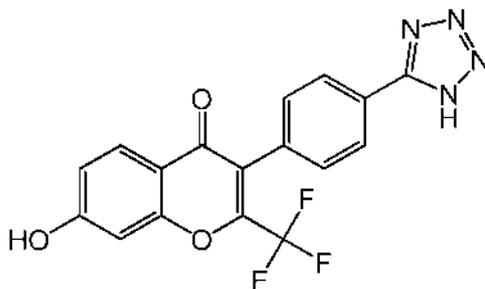
Ejemplos

Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar la presente invención.

- 5 Los Ejemplos 1 - 24 recogen los nuevos análogos representativos de la invención, útiles como inhibidores de la GSNOR. Los métodos de síntesis que pueden usarse para la preparación de cada compuesto se describen en los Ejemplos 1 - 24. Los datos de apoyo de la espectrometría de masas y/o los datos de la RMN de protón también están incluidos en los Ejemplos 1 - 22. Los detalles de síntesis de los intermedios correspondientes se detallan en el

10

Ejemplo 1: 3-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-2-(trifluorometil)-4H-cromen-4-ona



15 **Síntesis: Etapa 1: síntesis de 4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzonitrilo.**

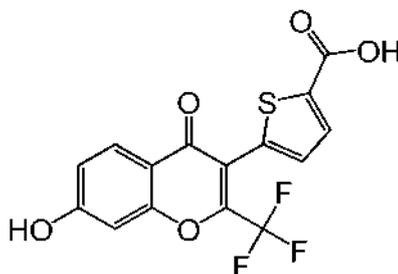
A una solución de 4-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil) benzamida (Intermedio A) (300 mg, 1,08 mmol) y trietilamina (TEA) (0,6 ml, 4,32 mmol) en DCM (6 ml) se añadió gota a gota TFAA (1,2 ml, 8,64 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 2 horas. Después, la mezcla se lavó con una solución 1 N de HCl (5 ml), NaHCO₃ saturado (5 ml) y salmuera (5 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se concentró y se purificó mediante una

20 prep-TLC (PE (éter de petróleo):EtOAc = 3:1) para proporcionar el producto en forma de un aceite de color amarillo (66 mg, 19,5 %). EM (ESI): *m/z* 332,1 [M + 1]⁺.

25 **Etapa 2: síntesis de 3-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-2-(trifluorometil)-4H-cromen-4-ona.** A una solución de 4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzonitrilo (50 mg, 0,15 mmol) en tolueno (2 ml), se añadió TMSN₃ (296 mg, 2,72 mmol) y Bu₂SnO (10 mg, 0,045 mmol) a la temperatura ambiente. La mezcla se puso a reflujo durante una noche. Los volátiles se eliminaron a presión reducida. El residuo se purificó mediante una prep-HPLC para proporcionar el producto deseado del Ejemplo 1 en forma de un polvo de color amarillo (19,4 mg, 34,6 %).

30 **Datos:** RMN ¹H (MeOH-d₄ 500 MHz TMS): 8,12 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 8,02 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,52 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,02 (dd, *J* = 1,5 Hz, *J* = 8,5 Hz, 1H), 6,94 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H); EM (ESI): *m/z* 375,0 [M + 1]⁺.

Ejemplo 2: ácido 5-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)tiofen-2-carboxílico



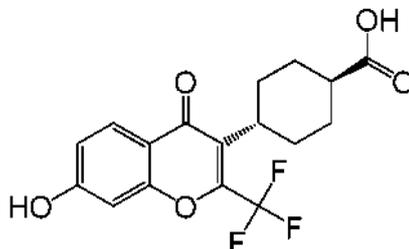
35 **Síntesis: Etapa 1: síntesis del 5-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)tiofen-2-carboxilato de metilo.** Se sigue el procedimiento descrito en la Etapa 1 del Ejemplo 1, partiendo del Intermedio B. EM (ESI): *m/z* 371,0 [M + 1]⁺.

40 **Etapa 2: síntesis del ácido 5-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)tiofen-2-carboxílico.** A una solución de 5-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)tiofen-2-carboxilato de metilo (295 mg, 0,80 mmol) en dioxano (1,5 ml) se añadió HCl concentrado (1,5 ml). La mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 24 horas, se enfrió hasta la temperatura ambiente y se centrifugó. El precipitado se aclaró con agua (2 ml x 2), DCM (2 ml x 2) y se secó a vacío para proporcionar el producto deseado del Ejemplo 2 en forma de un polvo de color gris (216,1 mg,

45 76,3 %).

Datos: RMN ¹H (MeOD-d₄ 500 MHz TMS): 8,04 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,78 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H), 7,13 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 7,04 (dd, *J* = 2,0 Hz, *J* = 8,5 Hz, 1H), 6,96 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); EM (ESI): *m/z* 357,0 [M + 1]⁺.

Ejemplo 3: ácido (trans)-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) ciclohexanocarboxílico

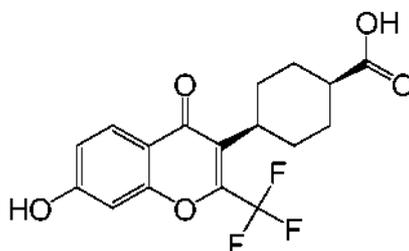


Síntesis: Etapa 1: síntesis del 4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) ciclohexanocarboxilato de etilo. Se siguió el procedimiento descrito en la Etapa 1 del Ejemplo 1, partiendo del Intermedio C en el que el producto en bruto se usó directamente sin preparación ni purificación. EM (ESI): *m/z* 385,1 [M + 1]⁺.

Etapa 2: a una solución de 4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) ciclohexanocarboxilato de etilo (450 mg, 1,1 mmol) en dioxano (3 ml) se añadió HCl concentrado (3 ml). La solución se agitó a 75 °C durante una noche. La mezcla se concentró a vacío para dar un sólido de color amarillo, que se purificó mediante una prep-HPLC para proporcionar el isómero trans puro, el producto deseado del Ejemplo 3 (100 mg, 24 %).

Datos: RMN ¹H (MeOH-d₄ 500 MHz TMS): δ 7,97 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,97 (dd, *J* = 2,0, 8,5 Hz, 1H), 6,84 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 2,71 (t, *J* = 12,0 Hz, 1H), 2,38 - 2,48 (m, 3H), 2,05 - 2,14 (m, 2H), 1,65 - 1,68 (m, 2H), 1,44 - 1,53 (m, 2H); EM (ESI): *m/z* 357,0 [M + 1]⁺.

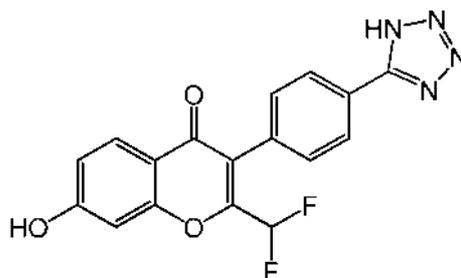
Ejemplo 4: ácido (cis)-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) ciclohexanocarboxílico



Síntesis: véase el Ejemplo 3 para los detalles. La prep-HPLC dio 64 mg, un 15,3 % del isómero cis puro, el producto deseado del Ejemplo 4.

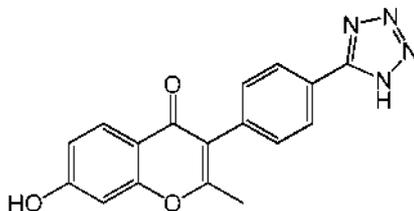
Datos: RMN ¹H (MeOH-d₄ 500 MHz TMS): δ 7,93 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,95 (dd, *J* = 2,5, 9,0 Hz, 1H), 6,83 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 2,77 - 2,71 (m, 2H), 2,50 - 2,58 (m, 2H), 2,33 (s, 2H), 1,55 - 1,62 (m, 2H), 1,45 - 1,47 (m, 2H); EM (ESI): *m/z* 357,0 [M + 1]⁺.

Ejemplo 5: 3-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-2-(difluorometil)-7-hidroxi-4H-cromen-4-ona



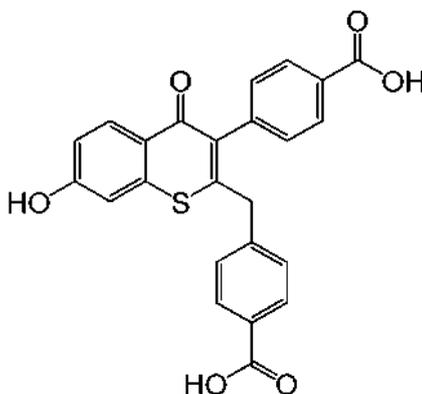
Síntesis: se sigue el procedimiento descrito en la Etapa 1 del Ejemplo 1, partiendo del Intermedio D y de difluoroanhídrido acético.

Datos: RMN ¹H (MeOH-d₄ 500 MHz TMS): δ 8,18 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 8,07 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,58 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,03 (dd, *J* = 2,5 Hz, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,98 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,56 (t, *J* = 2,0 Hz, 1H); EM (ESI): *m/z* 357,0 [M + 1]⁺.

Ejemplo 6: 3-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-2-metil-4H-cromen-4-ona

5 **Síntesis:** se sigue el procedimiento descrito en la Etapa 1 del Ejemplo 1, partiendo del Intermedio D y de anhídrido acético. El producto en bruto se purificó mediante una prep-HPLC para dar el Ejemplo 6.

10 **Datos:** RMN ¹H (DMSO-d₆ 500 MHz TMS): δ 10,84 (s, 1 H), 8,09 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,90 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,53 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 6,93 (dd, *J* = 2,5 Hz, *J* = 8,5 Hz, 1H), 6,87 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 2,29 (s, 3H); EM (ESI): *m/z* 321,0 [M + 1]⁺.

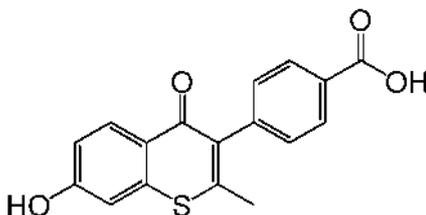
Ejemplo 7: ácido 4-(2-(4-carboxibencil)-7-hidroxi-4-oxo-4H-tiocromen-3-il) benzoico

15 **Síntesis: Etapa 1: síntesis del 4-(7-metoxi-2-(4-(metoxicarbonilo)bencil)-4-oxo-4H-tio-cromen-3-il) benzoato de metilo.** Se añadió tricloruro de aluminio (253 mg, 1,9 mmol) al Intermedio E (4-(2-(3-metoxifeniltio)-2-oxoetil) benzoato de metilo) (500 mg, 1,58 mmol) y la mezcla se calentó a 130 °C durante 1 hora. Después de enfrió hasta la temperatura ambiente, la mezcla de reacción se disolvió en EtOAc (50 ml) y se lavó con HCl 1 N helado (25 ml x 2), agua (25 ml) y salmuera (25 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante una Combi-Flash (40 g de gel de sílice, fuente: PE:EtOAc = desde 10:0 hasta 1:1 en gradiente, 40 ml/min, 30 min, 1,2 l de volumen total de disolvente) para proporcionar el producto en forma de un sólido de color amarillo (160 mg, 21 %). EM (ESI): *m/z* 475,1 [M + 1]⁺.

25 **Etapa 2: síntesis del ácido 4-(2-(4-carboxibencil)-7-hidroxi-4-oxo-4H-tiocromen-3-il) benzoico (Ejemplo 7).** A una solución de 4-(7-metoxi-2-(4-(metoxicarbonilo)bencil)-4-oxo-4H-tiocromen-3-il) benzoato de metilo (105 mg, 0,23 mmol) en DCM seco (3 ml) se añadió BBr₃ (0,2 ml, 2,23 mmol) a 0 °C con agitación. La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 40 horas y se vertió en una solución helada de HCl 1 N (1 ml) con agitación. Los volátiles se evaporaron y el residuo se purificó mediante una prep-TLC (PE:EtOAc = 1:1) para proporcionar el producto deseado del Ejemplo 7 en forma de un sólido de color rosa (15 mg, 16 %).

30 **Datos:** RMN ¹H (MeOH-d₄ 500 MHz TMS): δ 8,30 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 8,08 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,91 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,28 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,18 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,053 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,049 (s, 1H), 4,01 (s, 2H); EM (ESI): *m/z* 433,0 [M + 1]⁺.

35 **Ejemplo 8: ácido 4-(7-hidroxi-2-metil-4-oxo-4H-tiocromen-3-il) benzoico**

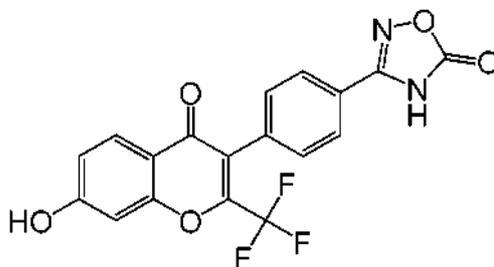


Síntesis: Etapa 1: síntesis del 4-(7-metoxi-2-metil-4-oxo-4H-tiocromen-3-il) benzoato de metilo:

a una solución del Intermedio F (4-(2-(2-(acetiltio)-4-metoxifenil)-2-oxoetil) benzoato de metilo) (600 mg, 1,674 mmol) en acetona (12 ml) se añadió K_2CO_3 (386 mg, 3,348 mmol) a la temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 3 horas, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante una Combi-Flash (40 g de gel de sílice, inicio con PE / EtOAc = desde 10/0 hasta 3/1 en gradiente, 40 ml/min, 40 min, 1,6 l de volumen total de disolvente) para proporcionar el producto en forma de un sólido de color amarillo (400 mg, 70 %). EM (ESI): m/z 341,0 $[M + 1]^+$.

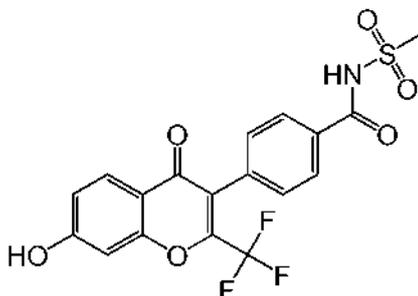
Etapa 2: síntesis del ácido 4-(7-hidroxi-2-metil-4-oxo-4H-tiocromen-3-il) benzoico (Ejemplo 8): a una solución de 4-(7-metoxi-2-metil-4-oxo-4H-tiocromen-3-il) benzoato de metilo (200 mg, 0,588 mmol) en DCM (10 ml) se añadió BBr_3 (0,83 ml, 8,813 mmol) a la temperatura ambiente y se agitó durante 20 horas. La mezcla se vertió en HCl 1 N helado (50 ml) con agitación y el precipitado se recogió por filtración para obtener un producto en bruto, que se purificó mediante una prep-HPLC para proporcionar el producto deseado del Ejemplo 8 en forma de un sólido de color amarillo (57,3 mg, 31 %).

Datos: RMN 1H (DMSO- d_6 500 MHz TMS): δ 13,00 (s a, 1H), 10,76 (s a, 1H), 8,16 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,98 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,32 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,03 - 7,08 (m, 2H), 2,17 (s, 3H); EM (ESI): m/z 313,0 $[M + 1]^+$.

Ejemplo 9: 3-(4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona

Síntesis: a una solución de 4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzonitrilo (véase el Ejemplo 1, etapa 1 para su síntesis) (200 mg, 0,60 mmol) y clorhidrato de hidroxilamina (218 mg, 3,13 mmol) en etanol absoluto (2 ml) se añadió gota a gota trietilamina (0,7 ml). La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 5 horas. Los volátiles se evaporaron y el residuo se disolvió en THF anhidro (2 ml). Se añadió CDI (296 mg, 1,83 mmol) y la suspensión se calentó a reflujo durante una noche. Los volátiles se evaporaron y el residuo se purificó mediante una prep-TLC (EtOAc puro) y una prep-HPLC para proporcionar el producto deseado del Ejemplo 9 (35 mg, 15 %) en forma de un sólido de color blanco.

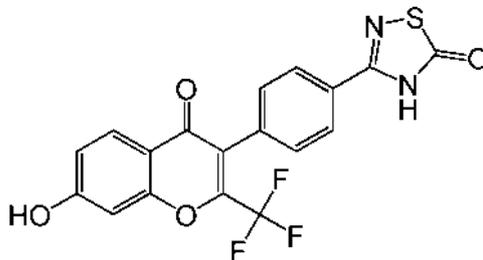
Datos: RMN 1H (MeOH- d_4 500 MHz TMS): δ 8,04 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,89 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,50 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,04 (dd, $J = 2,5$ Hz, $J = 8,5$ Hz, 1H), 6,87 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H); EM (ESI): m/z 391,0 $[M + 1]^+$.

Ejemplo 10: 4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)-N-(metilsulfonyl) benzamida

Síntesis: a una solución del ácido 4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzoico (su síntesis se describe en el documento PCT/US2010/024035) (100 mg, 0,28 mmol) en THF (10 ml) se añadió CDI (139 mg, 0,86 mmol) a la temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 2 horas. Se añadió en una porción $MeSO_2NH_2$ (280 mg, 2,86 mmol), seguido de DBU (394 mg, 2,86 mmol). La mezcla se agitó durante 4 horas y se repartió entre HCl 1 N (30 ml) y acetato de etilo (100 ml). La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para dar el producto deseado contaminado con el material ácido de partida. La mezcla era difícil de purificar, y el ácido contaminante se convirtió en el éster de metilo mediante un tratamiento con $SOCl_2$ (91 mg, 0,77 mmol) en MeOH (4 ml) a 0 °C. Cuando se completó la adición, la mezcla se agitó durante 3 días. Los volátiles se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante una prep-HPLC para proporcionar el producto deseado del Ejemplo 10 en forma de un polvo de color blanco (25 mg, 20,5 %).

Datos: RMN ¹H (MeOH-d₄ 500 MHz TMS): δ 8,04 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 8,00 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,46 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,04 (dd, *J* = 2,0 Hz, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,97 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 3,41 (s, 1H); EM (ESI): *m/z* 428,0 [M + 1]⁺.

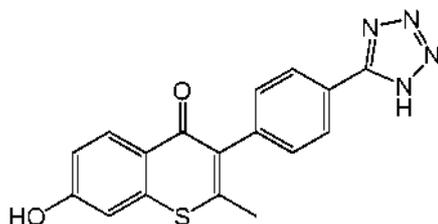
Ejemplo 11: 3-(4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)fenil)-1,2,4-tiadiazol-5(4H)-ona



Síntesis: a una solución de 4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzonitrilo (véase el Ejemplo 1, etapa 1 para su síntesis) (250 mg, 0,76 mmol) y clorhidrato de hidroxilamina (105 mg, 1,51 mmol) en etanol absoluto (2 ml) se añadió gota a gota trietilamina (0,5 ml). La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 2 horas. Los volátiles se evaporaron y el residuo se disolvió en THF anhidro (5 ml). Se añadió TCDI (202 mg, 1,13 mmol) y la suspensión se agitó a la temperatura ambiente durante 2 horas, se repartió entre EtOAc (50 ml) y agua (20 ml). La fase orgánica se separó, se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró. El residuo se disolvió en THF (5 ml), se añadió BF₃-Et₂O y se agitó a la temperatura ambiente durante 2 horas. Se preparó con HCl 1 N, después se evaporaron los volátiles y el residuo se purificó mediante una prep-HPLC para proporcionar el producto deseado del Ejemplo 11 (17,5 mg, 5 %) en forma de un sólido de color blanco.

Datos: RMN ¹H (MeOD 500 MHz TMS): δ 8,04 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 8,01 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,45 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,04 (dd, *J* = 1,5, 8,5 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H); EM (ESI): *m/z* 406,9 [M + 1]⁺.

Ejemplo 12: 3-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-2-metil-4H-tiocromen-4-ona

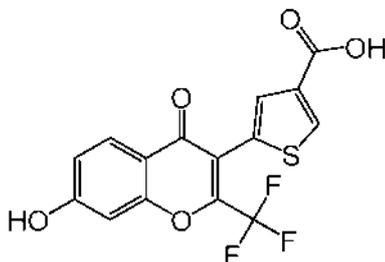


Síntesis: Etapa 1: síntesis de 4-(7-metoxi-2-metil-4-oxo-4H-tiocromen-3-il) benzonitrilo: a una mezcla del Intermedio G (664 mg, 2 mmol), ácido 4-cianofenilborónico (294 mg, 2 mmol) y TEA (1,4 ml, 10 mmol) en DMF (4 ml) se añadió Pd(dppf)Cl₂ (146 mg, 0,2 mmol) y la mezcla resultante se calentó a 85 °C en una atmósfera de nitrógeno durante 18 horas. La mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente y después se repartió entre HCl 1 N (20 ml) y acetato de etilo (50 ml). La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (10 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró, después se purificó mediante una cromatografía en columna (PE / EtOAc = 5/1) para proporcionar el producto (310 mg, 54 %) en forma de un sólido de color amarillo.

Etapa 2: síntesis de 4-(7-hidroxi-2-metil-4-oxo-4H-tiocromen-3-il) benzonitrilo: a una solución del producto anterior (310 mg, 1,0 mmol) en DCM (3 ml) se añadió cuidadosamente BBr₃ (1 ml, 10 mmol). La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante una noche. La mezcla resultante se vertió en agua helada (5 ml), se extrajo con acetato de etilo (3 ml x 3). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (3 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. La purificación mediante una cromatografía en columna (PE / EtOAc = 3/1) dio el producto en forma de un polvo de color amarillo (120 mg, 40 %).

Etapa 3: síntesis de Ejemplo 12: a continuación se preparó el tetrazol a partir del producto anterior siguiendo el método descrito en el Ejemplo 1, Etapa 2 con un 65 % de rendimiento.

Datos: RMN ¹H (DMSO-d₆ 500 MHz TMS): δ 10,78 (s, 1H), 8,17 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 8,08 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,43 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,08 (s, 1H), 7,04 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 2,07 (s, 3H); EM (ESI): *m/z* 337,0 [M + 1]⁺.

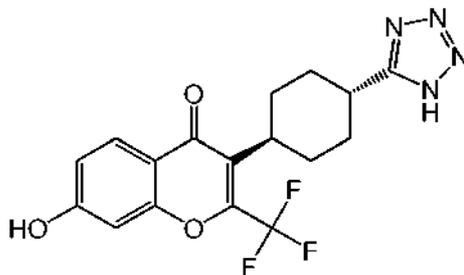
Ejemplo 13: ácido 5-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)tiofen-3-carboxílico

5 **Síntesis: Etapa 1: síntesis del 5-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)tiofen-3-carboxilato de metilo:** se sigue el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, Etapa 1, en el que el Intermedio H es el material de partida y el producto en bruto se purificó mediante una cromatografía en columna para dar el producto con un 43 % de rendimiento.

10 **Etapa 2: síntesis del ácido 5-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)tiofen-3-carboxílico:** se siguió el procedimiento de hidrólisis descrito en el Ejemplo 3, Etapa 2 para dar el producto con un 65 % de rendimiento.

Datos: RMN ¹H (MeOD-d₄ 500 MHz TMS): 8,42 (s, 1H), 8,05 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,05 (dd, *J* = 2,5, 9,0 Hz, 1H), 6,96 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); EM (ESI): *m/z* 357,0 [M + 1]⁺.

15

Ejemplo 14: 3-((trans)-4-(1H-tetrazol-5-il)ciclohexil)-7-hidroxi-2-(trifluorometil)-4H-cromen-4-ona

20 **Síntesis: Etapa 1: síntesis de (trans)-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) ciclohexanocarboxamida:** se añadió gota a gota cloruro de oxalilo (6,5 ml, 84,27 mmol) a una solución del ácido (trans)-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) ciclohexanocarboxílico (Ejemplo 3) (1,0 g) en DCM (25 ml) a la temperatura ambiente (se añadieron 3 gotas de DMF). Se observó una vigorosa evolución de gas. Después de agitar durante 30 minutos, se añadió NH₃H₂O (25 %, 9 ml) a la solución anterior. Después de agitar durante 60 minutos, se añadió acetato de etilo (50 ml). La capa orgánica se concentró y se purificó mediante una cromatografía en columna (PE / EtOAc = 1/1) para dar el producto deseado en forma de un sólido de color blanco (0,81 g de rendimiento: 81 %).

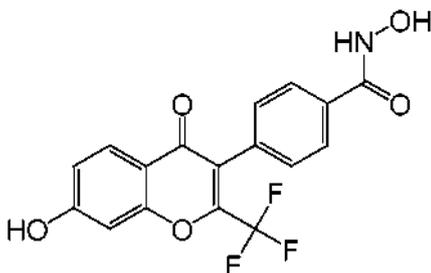
25

30 **Etapa 2: síntesis de (trans)-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) ciclohexanocarbonitrilo:** a una solución del producto anterior (0,81 g) y TEA (3,5 ml) en DCM (8,0 ml) se añadió gota a gota TFAA (2,7 g) a la temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 2 horas. Los volátiles se eliminaron a vacío. El residuo se purificó mediante una cromatografía en columna (PE / EtOAc = 5/1) para proporcionar el producto en forma de un sólido de color amarillo (0,72 g, 74 %).

35 **Etapa 3: síntesis de 3-((trans)-4-(1H-tetrazol-5-il)ciclohexil)-7-hidroxi-2-(trifluorometil)-4H-cromen-4-ona:** el tetrazol se preparó a partir del producto anterior siguiendo el método descrito en el Ejemplo 1, Etapa 2 con un 59 % de rendimiento.

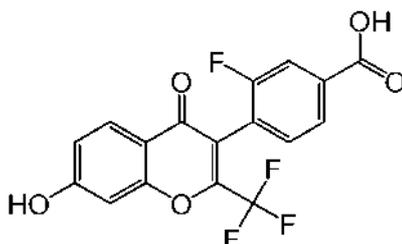
40 **Datos:** RMN ¹H (MeOD-d₄ 500 MHz TMS): 7,87 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,86 (dd, *J* = 2,0 Hz, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,73 (d, *J* = 2,5 Hz, 2H), 3,08 ~ 3,03 (m, 1H), 2,72 (t, *J* = 12,5 Hz, 1H), 2,53 ~ 2,45 (m, 2H), 2,12 (d, *J* = 12,0 Hz, 2H), 1,67 ~ 1,54 (m, 4H); EM (ESI): *m/z* 381,1 [M + 1]⁺.

40

Ejemplo 15: N-hidroxi-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzamida

5 **Síntesis:** se añadió gota a gota cloruro de oxalilo (140 mg, 1,1 mmol) a una solución de ácido 4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzoico (su síntesis se describe en el documento PCT/US2010/024035) (130 mg, 0,4 mmol) y DMF (0,5 ml) en DCM (25 ml) a la temperatura ambiente. Se observó una vigorosa evolución de gas. Después de agitar durante 30 minutos, se añadió la solución anterior a una mezcla de clorhidrato de hidroxilamina (0,29 g, 0,5 mmol) y TEA (0,12 ml, 0,9 mmol) en THF (2 ml) y agua (0,5 ml). Después de agitar durante 1 hora, la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se evaporó. El residuo se recristalizó en acetona para dar un polvo de color blanco (120 mg), que se purificó mediante una prep-HPLC para proporcionar el producto deseado del Ejemplo 15 en forma de un polvo amarillo claro (48 mg de rendimiento: 33 %).

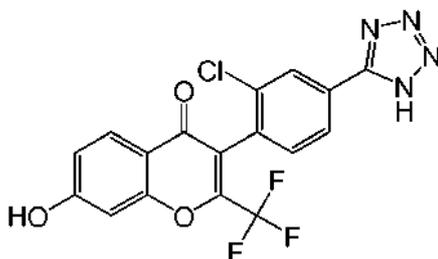
15 **Datos:** RMN ¹H (DMSO-d₆ 500 MHz TMS): 11,31 (s, 1H), 9,14 (s, 1H), 7,92 (t, *J* = 4,5 Hz, 1H), 7,80 (s, 2H), 7,36 (d, *J* = 3,5 Hz, 2H), 7,01 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H), 6,94 (s, 1H); EM (ESI): *m/z* 366,0 [M + 1]⁺.

Ejemplo 16: ácido 3-fluoro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzoico

20 **Síntesis: Etapa 1: síntesis de 3-fluoro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzoato de metilo:** a una solución de 4-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil)-3-fluorobenzoato de metilo (Intermedio I) (6 g, 19,7 mmol) en DCM (60 ml) y TEA (24 ml, 190 mmol) se añadió TFAA (13 ml, 95 mmol) gota a gota. La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 15 horas. Después, la solución se lavó con una solución 1 N de HCl (50 ml) y agua (50 ml); la capa orgánica se secó con Na₂SO₄, se filtró y se evaporó para dar el producto en bruto (6 g, 79,7 %).

25 **Etapa 2:** a una solución del producto en bruto anterior (6 g, 15,7 mmol) en dioxano (60 ml) se añadió HCl concentrado (30 ml). La mezcla se agitó a 90 °C durante 15 horas. Después, la solución se extrajo con EtOAc (100 ml x 5). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron para dar el producto en bruto. El producto en bruto se recristalizó en EtOAc / PE = 3/1 (50 ml) para dar el producto deseado del Ejemplo 16 (4,5 g, 77,9 %) en forma de un sólido.

35 **Datos:** RMN ¹H (DMSO-d₆ 500 MHz TMS): δ 13,44 (s a, 1H), 11,31 (s a, 1H), 7,98 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,89 (dd, *J* = 1,5 Hz, 7,5 Hz, 1H), 7,81 (dd, *J* = 1,0 Hz, 9,5 Hz, 1H), 7,56 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,09 (dd, *J* = 2,0 Hz, 8,5 Hz, 1H); 7,03 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); EM (ESI): *m/z* 369,0 [M + 1]⁺.

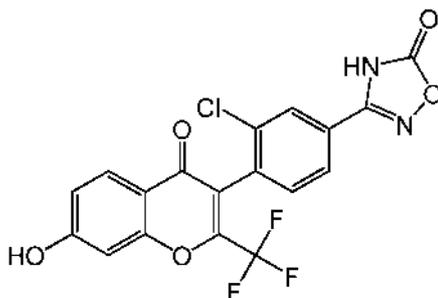
Ejemplo 17: 3-(2-cloro-4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-2-(trifluorometil)-4H-cromen-4-ona

40

Etapa 1: el producto deseado se sintetizó siguiendo el mismo procedimiento en 3 etapas descrito para el Ejemplo 14, partiendo del ácido 3-cloro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzoico (su síntesis se describe en el documento PCT/US2010/024035).

5 **Datos:** RMN ¹H (MeOD-d₄ 500 MHz TMS): 8,22 (d, *J* = 1,0 Hz, 1H), 8,07 (dd, *J* = 1,5 Hz, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,04 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H) 7,43 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,04 (dd, *J* = 2,5 Hz, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,98 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H); EM (ESI): *m/z* 409,0 [M + 1]⁺.

10 **Ejemplo 18: 3-(3-cloro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona**

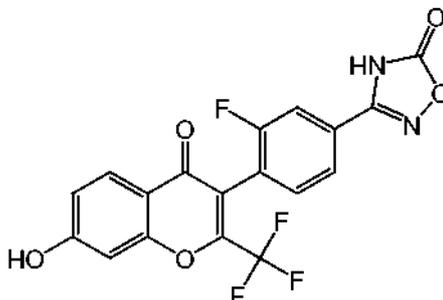


15 **Etapa 1 y 2: síntesis de 3-cloro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzonitrilo:** se sigue el procedimiento descrito en las dos primeras etapas del Ejemplo 14, partiendo del ácido 3-cloro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzoico (su síntesis se describe en el documento PCT/US2010/024035).

20 **Etapa 3:** se disolvió 3-cloro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzonitrilo (0,3 g, 0,8 mmol) en EtOH (5 ml) y se enfrió con un baño de hielo. Se añadió la sal de HCl de hidroxiamina (46 mg, 0,85 eq) y TEA (0,11 ml, 1 eq). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a la temperatura ambiente. El disolvente se eliminó y el residuo (0,4 g) se suspendió en THF anhidro (5 ml). Después de la adición de CDI (0,24 g, 1,5 eq) y de TEA (0,13 ml), la solución suspendida se agitó y se calentó a 50 °C durante una noche. Después de la eliminación del THF, la mezcla se suspendió en agua (15 ml) y el pH se ajustó a 8. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (10 ml x 2). Después, la capa acuosa se acidificó a pH ~ 2 y se extrajo con EtOAc (15 ml x 4). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la eliminación del disolvente, el producto en bruto se purificó mediante una prep-HPLC para proporcionar el producto deseado del Ejemplo 18 (44 mg, 10 %) en forma de un sólido de color marrón oscuro.

30 **Datos:** RMN ¹H (MeOH-d₄ 500 MHz TMS): 8,04 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,99 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 7,84 (dd, *J* = 1,5 Hz, 8,0 Hz, 1H), 7,53 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,06 (dd, *J* = 2,0 Hz, 8,5 Hz, 1H), 6,98 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); EM (ESI): *m/z* 425 [M + 1]⁺.

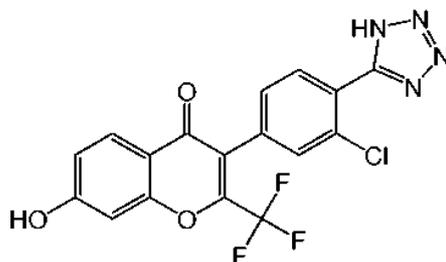
Ejemplo 19: 3-(3-fluoro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona



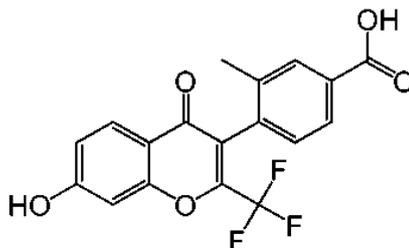
35 **Síntesis:** el 3-fluoro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzonitrilo se preparó de acuerdo con las dos primeras etapas del Ejemplo 14 partiendo del ácido 3-fluoro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzoico (Ejemplo 16) y después se convirtió en el producto deseado del Ejemplo 19 siguiendo la Etapa 3 del Ejemplo 18.

40 **Datos:** RMN ¹H (MeOH-d₄ 500 MHz TMS): 8,06 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,75 (dd, *J* = 2,0 Hz, 8,0 Hz, 2H), 7,70 (dd, *J* = 2 Hz, 10,0 Hz, 1H), 7,54 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,07 (dd, *J* = 2,5 Hz, 9,0 Hz, 1H), 7,00 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); EM (ESI): *m/z* 409 [M + 1]⁺.

45

Ejemplo 20: 3-(3-cloro-4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-2-(trifluorometil)-4H-cromen-4-ona

- 5 **Síntesis:** el 2-cloro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzonitrilo se preparó de acuerdo con las dos primeras etapas del Ejemplo 14 partiendo del ácido 2-cloro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzoico (su síntesis se describe en el documento PCT/US2010/024035) y después se convirtió en el producto deseado del Ejemplo 20 siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, Etapa 2.
- 10 **Datos:** RMN ¹H (MeOD-d₄ 500 MHz TMS): 8,07 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,0 Hz 1H), 7,65 (s, 1H), 7,48 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,07 (dd, *J* = 2,0 Hz, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,98 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H) ; EM (ESI): *m/z* 409,0 [M + 1]⁺.

Ejemplo 21: ácido 4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)-3-metilbenzoico

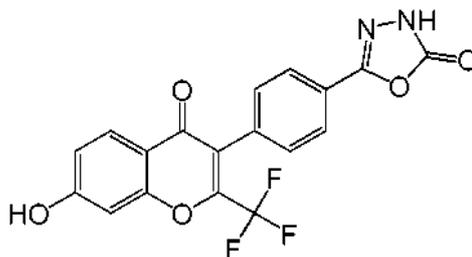
- 15
- Síntesis:** el producto deseado se sintetizó siguiendo un procedimiento en dos etapas similar al descrito en el Ejemplo 16, partiendo de 4-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil)-3-metilbenzoato de metilo (Intermedio J).
- 20 **Datos:** RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz): δ 13,02 (s a, 1H), 11,21 (s a, 1H), 7,95 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,88 (d, *J* = 3 Hz, 1H), 7,80 (dd, *J* = 3, 9 Hz, 1H), 7,30 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7,04 (dd, *J* = 3, 9 Hz, 1H), 7,00 (d, *J* = 3 Hz, 1H), 2,13 (s, 3H); EM (ESI): *m/z* 365,1 [M + H]⁺.

Ejemplo 22: 3-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-4H-cromen-4-ona

- 25
-
- Etapa 1: síntesis de 4-(7-hidroxi-4-oxo-4H-cromen-3-il) benzonitrilo:** a una solución del Intermedio K (200 mg, 0,79 mmol) en DMF anhidra (6,0 ml) se añadió gota a gota BF₃-Et₂O (0,8 ml) a 0 ~ 10 °C. Cuando se completó la adición, la mezcla se dejó calentar hasta la temperatura ambiente durante 0,5 horas, se calentó a 90 °C. Se añadió en una porción MsCl (1,6 ml) y se agitó durante 5 horas. La mezcla se repartió entre EtOAc (50 ml) y HCl 1 N (50 ml). La fase orgánica se separó, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró para proporcionar un sólido de color amarillo claro, que se recristalizó en DCM (5 ml) para proporcionar el producto (120 mg, 58 %) en forma de un sólido de color amarillo. EM (ESI): *m/z* 263,9 [M + 1]⁺.
- 30
- 35

Etapa 2: síntesis de 3-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-4H-cromen-4-ona: se sigue el procedimiento descrito para la etapa 2 del Ejemplo 1, en el que el producto se recristalizó dos veces en DCM (10 ml) para proporcionar el producto deseado del Ejemplo 22 en forma de un sólido de color blanco (60 mg, 43 %).

- 40 **Datos:** RMN ¹H (DMSO-d₆ 500 MHz TMS): δ 10,89 (s, 1H), 8,54 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 8,08 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 8,01 (m, 1H), 7,79 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,98 (dd, *J* = 2,5, 8,0 Hz, 1H), 6,91 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); EM (ESI): *m/z* 307,1 [M + 1]⁺.

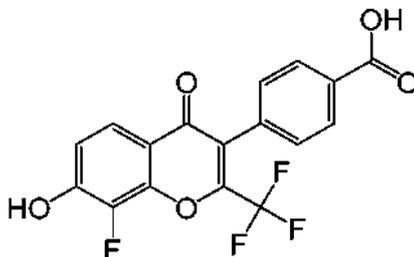
Ejemplo 23: 5-(4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)fenil)-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona

5 **Síntesis:** el Ejemplo 23 puede prepararse de acuerdo con el siguiente procedimiento en tres etapas:

10 **Etapa 1: síntesis de 2-(4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)benzoílo) hidrazincarboxilato de terc-butilo:** se agita una mezcla del ácido 4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzoico (su síntesis se describe en el documento PCT/US2010/024035) (1 eq), EDCI (1 eq) y BocNHNH₂ (1 eq), en DCM y DMF (1:1) a 25 °C durante una noche, seguido de una preparación acuosa / EtOAc. La purificación, si fuera necesario, mediante una cromatografía en columna sobre gel de sílice, para dar el producto.

15 **Etapa 2: síntesis de 4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzohidrazida:** se trata el 2-(4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)benzoil) hidrazincarboxilato de terc-butilo con HCl / MeOH durante una noche. El disolvente se elimina a presión reducida para dar el producto.

20 **Etapa 3: síntesis de 5-(4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)fenil)-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona:** se pone a reflujo 4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzohidrazida (1 eq) y CDI (10 eq) en DCM durante una noche. Una preparación acuosa / EtOAc seguida de una purificación mediante una prep-HPLC puede dar el producto deseado del Ejemplo 23.

Ejemplo 24: ácido 4-(8-fluoro-7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzoico

25 **Síntesis:** el producto deseado del Ejemplo 24 puede prepararse siguiendo el procedimiento en dos etapas descrito para el Ejemplo 16 partiendo de 4-(2-(3-fluoro-2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil) benzoato de metilo (Intermedio I).

Ejemplo 25: síntesis de los intermedios

30 Los intermedios mencionados en los ejemplos anteriores pueden ser sintetizados como se describe a continuación.

Intermedio A: 4-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil) benzamida

35 **Etapa 1: síntesis del ácido 2-(4-(metoxicarbonil)fenil) acético.** A una solución del ácido 2-(4-bromofenil) acético (91,3 g, 0,42 mol, 1,0 eq) en MeOH (1,5 l) se añadió TEA seca (85,8 g, 0,85 mol, 2,0 eq) y Pd(dppf)Cl₂ (3,43 g, 4,2 mmol, 1 %). La solución se calentó bajo CO gaseoso (4 MPa) a 120 °C durante 16 horas. Después, se filtró y se concentró a vacío. El residuo se disolvió en 500 ml de EtOAc y 1 l de agua. La mezcla se neutralizó con NaHCO₃ saturado a pH = 7,5 y se separó. La fase inorgánica se extrajo con EtOAc (500 ml x 3) se acidificó con HCl 1 N a pH = 5. La filtración y el secado a vacío proporcionaron 62,8 g del producto (un sólido de color blanco, con un rendimiento del 76 %). EM (ESI): *m/z* 195,1 [M + 1]⁺.

45 **Etapa 2: síntesis del 4-(2-(2,4-dimetoxifenil)-2-oxoetil) benzoato de metilo.** A una solución del ácido 2-(4-(metoxicarbonil)fenil) acético (15 g, 77,3 mmol) y DMF (1 gota) en DCM anhidro (150 ml) se añadió gota a gota cloruro de oxalilo (33 ml, 386,0 mmol) a 0 - 5 °C con agitación. Después de completar la adición, la mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 2 horas. Una TLC (PE / EtOAc = 3/1, inactivado con MeOH) indicó que se había completado la reacción, los volátiles se evaporaron y el residuo se diluyó con DCM (20 ml).

A una suspensión de tricloruro de aluminio (16,5 g, 123,7 mmol) en DCM anhidro (80 ml) se añadió 1,3-dimetoxibenceno (21,3 g, 154,6 mmol) a 5 °C, seguido de la anterior solución del cloruro de acilo. La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante una noche, se vertió cuidadosamente en HCl 1 N helado (200 ml) y se extrajo con EtOAc (150 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (200 ml), se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron para obtener un aceite de color marrón, que se purificó con una columna de gel de sílice (PE / EtOAc = 5/1) para proporcionar el producto (12 g, 49,6 %) en forma de un sólido de color amarillo. EM (ESI): m/z 315,1 [M + 1]⁺.

Etapas 3: síntesis del 4-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil) benzoato de etilo. A una solución de 4-(2-(2,4-dimetoxifenil)-2-oxoetil) benzoato de metilo (55 g, 141,6 mmol) en DCM (600 ml) se añadió gota a gota BBr₃ (164 ml, 1,7 mol) a -10 °C. Cuando se completó la adición, la mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante una noche y se vertió en hielo picado (700 g) con agitación. Los volátiles se evaporaron para proporcionar un sólido de color amarillo, que se secó a alto vacío y se disolvió en etanol absoluto (500 ml). A la solución se añadió gota a gota cloruro de tionilo (80 ml) a 0 ~ 10 °C. Cuando se completó la adición, la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 3 horas. Los volátiles se evaporaron y el residuo se repartió entre EtOAc (600 ml) y carbonato de sodio saturado (200 ml). La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (200 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró para proporcionar una suspensión de color marrón, que se purificó mediante una cromatografía en columna (PE / EtOAc = 3/1) para proporcionar el producto (24,5 g, 58 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (CDCl₃ 500 MHz TMS): δ 12,58 (s, 1H), 8,01 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,69 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,33 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,05 (s, 1H), 6,41 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,37 (s, 1H), 4,38 (c, J = 7,0 Hz, 2H), 4,26 (s, 2H), 1,38 (t, J = 7 Hz, 3H). EM (ESI): m/z 301,1 [M + 1]⁺.

Etapas 4: síntesis del ácido 4-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil) benzoico. A una solución de 4-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil) benzoato de etilo (2 g, 6,7 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml), se añadió HCl concentrado (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante una noche. Los volátiles se eliminaron a presión reducida. El residuo se disolvió con agua (20 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml x 2). La fase orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró para proporcionar el producto en forma de un sólido de color pardo (1,5 g, 83,3 %). EM (ESI): m/z 273,1 [M + 1]⁺.

Etapas 5: síntesis de 4-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil) benzamida. A una solución del ácido 4-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil) benzoico (1,5 g, 5,5 mmol) en DCM (20 ml) se añadió cloruro de oxalilo (4,7 ml, 55 mmol) y una gota de DMF. La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 3 h y después la mezcla se puso a reflujo durante una noche. La mezcla se concentró a sequedad. El residuo se disolvió en THF (20 ml). Después, se añadió gota a gota en NH₃ · H₂O acuoso (25 %, 60 ml) a la temperatura ambiente. La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 2 horas. Los volátiles se eliminaron a presión reducida. El residuo se extrajo con EtOAc (30 ml x 3). La fase orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para proporcionar el producto en forma de un sólido de color marrón (300 mg, 20,1 %). EM (ESI): m/z 272,1 [M + 1]⁺.

Intermedio B: 5-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil)tiófen-2-carboxilato de metilo

Etapas 1: síntesis del ácido 2-(5-bromotiófen-2-il) acético. A una solución del ácido 2-(tiófen-2-il) acético (2 g, 14 mmol) en HOAc (10 ml) se añadió gota a gota bromo (2,25 g, 14 mmol) a 10 ~ 20 °C durante 30 min. La mezcla se dejó calentar hasta la temperatura ambiente durante 3 horas. Después, se diluyó con agua (100 ml), se neutralizó a pH = 5 con carbonato de sodio anhidro y se extrajo con EtOAc (100 ml x 3). Se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para proporcionar el producto en bruto en forma de un aceite de color pardo. EM (ESI): m/z 220,9 [M + 1]⁺.

Etapas 2: síntesis del ácido 2-(5-(metoxicarbonil)tiófen-2-il) acético: a una solución del ácido 2-(5-bromotiófen-2-il) acético (2,5 g, 11,4 mmol) en MeOH (110 ml) se añadió TEA (5 ml, 34,1 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (769 mg, 1,1 mmol) y la mezcla resultante se calentó a 120 °C bajo CO (4 MPa) durante 20 horas. Se concentró a vacío y el residuo se purificó mediante una Combi-Flash (80 g de gel de sílice, inicio PE / EtOAc = desde 10:0 hasta 1:3 en gradiente, 60 ml/min, 60 min, 3,6 l de volumen total de disolvente) para proporcionar el producto en forma de un sólido claro (1,3 g, 58 %). EM (ESI): m/z 198,0 [M + 1]⁺.

Etapas 3: síntesis del 5-(2-(2,4-dimetoxifenil)-2-oxoetil)tiófen-2-carboxilato de metilo. Se prepara siguiendo el procedimiento descrito en la Etapa 2 del Intermedio A, partiendo del ácido 2-(5-(metoxicarbonil)tiófen-2-il) acético.

Etapas 4: síntesis del 5-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil)tiófen-2-carboxilato de metilo. A una solución de 5-(2-(2,4-dimetoxifenil)-2-oxoetil)tiófen-2-carboxilato de metilo (460 mg, 1,44 mmol) en DCM (5 ml) se añadió AlCl₃ (5,7 g, 43 mmol). La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante dos días. Se añadió agua cuidadosamente (15 ml) a 0 °C y la mezcla se extrajo con EtOAc (20 ml x 3). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se concentró y se purificó mediante una prep-TLC (PE / EtOAc = 3/1) para proporcionar el Intermedio B en forma de un polvo de color naranja (260 mg, 61,9 %). EM (ESI): m/z 293,0 [M + 1]⁺.

Intermedio C: 4-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil) ciclohexanocarboxilato de etilo.

Etap 1: síntesis del 4-(2-terc-butoxi-2-oxoetiliden) ciclohexanocarboxilato de etilo. A una suspensión de cloruro de litio anhidro (1,9 g, 45 mmol) en MeCN (100 ml) se añadió 2-(dietoxifosforil) acetato de terc-butilo (7,6 g, 30 mmol) a la temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 30 min. Se añadió TEA (6,4 ml, 45 mmol) y la mezcla se agitó durante otros 30 min. Se añadió 4-oxociclohexanocarboxilato de etilo (5,1 g, 30 mmol) y la mezcla se agitó durante una noche. El precipitado se eliminó mediante filtración, y el filtrado se concentró para proporcionar un aceite de color marrón, que se purificó con una columna de gel de sílice (PE:EtOAc = 10:1) para proporcionar el producto (5 g, 62 %).

Etap 2: síntesis del ácido 2-(4-(etoxicarbonil)ciclohexiliden) acético. A una solución de 4-(2-terc-butoxi-2-oxoetiliden) ciclohexanocarboxilato de etilo (5,3 g, 21 mmol) en CH₂Cl₂ (30 ml) se añadió TFA (30 ml). La solución se agitó a la temperatura ambiente durante una noche. La solución se concentró a vacío para proporcionar 6 g del producto en forma de un aceite incoloro, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etap 3: síntesis del ácido 2-(4-(etoxicarbonil)ciclohexilo) acético. A una solución del ácido 2-(4-(etoxicarbonil)ciclohexiliden) acético (6,0 g, 28,3 mmol) en EtOH (50 ml) se añadió lentamente Pd al 10 % / C (306 mg). La solución se hidrogenó durante una noche. El catalizador se eliminó mediante filtración. El filtrado se concentró a vacío para proporcionar 2,5 g del producto en forma de un aceite incoloro (42 %).

Etap 4: síntesis del 4-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil) ciclohexanocarboxilato de etilo (Intermedio C). A una solución del ácido 2-(4-(etoxicarbonil)ciclohexil) acético (700 mg, 11,6 mmol) en BF₃-Et₂O (10 ml) se añadió resorcinol (1,5 g, 14,0 mmol). La solución se agitó a 85 °C durante una noche, se vertió en una solución de Na₂CO₃ (2 N, 20 ml), se extrajo con EtOAc (30 ml x 3), se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para proporcionar 3 g de un aceite de color amarillo, que se purificó con una columna de gel de sílice (PE / EtOAc = 3/1) para proporcionar 400 mg del Intermedio C. EM (ESI): *m/z* 307,1 [M + 1]⁺.

Intermedio D: 2-(4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)-1-(2,4-dihidroxifenil) etanona

Etap 1: síntesis de 2-(4-bromofenil)-1-(2,4-dihidroxifenil) etanona. Se siguió la Etapa 4 del Intermedio C, partiendo del ácido 2-(4-bromofenil) acético, para dar el producto en forma de un polvo de color naranja (20 g, 27,9 %). EM (ESI): *m/z* 307,0, 309,0 [M + 1]⁺, [M + 3]⁺.

Etap 2: síntesis de 4-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil) benzonitrilo. Se agitó una mezcla de 2-(4-bromofenil)-1-(2,4-dihidroxifenil) etanona (5 g, 16,3 mmol) y CuCN (5,8 g, 65,4 mmol) en DMF (50 ml) a 150 °C durante 6 h en una atmósfera de nitrógeno. Se añadió agua (100 ml) y EtOAc (100 ml) a la mezcla. El precipitado se eliminó mediante filtración y el filtrado se lavó con salmuera (100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para dar un aceite de color negro, que se purificó mediante una Combiflash (PE / EtOAc = 3/1) para proporcionar el producto en forma de un polvo de color amarillo (1,5 g, 36,6 %). EM (ESI): *m/z* 254,1 [M + 1]⁺.

Etap 3: síntesis de 2-(4-(2H-tetrazol-5-il)fenil)-1-(2,4-dihidroxifenil) etanona. A una solución de 4-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil) benzonitrilo (1,2 g, 4,7 mmol) en tolueno (15 ml) se añadió TMSN₃ (9,3 g, 85,4 mmol) y Bu₂SnO (309 mg, 1,41 mmol) a la temperatura ambiente. La mezcla se calentó a reflujo durante una noche. Los volátiles se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante una Combiflash (EtOAc / HOAc = 50/1) para proporcionar el Intermedio D en forma de un polvo de color amarillo (550 mg, 39,6 %). RMN ¹H (DMSO-d₆ 500 MHz TMS): δ 12,41 (s, 1H), 10,72 (s, 1H), 7,99 - 7,96 (m, 3H), 7,51 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 6,42 (dd, *J* = 2,0 Hz, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,27 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 4,44 (s, 2H); EM (ESI): *m/z* 297,0 [M + 1]⁺.

Intermedio E: 4-(2-(3-metoxifeniltio)-2-oxoetil) benzoato de metilo

A una solución del ácido 2-(4-(metoxicarbonil)fenil) acético (véase el Intermedio A, etapa 1 para su síntesis) (3,88 g, 20 mmol) en DCM seco (50 ml) se añadió gota a gota cloruro de oxalilo (8,4 ml, 100 mmol) a la temperatura ambiente con agitación. La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 2 horas. La reacción se completó indicada mediante una TLC (PE:EtOAc = 3:1, inactivado con MeOH). La mezcla se concentró para proporcionar el 4-(2-cloro-2-oxoetil) benzoato de metilo (4,5 g) en forma de un aceite de color amarillo, que se usó directamente en la siguiente etapa.

A una suspensión de tricloruro de aluminio (2,93 g, 21,96 mmol) en CS₂ seco (50 ml) se añadió 3-metoxibencenotiol (3,1 g, 21,96 mmol) a 0 - 5 °C, seguido de una solución de 4-(2-cloro-2-oxoetil) benzoato de metilo (4,5 g, en bruto, 21,16 mmol) en CS₂ seco (5 ml). La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante una noche y se vertió cuidadosamente en HCl 1 N helado (200 ml) y se extrajo con EtOAc (100 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (100 ml x 2) y salmuera (100 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante una Combi-Flash (80 g de gel de sílice, inicio PE / EtOAc = desde 10/0 hasta 1/1 en gradiente, 50 ml/min, 40 min, 2,0 l de volumen total de disolvente) para proporcionar el Intermedio E en forma de un sólido de color amarillo (2,7 g, 43 %). RMN ¹H (DMSO-d₆ 500 MHz TMS): δ 7,95 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,49 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,37 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,02 - 7,04 (m, 1H), 6,97 - 6,98 (m, 2H), 4,18 (s, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,76 (s, 3H);

EM (ESI): m/z 317,1 [M + 1]⁺.

Intermedio F: 4-(2-(2-(acetiltio)-4-metoxifenil)-2-oxoetil) benzoato de metilo

5 **Etapa 1: síntesis del etanotioato de S-3-metoxifenilo.** A una solución de 3-metoxibencenotiol (5 g, 35,66 mmol) y TEA (7,45 ml, 53,49 mmol) en DCM (60 ml) se añadió Ac₂O (4 g, 39,23 mmol) a la temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. La mezcla de reacción se lavó con HCl 1 N (50 ml x 2), agua (50 ml x 2) y salmuera (50 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró para proporcionar el producto en forma de un sólido de color amarillo (6,5 g, 100 %). EM (ESI): m/z 183,1 [M + 1]⁺.

10 **Etapa 2: síntesis del 4-(2-cloro-2-oxoetil) benzoato de metilo.** A una solución del ácido 2-(4-(metoxicarbonil)fenil) acético (véase el Intermedio A, etapa 1 para su síntesis) (5 g, 25,75 mmol) en DCM (60 ml) se añadió gota a gota cloruro de oxalilo (6,6 ml, 77,25 mmol) a la temperatura ambiente y la mezcla se agitó durante 4 horas. La concentración proporcionó el producto en forma de un aceite de color dorado (6 g, 109 %), que se usó directamente en la siguiente etapa.

15 **Etapa 3: síntesis del 4-(2-(2-(acetiltio)-4-metoxifenil)-2-oxoetil) benzoato de metilo (Intermedio F).** A una suspensión de tricloruro de aluminio (9,9 g, 74,08 mmol) en DCM (100 ml) se añadió etanotioato de S-3-metoxifenilo (etapa 1) (4,5 g, 30,57 mmol) a 0 - 5 °C, seguido de una solución de 4-(2-cloro-2-oxoetil) benzoato de metilo (etapa 2) (4,5 g, en bruto, 24,69 mmol) en DCM (20 ml). La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 3 días. La mezcla se vertió cuidadosamente en HCl 1 N helado (200 ml) y se extrajo con EtOAc (50 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (100 ml x 2) y salmuera (100 ml), se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante una cromatografía en columna (PE / EtOAc = desde 15/1 hasta 10/1) para proporcionar el Intermedio F en forma de un sólido de color amarillo (1,8 g, 14 %). EM (ESI): m/z 359,0 [M + 1]⁺.

Intermedio G: 3-yodo-7-metoxi-2-metil-4H-tiocromen-4-ona

30 **Etapa 1: síntesis de 7-metoxi-2-metil-4H-tiocromen-4-ona:** a una mezcla de 3-metoxibencenotiol (24 g, 28,5 mmol) en PPA (200 g) se añadió acetoacetato de etilo (22,8 g, 28,5 mmol) a la temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. Después, la mezcla de reacción se calentó a 110 °C durante 5 h con agitación vigorosa y se vertió en agua helada (100 ml). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (500 ml x 3). La fase orgánica combinada se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró, después se purificó mediante una columna de gel de sílice (PE / EtOAc = 10/1) para proporcionar el producto deseado (2 g, 4 %) en forma de un sólido de color amarillo.

35 **Etapa 2: síntesis de 3-yodo-7-metoxi-2-metil-4H-tiocromen-4-ona:** a una solución de 7-metoxi-2-metil-4H-tiocromen-4-ona (500 mg, 2,42 mmol) y yodo (620 mg, 2,42 mmol) en acetonitrilo anhidro (10 ml) se añadió CAN (1,5 g, 2,70 mmol) a la temperatura ambiente. Después, la mezcla se agitó durante 5 h en una atmósfera de nitrógeno. Los volátiles se evaporaron a vacío y el residuo se repartió entre acetato de etilo (20 ml) y Na₂S₂O₃ saturado (20 ml). La fase orgánica se separó, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró para obtener un sólido de color amarillo, que se recristalizó en metanol (5 ml) para proporcionar el Intermedio G (620 mg, 77 %) en forma de un sólido de color amarillo claro. RMN ¹H (CDCl₃ 500 MHz): δ 8,46 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,09 (dd, J = 2,5, 9,5 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 3,90 (s, 3H), 2,61 (s, 3H).

Intermedio H: 5-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil)tiofen-3-carboxilato de metilo

50 **Etapa 1: síntesis del 2-(4-bromotiofen-2-il) acetato de metilo:** a una solución de 2-(tiofen-2-il) acetato de metilo (5 g, 32 mmol) y AlCl₃ anhidro (10,7 g, 80 mmol) en CHCl₃ (50 ml) se añadió gota a gota bromo (1,8 ml, 34 mmol) a 0 - 5 °C durante 30 min. Cuando se completó la adición, la mezcla se dejó calentar hasta la temperatura ambiente durante una noche. Después, se vertió en agua helada (50 ml), se extrajo con EtOAc (30 ml x 3). La fase orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. La purificación mediante una cromatografía en columna (PE / EtOAc = 10/1) dio el producto (3,1 g, 41 %) en forma de un aceite de color amarillo claro.

55 **Etapa 2: síntesis de 5-(2-metoxi-2-oxoetil)tiofen-3-carboxilato de metilo:** a una solución del producto anterior (3,1 g, 13,4 mmol) en MeOH (110 ml) se añadió TEA (10 ml, 67,0 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (976 mg, 1,4 mmol) y la mezcla resultante se calentó a 120 °C bajo CO (4 MPa) durante 20 horas. Se concentró y el residuo se repartió entre acetato de etilo (50 ml) y HCl 1 N (20 ml). La fase orgánica se separó, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró para dar el producto.

60 **Etapa 3: síntesis del ácido 2-(4-(metoxicarbonil)tiofen-2-il) acético:** a una solución del producto anterior (2,8 g, 13,1 mmol) en THF / H₂O (15/15 ml) se añadió hidróxido de litio monohidratado (490 mg, 11,7 mmol) en 3 porciones a la temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 2 días y se extrajo con PE (10 ml). La fase acuosa se separó, se acidificó a pH = 5 con HCl 1 N, se extrajo con EtOAc (30 ml x 3). La fase orgánica combinada se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró para dar el producto en bruto.

65

Etapa 4: síntesis del Intermedio H: a una mezcla del producto anterior (450 mg, 2,3 mol) y resorcinol (248 mg, 2,3 mol) se añadió $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ (2 ml) y la mezcla se agitó a 95 °C durante una noche. La mezcla se vertió en carbonato de sodio saturado (10 ml) hasta pH = 10 y se extrajo con acetato de etilo (20 ml x 3). La fase orgánica combinada se separó, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró para dar un aceite de color amarillo, que se purificó mediante una cromatografía en columna (PE / EtOAc = 3/1) para proporcionar el Intermedio H en forma de un sólido de color amarillo (95 mg, 15 %). EM (ESI): m/z 292,9 [M + 1]⁺.

Intermedio I: 4-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil)-3-fluorobenzoato de metilo

Etapa 1: síntesis del 3-fluoro-4-metilbenzoato de metilo: se calentó a reflujo una solución de ácido 3-fluoro-4-metilbenzoico (20 g, 130 mmol) en cloruro de tionilo (80 ml) durante 2 h (la TLC mostró que ya no queda material de partida) y los volátiles se evaporaron. Al residuo se añadió gota a gota MeOH (100 ml) a 0 °C con agitación. La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 1 horas. La reacción se concentró y se diluyó con EtOAc y se lavó con salmuera. La capa orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó para proporcionar el producto en forma de un sólido de color blanco y se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional (21 g, 96 %).

Etapa 2: síntesis del 4-(bromometil)-3-fluorobenzoato de metilo: a una solución del producto anterior (21 g, 125 mmol) en CCl_4 (200 ml) se añadió una mezcla de NBS (20 g, 113 mmol) y peróxido de benzoilo (1,5 g, 6 mmol). La solución resultante se puso a reflujo durante 5 horas. Después el disolvente se evaporó y el residuo se disolvió en DCM (300 ml) y se lavó con H_2O (200 ml x 3). La capa orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó para dar el producto en bruto en forma de un aceite incoloro (18 g, 64,7 %).

Etapa 3: síntesis del 4-(cianometil)-3-fluorobenzoato de metilo: a una solución de 4-(bromometil)-3-fluorobenzoato de metilo (18 g, 73 mmol) en MeOH (150 ml) se añadió la solución de NaCN (7,2 g, 146 mmol) en H_2O (40 ml). La mezcla se agitó a 65 °C durante 5 horas. La mayor parte del MeOH se evaporó y se añadió agua adicional, y se extrajo con EtOAc (200 ml x 3), se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó para dar el producto en bruto. La purificación mediante una cromatografía en columna (PE / EtOAc = desde 50/1 hasta 10/1) dio el producto (8 g, 63,8 %).

Etapa 4: síntesis del 4-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil)-3-fluorobenzoato de metilo: una solución de 4-(cianometil)-3-fluorobenzoato de metilo (8 g, 41 mmol) y resorcinol (6,8 g, 62 mmol) en $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ (100 ml) se burbujó con HCl a 0 °C durante 15 min. La mezcla se agitó a 75 °C durante 16 horas. Después se añadió H_2O (100 ml) y la solución se calentó a 95 °C durante 16 horas. La mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente y se neutralizó con Na_2CO_3 y se extrajo con EtOAc (100 ml x 3). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se evaporaron para dar el producto en bruto. La purificación mediante una cromatografía en columna (PE / EtOAc = desde 10/1 hasta 3/1) dio el Intermedio I en forma de un sólido de color blanco (6 g, 48 %).

Intermedio J: 4-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil)-3-metilbenzoato de metilo

Etapa 1: síntesis del 4-(2-etoxi-2-oxoetil)-3-metilbenzoato de metilo: se mezclaron 4-bromo-3-metilbenzoato de metilo (1,5 g, 6,55 mmol), 3-oxobutanoato de metilo (0,99 g, 8,51 mmol) y K_3PO_4 (4,17 g, 19,6 mmol) con $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (15 mg) y di-terc-butil(2'-metil-[1,1'-bifenil]-2-il) fosfina (39 mg) y se diluyeron con tolueno (25 ml). La mezcla resultante simplemente se desgasificó a vacío y se cargó con argón. Después se calentó a 90 °C durante 24 h y a 110 °C durante 5 horas. Después de una preparación acuosa con EtOAc, el producto deseado, el 4-(2-etoxi-2-oxoetil)-3-metilbenzoato de metilo, se aisló mediante una cromatografía en columna, eluyendo con EtOAc / Hexano (1/3), en forma de un aceite (366 mg, 25 %).

Etapa 2: síntesis del ácido 2-(4-(metoxicarbonil)-2-metilfenil) acético: se suspendió 4-(2-etoxi-2-oxoetil)-3-metilbenzoato de metilo (366 mg) en MeOH (10 ml) y H_2O (2 ml) y se trató con LiOH (48 mg) durante 3 días. Después la mezcla de reacción se acidificó con HCl 1 N, el producto se extrajo con EtOAc. La evaporación y el secado a vacío proporcionaron el producto deseado (295 mg).

Etapa 3: síntesis del Intermedio J: se trató el ácido 2-(4-(metoxicarbonil)-2-metilfenil) acético (295 mg) con resorcinol (190 mg) en $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$ a 90 °C durante una noche. Después de una preparación acuosa con acetato de etilo y una purificación en columna, se aisló el producto deseado (296 mg) en forma de un aceite.

Intermedio K: 4-(2-(2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil) benzonitrilo

Síntesis: se agitó una mezcla de 2-(4-bromofenil)-1-(2,4-dihidroxifenil) etanona (Etapa 1, Intermedio D) (5 g, 16,3 mmol) y CuCN (5,8 g, 65,4 mmol) en DMF (50 ml) a 150 °C durante 6 h bajo la protección de nitrógeno. Se añadió agua (100 ml) y EtOAc (100 ml) a la mezcla. El precipitado se eliminó mediante filtración y el filtrado se lavó con salmuera (100 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para dar un aceite de color negro, que se purificó mediante una Combiflash (PE / EtOAc = 3/1) para proporcionar el Intermedio K en forma de un polvo de color amarillo (1,5 g, 36,6 %).

Intermedio L: 4-(2-(3-fluoro-2,4-dihidroxifenil)-2-oxoetil) benzoato de metilo

El Intermedio L puede ser preparado siguiendo el procedimiento descrito para el Intermedio K, Etapa 3, partiendo del ácido 2-(4-(metoxicarbonil)fenil) acético (su síntesis se describe en el documento PCT/US2010/024035) y de 2-fluorobencen-1,3-diol (disponible comercialmente).

Ejemplo 26: ensayos de la GSNOR

Se ensayaron varios compuestos *in vitro* para comprobar su capacidad para inhibir la actividad de la GSNOR. Los compuestos inhibidores de la GSNOR de los Ejemplos 1 - 22 tenían una CI_{50} de aproximadamente $< 1 \mu M$. Los compuestos inhibidores de la GSNOR de los Ejemplos 1 - 3, 5 - 6, 8 - 9, 11 - 12, 14, 16 - 22 tenían una CI_{50} de aproximadamente menos de $0,1 \mu M$.

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 siembras de una reserva de GSNOR glicerol en medio 2XYT que contiene $100 \mu g/ml$ de ampicilina después de una incubación durante una noche a $37^\circ C$. Después las células se añadieron a 2XYT reciente (4 l) que contiene ampicilina y se cultivaron hasta una DO (A_{600}) de 0,6 - 0,9 a $37^\circ C$ antes de la inducción. La expresión de la GSNOR se indujo con un 0,1 % de arabinosa en una incubación durante una noche a $20^\circ C$.

Purificación de la GSNOR: se lisó una pasta de *E. coli* mediante una cavitación con nitrógeno y el lisado clarificado se purificó mediante una cromatografía de afinidad de Ni en una FPLC AKTA (Amersham Pharmacia). La columna se eluyó con Tris 20 mM a pH 8,0 / NaCl 250 mM con un gradiente de 0 - 500 mM de imidazol. Las fracciones eluidas de la GSNOR que contienen la fusión Smt-GSNOR se digirieron durante una noche con Ulp-1 a $4^\circ C$ para eliminar la etiqueta de afinidad, después se analizaron de nuevo en la columna de Ni en las mismas condiciones. La GSNOR se recuperó a partir de la fracción del flujo a través y mediante una cristalografía, y se purificó adicionalmente mediante una cromatografía con flujo a través de Q-Sepharose y Heparina en Tris 20 mM a pH 8,0, DTT 1 mM, $ZnSO_4$ $10 \mu M$.

Ensayo de la GSNOR: las soluciones de GSNO y de enzima / NADH son recién elaboradas cada día. Las soluciones se filtran y se dejan calentar hasta la temperatura ambiente. Solución de GSNO: $NaPO_4$ 100 mM (pH 7,4), GSNO 0,480 mM. Se añaden 396 μl de la solución de GSNO a una cubeta, seguido de 8 μl del compuesto de ensayo en DMSO (o en DMSO únicamente para controlar completamente la reacción) y se mezclan con la punta de la pipeta. Los compuestos que se van a ensayar se completan hasta una concentración madre de 10 mM en DMSO al 100 %. Se llevan a cabo diluciones sucesivas duplicadas en DMSO al 100 %. Se añaden 8 μl de cada dilución a un ensayo, de forma que la concentración final de DMSO en el ensayo es del 1 %. Las concentraciones de los compuestos ensayados variaban entre 100 y $0,003 \mu M$. Solución de enzima / NADH: $NaPO_4$ 100 mM (a pH 7,4), NADH 0,600 mM, $1,0 \mu g/ml$ de reductasa GSNO. Se añaden 396 μl de la solución de enzima / NADH a la cubeta para iniciar la reacción. La cubeta se coloca en el espectrofotómetro de UV / Visible Cary 3E y se registra el cambio en la absorbancia a 340 nm / min a $25^\circ C$ durante 3 minutos. Los ensayos se llevan a cabo por triplicado para cada concentración de compuesto. La CI_{50} de cada compuesto se calcula mediante el uso del análisis de la curva estándar con el Enzyme Kinetics Module de SigmaPlot.

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

Ejemplo 27: eficacia de los GSNORi en asma experimental**Modelo de asma experimental:**

Se usó un modelo de ratón de asma inducido por ovoalbúmina (OVA) para cribar los inhibidores de la GSNOR para comprobar su eficacia frente a una broncoconstricción / hiperreactividad de las vías aéreas inducida por metacolina (MCh). Este es un modelo ampliamente usado y bien caracterizado que se presenta con un fenotipo de asma alérgico agudo con similitudes con el asma en seres humanos. La eficacia de los inhibidores de la GSNOR fue evaluada mediante el uso de un protocolo en el que se administraron los inhibidores de la GSNOR después de una sensibilización con OVA y una exposición en las vías aéreas y antes de la exposición a la MCh. Se evaluó la broncoconstricción en respuesta a la exposición con dosis crecientes de MCh mediante el uso de una pletismografía de cuerpo completo (P_{enh} ; Buxco). También se determinó la cantidad de infiltrado eosinófilo en el líquido de lavado broncoaveolar (BALF) como una medida de la inflamación pulmonar. Los efectos de los inhibidores de la GSNOR se compararon con los vehículos y con Combivent (inhalado; IH) como control positivo.

Materiales y métodosSensibilización a alérgenos y protocolo de exposición

5 Se mezcló OVA (500 µg/ml) en PBS con unos volúmenes iguales de sulfato de potasio y aluminio al 10 % (p/v) en agua destilada y se incubó durante 60 min a la temperatura ambiente después de ajustar a un pH de 6,5 mediante el uso de NaOH 10 N. Después de una centrifugación a 750 x g durante 5 min, el sedimento de OVA / alum se resuspendió hasta el volumen original con agua destilada. Los ratones recibieron una inyección intraperitoneal (IP) de 100 µg de OVA (0,2 ml de 500 µg/ml en suero salino normal) complejada con alum el día 0. Los ratones fueron
10 anestesiados mediante una inyección IP de 0,2 ml de una mezcla de ketamina y xilazina (0,44 y 6,3 mg/ml, respectivamente) en suero salino normal y se colocaron sobre una tabla en posición supina. Se colocaron 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) OVA (los días 15, 18 y 21) en la parte posterior de la lengua de cada animal.

15 Ensayo de la función pulmonar (Penh)

Se midió la reactividad a la metacolina de las vías aéreas *in vivo* 24 h después de la última exposición a OVA en ratones con respiración espontánea conscientes con libertad de movimiento con una pletismografía de cuerpo completo mediante el uso de una cámara Buxco (Wilmington, NC). Los ratones fueron expuestos a solución salina aerosolizada o a dosis crecientes de metacolina (5, 20 y 50 mg/ml) generadas por un nebulizador ultrasónico durante 2 min. El grado de broncoconstricción fue expresado como un aumento en la pausa (P_{enh}), un valor adimensional calculado, que se correlaciona con la medición de la resistencia de las vías aéreas, la impedancia y la presión intrapleural en el mismo ratón. Se tomaron las lecturas de la P_{enh} y se promediaron durante 4 min después de cada exposición por nebulización. La P_{enh} se calcula como sigue: $P_{enh} = [(T_e / T_r - 1) \times (PEF / PIF)]$, en la que T_e es el tiempo de espiración, T_r es el tiempo de relajación, PEF es el pico de flujo espiratorio y PIF es el pico de flujo inspiratorio x un coeficiente de 0,67. El tiempo que tarda la presión de la caja en cambiar desde un máximo hasta el porcentaje definido por el usuario del máximo representativo de relajación. La medición del T_r comienza en la presión máxima de la caja y finaliza al 40 %.

30 Infiltrado eosinófilo en el BALF

Después de la medición de la hiperreactividad de las vías aéreas, los ratones fueron exanguinados mediante una punción cardiaca y después se recogió el BALF de cualquiera de los pulmones o del pulmón derecho después de clampar el pulmón izquierdo en el bronquio principal. Se contaron las células totales del BALF a partir de una alícuota de 0,05 ml y el resto del fluido se centrifugó a 200 x g durante 10 min a 4 °C. Los sedimentos celulares se resuspendieron en solución salina que contenía un 10 % de BSA, realizándose los frotis sobre portaobjetos de vidrio. Los eosinófilos se tiñeron durante 5 min con eosina acuosa al 0,05 % y acetona al 5 % en agua destilada, se aclararon con agua destilada y se contratiñeron con azul de metileno al 0,07 %. Como alternativa, los eosinófilos y otros leucocitos se tiñeron con DiffQuik.

40 Inhibidores de la GSNOR y controles

Los inhibidores de la GSNOR se reconstituyeron con solución salina tamponada con fosfato (PBS), a pH 7,4, o con un 0,5 % p/v de carboximetil celulosa a unas concentraciones que varían desde 0,00005 hasta 3 mg/ml. Los inhibidores de la GSNOR fueron administrados a los ratones (10 ml/kg) en forma de una única dosis o de múltiples dosis bien por vía intravenosa (IV) o bien a través de una sonda oral. La dosificación se llevó a cabo desde los 30 min hasta las 72 h antes de la exposición a la MCh. Se compararon los efectos de los inhibidores de la GSNOR con los del vehículo dosificado de la misma forma.

50 Se usó Combivent como control positivo en todos los estudios. El Combivent (Boehringer Ingelheim) fue administrado en el pulmón mediante el uso del dispositivo inhalador proporcionado con el producto, pero adaptado para su administración a ratones, mediante el uso de una punta de pipeta. El Combivent fue administrado 48 horas, 24 horas y 1 h antes de la exposición a la MCh. Cada puff (o dosis) de Combivent proporciona una dosis de 18 µg de bromuro de ipatropio (IpBr) y 103 µg de sulfato de albuterol o aproximadamente 0,9 mg/kg de IpBr y 5 mg/kg de albuterol.

Análisis estadísticos

60 Se calcularon los valores del área bajo la curva para la P_{enh} en el momento inicial, para la solución salina y para la exposición a las dosis crecientes de MCh mediante el uso de GraphPad Prism 5,0 (San Diego, CA) y se expresaron como un porcentaje del respectivo control de vehículo (administrado por vía IV u oral). Se calcularon las diferencias estadísticas entre los grupos de tratamiento y el respectivo grupo de control con vehículo en cada estudio mediante el uso de un ANOVA monofactorial, de una prueba de Dunnetts o de Bonferroni post-hoc o de la t (JMP 8,0, SAS Institute, Cary, NC o Microsoft Excel). Un valor de p de < 0,05 entre los grupos de tratamiento y el respectivo grupo de control con vehículo se consideró significativamente diferente.

Resultados

5 En el modelo de asma por OVA, el compuesto del Ejemplo 3 disminuyó el AUC para la Penh ($p < 0,05$) y la infiltración de eosinófilos en el BALF en un 43 % y en un 42 %, respectivamente, con respecto al control de vehículo cuando se administró a través de una única dosis oral de 10 mg/kg 24 h antes de la evaluación. En otro estudio, el compuesto del Ejemplo 3 disminuyó la infiltración de eosinófilos en el BALF en un 12 % con respecto al control de vehículo cuando se administró a través de tres dosis orales de 10 mg/kg 48 horas, 24 horas y 1 h antes de la evaluación.

10 En el modelo de asma por OVA, el compuesto del Ejemplo 1 disminuyó el AUC para la Penh ($p < 0,05$) y la infiltración de eosinófilos en el BALF entre un 20 % y un 39 % y entre un 0 % y un 31 %, respectivamente, con respecto al control de vehículo cuando se administró a través de una única dosis oral de 10 mg/kg 24 h antes de la evaluación. El compuesto del Ejemplo 1 disminuyó significativamente el AUC para la Penh en un 39 % con respecto al control de vehículo cuando se administró a través de una única dosis IV de 10 mg/kg 24 h antes de la evaluación.

15 En el modelo de asma por OVA, el compuesto del Ejemplo 9 disminuyó significativamente el AUC para la Penh y la infiltración de eosinófilos en el BALF en un 18 % y en un 82 %, respectivamente, con respecto al control de vehículo cuando se administró a través de una única dosis oral de 10 mg/kg 24 h antes de la evaluación.

20 En el modelo de asma por OVA, el compuesto del Ejemplo 16 disminuyó significativamente ($p < 0,05$) la infiltración de eosinófilos en el BAL en un 36 % con respecto al control de vehículo cuando se administró a través de tres dosis orales de 10 mg/kg 48 horas, 24 horas y 1 h antes de la evaluación.

Ejemplo 28: estudio farmacocinético (PK) en ratón

25 Modelo experimental

Se usó el ratón para la determinación de la farmacocinética de los compuestos de la invención. Esta especie es ampliamente usada para la evaluación de 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 macho a través de una administración por vía IV o PO en los momentos de picos de actividad.

Materiales y métodos

35 Administración IV de los compuestos de la invención

Los compuestos de la invención se reconstituyeron en una solución transparente de solución salina tamponada con fosfato (PBS) / Solutol al 10 % (HS 15) dando como resultado una concentración de 0,2 mg/ml y administrándose a los ratones (2 mg/kg) en forma de una única dosis IV. Los animales fueron inyectados a través de la vena lateral de la cola. Se recogieron muestras sanguíneas en los puntos temporales designados (a las 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, 24 horas) mediante una punción cardíaca bajo anestesia con isoflurano (hasta 1 ml de sangre por animal). La sangre se recogió en tubos que contenían Li-Heparina. Las muestras sanguíneas se mantuvieron en hielo hasta su centrifugación aproximadamente 30 minutos después de la recolección. El plasma se transfirió a tubos de polipropileno marcados y se congeló a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis mediante una CL / EM / EM.

Administración PO de los compuestos de la invención

50 Los compuestos de la invención se reconstituyeron en una solución transparente de propilenglicol al 40 % / carbonato de propileno al 40 % / 20 % de sacarosa al 5 % dando como resultado una concentración de 2 mg/ml y administrándose a los ratones (10 mg/kg) en forma de una única dosis oral a través de una sonda. Las muestras sanguíneas se recogieron a las 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 y 24 horas después de la dosis mediante una punción cardíaca bajo anestesia con isoflurano. La sangre se recogió en tubos que contenían Li-Heparina. Las muestras sanguíneas se mantuvieron en hielo hasta su centrifugación aproximadamente 30 minutos después de la recolección. El plasma se transfirió a tubos de polipropileno marcados y se congeló a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis mediante una CL / EM / EM.

Análisis mediante una CL / EM / EM

60 Las muestras de plasma de cada punto temporal fueron analizadas mediante el uso de una CL-EM / EM con un límite de cuantificación inferior (LLOQ) de 1 ng/ml. Se analizó el plasma para determinar la cantidad de compuesto de la invención en cada muestra y las curvas de regresión generadas para cada uno de los compuestos de la invención en las pertinentes matrices.

65 Se usó un análisis de WinNonlin para el cálculo de los parámetros PK para ambas administraciones IV y PO:

parámetros PK para la porción IV - AUC_{last}; AUC_{INF}; T1/2; Cl; V_{ss}; C_{máx}; MRT
 parámetros PK para la porción PO - AUC_{last}; AUC_{INF}; T1/2; C_{máx}; Cl, MRT.

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

5

Resultados:

Los compuestos de los Ejemplos 1, 3, 9 y 12 tenían una biodisponibilidad oral de aproximadamente el 4 - 41 %. El compuesto del ejemplo 16 tenía una biodisponibilidad oral de aproximadamente el 44 %. Un compuesto de comparación, el ácido 4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) benzoico (véase el documento PCT/US2010/024035) tenía una biodisponibilidad oral de aproximadamente el 17 %. El compuesto de comparación es eliminado (Cl) aproximadamente tres veces más rápido que el Ejemplo 16.

10

15

Ejemplo 29: eficacia de los inhibidores de la GSNOR en una enfermedad inflamatoria del intestino (EII) experimental

Descripción general de los modelos:

Se usaron unos modelos agudo y crónico de EII inducida por sulfato sódico de dextrano (DSS) en ratones para explorar la eficacia de los GSNORi frente a esta enfermedad. La EII aguda y crónica inducida por DSS son unos modelos ampliamente usados y bien caracterizados que inducen unos cambios patológicos en el colon similares a los observados en la enfermedad humana. En estos modelos y en la enfermedad humana, las células epiteliales de las criptas del colon están desestabilizadas, produciendo una disfunción de la barrera epitelial y la consiguiente inflamación del tejido, edema y ulceración. La terapia con los GSNORi puede beneficiar a la EII al restaurar los niveles de s-nitrosoglutatión (GSNO) y por lo tanto, prevenir o revertir la disfunción de la barrera epitelial.

20

25

Modelo profiláctico agudo:

Se indujo una EII experimental mediante la administración de DSS en el agua de bebida de ratones C57B1/6 macho (N = desde 8 hasta 10 ratones por grupo) durante 6 días consecutivos. El GSNORi fue administrado por vía oral a unas dosis de desde 0,1 hasta 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 se evaluó el efecto del GSNORi con enmascaramiento a través de una endoscopia y de una histopatología mediante el uso de una escala de cinco puntos que varía desde una puntuación = 0 (tejido normal) hasta una puntuación = 4 (lesión ulcerativa del tejido y notables cambios patológicos). También se evaluaron los niveles de las citocinas circulantes implicadas en las rutas inflamatorias. Se comparó el efecto del GSNORi con los controles tratados con vehículo. Se usó el corticosteroide prednisolona como control positivo en este estudio, y fue administrado diariamente a una dosis oral de 3 mg/kg/día. También se evaluaron los ratones sin exposición (N = 5) como tejido normal de control.

30

35

40

Modelo de tratamiento crónico:

Se indujo una EII experimental mediante la administración de DSS en el agua de bebida de ratones C57B1/6 macho (N = desde 10 hasta 12 ratones por grupo) durante 6 días consecutivos. El GSNORi fue administrado por vía oral a unas dosis de desde 0,1 hasta 10 mg/kg/día durante 14 días comenzando un día después del cese de la exposición al DSS. La eficacia del GSNORi fue evaluada con enmascaramiento a través de una endoscopia después de 7 días y de 14 días de la dosis del GSNORi, y a través de una histopatología después de 14 días de la dosis del GSNORi mediante el uso de una escala de cinco puntos que varía desde una puntuación = 0 (tejido normal) hasta una puntuación = 4 (lesión ulcerativa del tejido y notables cambios patológicos). También se evaluaron los niveles de las citocinas circulantes implicadas en las rutas inflamatorias. Se comparó el efecto del GSNORi con los controles tratados con vehículo. Se usó el corticosteroide prednisolona como control positivo en este estudio, y fue administrado diariamente a una dosis oral de 3 mg/kg/día. También se evaluaron los ratones sin exposición (N = 5) como tejido normal de control.

45

50

Resultados:

El compuesto del Ejemplo 3 atenuó las lesiones en el colon en un modelo de ratón de EII aguda inducida por DSS. El porcentaje de ratones que presentan unas puntuaciones de lesiones de colon graves a través de una evaluación mediante endoscopia disminuyó en un 38 % o en un 25 % con respecto al control de vehículo después de un tratamiento por vía oral con 0,1 o con 1 mg/kg/día, respectivamente, del compuesto del Ejemplo 3 durante 10 días consecutivos mediante el uso de un régimen de dosificación profiláctico. El porcentaje de ratones que presentan unas puntuaciones de lesiones de colon graves a través de una evaluación mediante patología disminuyó en un 12 % o en un 33 % con respecto al control de vehículo después de un tratamiento por vía oral con 0,1 o con 1 mg/kg/día, respectivamente, del compuesto del Ejemplo 3 durante 10 días.

60

El compuesto del Ejemplo 1 atenuó las lesiones en el colon en un modelo de ratón de EII aguda inducida por DSS. El porcentaje de ratones que presentan unas puntuaciones de lesiones de colon graves a través de una evaluación

65

mediante endoscopia o histopatología disminuyó en un 75 % o en un 17 %, respectivamente, con respecto al control de vehículo después de un tratamiento por vía oral con 10 mg/kg/día del compuesto del Ejemplo 1 durante 10 días consecutivos mediante el uso de un régimen de dosificación profiláctico.

- 5 El compuesto del Ejemplo 16 atenuó las lesiones en el colon en un modelo de ratón de EII aguda inducida por DSS. El porcentaje de ratones que presentan unas puntuaciones de lesiones de colon graves a través de una evaluación mediante endoscopia o histopatología disminuyó en un 58 % o en un 15 %, respectivamente, con respecto al control de vehículo después de un tratamiento por vía oral con el compuesto del Ejemplo 16 a 10 mg/kg/día durante 10 días consecutivos mediante el uso de un régimen de dosificación profiláctico.

10 **Ejemplo 30: eficacia de los inhibidores de la GSNOR en una enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) experimental**

15 Modelos de EPOC por humo de cigarrillo de corta duración

Se evaluó la eficacia de los inhibidores de la GSNOR en un modelo de ratón de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) inducida por una exposición de corta duración (de 4 días o de 11 días) a humo de cigarrillo. Se midió la infiltración de las células inflamatorias en el líquido de lavado broncoalveolar (BALF) y los niveles de quimiocinas en el BALF implicadas en la inflamación y en el recambio / reparación tisulares, para evaluar la influencia de los inhibidores de la GSNOR en algunos de los acontecimientos tempranos relacionados con el inicio y la progresión de la EPOC.

20 Descripción general de los modelos:

25 Se exploró la eficacia de los inhibidores de la GSNOR frente a una EPOC mediante el uso de un modelo agudo (4 días) y subcrónico (11 días) de EPOC inducida por humo de cigarrillo en ratones. La exposición de los animales al humo de cigarrillo proporciona un modelo de EPOC en el que la lesión es inducida por el mismo agente causal que en la enfermedad humana, y en el que la lesión muestra similitudes con la enfermedad humana, incluyendo una obstrucción de las vías aéreas, un aumento del espacio aéreo y una implicación de las respuestas inflamatorias en estas patologías. En los modelos animales, los cambios en la patología pulmonar sólo son evidentes después de una duración prolongada (de varios meses) de exposición al humo de cigarrillo, lo que hace que los modelos crónicos no sean viables como herramientas de cribado eficaces. Más recientemente, se han utilizado modelos de exploración de las respuestas inflamatorias después de una corta duración (de 2 semanas o menos) de exposición al humo en ratones como herramientas para el cribado de la eficacia de los mecanismos de acción de los nuevos agentes terapéuticos frente a la EPOC. Los papeles clave de la inflamación en el inicio y la progresión de la EPOC hacen que estos modelos de corta duración sean pertinentes para los ensayos iniciales de eficacia de nuevos agentes terapéuticos.

40 Modelo agudo de exposición al humo (4 días): se expusieron ratones C57B1/6 hembra (N = 8 por grupo) al humo de cigarrillo mediante el uso de una cámara de exposición de cuerpo completo. Los ratones se expusieron diariamente durante 4 días consecutivos a 4 ciclos de humo de 6 cigarrillos consecutivos (Kentucky 3R4F sin filtro) con un intervalo libre de humo de 30 minutos entre los ciclos. Los inhibidores de la GSNOR fueron administrados diariamente a través de una dosis oral de 10 mg/kg/día durante 7 días, 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 total células, de leucocitos y de leucocitos diferenciales en el BALF a través de un microscopio óptico, y los niveles de quimiocinas en el BALF a través de un 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. Se usó el inhibidor de la PDE4, roflumilast, como control positivo para el estudio. Se expuso un grupo de ratones sin exposición (N = 8) al aire y se usó como control negativo para el estudio.

50 Modelo subcrónico de exposición al humo (11 días): se expusieron ratones C57B1/6 hembra (N = 10 por grupo) al humo de cigarrillo generado por 100 cigarrillos Marlboro sin filtro. Los tiempos de exposición fueron de 25 min en el día de estudio 1, de 35 min en el día de estudio 2 y de 45 min en los días de estudio 3 hasta 11. Los inhibidores de la GSNOR fueron administrados una hora antes de la exposición al humo cada día. Los inhibidores de la GSNOR se administraron por vía oral a entre 1 y 10 mg/kg/día durante 11 días. Los efectos de los inhibidores de la GSNOR se evaluaron mediante la cuantificación del número de total células y de leucocitos diferenciales en el BALF a través de un microscopio óptico 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 el porcentaje de inhibición del aumento inducido por el humo de cigarrillo en el número de células del BALF. Se usó roflumilast como control positivo para el estudio y se administró a 5 mg/kg/día. Se expuso un grupo de ratones sin exposición (N = 10) al aire y se le administró vehículo como control negativo para el estudio.

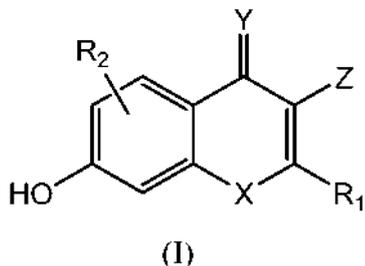
60 Resultados:

65 El compuesto del Ejemplo 3 atenuó los cambios inducidos por el humo en el infiltrado celular del BALF y en las quimiocinas inflamatorias del BALF. El Ejemplo 3 inhibió completamente (100 %) y significativamente ($p < 0,05$) el

- aumento inducido por el humo en las células totales, los leucocitos, los macrófagos, los neutrófilos y los eosinófilos del BALF en comparación con los controles tratados con vehículo cuando se administraban por vía oral a 10 mg/kg/día durante 7 días en el modelo agudo de humo de 4 días. Estos efectos del Ejemplo 3 eran comparables o mayores a los observados para el roflumilast. El Ejemplo 3 también restauró las quimiocinas del BALF hasta los niveles observados en los ratones sin exposición. En el modelo subcrónico de 11 días, el compuesto del Ejemplo 3 inhibió el aumento inducido por el humo en las células totales ($p < 0,05$), en los macrófagos ($p < 0,05$), en los neutrófilos, en los eosinófilos y en los linfocitos del BALF en un 26 %, en un 28 %, en un 25 %, en un 57 % y en un 24 %, respectivamente, cuando se administraban por vía oral a 10 mg/kg/día durante 11 días.
- 5
- 10 El compuesto del Ejemplo 16 inhibió significativamente ($p < 0,05$) el aumento inducido por el humo en las células totales, en los macrófagos, en los neutrófilos y en los linfocitos del BAL en un 53 %, en un 44 %, en un 68 % y en un 62 %, respectivamente, cuando se administraban por vía oral a 1 mg/kg/día durante 11 días en el modelo subcrónico de 11 días. Los efectos del Ejemplo 16 eran comparables a los del roflumilast.
- 15 Para los expertos en la técnica será evidente que pueden realizarse diversas modificaciones y variaciones en los métodos y en las composiciones de la presente invención sin desviarse del ámbito de la invención.

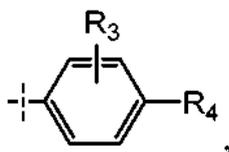
REIVINDICACIONES

1. El compuesto de fórmula (I)

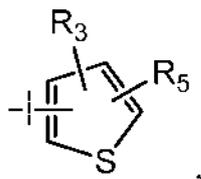


5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

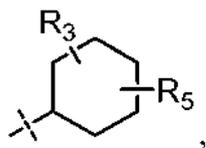
X se selecciona de entre el grupo que consiste en O y S;
 Y se selecciona de entre el grupo que consiste en O y S;
 10 Z se selecciona de entre el grupo que consiste en Z₁, Z₂, Z₃ y Z₄, en donde Z₁ es



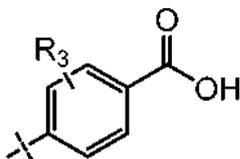
Z₂ es



15 Z₃ es



y Z₄ es



20 con la condición de que Z únicamente es Z₄ cuando al menos uno de X o Y es S;
 R₁ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₇), haloalquilo (C₁-C₆), arilalquilo (C₁-C₄) no sustituido, arilalquilo (C₁-C₆) sustituido, heteroalquilo (C₁-C₆), arilo sustituido o no sustituido y heteroarilo sustituido o no sustituido;
 25 R₂ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano y alcoxi (C₁-C₆);
 R₃ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo (C₁-C₆), haloalquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), ciano y N,N-dimetilamino;
 R₄ se selecciona de entre el grupo que consiste en tetrazol, oxadiazolona, tiadiazolona, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo; y
 30 R₅ se selecciona de entre el grupo que consiste en carboxi, tetrazol, oxadiazolona, tiadiazolona, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo.

2. El compuesto o la sal de la reivindicación 1 en los que
 R₄ se selecciona de entre el grupo que consiste en tetrazol, 1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona-5-ilo, 1,3,4-tiadiazol-2(3H)-ona-5-ilo, 1,2,4-tiadiazol-3(2H)-ona-5-ilo, 1,2,4-oxadiazol-3(2H)-ona-5-ilo, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo; y
- 5 R₅ se selecciona de entre el grupo que consiste en carboxi, tetrazol, 1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona-5-ilo, 1,3,4-tiadiazol-2(3H)-ona-5-ilo, 1,2,4-tiadiazol-3(2H)-ona-5-ilo, 1,2,4-oxadiazol-3(2H)-ona-5-ilo, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo.
3. El compuesto o la sal de la reivindicación 1 en los que
 R₁ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, CF₃, CF₂H, CF₂CH₃, CF₂CH₂CH₃, metilo, isopropilo, isobutilo, ciclopentilo, CH₂OCH₃, SCH₃, bencilo, 4-carboxibencilo, tiofen-2-ilo y tiofen-3-ilo;
 R₂ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, flúor, cloro, metoxi y ciano; y
 R₃ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, flúor, cloro, metilo, CF₃, metoxi, ciano y N,N-dimetilamino.
- 10 15
4. El compuesto o la sal de la reivindicación 1 en los que R₁ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, CF₃, CF₂H, metilo y 4-carboxibencilo;
 R₂ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno y flúor;
 R₃ se selecciona de entre el grupo que consiste en hidrógeno, flúor, cloro y metilo;
- 20 R₄ se selecciona de entre el grupo que consiste en tetrazol, 1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona-5-ilo, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo; y
 R₅ se selecciona de entre el grupo que consiste en carboxi, tetrazol, 1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5(4H)-ona-3-ilo, 1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona-5-ilo, metilsulfonilcarbamoilo y N-hidroxicarbamoilo.
- 25 5. El compuesto de la reivindicación 1 seleccionado de entre el grupo que consiste en
- 3-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-2-(trifluorometil)-4H-cromen-4-ona;
 ácido 5-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)tiofen-2-carboxílico;
 ácido (trans)-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)ciclohexanocarboxílico;
 30 ácido (cis)-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il) ciclohexanocarboxílico;
 3-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-2-(difluorometil)-7-hidroxi-4H-cromen-4-ona;
 3-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-2-metil-4H-cromen-4-ona;
 ácido 4-(2-(4-carboxibencil)-7-hidroxi-4-oxo-4H-tiocromen-3-il) benzoico;
 ácido 4-(7-hidroxi-2-metil-4-oxo-4H-tiocromen-3-il)benzoico;
- 35 3-(4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona;
 4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)-N-(metilsulfonilo)benzamida;
 3-(4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)fenil)-1,2,4-tiadiazol-5(4H)-ona;
 3-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-2-metil-4H-tiocromen-4-ona;
 ácido 5-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)tiofen-3-carboxílico;
- 40 3-((trans)-4-(1H-tetrazol-5-il)ciclohexil)-7-hidroxi-2-(trifluorometil)-4H-cromen-4-ona;
 N-hidroxi-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)benzamida;
 3-(2-cloro-4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-2-(trifluorometil)-4H-cromen-4-ona;
 3-(3-cloro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona;
 3-(3-fluoro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)fenil)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona;
- 45 3-(3-cloro-4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-2-(trifluorometil)-4H-cromen-4-ona;
 3-(4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)-7-hidroxi-4H-cromen-4-ona; y
 5-(4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)fenil)-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ona,
- o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.
- 50 6. El compuesto ácido 3-fluoro-4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
7. El compuesto ácido 4-(7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)-3-metilbenzoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 55 8. El compuesto ácido 4-(8-fluoro-7-hidroxi-4-oxo-2-(trifluorometil)-4H-cromen-3-il)benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 60 9. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o de una sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores junto con un vehículo o un excipiente farmacéuticamente aceptados.
10. Un compuesto o una sal como se han definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o una composición farmacéutica como se ha definido en la reivindicación 9 para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad o de una afección.
- 65

11. Un método de elaboración de una composición farmacéutica como se ha definido en la reivindicación 9, método que comprende la combinación de un compuesto como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con un vehículo o un excipiente farmacéuticamente aceptables.
- 5 12. Un compuesto o una sal según como se han definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o una composición farmacéutica como se ha definido en la reivindicación 9 para su uso en un método de tratamiento del asma.
- 10 13. Un compuesto o una sal según como se han definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o una composición farmacéutica como se ha definido en la reivindicación 9 para su uso en un método de tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).
- 15 14. Un compuesto o una sal como se han definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o una composición farmacéutica como se ha definido en la reivindicación 9 para su uso en un método de tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino o de la fibrosis quística.
- 15 15. Uso de un compuesto o de una sal como se han definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o de una composición farmacéutica como se ha definido en la reivindicación 9 en la preparación de un medicamento para el tratamiento del asma, de la EPOC, de la enfermedad inflamatoria del intestino o de la fibrosis quística.