

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 567 135**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/4178** (2006.01)

**A61K 31/422** (2006.01)

**A61P 25/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.08.2004 E 10011481 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.01.2016 EP 2384753**

54 Título: **Derivados de hidantoína como inhibidores de necrosis celular**

30 Prioridad:

**29.08.2003 US 498882 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**20.04.2016**

73 Titular/es:

**THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC.  
(50.0%)  
75 Francis Street  
Boston, MA 02115, US y  
PRESIDENT AND FELLOWS OF HARVARD  
COLLEGE (50.0%)**

72 Inventor/es:

**CUNY, GREGORY, D.;  
YUAN, JUNYING;  
JAGTAP, PRAKASH y  
DEGTEREV, ALEXEI**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

**Observaciones :**

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

**ES 2 567 135 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

Derivados de hidantoína como inhibidores de necrosis celular

Investigación Federal Patrocinada

5 Esta invención se realizó con apoyo del gobierno bajo la concesión del Instituto Nacional de Salud No. GM-64703. El Gobierno puede tener determinados derechos sobre esta invención.

Información de prioridad

Esta solicitud reivindica el beneficio en virtud de 35 U.S. C. § 119(e) de fecha de presentación de la Solicitud Provisional Estadounidense No. 60/498,882, presentada el 29 de agosto de 2003.

Campo de la invención

10 La invención se relaciona con composiciones y métodos para prevenir y tratar enfermedades que implican muerte celular. En particular, la invención se relaciona con compuestos terapéuticos y compuestos para uso en métodos para tratar enfermedades neurológicas que implican muerte celular.

Antecedentes de la Invención

15 Las enfermedades neurológicas agudas y crónicas pueden ser provocadas por una serie de factores diferentes. Sin embargo, muchas de estas enfermedades se caracterizan por muerte celular en regiones específicas del sistema nervioso central.

20 Las enfermedades neurológicas son un grupo de enfermedades que afectan a una parte significativa de la población humana. Los impactos médicos y socioeconómicos de estas enfermedades son significativos. Aunque la etiología de cada enfermedad neurológica aguda y crónica es probablemente diferente, una característica común que muchas comparten es la muerte celular irreversible rápida o progresiva en regiones específicas del sistema nervioso central ((Standaert, D. G.; Young, A. B. In Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Tenth Edition; Hardman, J. G.; Limbird, L. E., Eds.; McGraw-Hill: New York, 2001; Chapter 22, pp 549 - 568; Mattson, M. P. Nature Rev. Mol. Cell. Biol. 2000, 1, 120 -129). Está emergiendo evidencia convincente de que la muerte celular de las neuronas ocurre en enfermedades neurológicas agudas, tales como apoplejía y trauma (Raghupathi, R.; Graham, D.I.; McIntosh, T.K. J. Neurotrauma 2000, 17(10), 927 - 38) y en enfermedades neurodegenerativas, tales como enfermedad de Parkinson - PD (Vila, M.; Wu, D. C.; Przedborski, S. Trends in Neuroscience 2001, 24(11), S49 - S55), enfermedad de Huntington HD (McMurry, C. T. Trends in Neuroscience 2001, 24(11), S32 - S38), esclerosis lateral amiotrófica - ALS ((Beckman, J. S.; Esteves, A. G.; Crow, J. P. Trends in Neuroscience 2001, 24(11), S15 - S20), y demencia asociada con virus de inmunodeficiencia humana HAD (Kaul, M.; Garden, G. W.; Lipton, S. A. Nature 2001, 410, 988 - 994). Los estudios también han sugerido que la muerte celular ocurre en enfermedad de Alzheimer AD (Eldadah, B. A.; Faden, A. I. J. Neurotrauma 2000, 17(10), 811 - 829). No obstante, las neuronas presentes en AD pueden ser crónicamente disfuncional, sin que necesariamente se active la muerte celular (Selkoe, D. J. Nature 1999, 399 (Suppl), A23 - A30).

25

30

35 La mayoría de los métodos actuales para desarrollar tratamientos para enfermedades neurológicas, tales como apoplejía, enfermedad de Parkinson (PD), enfermedad de Alzheimer (AD), esclerosis lateral amiotrófica (ALS), enfermedad de Huntington (HD), y la demencia asociada al VIH (HAD) se dirigen mecanismos que se asume por hipótesis están implicados en la fase de iniciación de la enfermedad. Por ejemplo, los métodos actuales implican utilizar compuestos que intentan inhibir el inicio de la toxicidad provocada por agregación de  $\alpha$ -sinucleína en PD, o agregación de  $\beta$ -amiloide, tau, y/o ApoE en AD, o agregación de proteína huntingtina en HD, o estrés oxidativo de las especies de oxígeno reactivas en ALS, o excitotoxinas extracelulares excesivas, tales como glutamato, en apoplejía o trauma. Un método alternativo es dirigir la maquinaria de muerte celular básica que se puede activar como resultado de una lesión celular. Los métodos actuales se dirigen hacia un proceso de muerte específica llamado apoptosis que implica cisteína proteasas llamadas caspasas. Sin embargo, una serie de estudios recientes establece que muchos paradigmas de muerte celular, especialmente aquellos asociados con neurodegeneración, implican mecanismos no apoptóticos/independientes de caspasa.

40

45

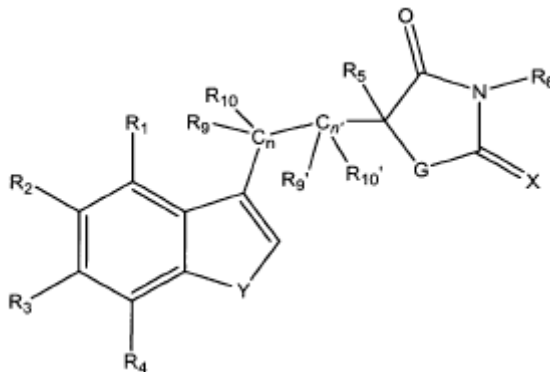
Por lo tanto, subsiste la necesidad en la técnica de composiciones y métodos para prevenir o tratar necrosis celular que incluye necrosis celular asociada con neurodegeneración.

El documento WO 01/28493 A2 describe derivados de la hidantoína y su uso para el tratamiento de enfermedades neurológicas.

50 Resumen de la invención

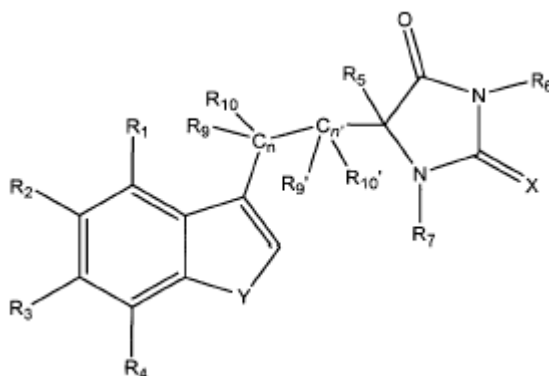
La presente invención proporciona compuestos y preparaciones farmacéuticas que son útiles para tratar trastornos asociados con necrosis celular.

De acuerdo con un aspecto de la invención, el compuesto tiene la fórmula:



- 5 una forma estereoisomérica del mismo, una sal de adición ácida o base farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X representa O; Y representa NR<sub>8</sub>; G representa o NR<sub>7</sub>; R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, y R<sub>3</sub> representan independientemente H, OH, OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, COOH, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>4</sub> representa independientemente OH, OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, COOH, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, metoxilo, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>5</sub> y R<sub>7</sub> representan independientemente H o alquilo que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>6</sub> representa alquilo que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>8</sub> representa alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, o alqueno que tiene menos de 12 carbonos, alquino que tiene menos de 12 carbonos; R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, R<sub>9</sub>', R<sub>10</sub>', representan independientemente H, F, Cl, Br, I, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, o un cicloalquilo de tres a seis miembros o cicloalquilo sustituido que incluye C<sub>n</sub> y/o C<sub>n</sub>'; n y n' es igual a un entero desde cero hasta cinco, en donde los grupos sustituidos comprenden uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alqueno que tiene menos de 12 carbonos, alquino que tiene menos de 12 carbonos, cicloalquilo, hidroxilo, amino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquiltio, sulfonilo, cetona, aldehído, éster, heterociclilo, -CF<sub>3</sub>, y -CN.

En otro aspecto de la invención el compuesto tiene la fórmula:



- 20 una forma estereoisomérica del mismo, una sal de adición ácida o base farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X representa O; Y representa NH; R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, y R<sub>3</sub> representan independientemente H, OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>4</sub> representa OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, metoxilo, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>5</sub> y R<sub>7</sub> representan independientemente H o alquilo que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>6</sub> representa alquilo que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>8</sub> representa H, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, alqueno que tiene menos de 12 carbonos, o alquino que tiene menos de 12 carbonos; R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, R<sub>9</sub>', R<sub>10</sub>', representan independientemente H, F, Cl, Br, I, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, o un cicloalquilo de tres a seis miembros o cicloalquilo sustituido que incluye C<sub>n</sub> y/o C<sub>n</sub>'; n y n' es igual a un entero desde cero hasta cinco; y en donde los grupos sustituidos comprenden uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alqueno que tiene menos de 12 carbonos, alquino que tiene menos de 12 carbonos, cicloalquilo, hidroxilo, amino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido,

fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquiltio, sulfonilo, cetona, aldehído, éster, heterociclilo, -CF<sub>3</sub>, y -CN.

5 Otro aspecto de la invención se relaciona con preparaciones farmacéuticas que comprenden los compuestos anteriores y un portador farmacéuticamente aceptable. En realizaciones preferidas de la invención el portador farmacéuticamente aceptable se selecciona de un diluyente, un relleno sólido, y un material que encapsula solvente.

10 Un aspecto adicional de la invención se relaciona con los compuestos anteriores para uso en un método para tratar enfermedades celulares necróticas que incluyen trauma, isquemia, apoplejía, infarto cardiaco, infección y septicemia. En una realización preferida la enfermedad celular necrótica es una enfermedad neurodegenerativa tal como enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, y demencia asociada con VIH.

Un aspecto adicional de la invención se relaciona con una combinación de dos o más compuestos que inhiben la necrosis celular (por ejemplo, compuestos de tiohidantoína heterocíclica, hidantoína, oxazolidinona, tioxoxazolidinona, pirimidinona, oxazinanona, o combinaciones de los mismos) para uso en un método de tratamiento de la invención.

15 Un aspecto adicional de la invención se relaciona con el uso de uno o más de los compuestos mencionados anteriormente en combinación con uno o más compuestos o agentes adicionales tales como aquellos descritos aquí. En las realizaciones preferidas de la invención los compuestos adicionales se seleccionan de inhibidores de apoptosis, inhibidores PARP, inhibidores Src, agentes para tratar trastornos cardiovasculares y agentes antimicrobianos.

20 Un aspecto adicional de la invención se relaciona con procesos para producir uno o más compuestos heterocíclicos que comprenden la unidad estructural hidantoína.

25 Un aspecto adicional de la presente invención se relaciona con la síntesis de colecciones combinatorias de los compuestos heterocíclicos que comprenden una unidad estructural hidantoína, y el cribado de aquellas colecciones para actividad biológica, por ejemplo en ensayos con base en muerte celular (apoptosis, necrosis, o una combinación de ambos) y en modelos animales de enfermedad que incluye trauma, isquemia (por ejemplo apoplejía, infarto del miocardio y similares), y enfermedades neurodegenerativas tales como enfermedad de Parkinson (PD), enfermedad de Alzheimer (AD), esclerosis lateral amiotrófica (ALS), enfermedad de Huntington (HD), encefalopatías infecciosas, demencia, demencia asociada con VIH (HAD), etc.

Breve descripción de los dibujos

30 Los dibujos acompañantes no pretenden ser hechos a escala. En los dibujos, cada componente idéntico o casi idéntico que se ilustra en diversas figuras se representa por un número similar. Por motivos de claridad, no todos los componentes se pueden marcar en cada dibujo. En los dibujos:

La Figura 1 es una gráfica de barras que muestra los efectos del compuesto anti-necrótico 893-01. (no de acuerdo con la invención reivindicada)

35 La Figura 2 representa un esquema general para sintetizar un compuesto heterocíclico que comprende una unidad estructural de hidantoína.

La Figura 3 representa un esquema general para sintetizar un compuesto heterocíclico que comprende una unidad estructural de tiohidantoína. (no de acuerdo con la invención reivindicada)

40 La Figura 4 representa un esquema general para sintetizar un compuesto heterocíclico que comprende una unidad estructural de hidantoína.

La Figura 5 representa un esquema para la preparación de indoles.

La Figura 6 muestra un esquema para la preparación de indoles 7-oxigenados.

La Figura 7 muestra un esquema para la preparación de 7-(2-metoxi-etoxi)-1H-indol.

45 La Figura 8 representa (A) un esquema general para sintetizar de forma enantioselectiva un compuesto heterocíclico que comprende una unidad estructural de hidantoína (B) esquema para sintetizar los compuestos 893-31 y 893-32.

La Figura 9 representa un esquema general para sintetizar hidantoínas.

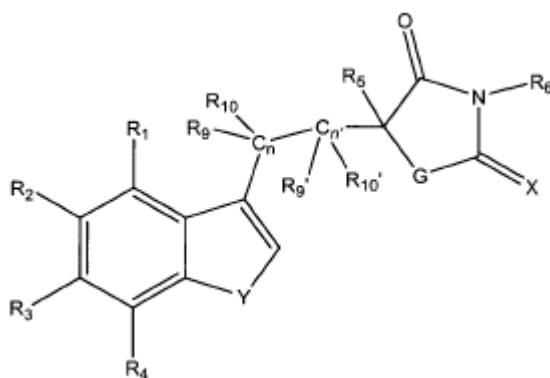
La Figura 10 representa un esquema general para la preparación de oxazolidinonas.

La Figura 11 es una gráfica que muestra la citotoxicidad de compuestos de hidantoína y tiohidantoína. (no de acuerdo con la invención reivindicada)

Descripción detallada

- 5 La invención proporciona compuestos que previenen muerte celular y son útiles como agentes terapéuticos para uso en un método para tratar sujetos afligidos con enfermedad celular necrótica, tal como trauma, enfermedades isquémicas y neurológicas, y particularmente enfermedades neurodegenerativas. Los compuestos de la invención también son útiles para entender la fisiopatología de estas enfermedades.

Los compuestos de la invención son moléculas de bajo peso molecular de la fórmula:



10

una forma estereoisomérica del mismo, una sal de adición ácida o base farmacéuticamente aceptable del mismo; en donde

X representa O;

Y representa NR<sub>8</sub>;

- 15 G representa O o NR<sub>7</sub>;

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, y R<sub>3</sub> representan independientemente H, OH, OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, COOH, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos;

- 20 R<sub>4</sub> representa OH, OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, COOH, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, metoxilo, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>5</sub> y R<sub>7</sub> representan independientemente H o alquilo que tiene 1 a 10 carbonos;

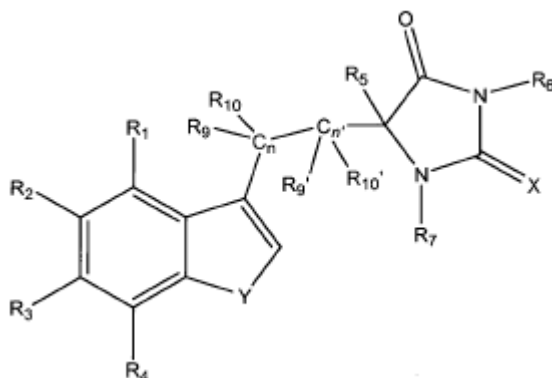
R<sub>6</sub> representa alquilo que tiene 1 a 10 carbonos;

- 25 R<sub>8</sub> representa alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, alqueno que tiene menos de 12 carbonos, o alquino que tiene menos de 12 carbonos; R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, R<sub>9</sub>', R<sub>10</sub>', representan independientemente H, F, Cl, Br, I, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, o un cicloalquilo de tres a seis miembros o cicloalquilo sustituido que incluye C<sub>n</sub> y/o C<sub>n</sub>';

n y n' es igual a un entero desde cero hasta cinco;

- 30 en donde los grupos sustituidos comprenden uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alqueno que tiene menos de 12 carbonos, alquino que tiene menos de 12 carbonos, cicloalquilo, hidroxilo, amino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquiltio, sulfonilo, cetona, aldehído, éster, heterociclilo, -CF<sub>3</sub>, y -CN.

En otro aspecto, compuestos de la invención son moléculas de bajo peso molecular de la fórmula:



una forma esteroisomérica del mismo, una sal de adición ácida o base farmacéuticamente aceptable del mismo; en donde

X representa O;

5 Y representa NH;

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, y R<sub>3</sub> representan independientemente H, OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>4</sub> representa OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, metoxilo, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos;

R<sub>5</sub> y R<sub>7</sub> representan independientemente H o alquilo que tiene 1 a 10 carbonos;

10 R<sub>6</sub> representa alquilo que tiene 1 a 10 carbonos;

R<sub>8</sub> representa H, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, alqueno que tiene menos de 12 carbonos, o alquino que tiene menos de 12 carbonos; R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, R<sub>9'</sub>, R<sub>10'</sub>, representan independientemente H, F, Cl, Br, I, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, o un cicloalquilo de tres a seis miembros o cicloalquilo sustituido que incluye C<sub>n</sub> y/o C<sub>n'</sub>; y

15 n y n' es igual a un entero desde cero hasta cinco; y

en donde los grupos sustituidos comprenden uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alqueno que tiene menos de 12 carbonos, alquino que tiene menos de 12 carbonos, cicloalquilo, hidroxilo, amino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquiltio, sulfonilo, cetona, aldehído, éster, heterociclilo, -CF<sub>3</sub>, y -CN.

20 En un aspecto, los compuestos de la invención inhiben la muerte celular necrótica al inhibir los mecanismos independientes de caspasa que se activan después de un evento de iniciación de muerte celular. De acuerdo con la invención, la inhibición de los mecanismos de muerte celular independientes de caspasas proporciona varias ventajas, que incluyen una alta eficacia terapéutica y una amplia utilidad contra muchas enfermedades, que incluyen, pero no se limitan a trauma, isquemia y enfermedades neurológicas. Adicionalmente, se pueden utilizar los  
25 compuestos de la invención en ensayos para objetivos moleculares novedosos que se asocian con la muerte celular inducida independiente de caspasa.

Las células mueren en dos formas morfológicamente distintas (Wyllie, A.H.; Kerr, J.F.R.; Currie, A.R. *Int. Rev. Cytol.* 1980, 68, 251 - 306). Uno de estos procesos, denominado apoptosis, se caracteriza por una serie de etapas conservadas y altamente reguladas que incluyen condensación de citoplasma y núcleo concurrente (aunque los  
30 orgánulos citoplasmáticos inicialmente permanecen intactos), degradación del ADN, formación de ampollas en membrana y división mediada por caspasa de varios factores celulares. La apoptosis culmina en la fragmentación celular en cuerpos apoptóticos, que son fagocitados por las células adyacentes, que incluyen macrófagos. Por lo tanto, este proceso no conduce a una respuesta (Yuan, J.; Yankner, B. A. *Nature* 2000, 407, 802 - 809; Cryns, V.; Yuan, J. *Genes & Develop.* 1998, 12, 1551 - 1570) necesaria durante el desarrollo y para mantener la homeostasis  
35 de un organismo. Sin embargo, en determinadas afecciones patológicas este proceso, que normalmente se suprime, se inicia llevando a la muerte y disfunción celular. Se han identificado muchos objetivos celulares clave en esta cascada y algunos sirven como objetivos potenciales para la intervención terapéutica. Por ejemplo, una familia de enzimas descubiertas que cumplen una función integral en este proceso es las caspasas, que son cisteína proteasas (Talanian, R. V.; Brady, K. D.; Cryns, V. L. *J. Med. Chem.* 2000, 43(18), 3351 - 3371).

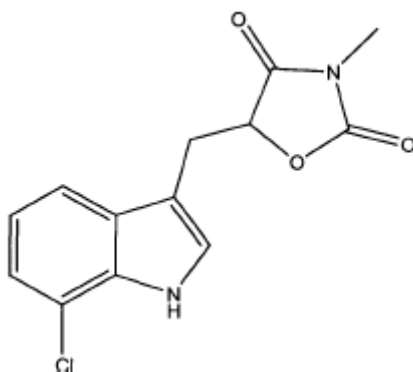
Una segunda forma, distinta morfológicamente que mata células, llamada necrosis (Syntichaki, P.; Tavernarakis, N. EMBO Rep. 2002, 3(7), 604 - 609), se caracteriza por la alteración de la membrana celular y del orgánulo, inflamación de la célula, deterioro de la mitocondria, seguido de lisis celular (Martin, L.J., Al-Abdulla, N.A.; Brambrink, A.M.; Kirsch, J.R.; Sieber, F.E.; Portera- Cailliau, C. Brain Res. Bull. 1998, 46(4), 281 - 309). Ocurre condensación de la cromatina, pero sólo cuando se forman masas irregulares difusas. También, la lisis celular normalmente está acompañada de una respuesta inflamatoria. Aunque no se conocen bien los eventos bioquímicos subyacentes en este proceso, se sabe que la muerte celular necrótica cumple una función muy importante en muchas afecciones patológicas, especialmente durante neurodegeneración (Nicotera, P., Leist, M.; Ferrando- May E. Biochem. Soc. Symp. 1999, 66, 69-73). Se considera que la inhibición de la apoptosis a menudo no bloquea completamente la muerte celular, sino que más bien resulta en una conmutación celular desde un mecanismo apoptótico hasta un mecanismo necrótico. Por lo tanto, identificar y preparar las moléculas de bajo peso molecular que previenen la muerte celular necrótica puede ayudar en la comprensión básica de este proceso y proporcionar compuestos útiles para la intervención terapéutica. Los compuestos de la invención se dirigen a aspectos importantes de la neurodegeneración no abordados por las estrategias actuales.

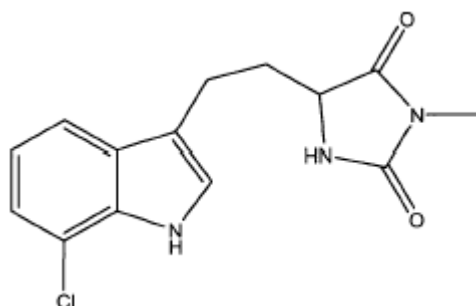
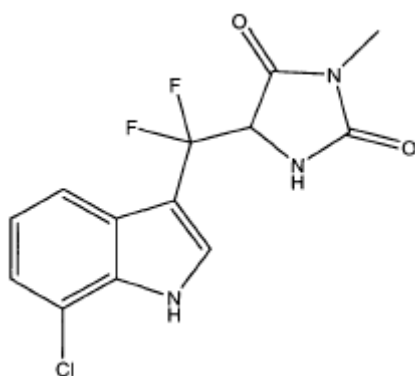
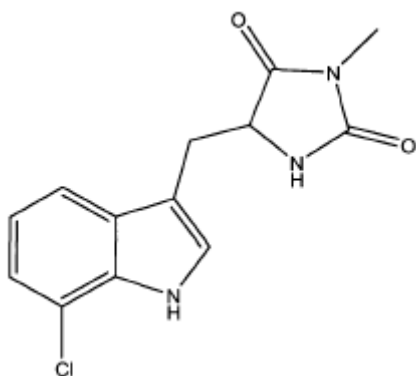
De acuerdo con la invención, la necrosis se puede asociar con una afección que incluye, pero no se limita a, una infección, toxina, veneno, radiación, trauma físico, inflamación, falta de nutrientes o suministro de oxígeno, desequilibrio químico, interrupción del suministro de sangre, otras afecciones que llevan a la muerte celular o de tejido, o una combinación de dos o más de los anteriores. Por ejemplo, la necrosis celular o de tejido se puede asociar con una cualquiera o más de las siguientes afecciones: un absceso, fiebre intermitente, anemia, anquilosis, anoxia, apnea, artritis, asfixia, asma, ataxia, atrofia, dolor de espalda, sangrado, blenorrea, caquexia, caries, cólicos, estreñimiento, convulsiones, tos, cianosis, diarrea, mareo, hidropesía, gangrena seca, disentería, dispepsia, disnea, edema, emaciación, desmayos, fatiga, fiebre, fibrilación, gangrena gaseosa, enfermedades genéticas, presión arterial alta, hidropesía, hipertensión, hipotensión, ictericia, indigestión, inflamación, insomnio, prurito, ictericia, presión arterial baja, lumbago, marasmo, gangrena húmeda, noma, dolor, parálisis, prurito, salpullido, reuma, esclerosis, convulsiones, conmoción, erupción de la piel, dolor, espasmos, esfacelación, tabes, taquicardia, caries dental, tumores, malestar estomacal, vértigo, vómitos o debilidad.

Por consiguiente, la necrosis se puede localizar para un grupo de células vivas o se pueden distribuir en una o más áreas de tejido más grandes. En algunas realizaciones, la necrosis se puede asociar con gangrena, esfacelo, necrosis isquémica, necrosis avascular (por ejemplo, del hueso), meningitis, y otras afecciones, que incluyen pero no se limitan a aquellas descritas aquí.

El término "enfermedad celular necrótica" se refiere a enfermedades agudas que incluyen pero no se limitan a trauma, isquemia, apoplejía, infarto cardiaco, choque séptico inducido por la toxina letal ántrax, septicemia, muerte celular inducida por LPS, y muerte de células T inducida por VIH que lleva a inmunodeficiencia. El término "enfermedad celular necrótica" también incluye pero no se limita a enfermedades neurodegenerativas crónicas, tales como enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Alzheimer, encefalopatías infecciosas, demencia tal como demencia asociada a VIH.

La invención se basa, en parte, en el descubrimiento de que una serie de compuestos que incluyen, pero no se limitan a, los siguientes:





5 actúan como inhibidores de necrosis celular. De acuerdo con la invención, estos compuestos, y ciertos derivados de los mismos, son útiles para tratar enfermedades tales como trauma, isquemia (por ejemplo, apoplejía, infarto de miocardio y similares), y enfermedades neurodegenerativas. Los derivados de compuestos de hidantoína útiles tienen preferiblemente pequeños sustituyentes en la posición 7 del anillo indol tales como halógeno, metilo y metoxilo y grupos tales como metilo y otros grupos alquilo inferior en el nitrógeno imida de la hidantoína.

10 El término "alquilo" se refiere al radical de grupos alifáticos saturados, que incluyen grupos alquilo de cadena recta, grupos alquilo de cadena ramificada, grupos cicloalquilo (alícíclicos), grupos cicloalquilo sustituidos con alquilo, y grupos alquilo sustituidos con cicloalquilo. En realizaciones preferidas, una alquilo de cadena recta o cadena ramificada tiene 12 o menos átomos de carbono en su estructura principal (por ejemplo, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> para cadena lineal, C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub> para cadena ramificada), y más preferiblemente 6 o menos, e incluso más preferiblemente 4 o menos. Del mismo modo, los cicloalquilo preferidos tienen desde 3-10 átomos de carbono en su estructura de anillo, y más preferiblemente tienen 5, 6 o 7 carbonos en la estructura de anillo.

15 A menos que el número de carbonos se especifique de otra manera, "alquilo" como se utiliza aquí significa un grupo alquilo, como se definió anteriormente, que tiene desde uno hasta diez átomos de carbono, más preferiblemente desde uno hasta seis átomos de carbono en su estructura principal, y aún más preferiblemente desde uno hasta cuatro átomos de carbono en su estructura principal. Del mismo modo, "alqueno" y "alquino" tienen longitudes de cadena similares.

20 Como se utiliza aquí, el término "halógeno" designa -F, -Cl, -Br o -I; el término "sulfhidrido" significa -SH; y el término "hidroxilo" significa -OH.



El término "metilo" se refiere al radical monovalente  $-CH_3$ , y el término "metoxilo" se refiere al radical monovalente  $-CH_2OH$ .

5 Los términos "alqueno" y "alquino" se refieren a grupos alifáticos insaturados análogos en longitud y posible sustitución a los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen por lo menos un enlace doble o triple respectivamente.

Como se utiliza aquí, la definición de cada expresión, por ejemplo, alquilo, m, n, etc., cuando se produce más de una vez en cualquier estructura, pretende ser independiente de su definición en la misma estructura en otro lugar.

10 Se entenderá que "sustitución" o "sustituido con" incluye la condición implícita de que dicha sustitución está de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente, y que los resultados de sustitución en un compuesto estable, por ejemplo, que no experimenta espontáneamente transformación tal como por redistribución, ciclación, eliminación, etc.

15 Como se utiliza aquí, se contempla que el término "sustituido" incluye todos los sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos. Los sustituyentes permisibles pueden ser uno o más y el mismo o diferentes para compuestos orgánicos apropiados, como por ejemplo, halógeno, alquilo, aralquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, hidroxilo, amino, nitro, sulfhidrido, imino, amido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquilo, sulfonilo, cetona, aldehído, éster, heterociclilo, unidad estructural aromática o heteroaromática,  $-CF_3$ ,  $-CN$ , o similares. Para los propósitos de esta invención, los heteroátomos tales como nitrógeno pueden tener sustituyentes de hidrógeno y/o cualesquiera sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos descritos aquí que satisfagan las valencias de los heteroátomos.

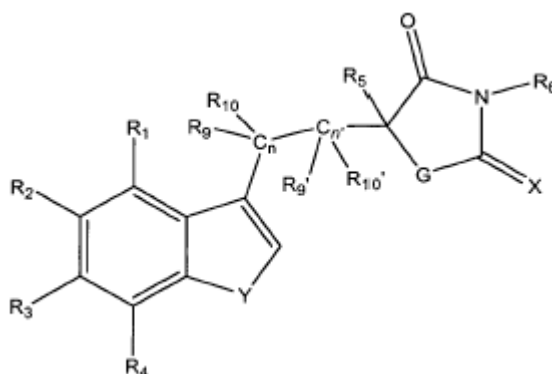
20 Determinados puestos de la presente invención pueden existir, en particular, en formas geométricas o estereoisoméricas. La presente invención contempla todos dichos compuestos, que incluyen cis- y trans-isómeros, R y S enantiómeros, diastereómeros, isómeros (D), isómeros (L), mezclas racémicas de los mismos, y otras mezclas de los mismos, que caen dentro del alcance de la invención. Pueden estar presentes átomos de carbono asimétricos adicionales en un sustituyente tal como un grupo alquilo. Todos dichos isómeros, así como mezclas de los mismos, se pretende que estén incluidos en esta invención. En ciertas realizaciones, la presente invención se relaciona con un compuesto representado por cualquiera de las estructuras representadas aquí, en donde el compuesto es un único estereoisómero.

30 Si, por ejemplo, se desea un enantiómero particular de un compuesto de la presente invención, se puede preparar mediante síntesis asimétrica, o mediante derivación con un auxiliar quiral, donde se separa la mezcla diastereómera resultante y el grupo auxiliar se divide para proporcionar los enantiómeros puros deseados. Alternativamente, cuando la molécula contiene un grupo funcional básico, tal como amino, o un grupo funcional ácido, tal como carboxilo, se forman sales diastereoméricas con un ácido o base ópticamente activo apropiado, seguido por resolución de los diastereómeros formados de esta manera mediante cristalización fraccionada o medios cromatográficos bien conocidos en la técnica, y posterior recuperación de los enantiómeros puros.

40 Los equivalentes contemplados de los compuestos descritos anteriormente incluyen compuestos que de otro modo corresponden a los mismos, y que tienen las mismas propiedades generales de estos (por ejemplo, funcionando como inhibidores de necrosis celular), en donde se hacen una o más variaciones simples de sustituyentes que no afectan de manera adversa la eficacia del compuesto. En general, los compuestos de la presente invención se pueden preparar por los métodos ilustrados en los esquemas de reacción generales como, por ejemplo, se describe a continuación, o mediante modificaciones de los mismos, utilizando materias primas fácilmente disponibles, reactivos y procedimientos de síntesis convencionales. En estas reacciones, también es posible hacer uso de variantes, que son en sí mismas conocidas, pero no se mencionan aquí.

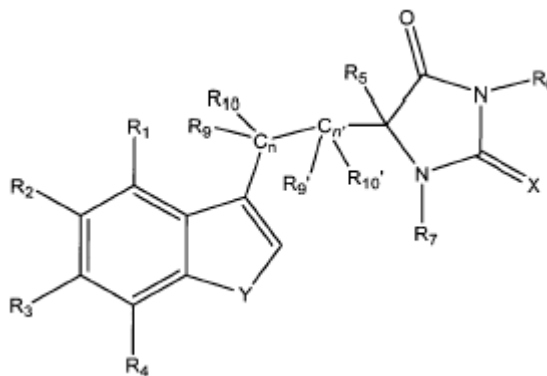
45 Para propósito de esta invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos de la versión, Handbook of Chemistry and Physics, 67th Ed., 1986-87, dentro de la portada.

En ciertas realizaciones la invención proporciona un compuesto de la fórmula:



una forma estereoisomérica del mismo, una sal de adición ácida o base farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X representa O; Y representa NR<sub>8</sub>; G representa o NR<sub>7</sub>; R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, y R<sub>3</sub> representan independientemente H, OH, OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, COOH, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>4</sub> representa OH, OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, COOH, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, metoxilo, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>5</sub>, y R<sub>7</sub> representan independientemente H o alquilo que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>6</sub> representa alquilo que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>8</sub> representa alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alqueno que tiene menos de 12 carbonos, alquino que tiene menos de 12 carbonos; R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, R<sub>9'</sub>, R<sub>10'</sub>, representan independientemente H, F, Cl, Br, I, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, o un cicloalquilo de tres a seis miembros o cicloalquilo sustituido que incluye C<sub>n</sub> y/o C<sub>n'</sub>; n y n' es igual a un entero desde cero hasta cinco, en donde los grupos sustituidos comprenden uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alqueno que tiene menos de 12 carbonos, alquino que tiene menos de 12 carbonos, cicloalquilo, hidroxilo, amino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfonato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquiltio, sulfonilo, cetona, aldehído, éster, heterociclilo, -CF<sub>3</sub>, y -CN.

En ciertas realizaciones la invención proporciona un compuesto de la fórmula:



una forma estereoisomérica del mismo, una sal de adición ácida o base farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X representa O; Y representa NH; R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, y R<sub>3</sub> representan independientemente H, OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>4</sub> representa OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, metoxilo, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>5</sub> y R<sub>7</sub> representan independientemente H o alquilo que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>6</sub> representa alquilo que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>8</sub> representa H, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, alqueno que tiene menos de 12 carbonos, alquino que tiene menos de 12 carbonos; R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, R<sub>9'</sub>, R<sub>10'</sub>, representan independientemente H, F, Cl, Br, I, lower alquilo, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, o un cicloalquilo de tres a seis miembros o cicloalquilo sustituido que incluye C<sub>n</sub> y/o C<sub>n'</sub>; n y n' es igual a un entero desde cero hasta cinco; en donde los grupos sustituidos comprenden uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alqueno que tiene menos de 12 carbonos, alquino que tiene menos de 12 carbonos, cicloalquilo, hidroxilo, amino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquiltio, sulfonilo, cetona, aldehído, éster, heterociclilo, -CF<sub>3</sub>, y -CN.

En ciertas realizaciones, la invención proporciona un compuesto como se definió anteriormente, en donde R<sub>6</sub> representa un grupo metilo.

En ciertas realizaciones, la invención proporciona un compuesto como se definió anteriormente, en donde R<sub>4</sub> representa un halógeno, un metilo o metoxilo.

En ciertas realizaciones, la invención proporciona un compuesto como se definió anteriormente, en donde R<sub>4</sub> representa un metilo o metoxilo.

- 5 En ciertas realizaciones la invención proporciona un compuesto como se definió anteriormente, en donde R<sub>4</sub> representa un halógeno, preferiblemente Cl o F.

En ciertas realizaciones, la invención proporciona un compuesto como se definió anteriormente, en donde R<sub>4</sub> representa Cl o F.

- 10 En ciertas realizaciones, la invención proporciona un compuesto como se definió anteriormente, en donde R<sub>4</sub> representa Cl.

En ciertas realizaciones, la invención proporciona un compuesto como se definió anteriormente, en donde R<sub>4</sub> representa metilo.

En ciertas realizaciones, la invención proporciona un compuesto como se definió anteriormente, en donde R<sub>4</sub> representa metoxilo.

- 15 En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables, que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más de los compuestos descritos aquí, formulados junto con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables (aditivos) y/o diluyentes. Como se describe en detalle, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden formular especialmente para la administración en forma sólida o líquida, incluyendo aquellas adaptadas para lo siguiente: administración oral, por ejemplo, pócima (soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos, por ejemplo, aquellos destinados para la administración bucal, sublingual, y absorción sistémica, bolos, polvos, gránulos, pastas para aplicación a la lengua; administración parenteral, por ejemplo, por inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o epidural como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril, o una formulación de liberación sostenida; aplicación tópica, por ejemplo, como una crema, pomada, o un parche de liberación controlada o pulverizados aplicado a la piel; por vía intravaginal o intrarrectal, por ejemplo, como un pesario, crema o espuma; por vía sublingual; por vía ocular; por vía transdérmica; o por vía nasal, pulmonar y a otras superficies mucosas.
- 20
- 25

En otro aspecto, la presente invención proporciona una preparación farmacéutica que comprende un compuesto como se definió anteriormente y un portador farmacéuticamente aceptable.

En una realización, la presente invención proporciona una preparación farmacéutica, en donde

- 30 i) el portador farmacéuticamente aceptable se selecciona de un diluyente, un relleno sólido, y un material que encapsula solvente; o
- ii) el portador farmacéuticamente aceptable se selecciona de un azúcar, un almidón, celulosa, tragacanto en polvo, malta, gelatina, talco, un excipiente, un aceite, un glicol, un poliol, un éster, un agar, un agente de regulación, ácido alginico, agua libre de pirógenos, solución salina isotónica, solución de Ringer, alcohol etílico, una solución con pH regulado, un poliéster, un polianhídrido, y un policarbonato.
- 35

La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea aquí para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del juicio médico, adecuados para uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable.

- 40 La frase "portador farmacéuticamente aceptable" como se utiliza aquí significa un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un relleno líquido o sólido, diluyente, excipiente, o material que encapsula solvente, implicado en llevar o transportar el compuesto objeto desde un órgano, o porción del cuerpo, hasta otro órgano, o porción del cuerpo. Cada portador debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen: azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de papa; celulosa y sus derivados, tales como carboximetil celulosa de sodio, etil celulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, tales como propilenglicol; polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes de regulación, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido
- 45
- 50

algínico; agua libre de pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico; soluciones de pH regulado; poliésteres, policarbonatos y/o polianhídridos; y otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas. Ejemplos de dichas formulaciones incluyen, pero no se limitan a DMSO, DMSO 10 mM, hidroxipropil-beta-ciclodextrina al 8% en PBS, propilenglicol, etc.

5 Por ejemplo, en una cierta realización los compuestos de la invención, tales como 893-54 se pueden utilizar como solución 4 mM en hidroxipropil-beta-ciclodextrina al 8% en PBS para la administración parenteral. En otra realización 893-54 (0.40 mg/ml) se formula como sigue: se pesa 5.975 mg de 893-54 en un frasco de vidrio de 20 mL pre-  
10 limpiado, se agrega 1.49 mL de propilenglicol al frasco seguido por agitación en vórtex y sonicación durante 15 minutos, y se agrega 13.41 mL de solución salina normal estéril para un volumen total de 14.9 mL, seguido de agitación en vórtex.

Como se establece aquí, ciertas realizaciones de los presentes compuestos pueden contener un grupo funcional básico, tal como amino o alquilamino, y, por lo tanto, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con ácidos farmacéuticamente aceptables. El término "sales farmacéuticamente aceptables" a este respecto se  
15 refiere a las sales de adición de ácido inorgánico y orgánico relativamente no tóxicas de compuestos de la presente invención. Estas sales se pueden preparar *in situ* en el vehículo de administración o el proceso de fabricación de forma de dosificación, o al hacer reaccionar por separado un compuesto purificado de la invención en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado, y aislar la sal formada de esta manera durante purificación posterior. Las sales representativas incluyen las sales de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato, y laurilsulfonato y similares. (Véase, Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66:1-19).

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos objeto incluyen las sales convencionales no tóxicas o sales de amonio cuaternario de los compuestos, por ejemplo, de ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos. Por  
25 ejemplo, dichas sales no tóxicas convencionales incluyen aquellas derivadas de ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico, y similares; y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos tales como acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, palmítico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutámico, benzoico, salicílico, sulfanílico, 2-acetoxibenzoico, fumárico, toluenosulfónico, metanosulfónico, etano disulfónico, oxálico, isotiónico, y similares.

En otros casos, los compuestos de la presente invención pueden contener uno o más grupos funcionales ácidos y, por tanto, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con bases farmacéuticamente aceptables. El  
30 término "sales farmacéuticamente aceptables" en estos casos se refiere a las sales de adición de base inorgánica y orgánica relativamente no tóxicas, de compuestos de la presente invención. Estas sales pueden asimismo ser preparadas *in situ* en el vehículo de administración o el proceso de fabricación de la forma de dosificación, o al hacer reaccionar por separado el compuesto purificado en su forma de ácido libre con una base adecuada, tal como  
35 hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión de metal farmacéuticamente aceptable, con amoníaco, o con una amina primaria, secundaria o terciaria orgánica farmacéuticamente aceptable. Las sales alcalinas o alcalinotérricas representativas incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio, y aluminio y similares. Las aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de bases incluyen etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina y similares.

40 También pueden estar presentes en las composiciones agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, así como también lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como también agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes, aromatizantes y agentes perfumantes, conservantes y antioxidantes.

Ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio y similares; antioxidantes  
45 solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol, y similares; y agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares.

Las formulaciones de la presente invención incluyen aquellas adecuadas para administración oral, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), rectal, vaginal y/o parenteral. Las formulaciones se pueden presentar  
50 convenientemente en forma de dosificación unitaria y se pueden preparar por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con un material portador para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del anfitrión que está siendo tratado, el modo particular de administración. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con un material portador para producir una forma de dosificación única generalmente será aquella cantidad del compuesto que  
55 produce un efecto terapéutico. Generalmente, esta cantidad variará desde aproximadamente 1% hasta aproximadamente 99% de ingrediente activo, preferiblemente desde aproximadamente 5% hasta aproximadamente 70%, más preferiblemente desde aproximadamente 10% hasta aproximadamente 30%.

En ciertas realizaciones, una formulación de la presente invención comprende un excipiente seleccionado del grupo que consiste en ciclodextrinas, liposomas, agentes formadores de micela, por ejemplo, ácidos biliares y portadores poliméricos, por ejemplo, poliésteres y polianhídridos; y un compuesto de la presente invención. En ciertas realizaciones, una formulación anteriormente mencionada hace biodisponible por vía oral un compuesto de la presente invención.

Los métodos para preparar estas formulaciones o composiciones incluyen la etapa de poner en asociación un compuesto de la presente invención con el portador y, opcionalmente, uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan al colocar uniforme e íntimamente en asociación un compuesto de la presente invención con portadores líquidos o portadores sólidos finamente divididos, o ambos, y después, si es necesario, dar forma al producto.

Las formulaciones de la invención adecuadas para administración oral pueden estar en forma de cápsulas, sellos, píldoras, comprimidos, pastillas (que utilizan una base aromatizada, usualmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto), polvos, gránulos, o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida aceite en agua o agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (que utilizan una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia) y/o como enjuagues bucales y similares, que contienen cada uno una cantidad predeterminada de un compuesto de la presente invención como un ingrediente activo. Un compuesto de la presente invención también se puede administrar como un bolo, electuario o pasta.

En las formas de dosificación sólidas de la invención para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el ingrediente activo se mezcla con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato de dicalcio, y/o cualquiera de los siguientes: rellenos o extendedores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, y/o ácido silícico; aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetil celulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o acacia; humectantes, tales como glicerol; agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de papa o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato de sodio; agentes retardantes de solución, tales como parafina; aceleradores de absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico, monoestearato de glicerol, y surfactantes no iónicos; absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio, y sus mezclas; y agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes reguladores. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como rellenos en cápsulas de gelatina de cubierta blanda y dura utilizando dichos excipientes como azúcares de leche o lactosa, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Se puede fabricar un comprimido mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Las tabletas comprimidas se pueden preparar utilizando aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetil celulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, desintegrante (por ejemplo, glicolato de almidón sodio o carboximetil celulosa de sodio entrecruzada), agente superficie activa o agente dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden hacer en una máquina adecuada en la que una mezcla del compuesto en polvo se humedece con un diluyente líquido inerte.

Los comprimidos, y otras formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas de la presente invención, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden estar opcionalmente clasificados o preparados con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. También se pueden formular de tal manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo que utilizan allí, por ejemplo, hidroxipropilmetil celulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Se pueden formular para liberación rápida, por ejemplo, liofilizados. Se pueden esterilizar mediante, por ejemplo, filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o al incorporar agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de uso. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden ser de una composición tal que solo liberen el ingrediente activo, o preferiblemente, en una cierta porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de una manera retardada. Ejemplos de composiciones de inclusión que se pueden utilizar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también puede estar en forma micro-encapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

Las formas de dosificación líquidas para administración oral de los compuestos de la invención incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del ingrediente activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes utilizados comúnmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurilo, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos.

Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, edulcorantes, aromatizantes, colorantes, perfumantes y agentes conservantes.

5 Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes etoxilados de isoestearilo, sorbitol de polioxietileno y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

10 Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas de la invención para administración rectal o vaginal se pueden presentar como un supositorio, que se puede preparar al mezclar uno o más compuestos de la invención con uno o más excipientes adecuados no irritantes o portadores que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera de supositorio o un salicilato, y que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a la temperatura corporal y, por lo tanto, se fundirá en el recto o cavidad vaginal y liberan el compuesto activo.

Las formulaciones de la presente invención que son adecuadas para administración vaginal también incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización que contienen dichos portadores que son conocidos en la técnica por ser apropiados.

15 Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta invención incluyen polvos, pulverizadores, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. El compuesto activo se puede mezclar bajo condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable, y con cualesquier conservantes, reguladores, o propulsores que puedan ser necesarios.

20 Los ungüentos, pastas, cremas y geles pueden contener, además de un compuesto activo de esta invención, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de zinc, o mezclas de los mismos.

25 Los polvos y pulverizadores pueden contener, además de un compuesto de esta invención, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Las pulverizaciones pueden contener adicionalmente propulsores habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

30 Los parches transdérmicos tienen la ventaja agregada de proporcionar el suministro controlado de un compuesto de la presente invención al cuerpo. Al disolver o dispersar el compuesto en el medio apropiado puede hacer dichas formas de dosificación. Los potenciadores de absorción también se pueden utilizar para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. Proporcionando ya sea una membrana controladora de velocidad o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel que puede controlar la velocidad de dicho flujo.

Las formulaciones oftálmicas, pomadas oculares, polvos, soluciones y similares, también se contemplan que están dentro del alcance de esta invención.

35 Las composiciones farmacéuticas de esta invención adecuadas para administración parenteral comprenden uno o más compuestos de la invención en combinación con una o más soluciones acuosas o no acuosas isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables, dispersiones, suspensiones o emulsiones, o polvos estériles que se pueden reconstituir en soluciones estériles inyectables o dispersiones justo antes de uso, que pueden contener azúcares, alcoholes, antioxidantes, reguladores, bacteriostáticos, solutos que hacen la formulación isotónica con la sangre del receptor destinado o agentes de suspensión o espesantes.

40 Ejemplos de portadores acuosos y no acuosos adecuados, que se pueden emplear en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Se puede mantener la fluidez apropiada, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y mediante el uso de surfactantes.

45 Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de microorganismos sobre los compuestos objeto se puede asegurar mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede ser provocada por la inclusión de agentes que retardan la absorción tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

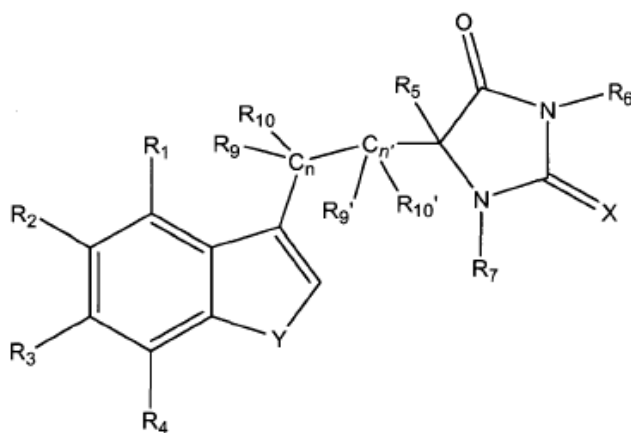
50

En algunos casos, con el fin de prolongar el efecto de un fármaco, es deseable ralentizar la absorción del mismo desde la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede lograr mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo que tiene poca solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su velocidad de disolución, que a su vez, puede depender del tamaño del cristal y la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada por vía parenteral se logra al disolver o suspender el fármaco en un vehículo oleoso.

Se elaboran formas de depósito inyectables al formar matrices microencapsuladas de los compuestos objeto en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la relación de fármaco a polímero y la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del fármaco. Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan al atrapar el fármaco en liposomas o microemulsiones que sean compatibles con el tejido corporal.

En otro aspecto, la presente invención se relaciona con un compuesto como se definió anteriormente para uso en un método para tratar una enfermedad asociada con necrosis celular. En particular, la invención proporciona un compuesto como se definió anteriormente para uso en métodos para prevenir o tratar un trastorno asociado con necrosis celular en un mamífero, que comprende la etapa de administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o preparación terapéutica de la presente invención. En ciertas realizaciones, el trastorno asociado con necrosis celular es un trastorno neurológico, tal como trauma, isquemia o infarto cerebral. En otras realizaciones, el trastorno neurológico es una enfermedad neurodegenerativa, tal como enfermedad de Parkinson (PD), enfermedad de Alzheimer (AD), esclerosis lateral amiotrófica (ALS), enfermedad de Huntington (HD), y demencia asociada con VIH (HAD). En otras realizaciones, el trastorno es una enfermedad isquémica de órganos que incluyen pero no se limitan a cerebro, corazón, riñón e hígado. En ciertas realizaciones, el mamífero es un sujeto primate, canino o felino. En otras realizaciones, el mamífero es un sujeto humano.

En una realización, la invención se relaciona con un compuesto para uso en un método para tratar una enfermedad celular necrótica que comprende administrar a un sujeto que tiene una enfermedad celular necrótica un compuesto de la fórmula:



una forma estereoisomérica del mismo, una sal de adición ácida o base farmacéuticamente aceptable del mismo; en donde

X representa O;

Y representa NH;

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, y R<sub>3</sub> representan independientemente H, OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos; R<sub>4</sub> representa OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, metoxilo, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos;

R<sub>5</sub> y R<sub>7</sub> representan independientemente H o alquilo que tiene 1 a 10 carbonos;

R<sub>6</sub> representa alquilo que tiene 1 a 10 carbonos;

R<sub>8</sub> representa H, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, alqueno que tiene menos de 12 carbonos, o alquino que tiene menos de 12 carbonos; R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, R<sub>9</sub>', R<sub>10</sub>', representan

independientemente H, F, Cl, Br, I, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, o un cicloalquilo de tres a seis miembros o cicloalquilo sustituido que incluye  $C_n$  y/o  $C_n$ ;

n y n' es igual a un entero desde cero hasta cinco;

- 5 en donde los grupos sustituidos comprenden uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alqueno que tiene menos de 12 carbonos, alquino que tiene menos de 12 carbonos, cicloalquilo, hidroxilo, amino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquiltio, sulfonilo, cetona, aldehído, éster, heterociclilo,  $-CF_3$ , y  $-CN$ ; y

en donde el compuesto se administra en una cantidad efectiva para tratar la enfermedad celular necrótica.

En otras realizaciones,

- 10 i) la enfermedad celular necrótica se selecciona del grupo que consiste de trauma, isquemia, apoplejía, infarto cardiaco, infección y septicemia;

ii) la enfermedad celular necrótica es una enfermedad neurodegenerativa seleccionada de enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, y demencia asociada a VIH;

- 15 iii) el compuesto se administra a través de una ruta seleccionada de las rutas oral, parenteral, tópica, ocular, transdérmica, y nasal;

iv) el compuesto se administra mediante inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o epidural;

v) el compuesto se administra en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable; o

- 20 vi) el compuesto se administra en combinación con otro compuesto, particularmente cuando el compuesto se selecciona de la lista que consiste de inhibidores de apoptosis, inhibidores PARP, inhibidores Src, agentes para tratar apoplejía, agentes para tratar trastornos cardiovasculares y agentes antimicrobianos.

25 En una realización, la invención se relaciona con un compuesto como se definió anteriormente para uso en un método para tratar una enfermedad celular necrótica que comprende administrar dicho compuesto a un sujeto que tiene una enfermedad celular necrótica, en donde el compuesto se administra en una cantidad efectiva para tratar la enfermedad celular necrótica.

30 La frase "cantidad terapéuticamente efectiva" como se utiliza aquí significa la cantidad de un compuesto, material o composición que comprende un compuesto de la presente invención que es efectivo para producir algún efecto terapéutico deseado en por lo menos una sub-población de células en un animal en una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico. Una cantidad terapéuticamente efectiva para tratar un trastorno neurológico es una cantidad suficiente para inhibir necrosis en por lo menos un subconjunto de las células que fueron expuestas a un suceso iniciador de muerte celular. Por consiguiente, una cantidad terapéuticamente efectiva previene o minimiza el progreso de la enfermedad asociada con necrosis celular. El progreso de la enfermedad se puede monitorear en relación con una progresión de enfermedad esperada que se basa en los estudios de población, observaciones controladas en individuos, o una combinación de ambos.

35 En ciertas realizaciones, un compuesto o preparación farmacéutica se administra por vía oral. En otras realizaciones, el compuesto o preparación farmacéutica se administra por vía intravenosa. Las rutas alternativas de administración incluyen administraciones sublingual, intramuscular, y transdérmicas.

40 En ciertas realizaciones, la presente invención se relaciona con ligandos para inhibir la muerte celular, en donde los ligandos están representados por cualquiera de las estructuras descritas anteriormente, y cualesquier conjuntos de definiciones asociadas con una de aquellas estructuras. En ciertas realizaciones, los ligandos de la presente invención son inhibidores de muerte celular. En cualquier evento, los ligandos de la presente invención preferiblemente ejercen su efecto sobre la inhibición de la muerte celular a una concentración menor de aproximadamente 50 micromolar, más preferiblemente a una concentración de menos de aproximadamente 10 micromolar, y aún más preferiblemente a una concentración de menos de 1 micromolar.

45 Los compuestos de la invención se pueden probar en modelos animales estándar de apoplejía y protocolos estándar tales como los descritos por Hara, H., et al. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. 94 (5): 2007-12.



Cuando los compuestos de la presente invención se administran como productos farmacéuticos, a humanos y animales, se les puede dar per se o como una composición farmacéutica que contiene, por ejemplo, 0.1% a 99.5% (más preferiblemente, 0.5% a 90%) de ingrediente activo en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable.

5 Las preparaciones de la presente invención se pueden administrar por vía oral, parenteral, tópica, o rectal. Por supuesto se proporcionan en formas adecuadas para cada ruta de administración. Por ejemplo, se administran en comprimidos o cápsulas, por inyección, inhalación, loción ocular, ungüento, supositorio, etc. administración por inyección, infusión o inhalación; tópico por loción o ungüento; y rectal mediante supositorios. Se prefieren las administraciones orales.

10 Las frases "administración parenteral" y "administrado parenteralmente" como se usa en la presente memoria significa modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, usualmente por inyección, e incluye, sin limitación, inyección intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, e intraesternal e infusión.

15 Las frases "administración sistémica", "administrado sistémicamente", "administración periférica" y "administrado periféricamente" como se utiliza aquí significa la administración de un compuesto, fármaco u otro material que no esté directamente en el sistema nervioso central, de tal manera que entra en el sistema del paciente y, por lo tanto, está sujeto al metabolismo y otros procesos similares, por ejemplo, administración subcutánea.

20 Estos compuestos se pueden administrar a humanos y otros animales para terapia por cualquier ruta de administración adecuada, que incluye por vía oral, nasal, como, por ejemplo, un aerosol, por vía rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal y tópica, como mediante polvos, ungüentos o gotas, que incluyen por vía bucal y sublingual.

25 Independientemente de la ruta de administración seleccionada, los compuestos de la presente invención, que se pueden utilizar en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables mediante métodos convencionales conocidos por aquellos expertos en la técnica.

Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden variar para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea efectiva para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente en particular, composición, y modo de administración, sin ser tóxico para el paciente.

30 El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto particular de la presente invención empleado, o el éster, sal o amida del mismo, la ruta de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción o metabolismo del compuesto particular, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación con el compuesto particular empleado, edad, sexo, peso, condición, salud general e historial médico previo del paciente que está siendo tratado, y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas. Se puede utilizar una dosis diaria, semanal, o mensual (u otro intervalo de tiempo).

40 Un médico o veterinario que tiene experiencia común en la técnica puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad efectiva de la composición farmacéutica requerida. Por ejemplo, el médico o veterinario podría comenzar con dosis de los compuestos de la invención empleados en la composición farmacéutica a niveles más bajos que la requerida para conseguir el efecto terapéutico deseado y aumentar gradualmente la dosificación hasta conseguir el efecto deseado.

45 En general, una dosis diaria adecuada de un compuesto de la invención será aquella cantidad del compuesto que es la dosis más baja eficaz para producir un efecto terapéutico. Dicha dosis efectiva dependerá generalmente de los factores descritos anteriormente. Generalmente las dosis de los compuestos de esta invención para un paciente, cuando se utilizan para los efectos indicados, variará desde aproximadamente 0.0001 hasta aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal por día. Preferiblemente, la dosificación diaria variará desde 0.001 hasta 50 mg de compuesto por kg de peso corporal, y aún más preferiblemente desde 0.01 hasta 10 mg de compuesto por kg de peso corporal.

50 Si se desea, la dosis diaria efectiva del compuesto activo se puede administrar como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más subdosis administradas separadamente a intervalos apropiados durante todo el día, opcionalmente, en formas de dosificación unitarias.

Aunque es posible para un compuesto de la presente invención sea administrado solo, es preferible administrar el compuesto como una formulación farmacéutica (composición).

En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más de los compuestos sujeto, como se describe anteriormente, formulados junto con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables (aditivos) y/o diluyentes. Como se describe en detalle adelante, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden formular especialmente para administración en forma sólida o líquida, que incluyen aquellos adaptados para el siguiente: administración oral, por ejemplo, pócima (soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos, bolos, polvos, gránulos, pastas para aplicación a la lengua; administración parenteral, por ejemplo, por inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril; aplicación tópica, por ejemplo, como una crema, ungüento o pulverizador aplicado a la piel, pulmones o cavidad oral; o por vía intravaginal o intratecal, por ejemplo, como un pesario, crema o espuma; por vía sublingual; ocular; transdérmica; nasal; pulmonar o a otras superficies mucosas.

Los compuestos de acuerdo la invención se pueden formular para administración de cualquier manera conveniente para uso en medicina humana o veterinaria, por analogía con otros productos farmacéuticos.

El término "tratamiento" pretende abarcar también profilaxis, terapia y cura. El paciente que recibe este tratamiento es cualquier animal en necesidad de dicho tratamiento, que incluye primates, en particular humanos, y otros mamíferos tales como equinos, ganado, cerdos y ovejas; y aves de corral y animales domésticos en general.

En otro aspecto de la invención, los compuestos se pueden administrar en combinación con compuestos que son inhibidores de apoptosis. El término "inhibidor de apoptosis" se refiere a compuestos que inhiben apoptosis, que incluyen, pero no se limitan a inhibidores de caspasas reversibles e irreversibles. Un ejemplo de un inhibidor de apoptosis incluye zVAD (N-benciloxicarbonil-Val-Ala-Asp- (OMe) fluorometil cetona), IETD (N-acetil-Ile-Glu-Thr-Asp-al), YVAD (N-benciloxicarbonil- Tyr Val-Ala-Asp- (OMe) fluorometil cetona), DEVD (N- [2- (6-hidroxi-3-oxo-3H-xanten-9-il) benzoi] -L- $\alpha$ -aspartil- La-glutamil N - [(1S) -1- (carboximetil) -3-fluoro-2-oxopropil]- L-valinamida), y LEHD (N-acetil-Leu-Glu-His-Aspal).

En algunas realizaciones preferidas los compuestos de la invención se administran en combinación con inhibidores de polimerasa PARP poli(ADP-ribosa). Los ejemplos no limitantes de inhibidores de PARP incluyen 6(5H)-fenantridinona, 4-amino-1,8-naftalimida, 1,5-isoquinolinadiol, y 3-aminobenzamida.

En aún otras realizaciones preferidas, los compuestos de la invención se administran en combinación con inhibidores Src. Las proteínas de mamíferos Src son tirosina quinasas citoplasmáticas que cumplen una función muy amplia en la transducción de señales. Ejemplos de inhibidores de Src incluyen, pero no se limitan a: PP1 (1- (1,1-dimetiletíl) -1- (4-metilfenil) -1H-pirazolo [3,4-d] pirimidin-4-amina), PP2 (3- (4-clorofenil) -1-(1,1-dimetiletíl) -1H-pirazolo [3,4-d] pirimidin-4-amina), damnacantal (3-hidroxi-1-metoxi-2-antraquinonacarboxaldehído) y SU-5565.

El término "trauma", como se utiliza aquí se refiere a cualquier daño físico en el cuerpo provocado por violencia, accidentes, fracturas, etc. El término "isquemia" se refiere a un trastorno cardiovascular caracterizado por un estado bajo en oxígeno usualmente debido a la obstrucción del suministro de sangre arterial o el flujo de sangre inadecuado que conduce a hipoxia en el tejido. El término "golpe" se refiere a trastornos cardiovasculares provocados por un coágulo de sangre o hemorragia en el cerebro, más comúnmente provocado por una interrupción en el flujo sanguíneo en el cerebro como un coágulo que bloquea un vaso sanguíneo, y en ciertas realizaciones de la invención, el término apoplejía se refiere a una apoplejía isquémica o apoplejía hemorrágica. El término "infarto de miocardio" se refiere a un trastorno cardiovascular caracterizado por la necrosis localizada que resulta de la obstrucción del suministro de sangre.

Los métodos de la invención implican, en algunos aspectos, las combinaciones de compuestos que son inhibidores de necrosis celular (por ejemplo, compuestos de tiohidantoína heterocíclico, hidantoína, oxazolidinona, tio-oxazolidinona, pirimidinona, o oxazinanona, o combinaciones de los mismos) con agentes para el tratamiento de trastornos cardiovasculares. El término "agentes para tratar trastornos cardiovasculares" incluyen compuestos seleccionados del grupo que consiste en agentes anti-inflamatorios, agentes anti-trombóticos, agentes anti-plaquetarios, agentes fibrinolíticos, agentes de reducción de lípidos, inhibidores directos de trombina, inhibidores de los receptores de glicoproteína IIb/IIIa, agentes que se unen a moléculas de adhesión celular e inhiben la capacidad de las células blancas de la sangre para adherirse a dichas moléculas (por ejemplo, anticuerpos de moléculas de adhesión anti-celulares), bloqueadores de canales de calcio, bloqueadores del receptor de betaadrenérgico, inhibidores de ciclooxigenasa-2, inhibidores del sistema de angiotensina, y/o cualesquier combinación de los mismos.

Un agente preferido es aspirina.

Los agentes "antiinflamatorios" incluyen Alclofenac; Dipropionato de Alclometasona; Algestona Acetonida; Alfa Amilasa; Amcinafal; Amcinafida; Amfenac Sodio; Clorhidrato de Amiprilosa; Anakinra; Anirolac; Anitrazafen;

Apazona; Balsalazida Disodio; Bendazac; Benoxaprofen; clorhidrato de Benzidamina; Bromelains; Properamol; Budesonida; Carprofen; Cicloprofen; Cintazona; Cliprofen; Propionato de Clobetasol; Butirato de Clobetasona; Clopirac; Propionato de Cloticasona; Acetato de Cormetasona; Cortodoxona; Deflazacort; Desonida; Desoximetasona; Dipropionato de Dexametasona; Diclofenac Potasio; Diclofenac Sodio; Diacetato de Diflorasona; 5 Diflumidona Sodio; Diflunisal; Difluprednato; Diftalona; Sulfóxido de Dimetilo; Drocinonida; Endrisona; Enlimomab; Enolicam Sodio; Epirizol; Etodolac; Etofenamato; Felbinac; Fenamol; Fenbufen; Fenclofenac; Fenclorac; Fendosal; Fenpipalona; Fentiazac; Flazalona; Fluazacort; Ácido Flufenámico; Flumizol; Acetato de Flunisolida; Flunixin; Flunixin Meglumina; Fluocortin Butilo; Acetato de Fluorometolona; Fluquazona; Flurbiprofen; Fluretofen; Propionato de Fluticasona; Furaprofen; Furobufen; Halcinonida; Propionato de Halobetasol; Acetato de Halopredona; Ibufenac; 10 Ibuprofeno; Ibuprofeno Aluminio; Ibuprofeno Piconol; Ilonidap; Indometacina; Indometacina Sodio; Indoprofen; Indoxol; Intrazol; Acetato de Isoflupredona; Isoxepac; Isoxicam; Ketoprofeno; Clorhidrato de Lofemizol; Lornoxicam; Etabonato de Loteprednol; Meclofenamato Sodio; Ácido Meclofenámico; Dibutirato de Meclorisona; Ácido Mefenámico; Mesalamina; Meseclazona; Suleptanato de Metilprednisolona; Morniflumato; Nabumetona; Naproxeno; Naproxeno Sodio; Naproxol; Nimazona; Olsalazina Sodio; Orgotein; Orpanoxin; Oxaprozin; Oxifenbutazona; 15 Clorhidrato de Paraniina; Pentosan Polisulfato de Sodio; Glicerato de Fenbutazona Sodio; Pirfenidona; Piroxicam; Cinamato de Piroxicam; Piroxicam Olamina; Pirprofen; Prednazato; Prifelona; Ácido Prodólico; Proquazona; Proxazol; Citrato de Proxazol; Rimexolona; Romazarit; Salcolex; Salnacedin; Salsalato; Salicilatos; Cloruro de Sanguinarium; Seclazona; Sermetacina; Sudoxicam; Sulindac; Suprofen; Talmetacina; Talniflumato; Talosalato; Tebufelona; Tenidap; Tenidap Sodio; Tenoxicam; Tesicam; Tesimida; Tetrídamina; Tiopinac; Pivalato de Tixocortol; 20 Tolmetina; Tolmetina Sodio; Triclonida; Triflumidato; Zidometacina; Glucocorticoides; Zomepirac Sodio.

Agentes “anti-trombótico” y/o “fibrinolítico” incluyen Plasminógeno (una plasmina a través de interacciones de prekalikreina, quinínogenos, Factores XII, XIIIa, proactivador de plasminógeno, y activador de plasminógeno de tejido [TPA]) Estreptoquinasa; Uroquinasa: Complejo de plasminógeno anisoilato –Activador de Estreptoquinasa; Pro-Uroquinasa; (Pro-UK); rTPA (alteplasa o activasa; r denota recombinante); rPro-UK; Abboquinasa; Eminasa; 25 Esreptasa Clorhidrato de Anagrelida; Bivalirudina; Dalteparina Sodio; Danaparoid Sodio; Clorhidrato de Dazoxiben; Sulfato de Efgatran; Enoxaparin Sodio; Ifetroban; Ifetroban Sodio; Tinzaparin Sodio; retaplasa; Trifenagrel; Warfarina; Dextranos.

Agentes “anti-plaquetarios” incluyen Clopidogrel; Sulfinpirazona; Aspirina; Dipiridamol; Clofibrato; Piridinol Carbamato; PGE; Glucagón; fármacos de Antiserotonina; Cafeína; Teofilina Pentoxifilina; Ticlopidina; Anagrelida.

30 Agentes de “reducción de lípido” incluyen gemfibrozilo, colistiramina, colestipol, ácido nicotínico, probucol lovastatina, fluvastatina, simvastatina, atorvastatina, pravastatina, cirivastatina.

Los “inhibidores de trombina directos” incluyen hirudina, hirugen, hirulog, agatroban, PPACK, aptámeros de trombina.

35 Los “inhibidores del receptor de IIb/IIIa glicoproteína” son anticuerpos y no anticuerpos, e incluyen pero no se limitan a ReoPro (abcixamab), lamifiban, tirofiban.

Los “bloqueadores de canal de calcio” son una clase químicamente diversa de compuestos que tiene valor terapéutico importante en el control de una variedad de enfermedades que incluyen diversos trastornos cardiovasculares, tales como hipertensión, angina, y arritmias cardíacas (Fleckenstein, Cir. Res. v. 52, (suppl. 1), p.13-16 (1983); Fleckenstein, Experimental Facts and Therapeutic Prospects, John Wiley, New York (1983); McCall, D., Curr Pract Cardiol, v. 10, p. 1-11 (1985)). Los bloqueadores de canales de calcio son un grupo heterogéneo de fármacos que previenen o retardan la entrada de calcio en las células al regular los canales de calcio celulares. (Remington, The Science and Practice of Pharmacy, Nineteenth Edition, Mack Publishing Company, Eaton, PA, p.963 (1995)). La mayoría de los bloqueadores de los canales de calcio actualmente disponibles, y útiles de acuerdo con la presente invención, pertenecen a uno de los tres principales grupos químicos de los fármacos, las 40 dihidropiridinas tales como nifedipina, las fenil alquil aminas, tales como verapamilo, y las benzotiazepinas, tales como diltiazem. Otros bloqueadores del canal de calcio de acuerdo útil de acuerdo con la invención, incluyen, pero no se limitan a, amrinona, amlodipina, benciclano, felodipina, fendilina, flunarizina, isradipina, nifedipina, nimodipina, perhexileno, galopamilo, tiapamilo y análogos de tiapamilo (tal como 1993RO-11-2933), fenitoína, barbituratos, y los péptidos dinorfina, omega-conotoxina, y omega-agatoxina, y similares y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo. 45 50

Los “agentes de bloqueo del receptor adrenérgico beta” son una clase de fármacos que antagonizan los efectos cardiovasculares de catecolaminas en angina de pecho, hipertensión, y arritmias cardíacas. Los bloqueadores del receptor adrenérgicos beta incluyen, pero no se limitan a, atenolol, acebutolol, alprenolol, befunolol, betaxolol, bunitrolol, carteolol, celiprolol, hedroxalol, indenolol, labetalol, levobunolol, mepindolol, methypranol, metindol, metoprolol, metrizoranolol, oxprenolol, pindolol, propranolol, practolol, practolol, sotalolnadolol, tiprenolol, tomalolol, timolol, bupranolol, penbutolol, trimepranol, 2-(3-(1,1-dimetiletil)-amino-2-hidroxi-propoxi) -3-piridenocarbonitrilHCl, 1-butilamino-3- (2,5-diclorofenoxi)-2- propanol, 1-isopropilamino-3-(4-(2-ciclopropilmetoxietil) fenoxi)-2- propanol, 3-isopropilamino-1- (7-metilindan- 4-iloxi)-2- butanol, 2-(3-t-butilamino-2-hidroxi-propilto)-4-(5-carbamoi- 2-tienil) 55

tiazol,7-(2-hidroxi-3-t butilaminpropoxi) ftaluro. Se pueden utilizar los compuestos identificados anteriormente como mezclas isoméricas, o en su forma de levorrotación o dextrorrotación.

La ciclooxigenasa-2 (COX-2) es una nueva forma recientemente identificada de una ciclooxigenasa. La "ciclooxigenasa" es un complejo de enzima presente en la mayoría de los tejidos que producen diversas prostaglandinas y tromboxanos a partir del ácido araquidónico. Los fármacos no esteroideos, antiinflamatorios ejercen la mayoría de su actividad anti-inflamatoria, analgésica y antipirética e inhiben las contracciones uterinas inducidas por hormonas y ciertos tipos de crecimiento de cáncer a través de la inhibición de la ciclooxigenasa (también conocida como prostaglandina G/H sintasa y/o sintasa de la prostaglandina-endoperoxido). Inicialmente, sólo se conoce una forma de la ciclooxigenasa, la "enzima constitutiva" o la ciclooxigenasa-1 (COX-1). Y se identificó originalmente en vesículas seminales bovinas.

La ciclooxigenasa-2 (COX-2) se ha clonado, secuenciado y caracterizado inicialmente de fuentes de pollo, murino y humano (Véase, por ejemplo, Patente Estadounidense 5,543,297, emitida el 6 de agosto de 1996 y Cromlish, et al., y cedida a Merck Frosst Canada, Inc., de Kirkland, CA, titulada: "Ciclooxigenasa-2 cADN humana y ensayos para evaluar la actividad de ciclooxigenasa-2"). Esta enzima es distinta de la COX-1. La COX-2, es rápida y fácilmente inducible por un número de agentes que incluyen mitógenos, endotoxinas, hormonas, citoquinas y factores de crecimiento. Ya que las prostaglandinas tienen ambas funciones fisiológicas y patológicas, se considera que la enzima constitutiva, la COX-1, es responsable, en gran parte, de la liberación basal endógena de prostaglandinas y por lo tanto es importante en sus funciones fisiológicas tales como el mantenimiento de la integridad gastrointestinal y el flujo sanguíneo renal. Por el contrario, se considera que la forma inducible, COX-2, es principalmente responsable de los efectos patológicos de las prostaglandinas donde la rápida inducción de la enzima podría ocurrir en respuesta a dichos agentes como agentes inflamatorios, hormonas, factores de crecimiento y citoquinas. Por lo tanto, se considera que un inhibidor selectivo de COX-2 tiene propiedades anti-inflamatorias, antipiréticas y analgésicas similares a un fármaco anti-inflamatorio no esteroideo convencional, y además inhibe las contracciones uterinas inducidas por hormonas y también tiene potenciales efectos anti-cáncer, pero con efectos secundarios reducidos. En particular, se considera que dichos inhibidores de COX-2 tienen un potencial reducido de toxicidad gastrointestinal, un potencial reducido de efectos secundarios renales, un efecto reducido sobre los tiempos de sangrado y posiblemente una disminución del potencial para inducir ataques de asma en sujetos asmáticos sensibles a aspirina, y por lo tanto son útiles de acuerdo con la presente invención.

Una serie de "inhibidores de COX-2" selectivos son conocidos en la técnica. Estos incluyen, pero no se limitan a, los inhibidores COX-2 descritos en la Patente Estadounidense 5,474,995 "heterociclos fenilo como inhibidores COX-2"; Patente Estadounidense 5,521,213 "heterociclos bicíclicos de diarilo como inhibidores de ciclooxigenasa-2"; Patente Estadounidense 5,536,752 "heterociclos fenilo como inhibidores COX-2"; Patente Estadounidense 5,550,142 "heterociclos fenilo como inhibidores de COX-2"; Patente Estadounidense 5,552,422 "arilo sustituido con compuestos nitrogenados aromáticos 5,5 fusionados como agentes anti-inflamatorios"; Patente Estadounidense 5,604,253 "derivados de ácido N-bencilindol-3-ilo propanoico como inhibidores de ciclooxigenasa"; Patente Estadounidense 5,604,260 "5-metanosulfonamido -1-indanonas como un inhibidor de la ciclooxigenasa-2"; Patente Estadounidense 5,639,780 "derivados de ácido N-bencil indol-3-il butanoico como inhibidores de ciclooxigenasa"; Patente Estadounidense 5,677,318 difenil-1,2,3-tiadiazoles como agentes anti-inflamatorios"; Patente Estadounidense 5,691,374 "diaril- 5-oxigenada-2- (5H) -furanonas como inhibidores COX-2"; Patente Estadounidense 5,698,584 "3,4-diaril-2-hidroxi-2,5- dihidrofuranos como profármacos para inhibidores de COX-2"; Patente Estadounidense 5,710,140 "heterociclos fenilo como inhibidores COX-2"; Patente Estadounidense 5,733,909 " difenil estilbenos como profármacos para inhibidores de COX-2"; Patente Estadounidense 5,789,413 "estirenos alquilados como profármacos para inhibidores de COX-2"; Patente Estadounidense 5,817,700 " derivados de bisaril ciclobutenos como inhibidores de ciclooxigenasa"; Patente Estadounidense 5,849,943 "derivados de estilbeno, útiles como inhibidores de ciclooxigenasa-2"; Patente Estadounidense 5,861,419 "piridinas sustituidas como inhibidores selectivos de ciclooxigenasa-2"; Patente Estadounidense 5,922,742 "piridinil-2- ciclopenten -1-onas como inhibidores selectivos de ciclooxigenasa-2"; Patente Estadounidense 5,925,631 "estirenos alquilados como profármacos para inhibidores de COX-2"; todos los cuales se asignan comúnmente a Merck Frosst Canada, Inc. (Kirkland, CA). También se describen inhibidores adicionales de COX-2 en la Patente Estadounidense 5,643,933, cedida a G. D. Searle & Co. (Skokie, IL), titulada: "sulfonilfenilheterociclos sustituidos como inhibidores de la ciclooxigenasa-2 y 5-lipoxigenasa"

Un número de los inhibidores de COX-2 identificados anteriormente son profármacos de inhibidores de COX-2 selectivos, y ejercen su acción mediante conversión *in vivo* a los inhibidores activos y selectivos de COX-2. Los inhibidores de COX-2 activos y selectivos formados a partir de los profármacos de inhibidores de COX-2 identificados anteriormente se describen en detalle en el documento WO 95/00501, publicado el 5 de enero de 1995, documento WO 95/18799, publicado el 13 de julio 1995 y la Patente Estadounidense 5,474,995, emitida el 12 de diciembre de 1995. Dadas las enseñanzas de la Patente Estadounidense 5,543,297, titulada: "cADN de ciclooxigenasa-2 humana y ensayos para evaluar la actividad de la ciclooxigenasa 2 ", una persona con experiencia común en la técnica sería capaz de determinar si un agente es un inhibidor de COX-2 selectivo o un precursor de un inhibidor de COX-2, y por lo tanto parte de la presente invención.

Un "inhibidor de angiotensina" es un agente que interfiere con la función, síntesis o catabolismo de la angiotensina II. Estos agentes incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de la enzima que convierte angiotensina (ACE), antagonistas de angiotensina II, antagonistas del receptor de angiotensina II, agentes que activan el catabolismo de la angiotensina II, y agentes que impiden la síntesis de angiotensina I de los cuales la angiotensina II se deriva finalmente. El sistema renina-angiotensina está implicado en la regulación de la hemodinámica y el equilibrio de agua y electrolitos. Los factores que reducen el volumen de sangre, la presión de perfusión renal o la concentración de Na<sup>+</sup> en el plasma tienden a activar el sistema, mientras que los factores que aumentan estos parámetros tienden a suprimir su función.

La angiotensina I y angiotensina II se sintetizan por la ruta enzimática de renina-angiotensina. El proceso de síntesis se inicia cuando la enzima renina actúa sobre el angiotensinógeno, pseudoglobulina en el plasma sanguíneo, para producir el decapeptido angiotensina I. La angiotensina I se convierte por la enzima que convierte angiotensina (ACE) a angiotensina II (octapeptido de angiotensina- [1-8]). Esta última es una sustancia presora activa que se ha implicado como agente causante en varias formas de hipertensión en diversas especies de mamíferos, por ejemplo, humanos.

Los inhibidores del sistema de angiotensina (renina-angiotensina) son los compuestos que actúan para interferir con la producción de angiotensina II a partir de angiotensinógeno o angiotensina I o interferir con la actividad de angiotensina II. Dichos inhibidores son bien conocidos por aquellos expertos comunes en la técnica e incluyen compuestos que actúan para inhibir las enzimas implicadas en la producción final de la angiotensina II, que incluyen renina y ACE. También incluyen compuestos que interfieren con la actividad de angiotensina II, una vez producida. Ejemplos de clases de dichos compuestos incluyen anticuerpos (por ejemplo, a renina), aminoácidos y análogos de los mismos (que incluyen aquellos conjugados a moléculas más grandes), péptidos (que incluyen análogos de péptidos de angiotensina y angiotensina I), análogos relacionados pro-renina, etc. Entre los inhibidores del sistema renina-angiotensina más potentes y útiles están los inhibidores de renina, inhibidores de ACE y antagonistas de angiotensina II. En una realización preferida de la invención, los inhibidores del sistema renina-angiotensina son inhibidores de renina, inhibidores de ACE y antagonistas de angiotensina II.

Los "antagonistas de la angiotensina II" son compuestos que interfieren con la actividad de la angiotensina II mediante unión a receptores de angiotensina II e interferir con su actividad. Los antagonistas de angiotensina II son bien conocidos e incluyen compuestos péptidos y compuestos no péptidos. La mayoría de los antagonistas de angiotensina II son congéneres ligeramente modificados en los que la actividad agonista es atenuada por el reemplazo de fenilalanina en la posición 8 con algún otro aminoácido; la estabilidad se puede mejorar mediante otros reemplazos que ralentizan la degeneración *in vivo*. Ejemplos de antagonistas de angiotensina II incluyen: compuestos peptídicos (por ejemplo, saralasin, [(San<sup>1</sup>) (Val<sup>5</sup>) (Ala<sup>8</sup>)] angiotensina - (1-8) octapeptido y análogos relacionados); imidazol 2-ona N-sustituida (Número de Patente Estadounidense 5,087,634); derivados de acetato de imidazol, que incluyen ácido 2-N-butiril -4-cloro-1- (2-clorobencilo) imidazol-5-acético (véase Long et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 247 (1), 1-7 (1988)); ácido 4,5,6,7-tetrahidro -1H-imidazo [4, 5-c]-piridina-6-carboxílico y derivados de análogos (Número de Patente Estadounidense 4,816,463); análogos de N2-tetrazol betaglucuronida (Número de Patente Estadounidense 5,085,992); pirroles sustituidos, pirazoles, y triazoles (Número de Patente Estadounidense 5,081,127); fenol y derivados heterocíclicos, tales como 1, 3-imidazoles (Número de Patente Estadounidense 5,073,566); heterociclos de anillos de 7 miembros imidazo fusionado (Número de Patente Estadounidense 5,064,825); péptidos (por ejemplo, Número de Patente Estadounidense 4,772,684); anticuerpos a angiotensina II (por ejemplo, Número de Patente Estadounidense 4,302,386); y compuestos de imidazol aralquilo tales como bifenilo-metilo sustituidos con imidazoles (por ejemplo, Número EP 253,310, el 20 de enero de 1988); ES8891 (N-morfolinoacetil- (- 1-naftil) -L-alanil (4, tiazolil) -L-alanilo (35, 45) -4-amino-3-hidroxi -5-ciclo-hexapentanoil -N-hexilamida, Sankyo Company, Ltd., Tokio, Japón); SKF108566 ácido (E-alfa-2- [2-butiril-1- (carboxi fenil) metil] 1H-imidazol-5-il [metilano]-2- tiofenopropanoico, Smith Kline Beecham Pharmaceuticals, PA); Losartán (DUP753/MK954, DuPont Merck Pharmaceutical Company); Remikirin (RO42-5892, F. Hoffman LaRoche AG); agonistas A<sub>2</sub> (Marion Merrill Dow) y ciertos heterociclos no peptídicos (G.D.Searle and Company).

La "enzima que convierte angiotensina (ACE), es una enzima que cataliza la conversión de angiotensina I a angiotensina II. Los inhibidores de ACE incluyen aminoácidos y derivados de los mismos, péptidos, que incluyen di y tri péptidos y los anticuerpos a ACE que intervienen en el sistema de renina -angiotensina al inhibir la actividad de ACE reduciendo o eliminando de esta manera la formación de angiotensina II de sustancia presora. Se han utilizado inhibidores de ACE en medicina para tratar hipertensión, insuficiencia cardíaca congestiva, infarto de miocardio y enfermedad renal. Las clases de compuestos conocidos por ser útiles como inhibidores ACE incluyen acilmercapto y mercaptoalcanoil prolinas tales como captopril (Número de Patente Estadounidense 4,105,776) y zofenopril (Número de Patente Estadounidense 4,316,906), dipéptidos de carboxialquilo, tales como enalapril (Número de Patente Estadounidense 4,374,829), lisinopril (Número de Patente Estadounidense 4,374,829), quinapril (Número de Patente Estadounidense 4,344,949), ramipril (Número de Patente Estadounidense 4,587,258), y perindopril (Número de Patente Estadounidense 4,508,729), miméticos de dipéptidos de carboxialquilo como cilazapril (Número de Patente Estadounidense 4,512,924) y benazeprilo (Número de Patente Estadounidense 4,410,520), fosfinilalcanoil prolinas como fosinopril (Número de Patente Estadounidense 4,337,201 ) y trandolopril.

Los "inhibidores de renina" son compuestos que interfieren con la actividad de renina. Los inhibidores de renina incluyen aminoácidos y derivados de los mismos, péptidos y derivados de los mismos, y anticuerpos para renina. Ejemplos de inhibidores de renina que son el objeto de las patentes de los Estados Unidos son como sigue: derivados de urea de péptidos (Número de Patente Estadounidense 5,116,835); aminoácidos unidos por enlaces no peptídicos (Número de Patente Estadounidense 5,114,937); derivados de di y tri péptidos (Número de Patente Estadounidense 5,106,835); aminoácidos y derivados de los mismos (Patentes Estadounidenses Números 5,104,869 y 5,095,119); diol sulfonamidas y sulfonilos (Número de Patente Estadounidense 5,098,924); péptidos modificados (Número de Patente Estadounidense 5,095,006); carbamatos de peptidil beta-aminoacil aminodiol (Número de Patente Estadounidense 5,089,471); pirolimidazolonas (Número de Patente Estadounidense 5,075,451); estatina o estatona de flúor y cloro que contiene péptidos (Número de Patente Estadounidense 5,066,643); peptidil amino dioles (Números de Patentes Estadounidenses 5,063,208 y 4,845,079); derivados de N-morfolino (Número de Patente Estadounidense 5,055,466); derivados de pepstatina (Número de Patente Estadounidense 4,980,283); alcoholes N-heterocíclico (Número de Patente Estadounidense 4,885,292); anticuerpos monoclonales para renina (Número de Patente Estadounidense 4,780,401); y una variedad de otros péptidos y análogos de los mismos (Números de Patentes de Estados Unidos 5,071,837, 5,064,965, 5,063,207, 5,036,054, 5,036,053, 5,034,512, y 4,894,437).

Los agentes que se unen a moléculas de adhesión celular e inhiben la capacidad de las células blancas de la sangre para adherirse a dichas moléculas incluyen agentes de polipéptidos. Dichos polipéptidos incluyen anticuerpos policlonales y monoclonales, preparados de acuerdo con la metodología convencional. Dichos anticuerpos ya son conocidos en la técnica e incluyen anticuerpos anti-ICAM 1, así como también otros anticuerpos. De forma significativa, como es bien conocido en la técnica, sólo una pequeña porción de una molécula de anticuerpo, la paratropa, está implicada en la unión del anticuerpo a su epítipo (véase, en general, Clark, W.R. (1986) *The Experimental Foundations of Modern Immunology*, Wiley & Sons, Inc., New York; Roitt, I. (1991) *Essential Immunology*, 7th Ed., Blackwell Scientific Publications, Oxford). Las regiones pFc 'y Fc, por ejemplo, son efectores de la cascada del complemento pero no están implicadas en la unión al antígeno. Un anticuerpo del que la región pFc 'se ha dividido enzimáticamente, o que ha sido producido sin la región pFc', designado un fragmento F(ab')<sub>2</sub>, retiene ambos sitios de unión de un anticuerpo de intacto. De manera similar, un anticuerpo del que se ha dividido enzimáticamente la región Fc, o que se ha producido sin la región Fc, designado un fragmento Fab, retiene uno de los sitios de unión a antígeno de una molécula de anticuerpo intacta. De seguir adelante, los fragmentos Fab consisten en una cadena ligera de anticuerpo unida covalentemente y una porción de la cadena pesada del anticuerpo denota Fd. Los fragmentos Fd son el principal determinante de especificidad del anticuerpo (un único fragmento Fd se puede asociar con hasta diez cadenas ligeras diferentes sin alterar la especificidad del anticuerpo) y los fragmentos Fd conservan la capacidad de unión a epítipo en aislamiento.

Dentro de la porción de unión a antígeno de un anticuerpo, como es bien conocido en la técnica, existe regiones determinantes de complementariedad (CDR), que interactúan directamente con las regiones de epítipo del antígeno, y marco (FR), que mantienen la estructura terciaria del paratopo véase, en general, Clar, 1986; Roitt, 1991). En el fragmento Fd de cadena pesada y la cadena ligera de inmunoglobulinas IgG, existen cuatro regiones marco (FR1 a FR4) separadas respectivamente por tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3). Las CDR, y en particular las regiones CDR3, y más particularmente la CDR3 de cadena pesada, son en gran medida responsables de la especificidad del anticuerpo.

Ahora se establece bien en la técnica que las regiones de no CDR de un anticuerpo de mamífero se pueden reemplazar por regiones similares de anticuerpos conoespecíficos o heteroespecíficos mientras que retiene la especificidad epitópica del anticuerpo original. Esto se manifiesta más claramente en el desarrollo y uso de anticuerpos "humanizados" en los que las CDR no humanas se unen covalentemente a regiones FR y/o Fc/pFc' humanas para producir un anticuerpo funcional. De esta manera, por ejemplo, la Publicación Internacional PCT Número WO 92/04381 enseña la producción y uso de anticuerpos RSV de murino humanizados en los que por lo menos una porción de las regiones FR de murino se han reemplazado por regiones FR de origen humano. Dichos anticuerpos, que incluyen fragmentos de anticuerpos intactos con capacidad de unión al antígeno, se refieren a menudo como anticuerpos "quiméricos".

Por lo tanto, como será evidente para un experto común en la técnica, la presente invención también proporciona para fragmentos F(ab')<sub>2</sub>, Fab, Fv y Fd; anticuerpos quiméricos en los que el Fc y/o Fr y/o regiones CDR1 y/o CDR2 y/o CDR3 de cadena ligera se han reemplazado por secuencias humanas homólogas o no humanas; anticuerpos de fragmentos de F(ab')<sub>2</sub> quiméricos en los que FR y/o regiones CDR1 y/o CDR2 y/o CDR3 de cadena ligera se han reemplazado por secuencias homólogas humanas o no humanas; anticuerpos de fragmentos Fab quiméricos en los que el FR y/o regiones CDR1 y/o CDR2 y/o CDR3 de cadena ligera se han reemplazado con secuencias homólogas humanas o no humanas; y anticuerpos de fragmentos Fd quiméricos en los que el FR y/o regiones CDR1 y/o CDR2 se han reemplazado por secuencias humanas homólogas o no humanas. La presente invención también incluye los denominados anticuerpos de cadena sencilla.

Por lo tanto, la invención involucra polipéptidos de numerosos tamaños y tipos que se unen específicamente a las moléculas de adhesión celular. Estos polipéptidos también se pueden derivar de fuentes distintas de la tecnología de

anticuerpos. Por ejemplo, dichos agentes de unión a polipéptidos se pueden proporcionar por colecciones de péptidos degenerados que se pueden preparar fácilmente en solución, en forma inmovilizada o como colecciones de visualización de fagos. Las colecciones combinatorias también se pueden sintetizar de péptidos que contienen uno o más aminoácidos. Adicionalmente las colecciones se pueden sintetizar de peptoides y unidades estructurales sintéticas no peptídicas.

La visualización de fagos puede ser particularmente efectiva en la identificación de péptidos de unión útiles de acuerdo con la invención. Brevemente, se prepara una colección de fagos (utilizando por ejemplo, fago m13, fd, o lambda), mostrando insertos desde 4 hasta aproximadamente 80 residuos de aminoácidos utilizando procedimientos convencionales. Los insertos pueden representar, por ejemplo, una matriz completamente degenerada o sesgada. Luego se pueden seleccionar insertos que llevan fagos que se unen a la molécula de adhesión celular. Este proceso se puede repetir a través de diversos ciclos de re-selección de fago que se unen a la molécula de adhesión celular. Las rondas repetidas llevan al enriquecimiento de fagos que llevan secuencias particulares. El análisis de secuencias de ADN se puede llevar a cabo para identificar las secuencias de los polipéptidos expresados. Se puede determinar la porción lineal mínima de la secuencia que se une a la molécula de adhesión celular. Uno puede repetir el procedimiento usando una colección sesgada que contiene insertos que contienen parte de toda la porción lineal mínima más uno o más residuos degenerados adicionales en dirección 5' o en dirección 3' de los mismos. También se pueden utilizar métodos de cribado de dos híbridos de levadura para identificar polipéptidos que se unen a las moléculas de adhesión celular. Por lo tanto, las moléculas de adhesión celular, o un fragmento de las mismas, se pueden utilizar para cribar las colecciones de péptidos, que incluyen colecciones de visualización de fagos, para identificar y seleccionar socios de unión de péptidos de las moléculas de adhesión celular.

Una "infección" o "enfermedad infecciosa" como se utiliza aquí, se refiere a un trastorno que surge de la invasión de un anfitrión, superficialmente, localmente, o sistémicamente, por un microorganismo infeccioso. Los microorganismos infecciosos incluyen bacterias, virus, parásitos y hongos. El término "septicemia" se refiere a la afección clínica en la que los agentes infecciosos (bacterias, hongos patógenos) o productos de infección (toxinas bacterianas) entran en la circulación de la sangre y afectan profundamente la arterial presión, frecuencia cardíaca y temperatura corporal del paciente.

Las bacterias son organismos unicelulares que se multiplican asexualmente por fisión binaria. Se clasifican y se nombran en función de su morfología, reacciones de tinción, requerimientos nutricionales y metabólicos, estructura antigénica, composición química, y homología genética. Las bacterias se pueden clasificar en tres grupos con base en sus formas morfológicas, esféricas (cocos), rectas-varilla (bacilos) y varilla curvada o espiral (vibrio, campylobacter, espirilo, y espiroqueta). Las bacterias más comúnmente también se caracteriza con base en sus reacciones de tinción en dos clases de organismos, gram-positivas y gram-negativas. Gram se refiere al método de tinción que se realiza comúnmente en los laboratorios de microbiología. Los organismos gram-positivos conservan la tinción siguiendo el procedimiento de tinción y aparecen de un color violeta oscuro. Los organismos gram-negativos no retienen la tinción pero toman la tinción de contraste y por lo tanto aparecen de color rosa.

Las bacterias tienen dos componentes estructurales principales, una pared celular rígida y protoplastos (material encerrado por la pared celular). El protoplasto incluye citoplasma y material genético. Alrededor de la de protoplastos está la membrana citoplasmática que incluye algunas de las enzimas respiratorias de células y es responsable de la permeabilidad de las bacterias y el transporte de muchas sustancias de bajo peso molecular. La pared celular que rodea la membrana citoplasmática y los protoplastos se compone de mucopéptidos que incluyen polímeros complejos de azúcares entrecruzados por cadenas de péptidos de aminoácidos. La pared también se compone de polisacáridos y ácidos teicoicos.

Las bacterias infecciosas incluyen, pero no se limitan a, gran-negativas y gran-positivas. Las bacterias Gram-positivas incluyen, pero no se limitan a especies de Pasteurella, especies de Estafilococos, y especies de Streptococcus. Las bacterias gran-negativas incluyen, pero no se limitan a, Escherichia coli, especies de Pseudomonas y especies de Salmonella. Ejemplos específicos de bacterias infecciosas incluyen, pero no se limitan a: Helicobacter pylori, Borelia burgdorferi, Legionella pneumophila, especies de Mycobacteria (por ejemplo M. tuberculosis, M. avium, M. intracellulare, M. kansasii, M. gordonae), Staphylococcus aureus, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Listeria monocytogenes, Streptococcus pyogenes (Streptococcus Grupo A), Streptococcus agalactiae (Streptococcus Grupo B), Streptococcus (grupo viridans), Streptococcus faecalis, Streptococcus bovis, Streptococcus (especies anaeróbicas), Streptococcus pneumoniae, especies pathogenic Campylobacter, especies Enterococcus, Haemophilus influenzae, Bacillus anthracis, Corynebacterium diphtheriae, Erysipelothrix rhusiopathiae, Clostridium perfringens, Clostridium tetani, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Pasturella multocida, Bacteroides species, Fusobacterium nucleatum, Streptobacillus moniliformis, Treponema pallidum, Treponema pertenue, especies Leptospira, especies Rickettsia, y Actinomyces israelii. Bacterias de eje adicionales son Mycoplasma, por ejemplo Mycoplasma pneumoniae, Chlamydomphila, por ejemplo Chlamydomphila pneumoniae, especies Bartonella, y Tropheryma whippelii.

Los virus son agentes infecciosos pequeños que contienen un núcleo de ácido nucleico y una capa de proteína, pero no son organismos que vivan de forma independiente. Un virus no puede sobrevivir en ausencia de una célula viva

dentro de la cual se puede replicar. Los virus entran en las células vivas específicas, ya sea por endocitosis o la inyección directa de ADN (fago) y se multiplican, provocando la enfermedad. El virus multiplicado luego se puede liberar e infectar células adicionales. Algunos virus son los virus que contienen ADN y otra son los virus que contienen ARN.

- 5 Una vez que el virus entra en la célula que puede provocar una variedad de efectos fisiológicos. Uno de los efectos es la degeneración celular, en la que la acumulación de virus dentro de la célula provoca que esta muera y se rompa en pedazos y libere el virus. Otro efecto es la fusión de células, en el que las células infectadas se fusionan con las células vecinas para producir sincitios. Otros tipos de virus provocan proliferación celular que se traduce en la formación de tumores.
- 10 Ejemplos específicos de virus que se han encontrado en seres humanos incluyen, pero no se limitan a: Retroviridae (por ejemplo, virus de inmunodeficiencia humana, como el VIH-1 (también conocido como HTLV-III, LAV o HTLV-III/LAV, o VIH-III); y otros aislados, tales como VIH-LP); Picornaviridae (por ejemplo, virus de poliomielitis, virus de hepatitis A; enterovirus, virus Coxsackie humano, rinovirus, ecovirus); Calciviridae (por ejemplo, cepas que provocan gastroenteritis); Togaviridae (por ejemplo, virus de la encefalitis equina, virus de rubéola); Flaviridae (por ejemplo, virus del dengue, virus de encefalitis, virus de fiebre amarilla); Coronaviridae (por ejemplo coronavirus); Rhabdoviridae (por ejemplo, virus de estomatitis vesicular, virus de la rabia); Filoviridae (por ejemplo, virus del Ébola); Paramyxoviridae (por ejemplo, virus de parainfluenza, virus de paperas, virus de sarampión, virus sincitial respiratorio); Orthomyxoviridae (por ejemplo, virus de gripe); Bunyaviridae (virus Hantaan por ejemplo, bunyavirus, flebovirus y virus Nairo); Arenaviridae (Virus de fiebre hemorrágica); Reoviridae (por ejemplo, reovirus, orbivirus y rotavirus); Birnaviridae; Hepadnaviridae (virus de hepatitis B); Parvovirida (parvovirus); Papovaviridae (virus del papiloma, virus de polioma); Adenoviridae (la mayoría de los adenovirus); Herpesviridae (virus de herpes simplex (HSV) 1 y 2, virus de varicela zoster, citomegalovirus (CMV), virus de herpes); Poxviridae (virus de viruela, virus vaccinia, virus de viruela); e Iridoviridae (por ejemplo, virus de la fiebre porcina africana); y virus no clasificados (por ejemplo, el agente de la hepatitis delta (que se considera es un satélite defectuoso del virus de hepatitis B), los agentes de hepatitis diferente de A, diferente de C (clase 1 = transmitido internamente; clase 2 = transmitido parenteralmente (es decir, hepatitis C); virus de Norwalk y relacionados y astrovirus).
- 25

Además de los virus que infectan a los sujetos humanos provocando trastornos humanos, la invención también es útil para el tratamiento de otros vertebrados no humanos. Los vertebrados no humanos también son capaces de desarrollar infecciones que se pueden prevenir o tratar con las combinaciones de compuestos aziridino y antimicrobianos descritos aquí. Por ejemplo, además del tratamiento de enfermedades humanas infecciosas, los métodos de la invención son útiles para tratar o prevenir infecciones de animales no humanos.

30

El virus infeccioso de vertebrados humanos y no humanos, incluyen retrovirus, virus de ARN y virus de ADN. Este grupo de retrovirus incluye retrovirus simples y retrovirus complejos. Los retrovirus simples incluyen los subgrupos de los retrovirus de tipo B, retrovirus de tipo C y retrovirus de tipo D. Un ejemplo de un retrovirus de tipo B es el virus de tumor mamario de ratón (MMTV). Los retrovirus de tipo C incluyen los subgrupos de tipo C grupo A (que incluye el virus Rous sarcoma (RSV), virus de leucemia aviar (ALV) y virus de mieloblastosis aviar (AMV)) y el grupo de tipo C B (que incluye el virus de la leucemia de murino (MLV) , el virus de leucemia de felino (FeLV), virus de sarcoma de murino (MSV), virus de leucemia de simio gibón (GALV), virus de necrosis del bazo (SNV), virus de la reticuloendoteliosis (RV) y virus de sarcoma de simios (SSV)). Los retrovirus de tipo D incluyen el virus del mono Mason-Pfizer (MPMV) y retrovirus de simio tipo 1 (SRV-1). Los retrovirus complejos incluyen los subgrupos de lentivirus, virus de la leucemia de células T y virus espumosos. Los lentivirus incluyen el VIH-1, pero también incluyen el VIH-2, SIV, virus Visna, virus de inmunodeficiencia felina (FIV) y virus de anemia infecciosa equina (EIAV). Los virus de leucemia de células T incluyen HTLV-1, HTLV-II, virus de leucemia de células T de simio (STLV) y virus de leucemia bovina (BLV). Los virus espumosos incluyen virus humano espumoso (HFV), virus espumoso del simio (SFV) y virus espumoso bovino (BFV). Ejemplos de otros virus de ARN que son patógenos en animales vertebrados incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: miembros de la familia Reoviridae, que incluyen el género Orthoreovirus (múltiples serotipos de retrovirus de mamíferos y aves), el género Orbivirus (virus de la lengua azul, virus Eugenangee, virus de Kemerovo, virus de peste equina, y el virus de fiebre por garrapatas de Colorado), el género Rotavirus (rotavirus humano, virus de diarrea del becerro de Nebraska, rotavirus de murino, rotavirus de simio, rotavirus de bovinos u ovinos, rotavirus aviar); la familia Picornaviridae, que incluyen el género Enterovirus (poliovirus, virus Coxsackie A y B, virus entéricos citopáticos huérfanos humanos (ECHO), virus de hepatitis A, enterovirus de simio, virus de encefalomielitis de murino (ME), poliovirus muris, enterovirus de bovino, enterovirus de porcino, el género Cardiovirus (virus de encefalomiocarditis (EMC), Mengovirus), el género rinovirus (rinovirus humanos que incluyen por lo menos 113 subtipos; otros rinovirus), el género Aphthovirus (Fiebre Aftosa (FMDV); la familia Calciviridae, que incluye exantema vesicular de virus porcino, virus de león de mar San Miguel, picornavirus Felino y virus Norwalk; la familia Togaviridae, que incluye el género Alphavirus (virus de encefalitis equina oriental, virus del bosque Semliki, virus Sindbis, virus Chikungunya, virus O'Nyong-Nyong, virus del río Ross, virus de encefalitis equina venezolana, virus de encefalitis equina occidental), género Flavivirus (virus de la fiebre amarilla transmitida por mosquitos, virus del dengue, virus de encefalitis japonesa, virus de encefalitis de San Luis, virus de encefalitis del Valle Murray, virus del Nilo occidental, virus kunjin, virus de Europa central transmitida por garrapatas, virus transmitido por garrapatas del Este, virus del bosque Kyasanur, virus Louping III, virus Powassan, virus de la

35

40

45

50

55

60



5 fiebre hemorrágica Omsk), el género Rubivirus (virus de la rubéola), el género Pestivirus (virus de la enfermedad de la mucosa, virus del cólera Hog, virus de la enfermedad de frontera); la familia Bunyaviridae, que incluye el género Bunyavirus (virus Bunyamwera y virus relacionados, virus del grupo de encefalitis de California), el género Phlebovirus (flebotomos del virus de fiebre de Sicilia, virus de fiebre del Valle del Rift), el género Nairovirus (virus de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, virus de enfermedad ovina de Nairobi), y el género Uukuvirus (virus Uukuniemi y virus relacionados); la familia Orthomyxoviridae, que incluye el género de virus de influenza (virus influenza tipo A, muchos subtipos humanos); virus de gripe porcina, aviar y virus de gripe equina; influenzae tipo B (muchos subtipos humanos), e influenza tipo C (posible género separado); la familia Paramyxoviridae, que incluye el género Paramyxovirus (virus de parainfluenza tipo 1, virus Sendai, virus de hemadsorción, virus de parainfluenza tipos 2 a 5, virus de la enfermedad de Newcastle, virus de paperas), el género Morbillivirus (virus de sarampión, virus de panencefalitis esclerosante subaguda, virus de moquillo, virus de peste bovina), el género Pneumovirus (virus sincitial respiratorio (RSV), virus sincitial respiratorio bovino y virus de neumonía de ratones); la familia Rhabdoviridae, que incluye el género Vesiculovirus (VSV), virus de Chandipura, virus de Flanders- Hart Park), el género Lyssavirus (virus de rabia), Rhabdovirus de peces y dos probables Rhabdovirus (virus de Marburg y virus Ebola); la familia Arenaviridae, que incluye el virus de la coriomeningitis linfocítica (LCM), complejo de virus Tacaribe y virus Lassa; la familia Coronaviridae, que incluye el virus de bronquitis infecciosa (IBV), el virus de hepatitis de ratón, coronavirus entérico humano y peritonitis infecciosa felina (coronavirus felino).

20 Los virus de ADN ilustrativos que infectan a animales vertebrados incluyen, pero no se limitan a: la familia Poxviridae, que incluye el género Orthopoxvirus (Viruela mayor, Viruela menor, viruela de los monos, vaccinia, viruela bovina, viruela de búfalo, viruela de conejo, Ectromelia), el género Leporipoxvirus (mixoma, fibroma), el género Avipoxvirus (viruela aviar, otros poxvirus aviares), el género capripoxvirus (viruela de oveja, viruela de cabra), el género Suipoxvirus (viruela porcina), el género Parapoxvirus (virus de dermatitis postular, pseudoviruela, virus de estomatitis papular bovina contagiosa); la familia Iridoviridae (virus de la peste porcina africana, virus de la rana 2 y 3, el virus de Linfocistis de pescado); la familia Herpesviridae, que incluye alfa-herpesvirus (Herpes simplex Tipos 1 y 2, varicela-zoster, virus de aborto equino, virus de herpes equino 2 y 3, virus de pseudorabia, virus de queratoconjuntivitis bovina infecciosa, virus de rinotraqueitis bovina infecciosa, virus de rinotraqueitis felina, virus de laringotraqueitis infecciosa) los beta-herpesvirus (citomegalovirus humano y citomegalovirus de cerdos, monos y roedores); los gamma-herpesvirus (virus de Epstein-Barr (EBV), virus de la enfermedad de Marek, Herpes Saimiri, virus herpes Ateles, virus del herpes Sylvilagus, virus del herpes de conejillo de indias, virus del tumor Lucke); la familia Adenoviridae, que incluye el género Mastadenovirus (subgrupos humanos A, B, C, D, E y no agrupados); adenovirus de simio (por lo menos 23 serotipos), hepatitis canina infecciosa y adenovirus de ganado, cerdos, ovejas, ranas y muchas otras especies, el género Aviadenovirus (adenovirus aviares); y adenovirus no cultivables; la familia Papoviridae, que incluye el virus del papiloma género (virus del papiloma humano, virus del papiloma bovino, virus del papiloma de conejo Shope y diversos virus del papiloma patógenos de otras especies), el género polioma virus (polioma virus, agente de vacuolación de simios (SV-40), agente de vacuolación de conejos (RKV), virus K, virus BK, virus JC y otros polioma virus de primates tales como el virus del papiloma linfotrópico); la familia Parvoviridae que incluye los virus del género adenoasociado, y el género Parvovirus (virus de la panleucopenia felina, parvovirus bovino, parvovirus canino, virus de la enfermedad de visón aleutiano, etc.).

40 Los parásitos son organismos que dependen de otros organismos con el fin de sobrevivir y por lo tanto deben entrar, o infectar, otro organismo para continuar su ciclo de vida. El organismo infectado, es decir, el anfitrión, proporciona nutrición y hábitat al parásito. El término "parásito" tal como se utiliza aquí se refiere a protozoos, helmintos y artrópodos ectoparásitos (por ejemplo, garrapatas, ácaros, etc.). Los protozoos son organismos unicelulares que se pueden replicar tanto intracelularmente como extracelularmente, en particular en la sangre, tracto intestinal o matriz extracelular de los tejidos. Los helmintos son organismos multicelulares que casi siempre son extracelulares (con la excepción de Trichinella). Los helmintos normalmente requieren la salida de un anfitrión primario y la transmisión en un anfitrión secundario con el fin de replicarse. En contraste con estas clases antes mencionadas, los artrópodos ectoparásitos forman una relación parasitaria con la superficie externa del cuerpo del anfitrión.

50 Los parásitos se pueden clasificar con base en si son intracelulares o extracelulares. Un "parásito intracelular", como se utiliza aquí, es un parásito cuyo ciclo de vida entera es intracelular. Ejemplos de parásitos intracelulares humanos incluyen Leishmania, Plasmodium, Trypanosoma cruzi, Toxoplasma gondii, Babesia, y Trichinella spiralis. Un "parásito extracelular", como se utiliza aquí, es un parásito cuyo ciclo de vida entera es extracelular. Los parásitos extracelulares capaces de infectar a los seres humanos incluyen Entamoeba histolytica, Giardia lamblia, Enterocytozoon bienensei, Naegleria y Acanthamoeba, así como la mayoría de los helmintos. Sin embargo, otra clase de parásitos se define que es principalmente extracelular pero con una existencia intracelular obligada en una etapa crítica de su ciclo biológico. Dichos parásitos se denominan aquí como "parásitos intracelulares obligados". Estos parásitos pueden existir la mayor parte de su vida o sólo una pequeña parte de sus vidas en un ambiente extracelular, pero todos ellos tienen por lo menos una etapa intracelular obligada en sus ciclos de vida. Esta última categoría de parásitos incluye Trypanosoma rhodesiense y Trypanosoma gambiense, Isospora, Cryptosporidium, Eimeria, Neospora, Sarcocystis, y Schistosoma. En un aspecto, la invención se relaciona con la prevención y tratamiento de la infección resultante de parásitos intracelulares y parásitos intracelulares obligados que tienen por lo menos una etapa de su ciclo de vida que es intracelular. En algunas realizaciones, la invención se dirige a la

prevención de la infección de parásitos intracelulares obligados que son predominantemente intracelulares. Una lista de ejemplo y no limitante de parásitos para algunos aspectos de la invención se proporciona aquí.

5 Los parásitos transmitidos por sangre y/o tejidos incluyen Plasmodium, Babesia microti, Babesia divergens, Leishmania tropica, Leishmania, Leishmania braziliensis, Leishmania donovani, Trypanosoma gambiense y rhodesiense Trypanosoma (enfermedad del sueño africana), Trypanosoma cruzi (enfermedad de Chagas), y Toxoplasma gondii. Los parásitos típicos que infectan a los caballos son Gasterophilus; Eimeria leuckarti, Giardia; Tritrichomonas equi; Babesia (RBCs), Theileria equi; Trypanosoma; Klossiella equi; Sarcocystis.

Los parásitos que infectan a los cerdos típicos incluyen Eimeria bebliecki, Eimeria scabra, Isospora suis, Giardia; Balantidium coli, Entamoeba histolytica; Toxoplasma gondii y Sarcocystis, y Trichinella spiralis.

10 Los principales parásitos de leche y de carne de ganado incluyen Eimeria, Cryptosporidium, Giardia; Toxoplasma gondii; Babesia bovis (RBC), Babesia bigemina (RBCs), Trypanosoma (plasma), Theileria (RBC); Theileria parva (linfocitos); Tritrichomonas foetus; y Sarcocystis.

Los parásitos típicos que infectan ovejas y cabras incluyen Eimeria, Cryptosporidium, Giardia; Toxoplasma gondii; Babesia (RBC), Trypanosoma (plasma), Theileria (RBC); y Sarcocystis.

15 Las infecciones parasitarias típicas en las aves de corral incluyen la coccidiosis provocada por Eimeria acervulina, E. necatrix, E. tenella, Isospora y Eimeria truncata; histomoniasis, provocada por Histomonas meleagridis y Histomonas gallinarum; tricomoniasis provocada por Trichomonas gallinae; y hexamitiasis provocada por Hexamita meleagridis. Las aves de corral también se pueden infectar con Eimeria maxima, Eimeria meleagridis, Eimeria adenoeides, Eimeria meleagritidis, Cryptosporidium, Eimeria brunetti, Eimeria adenoeides, Leucocytozoon, Plasmodium, Hemoproteus meleagridis, Toxoplasma gondii y Sarcocystis.

20 Las infecciones parasitarias también plantean serios problemas en entornos de investigación de laboratorio que involucran colonias de animales. Algunos ejemplos de animales de laboratorio destinados a ser tratados, o en la que se solicita que la infección por parásitos sea impedida, por los métodos de la invención incluyen ratones, ratas, conejos, conejillos de indias, primates no humanos, así como también los cerdos y ovejas mencionados anteriormente.

25 Los parásitos típicos en ratones incluyen Leishmania, Plasmodium berghei, Plasmodium yoelii, Giardia muris, Hexamita muris; Toxoplasma gondii; Trypanosoma duttoni (plasma); Klossiella muris; Sarcocystis. Los parásitos típicos en ratas incluyen Giardia muris, Hexamita muris; Toxoplasma gondii; Trypanosoma lewisi (plasma); Trichinella spiralis; y Sarcocystis. Los parásitos típicos en conejos incluyen Eimeria; Toxoplasma gondii; Nosema cuniculi; Eimeria stiedae, y Sarcocystis. Los parásitos típicos del hámster incluyen Trichomonas; Toxoplasma gondii; Trichinella spiralis; y Sarcocystis. Los parásitos típicos en el conejillo de indias incluyen Balantidium Caviae; Toxoplasma gondii; Klossiella Caviae; y Sarcocystis.

30 Los hongos son organismos eucariotas, sólo unos pocos de los cuales provocan infecciones en mamíferos vertebrados. Debido a que los hongos son organismos eucariotas, difieren significativamente de las bacterias procariontas en tamaño, organización estructural, ciclo de vida y mecanismo de multiplicación. Los hongos se clasifican generalmente con base en características morfológicas, modos de reproducción y características de cultivo. A pesar de que los hongos pueden diferentes tipos de enfermedades en sujetos, tales como alergias respiratorias después de inhalación de los antígenos de hongos, intoxicación por hongos debido a ingestión de sustancias tóxicas, tales como amatatoxina y falotoxina producida por hongos venenosos y aflatoxinas, producidas por especies de Aspergillus, no todos los hongos provocan enfermedades infecciosas.

35 Los hongos infecciosos pueden provocar infecciones sistémicas o superficiales. La infección sistémica primaria puede ocurrir en sujetos sanos normales e infecciones oportunistas, se encuentran con mayor frecuencia en individuos inmunocomprometidos. Los agentes de hongos más comunes que provocan la infección sistémica primaria incluyen Blastomyces, Coccidioides, e Histoplasma. Los hongos comunes que provocan infección oportunistas en sujetos inmunocomprometidos o inmunosuprimidos incluyen, pero no se limitan a, Candida albicans (un organismo que normalmente es parte de la flora del tracto respiratorio), Cryptococcus neoformans (a veces en la flora normal del tracto respiratorio), y varias especies de Aspergillus. Las infecciones fúngicas sistémicas son infecciones invasivas de los órganos internos. El organismo usualmente entra al cuerpo a través de los pulmones, el tracto gastrointestinal o las vías intravenosas. Estos tipos de infecciones pueden ser provocadas por hongos patógenos primarios u hongos oportunistas.

40 Las infecciones fúngicas superficiales implican el crecimiento de hongos en una superficie externa sin invasión de los tejidos internos. Las infecciones fúngicas superficiales típicas incluyen infecciones micóticas cutáneas que implican piel, cabello o uñas. Un ejemplo de una infección cutánea es infecciones por tiña, tales como tiña, provocadas por dermatofitos, tales como especies Microsporum o Traicophyton, es decir, Microsporum canis,

*Microsporum gypsum*, *Tricofitin rubrum*. Ejemplos de hongos incluyen: *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Chlamydia trachomatis*, *Candida albicans*.

5 Las enfermedades asociadas con la infección por hongos incluyen aspergilosis, blastomicosis, candidiasis, cromoblastomicosis, coccidioidomicosis, criptococosis, infecciones oculares por hongos, infecciones del pelo, uñas, y piel por hongos, histoplasmosis, lobomicosis, micetoma, otomicosis, paracoccidioidomicosis, penicilliosis, marneffeii, *Phaeoophycomycosis*, rinosporidiois, esporotricosis, y zigomicosis.

10 La aspergilosis es una enfermedad provocada por los hongos del género *Aspergillus*, que pueden conducir a enfermedad leve o grave, por lo general dependiendo de factores tales como el estado del sistema inmunitario del anfitrión. El *Aspergillus* con frecuencia surge como una infección oportunista en pacientes que tienen enfermedades inmunosupresoras, o que son tratados con quimioterapia. Algunas formas de *Aspergillus* se pueden tratar con prednisona, cromoglicat de sodio, nistatina, anfotericina B, itraconazol o voriconazol.

15 La blastomicosis es una infección fúngica que surge del organismo *Blastomyces dermatitis*. La infección se inicia en los pulmones y por lo general se disemina a otras partes del cuerpo, especialmente la piel y hueso. Se trata con anfotericina B, hidroxistilbamidina, itraconazol y voriconazol. Cuando se utiliza anfotericina B, por lo menos se debe dar 1.5 gramos para evitar una recaída. Sin embargo, cuando el fármaco se administra en combinación con los compuestos aziridino, se pueden dar dosis más bajas sin una recaída. Generalmente la hidroxistilbamidina se ha utilizado para el tratamiento de la forma cutánea de la enfermedad pero no otras formas. Cuando se combina con compuestos de aziridino en las composiciones de combinación de la invención, también se puede utilizar para el tratamiento de otras formas, así como en dosis más bajas para la forma cutánea.

20 La candidiasis es una infección fúngica provocada por un miembro del género *Candida*. La enfermedad puede estar en la forma de candidiasis alérgica, cutánea, mucocutánea, o sistémica. La nistatina se utiliza para el tratamiento de las enfermedades cutánea, mucocutánea, y alérgicas. La anfotericina B es útil para el tratamiento de esta enfermedad sistémica. Otros fármacos útiles para el tratamiento incluyen 5-fluorocitosina, fluconazol, itraconazol y voriconazol.

25 La cromoblastomicosis es una infección crónica de la piel y tejido subcutáneo. Aunque la infección está generalmente localizada, las partes se pueden diseminar sistémicamente y, en particular, al cerebro. El itraconazol y terbinafina son los fármacos utilizados para tratar esta infección. Los principales hongos causantes de esta infección son *Cladophialophora*, *Carrionii*, *Fonsecaea*, *Compacta*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Phialophora*, *Verrucosa*, *Rhinocladiella*, y *Aquasbera*.

30 La coccidioidomicosis es una enfermedad fúngica de las vías respiratorias que puede ser aguda, crónica, grave o mortal. La enfermedad es provocada principalmente por *Coccidioides immitis*. La anfotericina B, itraconazol, fluconazol, ketoconazol, y el voriconazol son agentes anti-fúngicos que se utilizan para el tratamiento de esta enfermedad.

35 La criptococosis es una enfermedad provocada por el hongo *Cryptococcus neoformans* o *Filobasidiella neoformans*. La enfermedad puede tomar la forma de una enfermedad crónica, subaguda, aguda, pulmonar, sistémica, o meningítica, después de la infección primaria en los pulmones. Si la enfermedad se extiende desde los pulmones hasta el sistema nervioso central, por lo general se trata inmediatamente con anfotericina B y/o 5-fluorocitosina y en algunos casos fluconazol.

40 Las infecciones fúngicas del ojo incluyen queratitis micótica, y oculomicosis endógena o por extensión. La queratitis micótica es provocada por una variedad de hongos que incluyen *Acremonium*, *Aspergillus*, *Bipolaris*, *Candida albicans*, *Curvularia*, *Exserohilum*, *Fusarium*, y *Lasiodiplodia*. La anfotericina B no se utiliza para el tratamiento, ya que irrita el tejido infectado. Los fármacos útiles para el tratamiento de la queratitis micótica incluyen pimarcina y fluconazol. La oculomicosis es generalmente provocada *Candida albicans* o *rhizopus*, *arrhizus*. La anfotericina B es el agente antifúngico utilizado para el tratamiento.

45 Las infecciones por hongos del cabello, uñas y piel incluyen la onicomicosis, piedra, pitiriasis versicolor, tiña de barba, tinea capitis, tinea corporis, tinea cruris, tinea faosa, tinea negra, tinea ungueal. La onicomicosis, que generalmente es provocada por hongos tales como *Acremonium*, *Aspergillus*, *Candida*, *Fusarium*, *Scopulariopsis*, *Onychocola*, y *Scytalidium*, puede ser tratada con itraconazol, turbinifina, anfotericina B, violeta de genciana, resorcina, yodo, nistatina, tiabendazol, y glutaraldehído. Piedra, que es una colonización del eje del cabello con organismos bifúngicos tales como *Piedraia* y *Tricosporina*, puede ser tratada con agentes queratolíticos, fungicidas suaves, fluconazol e itraconazol. Las tineas son diversas formas de tiña que colonizan diferentes regiones corporales. Estas enfermedades son provocadas generalmente por hongos tales como *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton*. Las tineas se pueden tratar con agentes queratolíticos, itraconazol, turbinifina, tolnaftato, clotrimazol, miconazol, econazol, y ketaconazole.

50

5 La histoplasmosis (*capsulati* y *duboisii*) son las infecciones fúngicas provocadas por *Histoplasma* y *Ajellomyces*. La histoplasmosis *capsulati* se puede tratar adecuadamente con anfotericina B, itraconazol o voriconazol. Si el sujeto a tratar tiene SIDA, se utiliza generalmente fluconazol. La histoplasmosis *duboisii* una vez que se difunde, especialmente en el hígado o el bazo, es muy difícil de tratar. Se utilizan anfotericina B, itraconazol, fluconazol y voriconazol. Cuando estos compuestos se combinan con los compuestos aziridino de la invención, se mejora el pronóstico.

10 La lobomicosis es una infección fúngica provocada por *Lacazia loboi*. La lobomicosis es una infección cutánea que se desarrolla en las lesiones que se pueden eliminar mediante cirugía. No hay medicamentos que se utilicen específicamente para este trastorno. La micetoma es una infección provocada por una variedad de hongos que incluyen *Eumycotic*, *Acromonium*, *Aspergillus*, *Exophiala*, *Leptosphaeria*, *Madurella*, *Neotestudina*, *Pseudallesheria*, y *Pyrenochieta*. La enfermedad implica lesiones de los tejidos cutáneos y subcutáneos, que se pueden romper y extender a los tejidos circundantes. Las micetomas pueden ser tratadas con ketoconazol, en combinación con cirugía.

15 La otomicosis es una infección de oído provocada por el hongo *Aspergillus* o *Candida*. La infección es una infección superficial del conducto auditivo externo, que se caracteriza por inflamación, prurito, descamación y molestias severas. Es una micosis recurrente crónica.

La paracoccidioidomicosis es una infección fúngica provocada por *Paracoccidioides brasiliensis*. La enfermedad se origina como una infección pulmonar y se puede difundir en la mucosa nasal, bucal, y gastrointestinal. La anfotericina B y sulfonamidas se utilizan generalmente para tratar la enfermedad.

20 La faeohifomicosis es una infección fúngica provocada por una variedad de hongos que incluyen *Cladophialophora*, *Curvularia*, *Bipolaris*, *Exserohilum*, *Exophiala*, *Scedosporium*, *Ochroconis*, *Coniothyrium*, *Phialophora*, *Wangiella*, y *Lasioidiplodia*. La infección puede ser localizada o puede invadir diversos tejidos, que incluyen el cerebro, huesos, ojos y piel. La invasión del cerebro o de la médula puede ser letal. En general, la faeohifomicosis se trata con anfotericina B y flufenocitazina o itraconazol. La rinosporidiosis es una infección de la membrana mucosa provocada por *Rhinosporidium seeberi*. La inyección local de anfotericina B se utiliza como tratamiento.

25 La esporotricosis es una infección crónica de los tejidos cutáneos, tejidos subcutáneos o sistema linfático. La infección también se puede propagar a los tejidos como hueso, músculo, sistema nervioso central, pulmones, y/o sistema genitourinario. Por lo general, los hongos *Sporothrix schenckii* se inhalan o se pasan a través de una lesión en la piel. La esporotricosis usualmente se trata con yoduro de potasio por vía oral, anfotericina B, o 5-fluorocitazina.

30 La zigomicosis es una infección crónica provocada por *Conidobolus* y *Basidiobolus ranarum*. La enfermedad se trata por yoduro de potasio y/o anfotericina B.

Otros microorganismos médicamente relevantes y las enfermedades que los provocan han sido ampliamente descritos en la bibliografía, por ejemplo, véase C.G.A. Thomas, *Medical Microbiology*, Bailliere Tindall, Great Britain 1983. Cada una de las listas anteriores es ilustrativa, y no se pretende que sean limitativas.

35 Los métodos de la invención implican, en algunos aspectos, combinaciones de compuestos que son inhibidores de necrosis celular (por ejemplo, compuestos de tiohidantoína heterocíclica, hidantoína, oxazolidinona, tioxo-oxazolidinona, pirimidinona, o oxazinanona, o combinaciones de los mismos) con agentes antimicrobianos para el tratamiento o prevención de enfermedades infecciosas. Un "agente antimicrobiano", como se utiliza aquí, se refiere a un compuesto de origen natural o sintético que es capaz de matar o inhibir los microorganismos infecciosos. El tipo de agente antimicrobiano útil de acuerdo con la invención dependerá del tipo de microorganismo con el que el sujeto está infectado o en riesgo de contraer la infección. Se contempla que varios tipos diferentes de agentes antimicrobianos se pueden combinar con los compuestos aziridino para hacer composiciones útiles para el tratamiento de enfermedades multifactoriales (por ejemplo, infección por VIH con infecciones fúngicas oportunistas).

40 Un tipo de agente antimicrobiano es un agente antibacteriano. Los agentes antibacterianos matan o inhiben el crecimiento o la función de las bacterias. Una gran clase de agentes antibacterianos son los antibióticos. Los antibióticos, que son eficaces para matar o inhibir un amplio rango de bacterias, se denominan como antibióticos de amplio espectro. Otros tipos de antibióticos son predominantemente efectivos contra las bacterias de la clase gram-positiva o gram-negativa. Estos tipos de antibióticos se denominan como antibióticos de espectro estrecho. Otros antibióticos que son efectivos contra un único organismo o enfermedad y no contra otros tipos de bacterias, se denominan como antibióticos de espectro limitado.

45 Los agentes antibacterianos a veces se clasifican con base en su modo de acción. En general, los agentes antibacterianos son inhibidores de síntesis de pared celular, inhibidores de membrana celular, inhibidores de síntesis de proteínas, síntesis de ácidos nucleicos o inhibidores funcionales, e inhibidores competitivos. Los inhibidores de la síntesis de pared celular inhiben una etapa en el proceso de síntesis de pared celular, y en general en la síntesis de

peptidoglicano bacteriano. Los inhibidores de síntesis de pared celular incluyen antibióticos de  $\beta$ -lactamas, penicilinas naturales, penicilinas semisintéticas, ampicilina, ácido clavulánico, cefalosporinas, y bacitracina.

Las  $\beta$ -lactamas son antibióticos que contienen un anillo de  $\beta$ -lactama de cuatro miembros, el cual inhibe la última etapa de la síntesis del peptidoglicano. Los antibióticos de  $\beta$ -lactamas pueden ser sintetizados o naturales. Los antibióticos naturales se producen generalmente por dos grupos de hongos, mohos *Penicillium* y *Cephalosporium*. Los antibióticos de  $\beta$ -lactama producidos por *Penicillium* son las penicilinas naturales, tales como la penicilina G o penicilina V. Estas se producen por fermentación del *Penicillium chrysogenum*. Las penicilinas naturales tienen un espectro estrecho de actividad y son generalmente efectivas contra estreptococos, gonococos, y estafilococos. Otros tipos de penicilinas naturales, que también son efectivas contra las bacterias gram-positivas, incluyen penicilinas F, X, K, y O.

Las penicilinas semisintéticas son generalmente modificaciones de la molécula de ácido 6-aminopenicilánico producida por un moho. El ácido 6-aminopenicilánico puede ser modificado mediante la adición de cadenas laterales que producen penicilinas que tienen espectros de actividad más amplia que las penicilinas naturales o varias otras propiedades ventajosas. Algunos tipos de penicilinas semisintéticas tienen amplios espectros contra bacterias gram-positivas y gram-negativas, pero son inactivadas por la penicilinasasa. Estas penicilinas semisintéticas incluyen ampicilina, carbenicilina, oxacilina, azlocilina, mezlocilina y piperacilina. Otros tipos de penicilinas semisintéticas tienen actividades más estrechas contra bacterias gram-positivas, pero han desarrollado propiedades tales que no son inactivadas por la penicilinasasa. Estas incluyen, por ejemplo, meticilina, dicloxacilina, y nafcilina. Algunas de las penicilinas de amplio espectro semi-sintéticas se pueden utilizar en combinación con inhibidores de la  $\beta$ -lactamasa, tales como ácidos clavulánico y sulbactam. Los inhibidores de  $\beta$ -lactamasa no tienen acción anti-microbiana pero funcionan para inhibir la penicilinasasa, protegiendo así la penicilina semi-sintética de la degradación.

Otro tipo de antibiótico de  $\beta$ -lactama son las cefalosporinas. Las cefalosporinas son producidas por los mohos *Cephalosporium*, y tienen un modo de acción similar a la penicilina. Son sensibles a la degradación por  $\beta$ -lactamasas bacterianas, y por lo tanto, no siempre son eficaces por sí solas. Sin embargo, las cefalosporinas, son resistentes a la penicilinasasa. Son efectivas contra una variedad de bacterias gram-positivas y gram-negativas. Las cefalosporinas incluyen, pero no se limitan a, cefalotina, cefapirina, cefalexina, cefamandol, cefaclor, cefazolina, cefuroxime, cefoxitina, cefotaxima, cefsulodina, cefetamet, cefixima, ceftriaxona, cefoperazona, ceftazidina, y moxalactam.

La bacitracina es otra clase de antibióticos que inhiben la síntesis de pared celular. Estos antibióticos, producidos por especies de *Bacillus*, previenen el crecimiento de la pared celular mediante la inhibición de la liberación de subunidades de muropéptido o peptidoglicano de la molécula que proporciona la subunidad a la parte exterior de la membrana. Aunque la bacitracina es efectiva contra bacterias gram-positivas, su uso está limitado en general a la administración tópica, debido a su alta toxicidad. Desde dosis efectivas más bajas de bacitracina se pueden utilizar cuando se administra el compuesto con los compuestos aziridino de acuerdo con la invención, este compuesto se puede utilizar sistémicamente y la toxicidad se reduce.

Los carbapenemes son otro tipo de antibiótico de  $\beta$ -lactama de amplio espectro, que es capaz de inhibir la síntesis de la pared celular. Ejemplos de carbapenems incluyen, pero no se limitan a, imipenems. Los monobactames también son antibióticos de  $\beta$ -lactama de amplio espectro, e incluyen, euztreonam. Un antibiótico producido por *Streptomyces*, vancomicina, es también efectivo contra las bacterias gram-positivas al inhibir la síntesis de la membrana celular.

Otra clase de agentes antibacterianos son los agentes antibacterianos que son inhibidores de la membrana celular. Estos compuestos desorganizan la estructura o inhiben la función de las membranas bacterianas. La alteración de la membrana citoplasmática de bacterias da lugar a la fuga de materiales celulares de la célula. Los compuestos que inhiben o interfieren con la membrana celular provocan la muerte de la célula debido a que la integridad de las membranas citoplásmicas y las membranas externas es de vital importancia para las bacterias. Un problema con agentes antibacterianos que son inhibidores de membrana celular es que pueden producir efectos en las células eucariotas, así como bacterias, debido a las similitudes en los fosfolípidos de las membranas bacterianas y eucariotas. Así, estos compuestos son rara vez lo suficientemente específicos para permitir que estos compuestos sean utilizados sistémicamente y evitar el uso de altas dosis para administración local.

Un agente antibacteriano clínicamente útil que es un inhibidor de la membrana celular es polimixina, producida por *Bacillus polymyxis*. Las polimixinas interfieren con la función de la membrana mediante la unión a la membrana de fosfolípidos. La polimixina es efectiva principalmente contra bacterias Gram-negativas y se utiliza generalmente en infecciones por *Pseudomonas* graves o infecciones de *Pseudomonas* que son resistentes a los antibióticos menos tóxicos. También se utiliza en algunos casos limitados por vía tópica. El uso limitado de este agente es debido a los efectos secundarios graves asociados con la administración sistémica, tales como daños en el riñón y otros órganos.

Otros inhibidores de la membrana celular incluyen anfotericina B y nistatina producida por la bacteria *Streptomyces* que son también agentes antifúngicos, que se utiliza predominantemente en el tratamiento de infecciones fúngicas sistémicas e infecciones por levaduras de *Candida*, respectivamente. Los imidazoles, producidos por la bacteria *Streptomyces*, son otra clase de antibióticos que es un inhibidor de la membrana celular. Los imidazoles se utilizan como agentes bacterianos, así como agentes antifúngicos, por ejemplo, utilizados para el tratamiento de infecciones por hongos dermatofitos, infecciones, e infecciones fúngicas sistémicas. Los imidazoles incluyen, pero no se limitan a clotrimazol, miconazol, ketoconazol, itraconazol y fluconazol.

Muchos agentes anti-bacterianos son inhibidores de la síntesis de proteínas. Estos compuestos evitan bacterias de la síntesis de proteínas estructurales y enzimas y por lo tanto provocan la inhibición del crecimiento de células bacterianas o función o muerte celular. En general, estos compuestos interfieren con los procesos de transcripción o traducción. Los agentes antibacterianos que bloquean la transcripción incluyen, pero no se limitan a Rifampinas, producidas por la bacteria *Streptomyces* y etambutol, un producto químico sintético. Las rifampinas, que inhiben la ARN polimerasa de la enzima, tienen una actividad de amplio espectro y son efectivas contra las bacterias gram-positivas y gram-negativas, así como *Mycobacterium tuberculosis*. El etambutol es efectivo contra *Mycobacterium tuberculosis*.

Los agentes antibacterianos que bloquean la traducción interfieren con los ribosomas bacterianos para evitar que el mRNA se traduzca en proteínas. En general esta clase de compuestos incluye pero no se limita a tetraciclinas, cloramfenicol, macrólidos (por ejemplo eritromicina) y los aminoglucósidos (por ejemplo estreptomina).

Algunos de estos compuestos se unen de forma irreversible a la subunidad ribosomal 30S y provocan una lectura errónea del mRNA, por ejemplo, los aminoglucósidos. Los aminoglucósidos son una clase de antibióticos que son producidos por la bacteria *Streptomyces*, tales como, por ejemplo estreptomina, kanamicina, tobramicina, amikacina, y gentamicina. Los aminoglucósidos se han utilizado contra una amplia variedad de infecciones bacterianas provocadas por bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. La estreptomina se ha utilizado ampliamente como un fármaco principal en el tratamiento de tuberculosis. La gentamicina se utiliza contra muchas cepas de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, incluyendo infecciones por *Pseudomonas*, especialmente en combinación con tobramicina. La kanamicina se utiliza contra muchas bacterias Gram-positivas, que incluyen estafilococos resistentes a penicilina. Un efecto secundario de aminoglucósidos que ha limitado su uso clínico es que en dosificaciones que son esenciales para la eficacia, se ha demostrado que el uso prolongado es perjudicial para la función renal y provoca daño a los nervios auditivos que conducen a la sordera.

Otro tipo de agente antibacteriano inhibidor de traducción es la tetraciclina. Las tetraciclinas se unen de forma reversible a la subunidad ribosomal 30S e interfieren con la unión del tARN cargado al ribosoma bacteriano. Las tetraciclinas son una clase de antibióticos, producidos por la bacteria *Streptomyces*, que son de amplio espectro y son eficaces contra una variedad de bacterias gram-positivas y gram-negativas. Los ejemplos de tetraciclinas incluyen tetraciclina, minociclina, doxiciclina y clortetraciclina. Son importantes para el tratamiento de muchos tipos de bacterias pero son particularmente importantes en el tratamiento de la enfermedad de Lyme.

Los agentes anti-bacterianos tales como los macrólidos se unen de forma reversible a la subunidad ribosómica 50S e inhiben el alargamiento de la proteína por peptidil transferasa o previene la liberación de tARN no cargado del ribosoma bacteriano o ambos. Los macrólidos contienen grandes anillos de lactona unidos a través de enlaces glicosido con amino azúcares. Estos compuestos incluyen eritromicina, roxitromicina, claritromicina, oleandomicina, y azitromicina. La eritromicina es activa contra la mayoría de bacterias Gram positivas, los *Neisseria*, *Legionella* y *Haemophilus*, pero no contra las enterobacterias. La lincomicina y clindamicina, que bloquean la formación del enlace péptido durante la síntesis de proteínas, se utilizan contra las bacterias gram-positivas.

Otro tipo de inhibidor de traducción es cloranfenicol. El cloranfenicol se une al ribosoma 70S que inhibe la enzima peptidil transferasa bacteriana impidiendo de este modo el crecimiento de la cadena de polipéptido durante la síntesis de proteínas. El cloranfenicol se puede preparar a partir de *Streptomyces* o producir enteramente por síntesis química. Un efecto secundario grave asociado con cloranfenicol es la anemia aplásica. La anemia aplásica se desarrolla en dosis de cloranfenicol que son efectivas para el tratamiento de bacterias en una pequeña proporción (1/50.000) de pacientes. El cloranfenicol, que fue una vez un antibiótico altamente prescrito ahora rara vez se utiliza como resultado de las muertes por anemia. Debido a su eficacia todavía se utiliza en situaciones que amenazan la vida (por ejemplo, fiebre tifoidea). Mediante la combinación de cloranfenicol con compuestos aziridino como se describe aquí, el cloranfenicol de nuevo se puede utilizar como un agente antibacteriano debido a que la acción de los compuestos aziridino permite que se utilice una dosis más baja de cloranfenicol, una dosis que no produce efectos secundarios.

Algunos agentes antibacterianos interrumpen la síntesis o función de ácido nucleico, por ejemplo, se unen a ADN o ARN para que sus mensajes no puedan ser leídos. Estos incluyen, pero no se limitan a quinolonas y cotrimoxazol, ambos productos químicos sintéticos y rifamicinas, una sustancia química natural o semi-sintética. Las quinolonas bloquean la replicación del ADN bacteriano al inhibir la ADN girasa, la enzima necesaria por las bacterias para producir su ADN circular. Son de amplio espectro y los ejemplos incluyen norfloxacin, ciprofloxacina, enoxacina,

ácido nalidíxico y temafloxacin. El ácido nalidíxico es un agente bactericida que se une a la enzima ADN girasa (topoisomerasa), que es esencial para la replicación del ADN y permite que se reformen y relajen superbobinas, al inhibir la actividad de ADN girasa. El principal uso de ácido nalidíxico es en el tratamiento de infecciones del tracto urinario inferior (UTI), ya que es efectivo contra varios tipos de bacterias Gram-negativas tales como E. coli, Enterobacter aerogenes, especies de K. pneumoniae y Proteus, que son causas comunes de UTI. El cotrimoxazol es una combinación de sulfametoxazol y trimetoprima, que bloquea la síntesis bacteriana de ácido fólico necesario para hacer nucleótidos del ADN. La rifampicina es un derivado de rifamicina que es activo frente a bacterias Gram-positivas (que incluyen Mycobacterium tuberculosis y meningitis provocada por Neisseria meningitidis) y algunas bacterias Gram-negativas. La rifampicina se une a la subunidad beta de la polimerasa y bloquea la adición del primer nucleótido que es necesario para activar la polimerasa, bloqueando de esta manera la síntesis de mRNA.

Otra clase de agentes antibacterianos son los compuestos que funcionan como inhibidores competitivos de enzimas bacterianas. Los inhibidores competitivos son en su mayoría todos estructuralmente similares a un factor de crecimiento bacteriano y compiten por la unión pero no realizan la función metabólica en la célula. Estos compuestos incluyen sulfonamidas y formas modificadas químicamente de sulfanilamida que tienen actividad antibacteriana incluso mayor y más amplia. Las sulfonamidas (por ejemplo gantrisin y trimetoprim) son útiles para el tratamiento de Streptococcus pneumoniae, estreptococos beta-hemolíticos y E. coli, y se han utilizado en el tratamiento de la infección del tracto urinario sin complicaciones provocada por E. coli, y en el tratamiento de meningitis meningocócica.

Los agentes antivirales son compuestos que previenen la infección de células por virus o la replicación del virus dentro de la célula. Hay muchos menos fármacos antivirales que los fármacos antibacterianos debido a que el proceso de replicación viral está tan estrechamente relacionado con la replicación del ADN dentro de la célula anfitriona, que los agentes antivirales no específicos a menudo son tóxicos para el anfitrión. Existen varias etapas dentro del proceso de infección viral que pueden ser bloqueadas o inhibidas por agentes antivirales. Estas etapas incluyen, fijación del virus a la célula anfitriona (inmunoglobulina o péptidos de unión), no recubrimiento del virus (por ejemplo amantadina), la síntesis o traducción del mRNA viral (por ejemplo, interferón), replicación de ARN o ADN viral (por ejemplo, análogos de nucleósido), maduración de las nuevas proteínas del virus (por ejemplo, inhibidores de proteasa), y gemación y liberación del virus.

Los análogos de nucleótidos son compuestos sintéticos que son similares a los nucleótidos, pero que tienen un grupo desoxirribosa o ribosa incompleto o anormal. Una vez que los análogos de nucleótidos están en la célula, se fosforilan, produciendo el trifosfato formado que compite con nucleótidos normales para su incorporación en el ADN o ARN viral. Una vez que la forma trifosfato del análogo de nucleótido se incorpora en la creciente cadena de ácido nucleico, provoca asociación irreversible con la polimerasa viral y de este modo la terminación de cadena. Los análogos de nucleótidos incluyen, pero no se limitan a, aciclovir (utilizado para el tratamiento del herpes virus simplex y el virus de varicela-zoster), ganciclovir (útil para el tratamiento de citomegalovirus), idoxuridina, ribavirina (útil para el tratamiento del virus sincitial respiratorio), didesoxiinosina, didesoxicitidina, y zidovudina (azidotimidina).

Los interferones son citoquinas que son secretadas por las células infectadas por virus, así como células inmunitarias. La función de los interferones al unirse a receptores específicos en las células adyacentes a las células infectadas, provoca el cambio en la célula que la protege de la infección por el virus. El  $\alpha$  y  $\beta$ -interferón también induce la expresión de moléculas de MHC de clase I y de clase II en la superficie de las células infectadas, lo que resulta en un aumento de la presentación de antígenos para el reconocimiento de células inmunitarias del anfitrión. Los  $\alpha$  y  $\beta$ -interferones están disponibles como formas recombinantes y se han utilizado para el tratamiento de infección B C por hepatitis crónica. En las dosificaciones que son eficaces para la terapia antiviral, los interferones tienen efectos secundarios graves, tales como fiebre, malestar y pérdida de peso.

La terapia de inmunoglobulina se utiliza para la prevención de la infección viral. La terapia de inmunoglobulina para las infecciones virales es diferente de las infecciones bacterianas, ya que en lugar de ser específicas a antígeno, la terapia de inmunoglobulina funciona al unirse a viriones extracelulares y evitar que se adhiera a e ingrese en las células que son susceptibles a infección viral. La terapia es útil para la prevención de infección viral durante el periodo de tiempo que los anticuerpos están presentes en el anfitrión. En general, hay dos tipos de terapias de inmunoglobulina, el tratamiento normal de la inmunoglobulina y la terapia de hiper-inmunoglobulina. La terapia de inmunoglobulina normal utiliza un producto de anticuerpo que se prepara a partir del suero de donantes de sangre normales y se agrupan. Este producto agrupado contiene bajos títulos de anticuerpo a un amplio rango de virus humanos, tales como hepatitis A, parvovirus, enterovirus (especialmente en los recién nacidos). La terapia de hiperinmunoglobulina utiliza anticuerpos que se preparan a partir del suero de individuos que tienen altos títulos de un anticuerpo a un virus particular. Estos anticuerpos se utilizan a continuación contra un virus específico. Ejemplos de hiperinmunoglobulinas incluyen inmunoglobulina zoster (útil para la prevención de varicela en niños inmunocomprometidos y en recién nacidos), inmunoglobulina antirrábica humana (útil en la profilaxis posterior a la exposición de un sujeto mordido por un animal rabioso), inmunoglobulina de hepatitis B (útil en la prevención del virus de la hepatitis B, especialmente en un sujeto expuesto al virus), e inmunoglobulina RSV (útil en el tratamiento de infecciones por el virus respiratorio sincitial).

Otro tipo de terapia de inmunoglobulina es la inmunización activa. Esto implica la administración de anticuerpos o fragmentos de anticuerpos a las proteínas de superficie virales. Dos tipos de vacunas que están disponibles para la inmunización activa de hepatitis B incluyen anticuerpos de hepatitis B derivados del suero y los anticuerpos de la hepatitis B recombinantes. Ambos se prepararon a partir de HBsAg. Los anticuerpos se administran en tres dosis a sujetos con alto riesgo de infección por el virus de la hepatitis B, como los trabajadores de la salud, parejas sexuales de portadores crónicos, e infantes.

Por lo tanto los agentes antivirales que se pueden combinar con compuestos aziridino en las composiciones terapéuticas de la invención incluyen análogos de nucleósidos, inhibidores de transcriptasa inversa no nucleósidos, inhibidores de proteasa, e inhibidores de integrasa. Ejemplos específicos de compuestos antivirales incluyen los siguientes: acemanano; Aciclovir; Acyclovir sodio; adefovir; alovudina; Alvircept Sudotox; Clorhidrato de amantadina; Aranotina; arildona; mesilato de Ateviridina; Avridina; Cidofovir; Cipamfilina; Clorhidrato de Citarabina; Mesilato de Delaviridina; Desciclovir; Didanosina; Disoxarilo; Edoxudina; Enviradene; Enviroxima; Famciclovir; Clorhidrato de Famotina; Fiacitabina; Fialuridina; Fosarilato; Foscarnet de sodio; Fosfonet de sodio; Ganciclovir; Ganciclovir Sodio; Idoxuridina; Indinavir; Kethoxal; Lamivudina; Lobucavir; Clorhidrato de Memotina; Metisazona; Nelfinavir; Nevirapina; Penciclovir; Pirodovir; Ribavirina; Clorhidrato de Rimantadina; ritonavir; Mesilato de Saquinavir; Clorhidrato de Somantadina; sorivudina; Statolon; estavudina; Clorhidrato de Tilorona; trifluridina; Clorhidrato de valaciclovir; vidarabina; Fosfato de Vidarabina; Vidarabina fosfato de sodio; Viroxima; zalcitabina; zidovudina; Ziniviroxima e inhibidores de integrasa.

Los parasiticidas son agentes que matan directamente parásitos. Dichos compuestos son conocidos en la técnica y están generalmente disponibles comercialmente. Ejemplos de antiparasitarios útiles para la administración humana incluyen pero no se limitan a albendazol, anfotericina B, benznidazol, bitionol, HCl cloroquina, fosfato de cloroquina, clindamicina, dehidroemetina, dietilcarbamazina, furoato de diloxanida, eflornitina, furazolidona, glucocorticoides, halofantrina, yodoquinol, ivermectina, mebendazol, mefloquina, antimonio de meglumina, melarsoprol, metrifonato, metronidazol, niclosamida, nifurtimox, oxamniquina, paromomicina, isetionato de pentamidina, piperazina, praziquantel, fosfato de primaquina, proguanil, pirantel, pirimetanmina-sulfonamidas, pirimetanmina-sulfadoxina, HCl quinacrina, sulfato de quinina, gluconato de quinidina, espiramicina, estibogluconato de sodio (gluconato de antimonio sodio), suramina, tetraciclina, doxiciclina, tiabendazol, tinidazol, trimetoprim-sulfametoxazol, y triparsamida algunos de los cuales se utilizan solos o en combinación con otros.

Los parasiticidas utilizados en sujetos no humanos incluyen piperazina, dietilcarbamazina, tiabendazol, fenbendazol, albendazol, oxfendazol, oxibendazol, febantel, levamisol, tartrato de pirantel, pamoato de pirantel, diclorvos, ivermectina, doramectin, milbemicina oxima, iprinomectin, moxidectina, cloruro de N- butilo, tolueno, higromicina B tiacetarsemida de sodio, melarsomina, praziquantel, epsiprantel, bencimidazoles tales como fenbendazol, albendazol, oxfendazol, clorsulón, albendazol, amprolio; decoquinato, lasalocid, monensina sulfadimetoxina; sulfametazina, sulfaquinoxalina, metronidazol.

Los parasiticidas utilizados en caballos incluyen mebendazol, oxfendazol, febantel, pirantel, diclorvos, triclorfón, ivermectina, piperazina; para *S. westeri*: ivermectina, benzimidazoles tales como tiabendazol, cambendazol, oxibendazol y fenbendazol. Los parasiticidas útiles en perros incluyen oxina milbemicina, ivermectina, pirantel y la combinación de ivermectina y pirantel. El tratamiento de los parásitos en el ganado porcino puede incluir el uso de levamisol, piperazina, pirantel, tiabendazol, diclorvos y fenbendazol. En agentes antihelmínticos de ovejas y cabras incluyen levamisol o ivermectina. El caparsolato ha demostrado cierta eficacia en el tratamiento de *D. immitis* (gusano del corazón) en los gatos.

Los agentes utilizados en la prevención y tratamiento de enfermedades provocadas por protozoos en aves de corral, en particular tricomoniasis, se pueden administrar en el alimento o en el agua potable e incluyen protozoocidas tales como aminonitrotiazol, dimetridazol (Emtryl), nitiazida (Hepzide) y Enheptina.

Los agentes antifúngicos son útiles para el tratamiento y prevención de hongos infecciosos. Los agentes antifúngicos se clasifican a veces por su mecanismo de acción. Algunos agentes antifúngicos funcionan como inhibidores de la pared celular al inhibir la glucosa sintasa. Estos incluyen, pero no se limitan a, basiungin/BCE. Otros agentes antifúngicos funcionan al desestabilizar la integridad de la membrana. Estos incluyen, pero no se limitan a, imidazoles, tales como clotrimazol, sertaconazol, fluconazol, itraconazol, ketoconazol, miconazol, y voriconazol, así como FK 463, anfotericina B, BAY 38-9502, MK 991, pradimicina, UK 292, butenafina, y terbinafina. Otros agentes antifúngicos funcionan al romper la quitina (por ejemplo quitinasa) o inmunosupresión (501 crema).

Algunos agentes antifúngicos de ejemplo incluyen imidazoles, FK 463, anfotericina B, BAY 38-9502, MK 991, pradimicina, UK 292, butenafina, quitinasa y 501 crema, acrisorcina; Ambrutricina; Amorolfina, Anfotericina B; Azaconazol; Azaserina; Basifungin; Bifonazol; Clorhidrato de Bifenamina; Bispiritona Magsulfex; Nitrato de Butoconazol; Undecilenato de Calcio; Candicidina; Carbol-fucsina; Clordantoina; Ciclopirox; Ciclopirox Olamina; Cilofungina; Cisonazol; Clotrimazol; Cuprimixina; Denofungina; Dipiritiona; Doconazol; Econazol; Nitrato de Econazol; Enilconazolo; Nitrato de Etonam; Nitrato de Fenticonazol; Filipina; Fluconazol; Flucitosina; Fungimicina; Griseofulvina; Hamicina; Isoconazol; Itraconazol; Kalafungin; Ketoconazol; Lomofungina; Lidimicina; Mepartricina;



5 Miconazol; Nitrato de Miconazol; Monensina; Monensina de sodio; Clorhidrato de Naftifina; Undecilenato de Neomicina; Nifuratel; Nifurmerona; Clorhidrato de Nitralamina; Nistatina; Ácido Octanoico; Nitrato de Orconazol; Nitrato de Oxiconazol; Clorhidrato de Oxifungin; Clorhidrato de Parconazol; Partricina; Yoduro de Potasio; Proclonol; Piritiona de zinc; Pirrolnitrina; Rutamicina; Cloruro de Sanguinarium; Saperconazol; Escopafungina; Sulfuro de Selenio; Sinefungina; Nitrato de Sulconazol; Terbinafina; Terconazol; Tiram; Ticlatonae; Tioconazol; Tolciclato; Tolindato; Tolnaftato; Triacetina; Triafungin; Ácido Undecilénico; Viridofulvin; Undecilenato de Zinc; Y Clorhidrato de Zinoconazol.

10 La invención también proporciona combinaciones de dos o más compuestos que inhiben la necrosis celular. La invención también proporciona combinaciones de uno o más compuestos que inhiben la necrosis celular en combinación con uno o más agentes o compuestos (por ejemplo, otros compuestos terapéuticos para el tratamiento de una enfermedad, afección o infección).

15 La invención también proporciona equipos que incluyen uno o más compuestos o combinaciones de la invención (por ejemplo, la tiohidantoína heterocíclica, hidantoína, oxazolidinona, tioxo-oxazolidinona, pirimidinona, compuestos oxazinanone, o combinaciones de los mismos). Un equipo también puede incluir uno o más agentes o compuestos descritos aquí. Los diferentes componentes del equipo se pueden proporcionar en diferentes contenedores. El equipo puede ser compartimentado para recibir los contenedores en confinamiento cerrado. El equipo también puede contener instrucciones para uso de los compuestos de acuerdo con la invención.

20 Como se utiliza aquí, un equipo, tal como un equipo dividido en compartimentos incluye cualquier equipo en el que los compuestos o agentes están contenidos en recipientes separados. Ejemplos ilustrativos de dichos recipientes incluyen, pero no se limitan a, pequeños recipientes de vidrio, recipientes de plástico o tiras de plástico o papel. Particularmente se prefieren tipos de contenedores que permitan que el experto transfiera eficientemente los reactivos desde un compartimento a otro compartimento, de modo que las muestras y los reactivos no tiene contaminación cruzada y los agentes o soluciones de cada recipiente se pueden agregar de una manera cuantitativa de un compartimento a otro. Dichos recipientes incluyen, pero no se limitan a, un recipiente que aceptará un compuesto o combinación de compuestos y/u otros agentes de la invención. Uno o más compuestos o agentes se pueden proporcionar como un polvo (polvo liofilizado por ejemplo) o precipitar. Dicho compuesto (s) se puede resuspender antes de administración en una solución que se puede proporcionar como parte del equipo o estar disponible por separado. Un equipo puede contener compuestos o agentes en otras formas tales como líquidos, geles, sólidos, como se describe aquí. Se pueden proporcionar diferentes compuestos y/o agentes en diferentes formas en un solo equipo.

25 El término "ED<sub>50</sub>" significa la dosis de un fármaco que produce el 50% de su máxima respuesta o efecto. Alternativamente, "ED<sub>50</sub>" significa la dosis que produce una respuesta predeterminada en el 50% de los sujetos o preparaciones de ensayo.

El término "LD<sub>50</sub>" significa la dosis de un fármaco que es letal en el 50% de los sujetos de prueba.

35 El término "EC<sub>50</sub>" significa la concentración de un fármaco que produce el 50% de su máxima respuesta o efecto en un ensayo de prueba. Alternativamente, "EC<sub>50</sub>" significa la concentración efectiva que produce una respuesta predeterminada en el 50% de los ensayos de prueba.

El término "índice terapéutico" se refiere al índice terapéutico de un fármaco definido como DL<sub>50</sub>/DE<sub>50</sub>.

40 El término "relación estructura-actividad (SAR)" se refiere a la forma en que la alteración de la estructura molecular de los fármacos altera su interacción con un receptor, una enzima, etc.

## Ejemplos

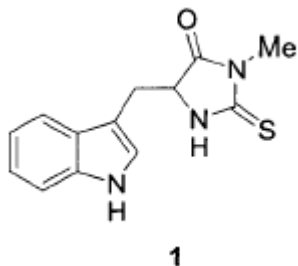
### Ejemplo 1

Ensayos de cribado utilizados para identificar inhibidores de necrosis celular:

45 Después de que una célula recibe un asalto inicial, ya sea por apoptosis, necrosis, o ambos mecanismos de apoptosis y necrosis se puede activar la muerte celular. El presente ejemplo se centra en la ruta de necrosis. Se utilizaron varios asaltos químicos para inducir la muerte celular, incluyendo la exposición al factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), ligando Fas o proteína  $\beta$ -amiloide. También se utilizaron diversos tipos de células, que incluyen células humanas de neuroblastoma (SH-SY5Y) y células Jurkat T humanas. Con el fin de bloquear el mecanismo de apoptosis, se utiliza un inhibidor general de caspasa, ácido N-benciloxicarbonil-valina-alanina-aspártico (OMe) fluorometil cetona (zVAD, Polverino, A.J.; Patterson, S.D. J. Biol. Chem. 1997, 272, 7013 - 7021). Este compuesto inhibe todas las caspasas y, en consecuencia interrumpe la ruta de apoptosis. Como resultado la muerte celular se produce por un mecanismo similar a (Holler, N., et al. Nature Immunol. 2000, 1, 489-495; Kawahara, A., et al. J. Cell

Biol. 1998, 143, 1353-1360). Los compuestos experimentales se aplicaron a las células en los intentos de rescatarlos desde esta muerte necrótica. Por lo tanto, los compuestos encontrados para restablecer la viabilidad celular utilizando este protocolo son inhibidores de la ruta de necrosis.

- 5 Se cribaron las colecciones de compuestos para la inhibición de la muerte celular inducida por TNF- $\alpha$  en presencia de zVAD en la estirpe celular B humana U-937. Un compuesto identificado como inhibidor de la necrosis era 1 (no de acuerdo con la invención reivindicada):



- 10 Los compuestos se probaron también en otro ensayo de necrosis utilizando células T Jurkat humanas, ligando Fas para inducir muerte celular, y zVAD para inhibir la ruta de apoptosis. Después de 36h, se midió la viabilidad celular mediante el ensayo de viabilidad celular CellTiter ATP comercial (Promega).

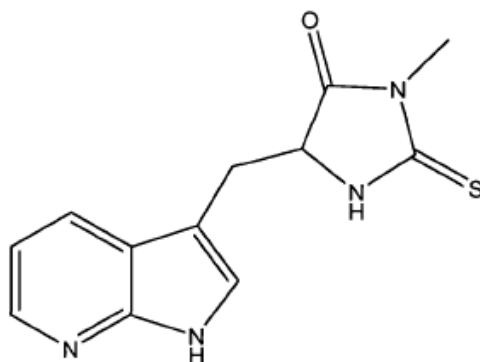
Un estudio de estructura-actividad-relaciones (SAR) se llevó a cabo con el fin de aumentar la actividad anti-necrosis. Los compuestos de la Tabla 1 se prepararon de acuerdo con los procedimientos descritos en las Figuras 2 y 3.

Tabla 1

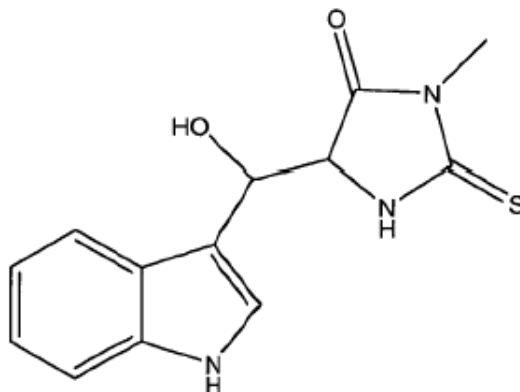
naci = no de acuerdo con la invención reivindicada						
Compuesto No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	X	Y
893-01 (naci)	H	H	Me	H	S	NH
893-02 (naci)	H	Me	Me	H	S	NH
893-03 (naci)	H	H	Me	Me	S	NH
893-04	H	H	Et	H	O	NH
893-05 (naci)	6-F	H	Me	H	S	NH
893-06 (naci)	5-OMe	H	Me	H	S	NH
893-07 (naci)	5-OH	H	Me	H	S	NH
893-08 (naci)	H	H	Me	H	S	NMe
893-09 (naci)	7-F	H	Me	H	S	NH
893-10 (naci)	7-Cl	H	Me	H	S	NH

naci = no de acuerdo con la invención reivindicada						
Compuesto No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	X	Y
893-11 (naci)	6-Cl	H	Me	H	S	NH
893-12 (naci)	7-Br	H	Me	H	S	NH
893-13 (naci)	7-OMe	H	Me	H	S	NH
893-14 (naci)	5-Cl	H	Me	H	S	S
893-15 (naci)	7-Cl	H	Me	H	S	NMe
893-16 (naci)	6-SO <sub>2</sub> Me; 7-Cl	H	Me	H	S	NH
893-17 (naci)	H	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -morfolina	H	S	NH
893-18 (naci)	H	H	H	H	S	NH
893-19	H	H	H	H	O	NH
893-20	H	H	Me	H	O	NH
893-21 (naci)	H	H	Me	H	S	S
893-22	H	H	Me	H	O	NH
893-23	7-Me	H	Me	H	O	NH
893-24	5-Cl	H	Me	H	O	NH
893-25	7-OMe	H	Me	H	O	NH
893-26	5-OMe	H	Me	H	O	NH
893-27	6-Cl	H	Me	H	O	NH
893-28	7-F	H	Me	H	O	NH
Me = metilo, Et = etilo						

Otros derivados también se preparan utilizando procedimientos similares:



893-29 (no de acuerdo con la invención reivindicada)



893-30 (no de acuerdo con la invención reivindicada)

- 5 Los compuestos se criban para actividad anti-necrótica utilizando células Jurkat T humanas inoculadas con ligando Fas y tratadas con zVAD para inhibir la ruta de apoptosis. La Tabla 2 muestra los valores de EC<sub>50</sub> (μM) de los compuestos seleccionados para la viabilidad celular.

Tabla 2

Número de Compuesto	EC <sub>50</sub> (μM)
893-01 (naci)	6.0
893-04	10.0
893-05 (naci)	2.3
893-08 (naci)	35
893-09 (naci)	4.0
893-10 (naci)	1.5
893-11 (naci)	67.0
893-12 (naci)	1.8
893-13 (naci)	10.3
893-21 (naci)	8.0
893-20	6.0

- 10 Los compuestos se cribaron para actividad anti-necrótica utilizando células T Jurkat deficiente en FAD humanas inoculadas con TNF-alfa humano. Las células FADD -/- Jurkat (Juo P, et al. Cell Growth Differ. 1999, 10(12):797-804) se sembraron a la densidad de  $5 \times 10^5$  células/mL en placas blancas de 96 pozos (Costar) a 100 μL/pozo. Las células se trataron por duplicado con diferentes concentraciones de compuestos de prueba en la presencia o ausencia de 10 ng/ml de TNFα humano (Cell Sciences). Después de 30 horas se determinó la viabilidad de las células utilizando ensayo de viabilidad celular con base en ATP luminiscente (CellTiter-Glo, Promega).
- 15 Se calculó el porcentaje de protección por el compuesto como una relación del valor de los cps (recuentos por segundo) en el pozo tratado con el compuesto de prueba y TNFα con el valor cps en el pozo tratado con el compuesto solo. La Tabla 3 muestra los valores de EC<sub>50</sub> (μM) de los compuestos seleccionados para viabilidad celular.

## ES 2 567 135 T3

Tabla 3

Número de Compuesto	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
893-22	0.439
893-23	0.095
893-24	6.8
893-25	0.229
893-26	>300
893-27	1.12
893-28	0.324
893-31	0.303
893-32	0.078
893-33	> 10
893-34	0.154
893-35	0.448
893-36	> 10
893-37	1.8
893-38	>10
893-39	5.4
893-40	> 10
893-41	> 10
893-42	> 10
893-43	>10
893-44	> 10
893-45	> 10
893-46	5.3
893-47	> 10
893-48	> 10
893-49	4.3
893-50	> 10

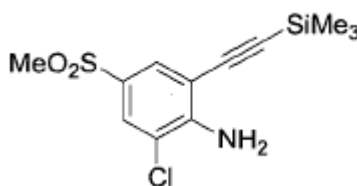
Número de Compuesto	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
893-51	> 10
893-52	> 10
893-53	0.359
893-21	0.845
893-54	0.200

Inhibición de necrosis inducida por LPS. Las células RAW264.7 se mantuvieron en RPMI1640 con mezcla de antibiótico-antimicótico y FBS al 10%. Un día antes las células del experimento se colocan en placas de 96 pozos a la densidad de 5000 células/pozo. Las células se trataron con la dosis indicada de LPS y zVAD-fmk 100 mM (marcado "Z", Q-Biogene), 0.25  $\mu$ g/ml de ciclohexamida ("C", que potencia aponecrosis inducida por TNF $\alpha$ , Sigma) y 30  $\mu$ M del compuesto 893-01. La viabilidad celular se determinó 24 horas más tarde utilizando el ensayo ATP CellTiter-Glo (Promega). La viabilidad se expresa como un porcentaje de los macrófagos RAW264.7 viables en el pozo tratado en comparación con el control sin tratar, que se establece como viabilidad al 100% como se muestra en la Figura 1 (células tratadas con LPS e inhibidor de la zVAD (marcadas "Z" en la Figura 1) y/o ciclohexamida, un potenciador de aponecrosis (marcado "C" en la Figura 1).

Por consiguiente, los compuestos de la invención son inhibidores de la necrosis celular. Los compuestos son efectivos en el mantenimiento de la viabilidad celular cuando las células se inoculan con toxinas (por ejemplo, TNF- $\alpha$ , LPS) y la ruta de la apoptosis se ha interrumpido por la adición de zVAD. Esta protección se encuentra en diferentes tipos de células, tales como células neuronales humanas, células T y macrófagos humanos. Los compuestos descritos aquí pueden ser útiles como agentes terapéuticos (solos o en combinación con otros compuestos) para el tratamiento de humanos que sufren de una enfermedad aguda o crónica. Además, estos compuestos se pueden utilizar en el desarrollo de ensayos de objetivos moleculares novedosos integrales a la muerte celular necrótica inducida.

### Ejemplo 2

Preparación de 2-cloro-4-metanosulfonil-6-trimetilsilaniletinil- fenilamina:

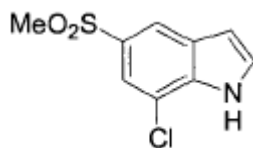


A una solución de 2-cloro-4-metanosulfonil anilina (822.6 mg, 4.0 mmol.) en diclorometano (10 mL) se agregan, bajo argón, tetrafluoroborato de bis(piridina)yodinio (2.970 gm, 8 mmol.) y ácido trifluorometanosulfónico (2.40 g, 16 mmol.). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante ~16 h. Se diluye con agua, y se extrae en diclorometano, se seca y se concentra. El residuo se purifica sobre la columna utilizando 0 a 40% de acetato de etilo - hexano para dar 2-cloro-6-yodo-4- metanosulfonilaniilina (969 mg, 73%): <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 3.03 (s, 3H), 5.12 (s, 2H), 7.81 (s, 1H), 8.09 (s, 1H).

A la suspensión de 2-cloro-6-yodo-4- metanosulfonilaniilina (886.9 mg, 2.7 mmol.), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (94.5 mg, 0.13 mmol), y CuI (24.3 mg, 0.13 mmol.) se agrega trietil amina (2 mL), y la suspensión se trata lentamente con (trimetilsilil) acetileno (0.22 mL, 0.16 mmol.) a 0°C. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante ~16 h. El solvente se elimina bajo vacío. El residuo se diluye con acetato de etilo, y se filtra a través de Celita. El filtrado se lava con NaCl saturado, agua, se seca sobre sulfato de sodio anhidro y se concentra. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice utilizando 20% de acetato de etilo - hexano para dar 2-cloro-4-metanosulfonil- 6-trimetilsilaniletinil- fenilamina (632 mg, 78%). El espectro de <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) es: 0.27 (s, 9H), 3.01 (s, 3H), 5.17 (s, 2H), 7.77 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.78 (d, J = 2.5 Hz, 1H).

### Ejemplo 3

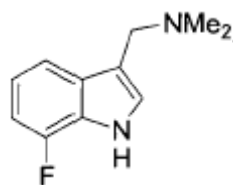
Preparación de 7-Cloro-4-metanosulfonil-1H- indol:



- 5 A una mezcla de 2-cloro-4-metanosulfonil-6- trimetilsilaniletinil- fenilamina (100 mg, 0.33 mmol.) y CuI (126.2 mg, 0.66 mmol.), se agrega DMF (2 mL) bajo argón y la mezcla de reacción se calienta a 100°C durante 2 hr. La mezcla de reacción se diluye con acetato de etilo y se filtra a través de Celita. El filtrado se lava con NaCl saturado, se seca y se concentra. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice utilizando 30% de acetato de etilo - hexano para dar 7-Cloro-4-metanosulfonil -1H-indol (38 mg, 50%): mp 160 - 162° C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 3.09 (s, 3H), 6.75 (m, 1H), 7.43 (m, 1H), 7.75 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 8.19 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 8.84 (s, 1H).

#### Ejemplo 4

- 10 Procedimiento general para la preparación de 1H-indol-3-ilmetil-dimetilamina, ejemplificada por (7-Fluoro- 1H-indol-3-ilmetil)dimetil- amina:



- 15 A una mezcla de ácido acético (13.6 mL) y formaldehído (0.340 mL, 4.5 mmol, solución al 37%) bajo argón se agrega dimetil amina (2.05 mL, 16.3 mmol., solución al 40%). La mezcla de reacción se agita durante 10 min y luego se trata con 7-fluoroindol (540 mg, 4.0 mmol.). La mezcla resultante se agita a temperatura ambiente durante ~16 h. La mezcla de reacción primero se neutraliza con K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y luego se basicifica con NaOH (2N), y luego se extrae en acetato de etilo, se lava con agua, se seca, y se concentra. El sólido obtenido se cristaliza de nuevo a partir de acetato de etilo y hexano para dar (7-Fluoro- 1H-indol-3-ilmetil) dimetilamina (570 mg, 74%): mp 133 - 137°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 2.31 (s, 6H), 3.62 (s, 2H), 6.88 - 6.92 (dd, J = 8.0 y 8.0 Hz, 1H), 7.00 - 7.04 (m, 1H), 7.16 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.34 (s, 1H).

(7-Bromo-1H-indol-3-ilmetil) dimetilamina: rendimiento 81 %, mp 113 - 118°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 2.30 (s, 6H), 3.61 (s, 2H), 7.01 (dd, J = 8.0 y 8.0 Hz, 1H), 7.20 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.35 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.66 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.25 (s, 1H).

- 25 (7-Cloro-1H-indol-3-ilmetil) dimetilamina: rendimiento 86%, mp 136 - 138°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 2.27(s, 6H), 3.61 (s, 2H), 7.04 (dd, J = 8.0 y 8.0 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.18 (d, J = 7.5 Hz, 1 H), 7.60 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 8.53 (s, 1 H).

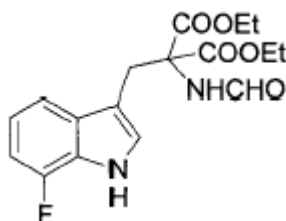
(7-Metoxi-1H-indol-3-ilmetil) dimetilamina: rendimiento 81 %, mp 99 - 102°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): rendimiento 81%, 2.27 (s, 6H), 3.62 (s, 2H), 3.95 (s, 3H), 6.64 (d, J = 7.5 Hz, 1 H), 7.04 (dd, J = 8.0 y 7.5 Hz, 1 H), 7.11 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.36 (s, 1H).

- 30 (7-Cloro-5-metanosulfonil-1H-indol-3-ilmetil) dimetilamina: rendimiento 82%, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 2.29 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 3.64 (s, 2H), 7.37 (s, 1H), 7.77 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.30 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.63 (s, 1H).

#### Ejemplo 5

Procedimiento general para la preparación de ésteres de dietilo de ácido 2-(1H-indol-3-ilmetil) -2-formilamino- malónico.

- 35 Preparación de éster de dietilo de ácido 2-(7-Fluoro-1H-indol-3-ilmetil) -2- formilamino- malónico:



Una suspensión de (7-fluoro-1H-indol-3-ilmetil) -dimetil-amina (550 mg, 0.0028 mol.), éster de dietilo de ácido 2-formilamino- malónico (640 mg, 0.0031 mol.), y NaOH (30 mg) en tolueno (20 mL) bajo argón se somete a reflujo durante 3 días. La mezcla de reacción se concentra y purifica mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice utilizando 40% de acetato de etilo - hexano para dar éster de dietilo de ácido 2-(7-Fluoro-1H-indol-3-ilmetil) - 2-formilamino- malónico (1.0 gm, 99%): mp 164 - 166°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.28 (t, J = 7.5 Hz, 6H), 3.87 (s, 2H), 4.17 - 4.31 (m, 4H), 6.80 (s, 1H), 6.86 - 6.89 (dd, J = 8.0 y 8.0 Hz, 1H), 6.97 - 7.01 (m, 2H), 7.27 (s, 1H), 8.18 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.27 (s, 1H).

Éster de dietilo de ácido 2-(7-Bromo-1H-indol-3-ilmetil) -2-formilamino-malónico: rendimiento, 98%, mp 159 - 162°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.28 (t, J = 7.5 Hz, 6H), 3.85 (s, 2H), 4.18 - 4.31 (m, 4H), 6.61 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.78 (s, 1H), 6.90 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.99 (dd, J = 7.5 y 8.0 Hz, 1H), 7.10 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 8.18 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.28 (s, 1H).

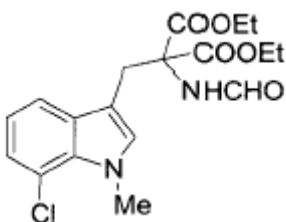
Éster de dietilo de ácido 2-(7-Cloro-1H-indol-3-ilmetil) -2-formilamino- malónico: rendimiento 65%, mp 170 - 174°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.28 (t, J = 7.5 Hz, 6H), 3.87 (s, 2H), 4.17 - 4.31 (m, 4H), 6.80 (s, 1H), 7.00 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.02 (dd, J = 7.5 y 8.0 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.18 (d, J = 1.0 Hz, 1H), 8.32 (s, 1H).

Éster de dietilo de ácido 2-(7-Metoxi-1H-indol-3-ilmetil) -2-formilamino- malónico: rendimiento 73% (con base en el compuesto de partida no recuperado), mp 149 -153°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.28 (t, J = 7.5 Hz, 6H), 3.85 (s, 2H), 3.94 (s, 3H), 4.17 - 4.31 (m, 4H), 6.61 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.78 (s, 1H), 6.90 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.99 (dd, J = 7.5 y 7.5 Hz, 1H), 7.10 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 8.18 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.28 (s, 1H).

Éster de dietilo de ácido 2-(7-Cloro-5-metanosulfonil-1H-indol-3-ilmetil) -2-formilamino- malónico: rendimiento 66%, mp 206 - 209°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.15 (t, J = 7.5 Hz, 6H), 3.21 (s, 3H), 3.67 (s, 2H), 4.09 - 4.17 (m, 4H), 7.34 (s, 1H), 7.68 (d, J = 1.0 Hz, 1H), 7.91 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.03 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 12.07 (s, 1H).

### Ejemplo 6

Preparación de éster de dietilo de ácido 2-(7-Cloro-1-metil-1H-indol-3-ilmetil)-2-formilamino- malónico:

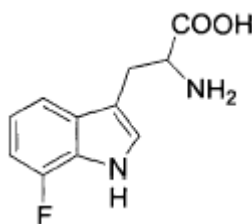


A una suspensión de DMSO (5 mL) y KOH (229 mg, 4.1 mmol) se agrega éster de dietilo de ácido 2-(7-Cloro-1H-indol-3-ilmetil) - 2-formilamino- malónico (500 mg, 1.4 mmol), seguido por MeI (0.127 mL, 2 mmol) a 0°C. La mezcla de reacción se agita durante 4 hr. Después del tratamiento final usual el producto se purifica mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice utilizando 30% de acetato de etilo - hexano para dar éster de etilo de ácido 2-(7-Cloro-1-metil-1H-indol-3-ilmetil) -2-formilamino- malónico (402 mg, 77%): mp 83 - 87°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.28 (t, J = 7.5 Hz, 6H), 3.81 (s, 2H), 4.08 (s, 3H), 4.17 - 4.31 (m, 4H), 6.71 (s, 1H), 6.93 (dd, J = 7.5 y 7.5 Hz, 1H), 7.10 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.35 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 8.18 (d, J = 1.0 Hz, 1H).

### Ejemplo 7

Procedimiento general para la preparación de triptófanos, ejemplificado para DL-7-Fluoro-triptófano:





5 Una solución de éster de dietilo de ácido 2-(7-Fluoro- 1H-indol-3-ilmetil) -2-formilamino- malónico en THF se trata con NaOH (300 mg en 10 mL de agua) a temperatura ambiente durante 24 hr. La mezcla se acidifica lentamente con ácido acético (5 mL) y luego se somete a reflujo durante 24 hr. La mezcla de reacción se concentra bajo vacío, y se trata con HCl dil. (10 mL, 3M) y luego de nuevo se somete a reflujo durante ~16 h. La reacción se deja enfriar a temperatura ambiente. El pH se ajusta a 6.0 con KOH 2M. El sólido blanco que se forma se filtra, se lava con agua, y se seca bajo vacío para dar 7-fluorotriptófano (282 mg, 52%): mp 256 - 261°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 2.92 - 2.97 (dd, J = 8.5 y 15 Hz, 1H), 3.25 - 3.29 (dd, J = 4.0 y 15 Hz, 1H), 3.38 - 3.41 (dd, J = 4.0 y 8.5 Hz, 1H), 6.87 - 6.96 (m, 2H), 7.25 (s, 1H), 7.37 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 11.36 (s, 1H).

10 DL-7-Bromo-triptófano: rendimiento 92%, mp >260°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 2.95 - 3.00 (dd, J = 8.5 y 15 Hz, 1H), 3.25 - 3.29 (dd, J = 4.0 y 15 Hz, 1H), 3.40 - 3.42 (dd, J = 4.0 y 8.5 Hz, 1H), 6.91 (dd, J = 8.0 y 7.5 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 11.11 (s, 1H).

15 DL-7-Cloro-triptófano: rendimiento 83%, mp 236 - 239°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 2.95 - 3.00 (dd, J = 8.5 y 15 Hz, 1H), 3.24 - 3.28 (dd, J = 4.0 y 15 Hz, 1H), 3.41 - 3.43 (dd, J = 4.0 y 8.5 Hz, 1H), 6.95 (dd, J = 7.5 y 7.5 Hz, 1 H), 7.10 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.52 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 11.18 (s, 1H).

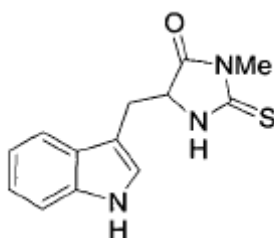
DL-7-Cloro-N-metil-triptófano: rendimiento 71%, mp 208 - 211°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 2.95 -3.43 (m, 3H) 4.02 (s, 3H), 6.92 - 6.96 (m, 1H), 7.09 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.16 (s, 1H), 7.50 - 7.73 (dd, J = 7.5 y 7.5 Hz, 1H).

DL-7-Metoxi-triptófano: rendimiento 46%, se utiliza como tal para la siguiente reacción sin aislamiento.

20 DL-7-Cloro-5-metanosulfonil-triptófano: rendimiento 83%, mp 292 - 294°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 3.04 - 3.08 (dd, J = 8.5 y 15.5 Hz, 1H), 3.32 (m, 1H), 3.44 - 3.47 (dd, J = 4.5 y 8.5 Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.66 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.20 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 11.90 (s, 1H).

### Ejemplo 8

Procedimiento general para la preparación de 5-(1H-Indol-3-ilmetil) -3-metil-2-tioxo-imidazolidin-4 -onas a partir de ésteres de triptófano, ejemplificados para 893-01



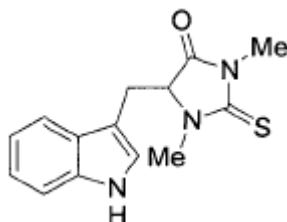
25 A una solución de clorhidrato de éter de metilo de L-triptófano (0.254 mg, 0.001 mol.) en diclorometano (10 mL) se agrega trietil amina (0.1 mL) seguido por metilisotiocianato (0.074 gm, 0.001 mol.). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 1 hr y luego se concentra. El residuo obtenido se purifica mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice utilizando 30% de acetato de etilo en hexano para dar 893-01 (230 mg, 89%): mp 144 - 148°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 2.97 - 3.02 (dd, J = 10.5 y 14.5 Hz, 1H), 3.22 (s, 3H), 3.49 - 3.53 (dd, J = 3.5 y 14.5 Hz, 1H), 4.36 - 4.39 (m, 1H), 6.98 (s, 1H), 7.11 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.17 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.24 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 8.16 (s, 1H).

### Ejemplo 9

35 Procedimiento general para la preparación de 5-(1H-Indol-3-ilmetil) -3-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-onas a partir de triptófanos, ejemplificados para 893-01 (no de acuerdo con la invención reivindicada)

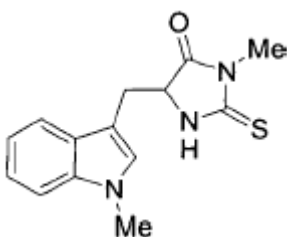
- 5 A una solución de L-triptófano (0.408 gm, 0.002 mol.) en piridina acuosa al 50% (10 mL) se agrega metilisotiocianato (0.175 gm, 0.0024 mol.) seguido por la adición de NaOH (0.5 N) a pH (8 - 9). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 1 h y luego se extrae con éter de petróleo. Se acidifica la capa acuosa con HCl concentrado. La solución ácida (pH 1.0) se lleva a temperatura ambiente durante 2 días. Luego se extrae en acetato de etilo, se seca, y se concentra. El residuo obtenido se purifica mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice utilizando 30% de acetato de etilo - hexano como un eluyente para dar 893-01 (42 mg, 8%): mp 144 - 148°C.

5-(1H-Indol-3-ilmetil) -1,3-dimetil-2- tioxo-imidazolidin-4- ona (893-03):



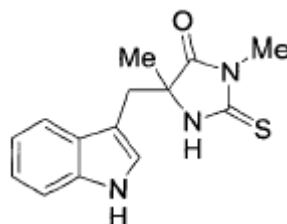
- 10 Rendimiento 15%, mp 132 - 135°C, <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 3.04 (s, 3H), 3.22 (s, 3H), 3.37 - 3.39 (m, 2H), 4.23 - 4.25 (m, 1H), 6.92 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.08 - 7.18 (m, 2H), 7.31 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.04 (s, 1H).

3-Metil-5-(1-metil-1H -Indol-3-ilmetil) -2-tioxo-imidazolidin-4-ona (893-08) (no de acuerdo con la invención reivindicada):



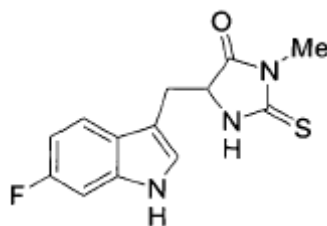
- 15 Rendimiento 15%, mp 155 - 157°C, <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 2.88 - 2.94 (dd, J = 10.0 y 14.8 Hz, 1H), 3.45 - 3.50 (dd, J = 4.0 y 14.8 Hz, 1H), 4.30 - 4.34 (m, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.92 (s, 1H), 7.10 - 7.31 (m, 3H), 7.54 (d, J = 8.0 Hz, 1H).

5-(1H-Indol-3-ilmetil) -3,5-dimetil-2-tioxo-imidazolidin-4- ona (893-02) (no de acuerdo con la invención reivindicada):



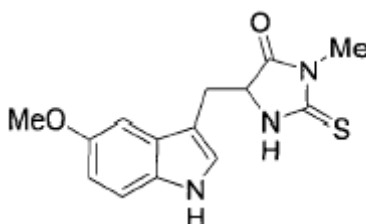
- 20 Rendimiento 57%, mp 179 - 182°C, <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.42 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 3.12 - 3.13 (m, 2H), 7.03 (s, 1H), 7.11 - 7.20 (m, 3H), 7.33 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.13 (s, 1H).

5-(6-Fluoro-1H-Indol-3-ilmetil) -3-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (893-05) (no de acuerdo con la invención reivindicada):



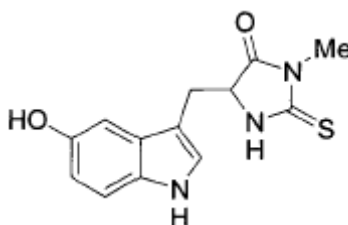
Rendimiento 24%, mp 126 - 129°C,  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2.94 - 3.00 (dd,  $J = 10.0$  y  $14.8$  Hz, 1H), 3.16 (s, 3H), 3.40 - 3.45 (dd,  $J = 4.0$  y  $14.8$  Hz, 1H), 4.30 - 4.34 (m, 1H), 6.87 - 6.92 (m, 2H), 7.02 - 7.05 (m, 2H), 7.44 - 7.47 (m, 1H), 8.09 (s, 1H).

- 5 5-(5-Metoxi-1H-Indol-3-ilmetil) -3-metil-2-tioxo-imidazotidin-4-ona (893-06) (no de acuerdo con la invención reivindicada):



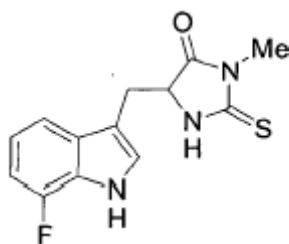
- 10 Rendimiento 17%, mp 181 - 185°C,  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2.90 - 2.96 (dd,  $J = 10.0$  y  $14.8$  Hz, 1H), 3.19 (s, 3H), 3.41 - 3.46 (dd,  $J = 4.0$  y  $14.8$  Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 4.30 - 4.34 (m, 1H), 6.85 - 6.87 (dd,  $J = 2.4$  y  $8.4$  Hz, 1H), 6.91 (s, 3H), 6.96 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.04 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.25 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 8.00 (s, 1H).

5-(5-Hidroxi-1H-Indol-3-ilmetil) -3-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (893-07) (no de acuerdo con la invención reivindicada):



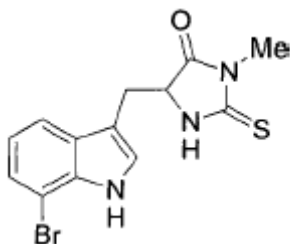
- 15 Rendimiento 17%, mp 166 - 168°C,  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2.87 - 2.93 (dd,  $J = 10.0$  y  $14.8$  Hz, 1H), 3.18 (s, 3H), 3.37 - 3.41 (dd,  $J = 4.0$  y  $14.8$  Hz, 1H), 4.27 - 4.31 (m, 1H), 6.76 - 6.79 (dd,  $J = 2.4$  y  $8.4$  Hz, 1H), 6.86 (s, 3H), 6.94 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.04 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.23 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.98 (s, 1H).

5-(7-Fluoro-1H-Indol-3-ilmetil) -3-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (893-09) (no de acuerdo con la invención reivindicada):



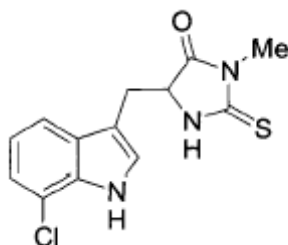
- 20 Rendimiento 31%, mp 217 - 220°C,  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 3.00 - 3.05 (dd,  $J = 9.5$  y  $15.0$  Hz, 1H), 3.22 (s, 3H), 3.47 - 3.51 (dd,  $J = 4.0$  y  $15.0$  Hz, 1H), 4.36 - 4.39 (m, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.94 - 6.98 (m, 1H), 7.06 - 7.10 (m, 1H), 7.15 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.36 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 8.32 (s, 1H). Anal. Calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{FN}_3\text{OS}$ : C, 56.30; H, 4.36; N, 15.15. Encontrado: C, 56.12; H, 4.39; N, 14.88.

5-(7-Bromo-1H-indol-3-ilmetil) -3-metil-2-tioxo- imidazolidin-4-ona (893-12) (no de acuerdo con la invención reivindicada):



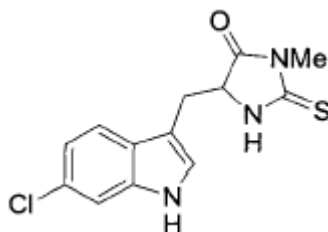
5 Rendimiento 34%, mp 230 - 233°C,  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2.99 - 3.05 (dd, J = 10 y 15.0 Hz, 1H), 3.22 (s, 3H), 3.46 - 3.50 (dd, J = 4.0 y 15.0 Hz, 1H), 4.35 - 4.38 (m, 1H), 6.84 (s, 1H), 7.06 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.10 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 8.32 (s, 1H).

5-(7-Cloro-1H-indol-3-ilmetil) -3-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (893-10) (no de acuerdo con la invención reivindicada):



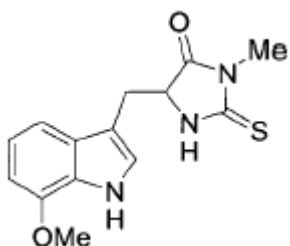
10 Rendimiento 29%, mp 249 - 253°C,  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$  -  $\text{CDCl}_3$ ): 3.02 (s, 3H), 3.18 - 3.22 (dd, J = 5.5 y 14.5 Hz, 1H), 3.30 - 3.34 (dd, J = 4.5 y 14.5 Hz, 1H), 4.35 (dd, J = 4.5 y 5.5 Hz, H), 7.00 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.13 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.19 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 9.92 (s, 1H), 10.45 (s, 1H). Anal. Calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{ClN}_3\text{OS}$ : C, 53.15; H, 4.12; N, 12.07. Encontrado: C, 53.16; H, 4.21; N, 14.01.

15 5-(6-Cloro-1H-indol-3-ilmetil) -3-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (893-11) (no de acuerdo con la invención reivindicada):



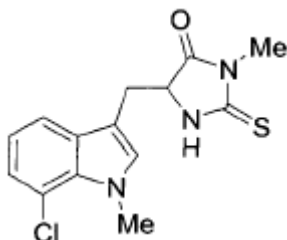
Rendimiento 31%,  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 3.13 (m, 1H), 3.30 (m, 1H), 3.32 (s, 3H), 4.55 - 4.47 (m, 1H), 6.97 - 6.99 (dd, J = 2.5 y 8.5 Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.35 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.53 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 10.33 (s, 1H), 11.03 (s, 1H).

20 5-(7-Metoxi-1H-indol-3-ilmetil) -3-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (893-13) (no de acuerdo con la invención reivindicada):



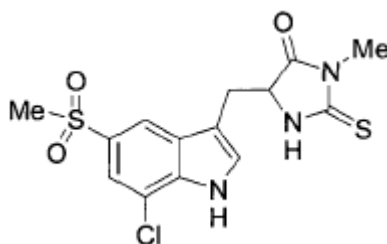
Rendimiento 12%, mp 219 - 222°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 2.94 - 2.99 (dd, J = 10 y 15.0 Hz, 1H), 3.23 (s, 3H), 3.48 - 3.52 (dd, J = 4.0 y 15.0 Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 4.36 - 4.39 (m, 1H), 6.69 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.82 (s, 1H), 7.07 - 7.11 (m, 2H), 7.19 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.33 (s, 1H).

- 5 5-(7-Cloro-1H-indol-3-ilmetil) -3-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (893-15) (no de acuerdo con la invención reivindicada):



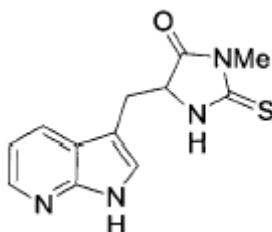
Rendimiento 10%, mp 128 - 131°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 2.91 - 2.96 (dd, J = 9.5 y 15.5 Hz, 1H), 3.23 (s, 3H), 3.43 - 3.47 (dd, J = 4.0 y 15.5 Hz, 1H), 4.12 (s, 3H), 4.31 - 4.33 (m, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.90 (s, 1H), 7.02 (dd, J = 8.0 y 9.5 Hz, 1H), 7.18 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.44 (d, J = 7.5 Hz, 1H).

- 10 5-(7-Cloro-5-metanosulfonil-1H-indol-3-ilmetil) -3-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (893-16) (no de acuerdo con la invención reivindicada):



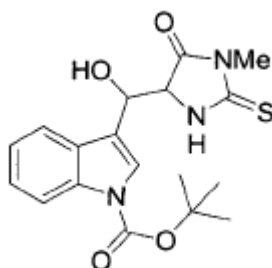
- 15 Rendimiento 26%, mp 242 - 245°C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 3.12 (s, 3H), 3.13 (s, 3H), 3.19 - 3.23 (dd, J = 8.0 y 15.0 Hz, 1H), 3.42 - 3.46 (dd, J = 4.0 y 15.0 Hz, 1H), 4.41 - 4.44 (m, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.33 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.80 (s, J = 1.0 Hz, 1H), 8.17 (d, J = 1.0 Hz, 1H), 8.67 (s, 1H).

3-Metil-5-(1H-pirrol-2,3-b)piridin-3-ilmetil) -2-tioxi-imidazolidin-4-ona (893-29) (no de acuerdo con la invención reivindicada):



- 20 Rendimiento 41 %, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 2.73 (s, 3H), 3.14 - 3.16 (m, 2H), 4.55 - 4.58 (m, 1H), 7.16 - 7.32 (m, 2H), 8.24 - 8.32 (m, 2H), 10.29 (s, 1H), 10.10 (s, 1H).

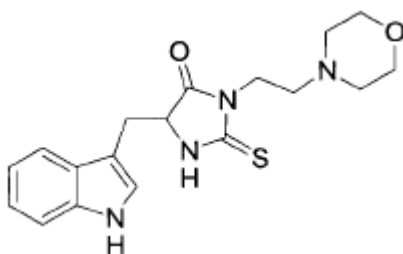
Éster de tert-butilo de ácido 3-[Hidroxil-1-(metil-5-oxo-2-tioxi-imidazolidin-4-il)metil]-indol-1-carboxílico (893-55) (no de acuerdo con la invención reivindicada):



Rendimiento 18 %,  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 1.69 (s, 9H), 2.30 (m, 1H), 4.47 (m, 1H), 5.37 (m, 1H), 6.69 (s, 1H), 7.26 - 7.41 (m, 2H), 7.59 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.67 (s, 1H), 8.21 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H).

### Ejemplo 10

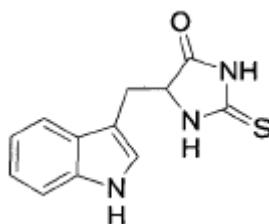
- 5 Preparación de 5-(1H-Indol-3-ilmetil) -3-(2-morflin-4-il-etil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (893-17) (no de acuerdo con la invención reivindicada):



- 10 A una solución de clorhidrato de éster de metilo de L-triptófano (0.250 mg, 0.001 mol.) en diclorometano (10 mL) se agrega trietil amina (3.0 eq.) seguido por 4-(2-isotiocianato-etil)- morfolina (0.190 gm, 0.0011 mol.). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 24 hr, y luego se concentra. El residuo obtenido se purifica mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice utilizando 60% de acetato de etilo - hexano para dar 893-17 (292 mg, 83%): mp 167 - 169°C,  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2.45 - 2.51 (m, 6H), 3.02 - 3.07 (dd,  $J = 9.5$  y 15.0 Hz, 1H), 3.46 - 3.50 (dd,  $J = 4.0$  y 15.0 Hz, 1H), 3.65 (m, 4H) 3.89 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 4.35 - 4.38 (m, 1H), 6.38 (s, 1H), 7.12 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H), 7.16 - 7.19 (m, 1H), 7.23 - 7.25 (dd,  $J = 1.5$  y 8.0 Hz, 1H), 7.39 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.61 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 8.15 (s, 1H).
- 15

### Ejemplo 11

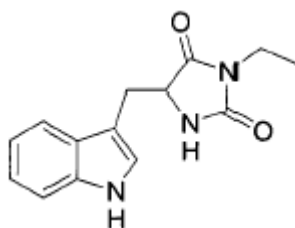
Preparación de 5-(1H-indol-3-ilmetil) -2-tioxo-imidazolidin-4-ona (893-18) (no de acuerdo con la invención reivindicada):



- 20 A una solución de clorhidrato de éster de metilo de L-triptófano (0.257 mg, 0.001 mol.) en diclorometano (10 mL) se agrega DMAP (5.0 mg), diisopropiletilamina (10 eq.) y Lugo trimetilsililisotiocianato (1.3 gm, 0.01 mol.). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 24 hr, y luego se concentra. El residuo obtenido se disuelve en AcOH (10 mL) y se somete a reflujo durante 6 h. La mezcla de reacción se concentra y se seca bajo vacío. El sólido obtenido se suspende en EtOAc, se filtra, se lava con EtOAc, y se seca bajo vacío para dar 893-18 (230 mg, 94%): mp 206 - 210°C,  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 3.00 - rendimiento 34%,  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 3.24 - 3.33 (m, 2H), 4.23 - 4.26 (m, 1H), 7.01 (dd,  $J = 8.0$  y 7.0 Hz, 1H), 7.09 (dd,  $J = 8.0$  y 7.0 Hz, 1H), 7.23 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.37 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.50 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 8.50 (s, 2H), 11.08 (s, 1H).
- 25

### Ejemplo 12

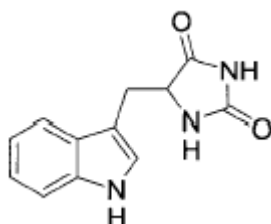
Preparación de 3-Etil-5-(1H-indol-3-ilmetil) -imidazolidina -2,4- diona (893-04):



5 A una solución de clorhidrato de éster de metilo de L-triptófano (0.510 mg, 0.002 mol.) en diclorometano (10 mL) se agrega trietil amina (0.350 mL, 0.0025 mol.) seguido por etilisocianato (0.198 mL, 0.0025 mol.). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 24 hr, y luego se concentra. El residuo obtenido se diluye con dioxano (10 mL) y luego se agrega HCl concentrado (5 mL). La mezcla se calienta a reflujo durante 3 - 4 hr. La mezcla de reacción se extrae en acetato de etilo, se lava con agua, se seca y se concentra. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice utilizando 60% de acetato de etilo - hexano para dar 893-04 (480 mg, 93%): mp 167 - 170°C (lit. 163 - 164°C), <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 0.99 (t, J = 6.8 Hz, 3H), 2.95 - 3.01 (dd, J = 8.4 y 14.8 Hz, 1H), 3.34 - 3.46 (m, 3H), 4.19 - 4.22 (dd, J = 3.6 y 8.8 Hz, 1 H), 5.70 (s, 1H), 6.98 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.06 - 7.10 (dd, J = 8.0 y 6.8 Hz, 1H), 7.16 (dd, J = 7.2 y 6.8 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 8.18 (s, 1H).

### Ejemplo 13

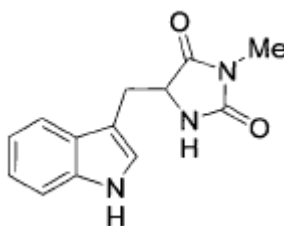
Preparación de 5-(1H-indol-3-ilmetil) -imidazolidina-2,4-diona (893-19):



15 A una solución de clorhidrato de éster de metilo de L-triptófano (0.500 mg, 0.002 mol.) en diclorometano (10 mL) se agrega trietil amina (3.0 mL) seguido por trimetilsililisocianato (2.300 gm, 0.02 mol.). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 24 hr y luego se concentra. El residuo obtenido se disuelve en AcOH (5 mL) y se somete a reflujo durante 5 hr. La mezcla de reacción se extrae en acetato de etilo, se lava con agua, se seca y se concentra. El residuo se disuelve en EtOH y se trata con KOH, y se agita durante 30 min. Luego la reacción se concentra y se seca bajo vacío para dar sal de potasio de 5-(1H-indol-3-ilmetil) -imidazolidina-2,4- diona (245 mg, 46%). Este sólido (50 mg, 0.18 mg) se acidifica con HCl diluido a 0°C. El residuo se extrae en acetato de etilo, y se concentra. El sólido obtenido después de concentración se seca bajo vacío para dar 893-19 (42 mg, 93%): mp 229 - 232° C, <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 3.00 - 3.10 (m, 1H), 3.23 - 3.27 (dd, J = 4.0 y 14.5 Hz, 1H), 4.24 - 4.26 (m, 1 H), 7.01 (dd, J = 7.5 y 7.0 Hz, 1H), 7.09 (dd, J = 7.0 y 7.5 Hz, 1H), 7.13 (d, J = 1.0 Hz, 1H), 7.34 - 7.36 (m, 2H), 7.60 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 10.26 (s, 1H), 10.33 (s, 1H).

### Ejemplo 14

Preparación de 3-Metil-5-(1H-indol-3-ilmetil) -imidazolidina-2,4-diona (893-20):

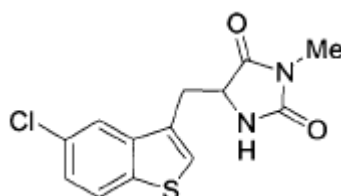


30 Sal de potasio de 5-(1H-indol-3-ilmetil) -imidazolidina-2,4- diona (200 mg, 0.75 mmol.) obtenida de la anterior reacción se disuelve en DMF (5 mL), y se trata con MeI (3 eq.). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 30 min., y luego se extrae con acetato de etilo, se lava con agua, se seca y se concentra. El sólido obtenido después de concentración se cristaliza de nuevo a partir de acetato de etilo para dar 893-20 (168 mg, 92%): mp 207 - 210°C (lit. mp 207 - 209°C), <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub> - DMSO-d<sub>6</sub>): 2.80 (s, 3H), 3.08 - 3.12 (dd, J =

7.0 y 14.5 Hz, 1H), 3.28 - 3.31 (dd, J = 4.0 y 14.5 Hz, 1H), 4.25 - 4.28 (m, 1H), 7.00 - 7.10 (m, 3H), 7.35 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.79 (s, 1H), 10.39 (s, 1H). Anal. Calculado para C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: C, 64.19; H, 5.39; N, 17.27. Encontrado: C, 63.98; H, 5.44; N, 17.24.

### Ejemplo 15

- 5 Preparación de 5-(5-Cloro-benzo[b]tiofen-3-ilmetil) -3-metil-imidazolidina-2,4-diona (893-14) (no de acuerdo con la invención reivindicada):



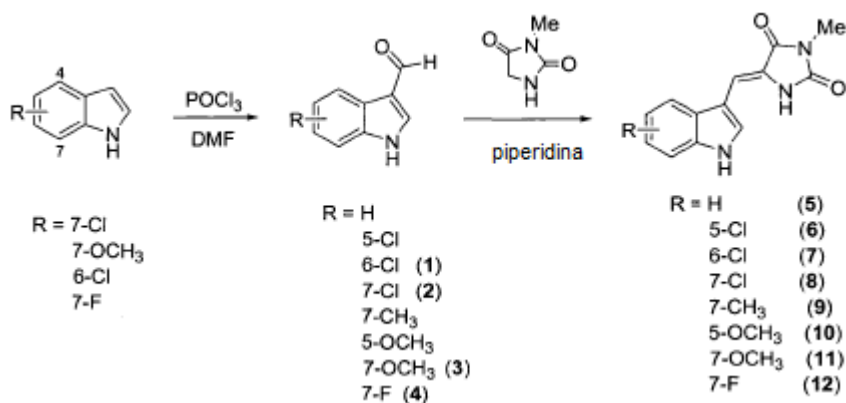
- 10 A una mezcla de ácido 2-Amino-3-(5-cloro-benzo[b]tiofen-3-il)-propiónico (255.7 mg, 1.0 mmol) en metanol se agrega cloruro de tionilo (0.08 mL) a 0°C. La mezcla resultante se calienta a reflujo durante 7 h, se deja enfriar a temperatura ambiente, se diluye con bicarbonato de sodio saturado y se extrae con acetato de etilo (2 x 30 mL). Los extractos orgánicos se combinan, se lavan con solución salina (25 mL), se secan sobre sulfato de sodio anhidro, se filtran, y se concentran para dar un aceite amarillo (éster de metilo de ácido 2-amino-3-(5-cloro-benzo[b]tiofen-3-il)-propiónico).

- 15 El aceite (257 mg, 0.95 mmol) se disuelve en diclorometano (20 mL) y luego se agrega isotiocianato de metilo (70 mg, 0.95 mmol). La mezcla de reacción se calienta a reflujo durante 24 h. La mezcla de reacción se deja enfriar a temperatura ambiente y luego se concentra. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna utilizando hexano/acetato de etilo (75:25) como eluyente para dar un aceite incoloro (éster de metilo de ácido 3-(5-cloro-benzo[b]tiofen-3-il)-2-(3-metil-tioureido) propiónico).

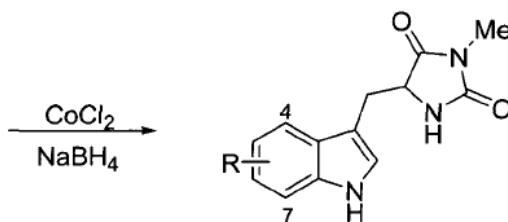
- 20 El aceite (193 mg, 0.563 mmol) se agita en dioxano (4 mL) con HCl concentrado (2 mL) a 100°C durante 3 h. La mezcla se deja enfriar a temperatura ambiente, se diluye con agua y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se seca sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtra, y se concentra para dar un sólido amarillo. El sólido se purifica mediante cromatografía de columna utilizando hexano/acetato de etilo (80:20) como eluyente para dar 893-14 como un sólido blanco: <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 2.94 (s, 3H), 3.23 - 3.32 (m, 2H), 4.66 (dt, J = 1.0 y 5.5 Hz, 1H), 7.39 (dd, J = 2.0 y 8.5 Hz, 1H), 7.56 (s, 1 H), 7.35 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.01 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 10.96 (s, 1H).
- 25

### Ejemplo 16

Procedimiento utilizado para la preparación de 1-4. Ejemplificado para la preparación de 6-cloroindol-3-carboxaldehído (1)







R=	H	893-22
	5-Cl	893-24
	6-Cl	893-27
	7-Cl	893-54
	7-CH <sub>3</sub>	893-23
	5-OCH <sub>3</sub>	893-26
	7-OCH <sub>3</sub>	893-28

- Oxícloruro de fósforo (0.66 mL, 7 mmol) se agrega en forma de gotas a DMF anhidro (5 mL) a 0°C bajo argón. Una solución de 7-cloroindol (1g, 6.6 mmol) en DMF anhidro (15 mL) se agrega en forma de gotas a temperatura ambiente y la mezcla resultante se agita durante 2 h. La mezcla de reacción se vierte en hielo y NaHCO<sub>3</sub> saturado y se extrae con acetato de etilo. Las soluciones orgánicas combinadas se lavan con NaCl saturado (10 mL x 3), se secan sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtran y se concentran para dar 990 mg de producto, 1, como un sólido amarillo naranja (83 %). <sup>1</sup>RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.22 (1H, br s), 9.93 (1H, s), 8.34 (1H, s), 8.07 (1H, d, J= 9.0 Hz), 7.57 (1H, d, J = 1.5), 7.25 (1H, dd, J = 1.8, 7.8 Hz).
- (2) <sup>1</sup>RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.54 (1H, br s), 9.97 (1H, s), 8.39 (1H, s), 8.06 (1H, dd, J= 1.3, 7.8 Hz), 7.37 (1H, dd, J= 1.0, 7.5), 7.23 (1H, t, J= 7.8 Hz).
- (3) <sup>1</sup>RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.32 (1H, br s), 9.92 (1H, s), 8.17 (1H, d, J= 2.5), 7.66 (1H, d, J= 8.0 Hz), 7.14 (1H, t, J = 7.5 Hz), 6.84 (1H, d, J = 7.5 Hz), 3.94 (3H, s).
- (4) <sup>1</sup>RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.69 (1H, br s), 9.97 (1H, s), 8.37 (1H, s), 7.90 (1H, d, J = 8.5 Hz), 7.20 (1H, dt, J = 4.5, 8.0), 7.17 (1H, dd, J = 7.5, 10.5 Hz).
- 15 Procedimiento utilizado para la preparación de 5 - 12. Ejemplificado para la preparación de 5-(1H-Indol-3-ilmetileno)-3-metilimidazolidina-2,4-diona (5). Una mezcla de indol-3- carboxaldehído (146 mg, 1 mmol) y 1-metilimidazol-2,5(1,3H)-diona (sintetizada de acuerdo con el método utilizado en Eur. J. Org. Chem. 2002, 1763-1769) (250 mg, 2.5 mmol) en piperidina (2 mL) se calienta a 110°C durante 4h bajo una atmósfera de argón. Luego la mezcla de reacción se deja enfriar en un refrigerador (-5°C) con la adición de éter (2 mL). El precipitado se filtra y se lava con éter para dar 5 como un sólido amarillo (171mg, 71%). <sup>1</sup>RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 11.84 (1H, br s), 10.29 (1H, br s), 8.15 (1H, s), 7.79 (1H, d, J = 7.5 Hz), 7.43 (1H, d, J = 8.5 Hz), 7.18 - 7.12 (1H, m), 7.13 (1H, td, J = 1.0, 7.8), 6.86 (1H, s), 2.97 (3H, s).
- 25 Observación: Para productos que no se precipitan de las mezclas de reacción, se agrega acetato de etilo (200 mL). Las soluciones resultantes se lavan de forma secuencial con HCl 1N (50 mL x 2), NaHCO<sub>3</sub> saturado (50 mLx2), NaCl saturado (50 mL), y luego se seca sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro con la adición de 20 mL de MeOH. Las mezclas se filtran y evaporan para dar los sólidos. Luego se agrega 20 a 30% de acetato de etilo en soluciones de hexano. El sólido se filtra, se lava con el mismo solvente para dar los productos como sólidos amarillos. Estos sólidos se utilizan sin purificación adicional.
- 30 (6) <sup>1</sup>RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12.01 (1H, br s), 10.34 (1H, br s), 8.19 (1H, s), 7.90 (1H, d, J = 2.5 Hz), 7.44 (1H, d, J= 9.0 Hz), 7.19 (1H, dd, J= 2.0, 8.8 Hz), 6.85 (1H, s), 2.97 (3H, s).
- (7) <sup>1</sup>RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 11.95 (1H, br s), 10.37 (1H, br s), 8.17 (1H, d, J = 3.0), 7.83 (1H, d, J= 9.0 Hz), 7.47 (1H, d, J= 2.0 Hz), 7.13 (1H, dd, J = 2.0, 8.5 Hz), 6.83 (1H, s), 2.97 (3H, s).
- (8) <sup>1</sup>RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12.15 (1H, br s), 10.26 (1H, br s), 8.23 (1H, s), 7.79 (1H, d, J= 8.0 Hz), 7.27 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.13 (1H, t, J= 7.8 Hz), 6.82 (1H, s), 2.97 (3H, s).

(9) <sup>1</sup>RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 11.80 (1H, br s), 10.35 (1H, br s), 8.16 (1H, d, J = 3.0), 7.60 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.04 (1H, t, J = 7.5 Hz), 6.99 (1H, d, J = 7.5 Hz), 6.84 (1H, s), 2.97 (3H, s), 2.48 (3H, s).

(10) <sup>1</sup>RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 11.71 (1H, br s), 10.27 (1H, br s), 8.09 (1H, s), 7.31 (1H, d, J = 7.0 Hz), 7.30 (1H, s), 6.89 (1H, s), 6.81 (1H, dd, J = 2.5, 8.5 Hz), 3.82 (3H, s), 2.97 (3H, s).

5 (11) <sup>1</sup>RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 11.94 (1H, br s), 10.33 (1H, br s), 8.09 (1H, d, J = 3.0 Hz), 7.35 (1H, d, J = 7.5 Hz), 7.06 (1H, t, J = 7.8 Hz), 6.81 (1H, s), 6.76 (1H, d, J = 7.5), 3.93 (3H, s), 2.97 (3H, s).

(12) <sup>1</sup>RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12.30 (1H, br s), 10.36 (1H, br s), 8.20 (1H, s), 7.63 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.10 (1H, dt, J = 5.0, 8.0 Hz), 7.03 (1H, dd, J = 7.5, 11.0 Hz), 6.82 (1H, s), 2.97 (3H, s).

10 Procedimiento utilizado para la preparación de 5-(1H-Indol-3-ilmetil) -3-metilimidazolidina-2,4- dionas. Ejemplificadas para la preparación de 5-(1H-Indol-3-ilmetil) -3-metilimidazolidina-2,4-diona (893-22). A una solución de 5-(1H-Indol-3-ilmetileno) -3-metilimidazolidina-2,4-diona (5) (120 mg, 0.5 mmol) en un solvente mezclado de MeOH/THF anhidro (1:1, 40 mL) se agregan CoCl<sub>2</sub> (130 mg, 1.0 mmol) y NaBH<sub>4</sub> (380 mg, 10 mmol) en forma de porción. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche y luego se diluye con acetato de etilo (100 mL). La mezcla se lava secuencialmente con NaHCO<sub>3</sub> saturado (30 mL), HCl 1N (30 mL), NaCl saturado (30 mL) y luego se seca sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y se concentra. El producto crudo se purifica mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice utilizando 50% de acetato de etilo en hexano como eluyente para dar 893-22 como un sólido blanco (80 mg, 66%). <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.14 (1H, br s), 7.61 (1H, d, J = 7.0 Hz), 7.39 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.22 - 7.25 (1H, m), 7.16 (1H, t, J = 7.8 Hz), 7.09 (1H, d, J = 2.5), 5.32 (1H, br s), 4.30 (1H, ddd, J = 1.0, 3.5, 10.0 Hz), 3.50 (1H, dd, J = 4.0, 15.0 Hz), 2.99 (3H, s), 2.94 - 2.97 (1H, m).

20 (893-24) <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.17 (1H, br s), 7.58 (1H, d, J = 2.0 Hz), 7.30 (1H, d, J = 8.5 Hz), 7.18 (1H, dd, J = 2.0, 8.5 Hz), 7.12 (1H, d, J = 2.5 Hz), 5.26 (1H, br s), 4.30 (1H, ddd, J = 1.0, 3.7, 9.4 Hz), 3.43 (1H, dd, J = 3.8, 14.8 Hz), 2.99 (3 H, s), 2.94 - 3.00 (1H, m).

25 (893-27) <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.13 (1H, br s), 7.51 (1H, d, J = 9.0 Hz), 7.39 (1H, d, J = 2.0 Hz), 7.13 (1H, dd, J = 1.8, 8.8 Hz), 7.09 (1H, d, J = 2.5 Hz), 5.20 (1H, br s), 4.28 (1H, ddd, J = 2.5, 3.8, 9.0 Hz), 3.44 (1H, dd, J = 3.5, 15.0 Hz), 2.99 (1H, dd, J = 9.0, 14.5 Hz), 2.97 (3H, s).

(893-54) <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.43 (1H, br s), 7.50 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.22 (1H, d, J = 7.5 Hz), 7.13 (1H, d, J = 2.0 Hz), 7.06 (1H, t, J = 7.8 Hz), 5.69 (1H, br s), 4.27 (1H, ddd, J = 1.0, 3.5, 8.8 Hz), 3.43 (1H, dd, J = 3.5, 14.5 Hz), 3.01 (1H, dd, J = 9.3, 14.8 Hz), 2.95 (3H, s).

30 (893-23) <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.08 (1H, br s), 7.46 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.03 - 7.10 (3H, m), 5.30 (1H, br s), 4.30 (1H, ddd, J = 1.0, 3.9, 10.1 Hz), 3.48 - 3.52 (1H, m), 3.00 (3H, s), 2.95 (1H, dd, J = 9.8, 14.8 Hz), 2.50 (3H, s).

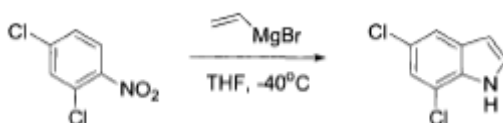
(893-26) <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.06 (1H, br s), 7.27 (1H, d, J = 8.5 Hz), 7.05 (1H, d, J = 2.5 Hz), 7.02 (1H, d, J = 2.5 Hz), 6.89 (1H, dd, J = 2.5, 8.5 Hz), 5.45 (1H, br s), 4.28 - 4.30 (1H, m), 3.86 (3H, s), 3.44 (1H, dd, J = 3.3, 14.8 Hz), 2.98 (3H, s), 2.94 (1H, dd, J = 9.3, 14.8 Hz).

35 (893-25) <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.33 (1H, br s), 7.21 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.08 (1H, t, J = 7.3 Hz), 7.05 (1H, s), 6.68 (1H, d, J = 7.5 Hz), 5.22 (1H, br s), 4.29 (1H, dd, J = 3.5, 10.0 Hz), 3.97 (3H, s), 3.49 (1H, dd, J = 3.5, 14.5 Hz), 3.00 (3H, s), 2.93 (1H, dd, J = 10.3, 14.8 Hz).

(893-28) <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.35 (1H, br s), 7.36 (1H, d, J = 7.5 Hz), 7.11 (1H, d, J = 2.0 Hz), 7.05 (1H, dt, J = 4.5, 8.0 Hz), 6.93 (1H, dd, J = 7.5, 10.5 Hz), 5.38 (1H, s), 4.29 (1H, dd, J = 2.5, 9.0 Hz), 3.45 (1H, dd, J = 3.5, 15.0 Hz), 2.99 (1H, dd, J = 9.0, 15.0 Hz), 2.97 (3H, s).

#### 40 Ejemplo 17

Preparación de indoles



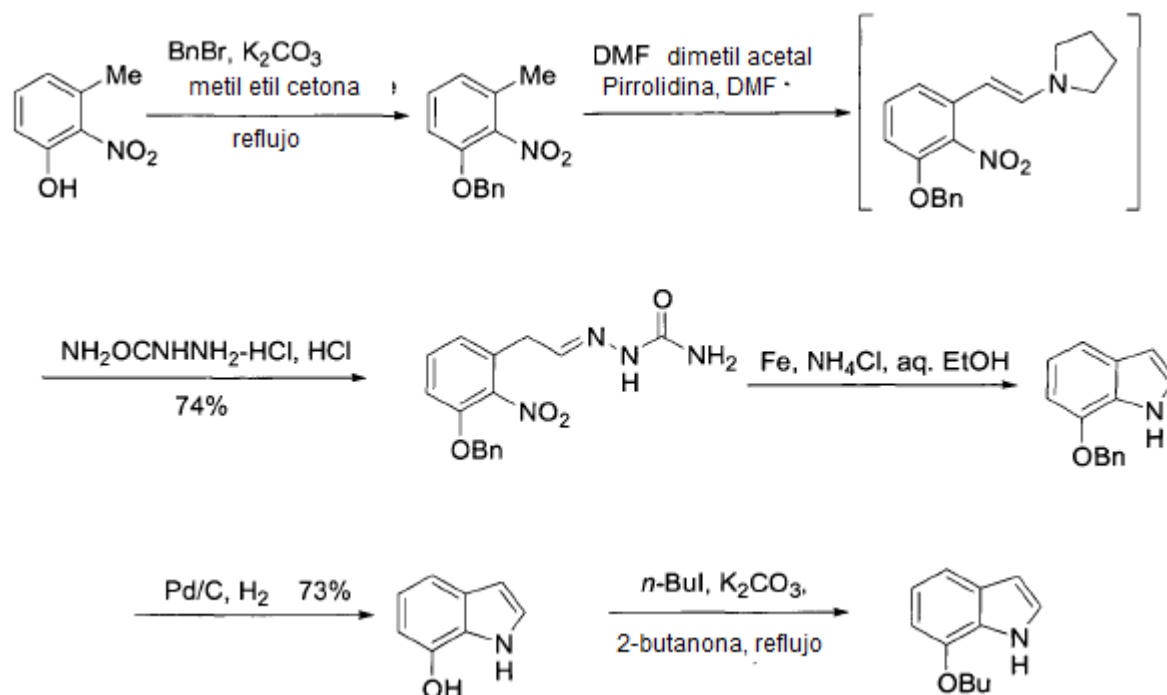
Se preparan diversos indoles necesarios utilizando la síntesis de Bartoli (Bartoli, G.; Palmieri, G.; Bosco, M.; Dalpozzo R., Tetrahedron Lett., 1989, 2129). Un ejemplo de esta síntesis se ilustra para 5,7-dicloroindol (Figura 6).

Una solución de bromuro de vinilmagnesio 1.0 M (45.0 mL, 45.0 mmol) se agrega rápidamente a una solución de THF agitada (30.0 mL) de 2,4-dicloronitrobenzoceno (2.88 g, 15.0 mmol) se enfría a  $-40^{\circ}\text{C}$  bajo  $\text{N}_2$ . La mezcla de reacción se agita durante 20 minutos y se vierte en cloruro de amonio acuoso saturado, se extrae con éter y se seca sobre sulfato de sodio anhidro. Después de purificación cromatográfica sobre gel de sílice, se obtiene el indol en 46% de rendimiento (1.28 g).  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.38 (1H, brs), 7.49 (1H, s), 7.52 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz), 7.28 (1H, t,  $J = 8.0$  Hz), 7.20 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz), 6.54 (1H, dd,  $J = 2.5, 3.5$  Hz).

El indol conocido, 6,7-dicloroindol, y el indol no reortado previamente, 7-cloro-2-metilindol ( $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.07 (1H, brs), 7.39 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.10 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 6.99 (1H, t,  $J = 8.0$  Hz), 6.26-6.24 (1H, m), 2.47 (3H, m) se preparan en una forma similar.

## 10 Ejemplo 18

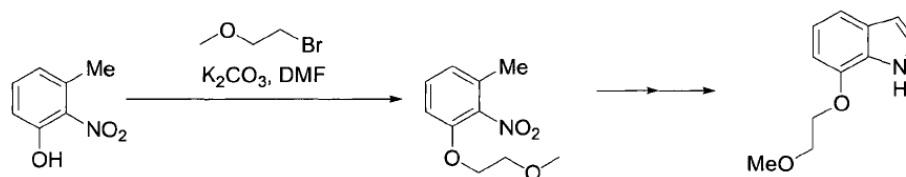
Preparación de indoles 7-oxigenados



7-Benciloxiindol se prepara de acuerdo con el procedimiento publicado de Harada, et al. (Synthetic Communications 2003, 507).  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.39 (1H, brs), 7.23 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.17 (1H, t,  $J = 3.0$  Hz), 7.01 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 6.63 (1H, d,  $J = 7.0$  Hz), 6.53 (1H, t,  $J = 2.5$  Hz), 4.14 (2H, t,  $J = 6.5$  Hz), 1.88-1.80 (2H, m), 1.59-1.50 (2H, m), 1.00 (3H, t,  $J = 7.0$  Hz).

Adicionalmente, 7-benciloxiindol (404 mg, 1.81 mmol) se hidrogena sobre 10% de paladio sobre carbono (40 mg) en EtOH (4.2 mL) a temperatura ambiente bajo presión de atmósfera durante 6 h. El catalizador se filtra y se lava con EtOH. El filtrado se concentra para dar 7-hidroxiindol como cristales de color púrpura pálido, que se utilizan rápida y directamente para la siguiente reacción.

A una solución agitada de 7-hidroxiindol y carbonato de potasio (325 mg, 2.35 mmol) en metil etil cetona (2.4 mL) se agrega yodobutano (1.24 mL, 10.8 mmol) a temperatura ambiente. Después se calienta la mezcla a  $55^{\circ}\text{C}$  durante 12 h el solvente se elimina y se agrega agua. La mezcla se extrae con EtOAc (3 veces), se seca sobre  $\text{MgSO}_4$  anhidro, se filtra y se evapora. Después de purificación cromatográfica sobre gel de sílice, se obtiene 7-n-butoxiindol en 90% de rendimiento (310 mg).  $^1\text{H}$  RMN (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.39 (1H, brs), 7.23 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.17 (1H, t,  $J = 3.0$  Hz), 7.01 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 6.63 (1H, d,  $J = 7.0$  Hz), 6.53 (1H, t,  $J = 2.5$  Hz), 4.14 (2H, t,  $J = 5.2$  Hz), 1.88-1.80 (2H, m), 1.59-1.50 (2H, m), 1.00 (3H, t,  $J = 7.0$  Hz).

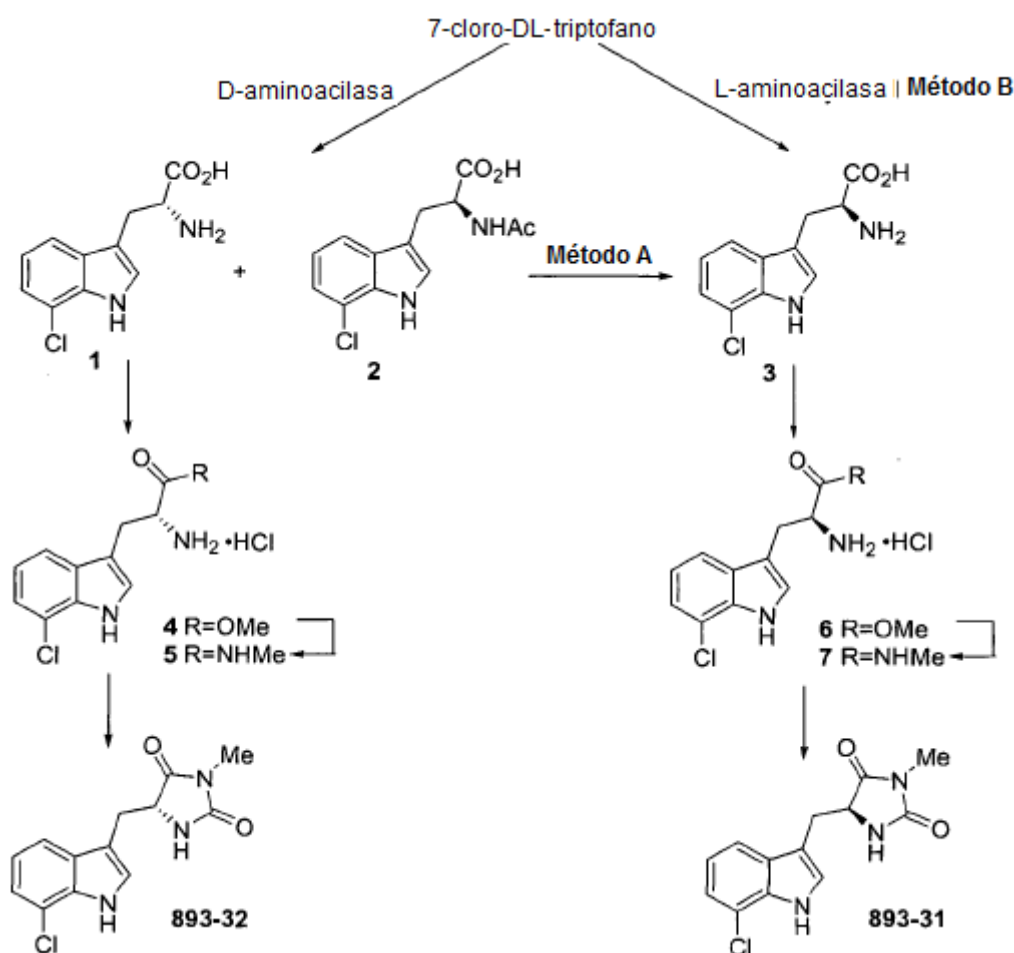


7-(2-Metoxi-etoxi)-1H-indol se prepara en una forma similar como la descrita anteriormente para el 7-benciloxiindol.

El 1-(2-metoxi-etoxi)-3-metil-2-nitrobenzeno requerido se prepara de 3-metil-2-nitrofenol. A una solución agitada del fenol (2.0 g, 13.1 mmol) en DMF (65 mL) se agrega carbonato de potasio (2.16 g, 15.7 mmol) y bromoetil metil éter (1.47 mL, 15.7 mmol) a temperatura ambiente. Después la mezcla se agita a 50°C durante 48 h, se agrega agua. La mezcla se extrae con EtOAc (3x), se lava con solución salina, se seca sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro se filtra y se evapora. Después de purificación cromatográfica sobre gel de sílice, 1-(2-metoxi-etoxi)-3-metil-2-nitrobenzeno se obtiene en 85% de rendimiento (2.34g). <sup>1</sup>H RMN (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.28 (1H, t, J = 8.0 Hz), 6.89 (1H, d, J = 9.0 Hz), 6.85 (1H, d, J = 8.0 Hz), 4.19 (2H, t, J = 4.5 Hz), 3.72 (2H, t, J = 5.0 Hz), 3.41 (3H, s), 2.30(3H, s).

## 10 Ejemplo 19

Preparación de (R)-7'-Clorotriptófano, 1, y (S)-N-acetil-7'-clorotriptófano, 2



Una mezcla de N-acetil-7'-cloro-DL-triptófano (300 mg, 1.08 mmol), D-aminoacilasa (10.1 MU/g, 8 mg) y dicloruro de cobalto (1.2 mg) en 30 mL de solución reguladora de fosfato (pH 7.8) se agita a 37°C durante 2 d. El pH de la mezcla de reacción se ajusta a 5 con HCl al 10% y luego se filtra a través de una almohadilla de celita. El filtrado se extrae con acetato de etilo (3x40 mL). La capa acuosa se concentra para dar un sólido amarillo pálido, que se extrae con metanol (4x2 mL). Las soluciones de metanol combinadas se concentran para dar 200 mg de (R)-7'-clorotriptófano crudo como un sólido blanco que contiene algunas sales inorgánicas. Este producto crudo se utiliza

15

directamente para la siguiente reacción sin purificación adicional. Las soluciones de acetato de etilo se combinan y se concentran para dar 150 mg de (S)-N-acetil-7'-clorotriptófano como un sólido amarillo claro (100%).

(S)-7'-Clorotriptófano, 3. Método A: (S)-N-acetil-7'-clorotriptófano se somete a reflujo en HCl 3 N durante 6 h para eliminar el grupo acetilo. La concentración de la mezcla de reacción da x mg de (S)-7'-clorotriptófano (x%). Método B: Se prepara con L-aminoacilasa utilizando el mismo procedimiento descrito para (R)-7'-clorotriptófano.

Clorhidrato de éster de metilo de (R)-7'-Clorotriptófano, 4. Cloruro de tionilo (0.09 mL, 1.2 mmol) se disuelve en 3 mL de metanol anhidro a 0°C y luego esta solución se agrega a un matraz que contiene (R)-7'-clorotriptófano crudo (200 mg, 0.5 mmol). Después de agitación a -5°C durante 4 h, la mezcla de reacción se deja calentar a temperatura ambiente y se agita durante la noche antes de que se concentre. El sólido blanco se recolecta, se lava con acetato de etilo y se seca en vacío. El producto se utiliza directamente sin purificación adicional.

Clorhidrato de (R)-7'-Clorotriptófano metilamida, 5. A clorhidrato de éster de metilo de (R)-7'-Clorotriptófano se agrega 4 mL de solución 2.0 M de metil amina en metanol. La mezcla se agita durante 3 d a temperatura ambiente bajo una atmósfera de argón. La concentración de la mezcla de reacción da el producto crudo como un sólido blanco, que se utiliza directamente sin purificación adicional.

(R)-5-(7'-Cloro-1H-indol-3ilmetil)-3-metilimidazolidina-2,4-diona. A una mezcla del clorhidrato de (R)-7'-clorotriptófano metilamida crudo (ca. 0.5 mmol), piridina (0.24 mL, 3.0 mmol), y diclorometano (6 mL) a 0°C se agrega lentamente trifosgeno (178 mg, 0.6 mmol) bajo argón. La mezcla de reacción se agita a 0°C durante 1 h antes de retirar el baño frío. Se continúa la agitación durante la noche a temperatura ambiente bajo argón, luego se diluye con 120 mL de acetato de etilo. La solución orgánica se lava con HCl 1N (2x40 mL) y solución salina (40 mL), se seca sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y se concentra. El residuo se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice utilizando hexano/ acetato de etilo (50:50) para dar 27 mg de producto puro como un sólido amarillo pálido (20% de rendimiento total). <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.98 (s, 3H), 3.00 (dd, 1H, J = 9.0, 14.5 Hz), 3.46 (dd, 1H, J = 3.5, 14.5 Hz), 4.29 (ddd, 1H, J = 1.0, 3.5, 9.0 Hz), 5.30 (d, 1H, J = 2.5 Hz), 7.09 (t, 1H, J = 7.5 Hz), 7.15 (d, 1H, J = 2.5 Hz), 7.23 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 7.51 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 8.35 (s, 1H). La pureza óptica (>98% ee) se determina mediante <sup>1</sup>H RMN utilizando una solución 0.02 M del producto en CDCl<sub>3</sub> en la presencia de un reactivo de desplazamiento quiral (Europio tris [3-(trifluorometilhidroximetileno)-(+)-canforato], 0.02 M).

(S)-5-(7'-Cloro-1H-indol-3ilmetil)-3-metilimidazolidina-2,4-diona. Se agrega Trifosgeno (45 mg, 0.15 mmol) a 0°C bajo argón a una mezcla de clorhidrato de (S)-7'-clorotriptófano metilamida (0.28 mmol), piridina (0.12 mL, 1.5 mmol), y diclorometano (4 mL). La mezcla se agita a 0°C durante 2 h, luego se diluye con acetato de etilo (100 mL), se lava con HCl 1N (2x30 mL) y solución salina (30 mL). La capa orgánica se seca mediante MgSO<sub>4</sub>, se filtra y se concentra. El residuo se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice utilizando diclorometano/acetato de etilo (85:15) para dar 20 mg de producto puro como un sólido amarillo pálido (26%). <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.98 (s, 3H), 3.00 (dd, 1H, J = 9.0, 14.5 Hz), 3.46 (dd, 1H, J = 3.5, 14.5 Hz), 4.29 (ddd, 1H, J = 1.0, 3.5, 9.0 Hz), 5.30 (d, 1H, J = 2.5 Hz), 7.09 (t, 1H, J = 7.5 Hz), 7.15 (d, 1H, J = 2.5 Hz), 7.23 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 7.51 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 8.35 (s, 1H). La pureza óptica (>98% ee) se determina mediante <sup>1</sup>H RMN utilizando una solución 0.02 M del producto en CDCl<sub>3</sub> en la presencia de un reactivo de desplazamiento quiral (Europio tris[3 (trifluorometilhidroximetileno)-(+)-camforato], 0.02 M).

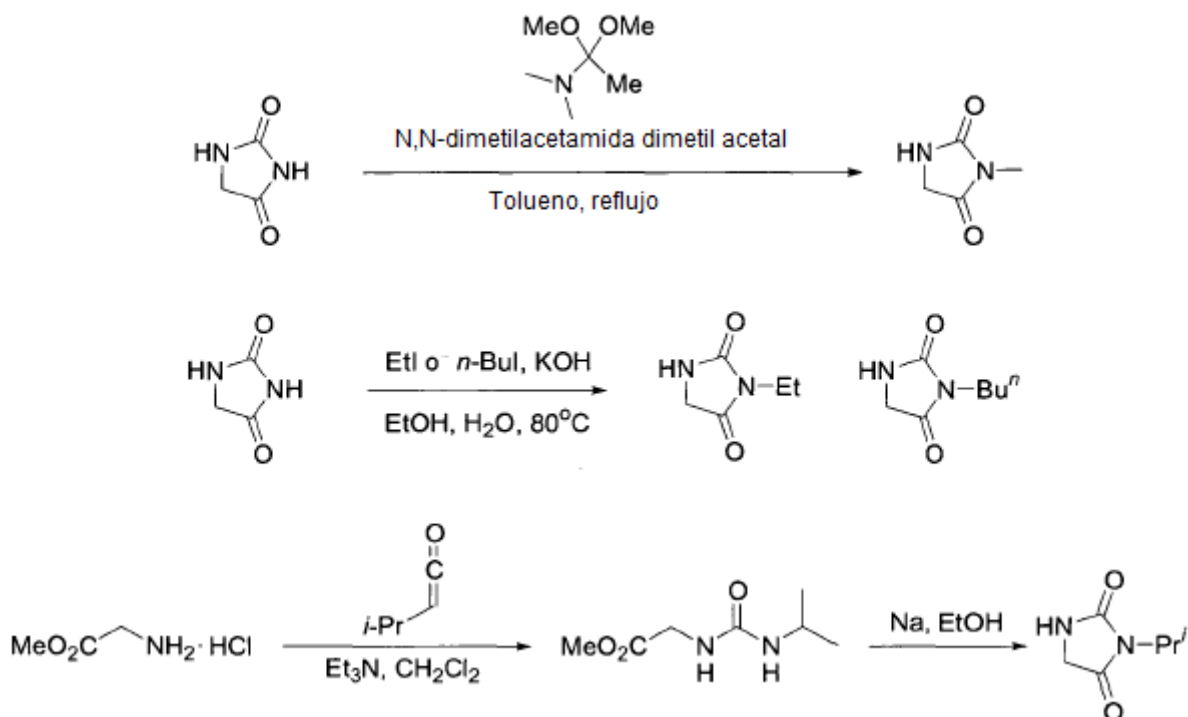
### Ejemplo 20

Preparación de 5-Benzo[b]tiofen-3-ilmetil-3-metil-2-tioxo- imidazolidin-4-ona, 893-21

A una solución de ácido 2-amino-3-benzo[b]tiofen-3-il-propiónico (221 mg, 1.0 mmol) en 4 mL de piridina/agua (1:1) se agrega una solución de metiltioisocianato (80.4 mg, 1.1 mmol). La mezcla resultante se agita a 60°C durante 18 h. La mezcla de reacción se deja enfriar a temperatura ambiente, se diluye con HCl 1N (50 mL) y se extrae con acetato de etilo (2 x 40 mL). Los extractos se combinan, se lavan con solución salina, se secan sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtran, y se concentran para dar un sólido amarillo. El sólido se disuelve en una mezcla de acetato de etilo/hexano/diclorometano y luego se concentra hasta que inicia la precipitación. La mezcla se filtra para dar 893-21 como un sólido amarillo pálido. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 3.08 (dd, 1H, J<sub>1</sub> = 15 Hz, J<sub>2</sub> = 10 Hz), 3.26 (s, 3H), 3.62 (dd, 1H, J<sub>1</sub> = 14.5 Hz, J<sub>2</sub> = 3.5 Hz), 4.42 (ddd, 1H, J<sub>1</sub> = 10 Hz, J<sub>2</sub> = 3 Hz, J<sub>3</sub> = 1.0 Hz), 6.90 (bs, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.40 - 7.46 (m, 2H), 7.77 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 7.90 (d, 1H, J = 8.0 Hz).

### Ejemplo 21

Síntesis de hidantoínas

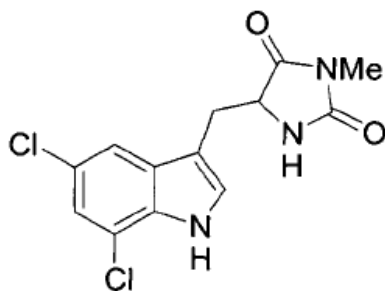


Metilhidantoína se prepara de acuerdo con el método de Janin, Y.L., et al (Eur. J. Org. Chem., 2002, 1763). Etilo y n-butilhidantoína se preparan utilizando un procedimiento de la bibliografía (Justus Liebigs Ann. Chem., 1903, 327 y 383). i-Propilhidantoína se prepara de acuerdo con el método de Park y Kurth (J. Org. Chem., 2000, 3520).

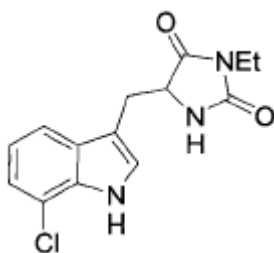
## 5 Ejemplo 22

Hidantoinaindoles

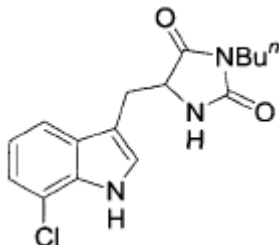
Los siguientes hidantoinaindoles se preparan utilizando la metodología descrita en el Ejemplo 16.



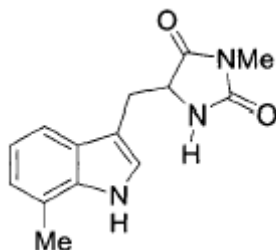
10 (893-33)  $^1\text{H RMN}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.35 (1H, brs), 7.49 (1H, s), 7.23 (1H, s), 7.17 (1H, s), 5.43 (1H brs), 4.29 (1H, dd,  $J = 3.5, 8.0$  Hz), 3.38 (1H, dd,  $J = 4.0, 15.0$  Hz), 3.01 (1H, dd,  $J = 9.0, 15.0$  Hz), 2.97 (3H, s).



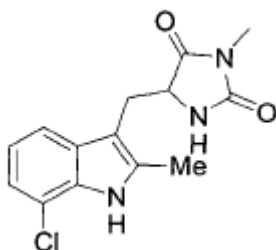
(893-34)  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.33 (1H, brs), 7.52 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.23 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.15 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz), 7.09 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 5.25 (1H brs), 4.28 (1H, ddd,  $J = 1.0, 3.0, 8.0$  Hz), 3.49 (2H, m), 3.42 (1H, dd,  $J = 3.0, 14.5$  Hz), 3.04 (1H, dd,  $J = 9.0, 14.5$  Hz), 1.06 (3H, t,  $J = 7.0$  Hz).



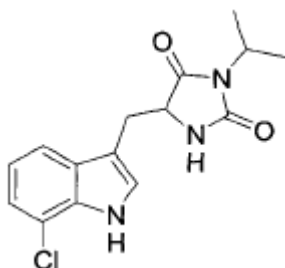
5 (893-35)  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.33 (1H, brs), 7.52 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.22 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.15 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz), 7.09 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 5.23 (1H brs), 4.28 (1H, ddd,  $J = 1.5, 4.0, 8.0$  Hz), 3.48-3.36 (3H, m), 3.07 (1H, dd,  $J = 8.0, 14.5$  Hz), 1.38 (2H, quinteto,  $J = 7.5$  Hz), 1.20-1.09 (2H, m), 0.84 (3H, t,  $J = 7.0$  Hz).



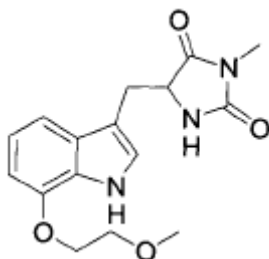
10 (893-38)  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.08 (1H, brs), 7.46 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.11-7.02 (3H, m), 5.34 (1H, brs), 4.30 (1H, ddd,  $J = 1.0, 4.0, 10.0$  Hz), 3.49 (1H, ddd,  $J = 1.0, 4.0, 15.0$  Hz), 3.00 (3H, s), 2.95 (1H, dd,  $J = 9.5, 15.0$  Hz), 2.49 (3H, s).



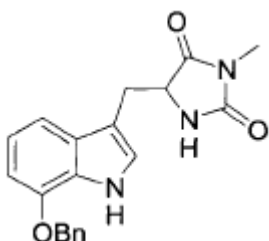
15 (893-43)  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.13 (1H, brs), 7.39 (1H, d,  $J = 10.0$  Hz), 7.15 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.04 (1H, t,  $J = 10.0$  Hz), 5.20 (1H brs), 4.25 (1H, ddd,  $J = 1.0, 4.0, 9.0$  Hz), 3.40 (1H, dd,  $J = 4.5, 18.5$  Hz), 3.00 (s, 3H), 2.92 (1H, dd,  $J = 12.5, 18.5$  Hz), 2.45 (3H, s).



(893-44)  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.33 (1H, brs), 7.51 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.22 (1H, d,  $J = 7.0$  Hz), 7.14 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz), 7.08 (1H, t,  $J = 8.0$  Hz), 5.32 (1H, brs), 4.24-4.15 (2H, m), 4.36 (1H, dd,  $J = 9.0, 14.5$  Hz), 3.06 (1H, dd,  $J = 8.5, 15.5$  Hz), 1.26 (3H, d,  $J = 7.0$  Hz), 1.24 (3H, d,  $J = 7.5$  Hz).

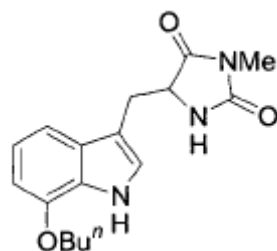


(893-41)  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.66 (1H, brs), 7.23 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.07-7.03 (2H, m), 6.70 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 5.20 (1H, brs), 4.32-4.26 (3H, m), 3.84-3.80 (2H, m), 3.48 (3H, s), 3.49 (1H, dd,  $J = 3.0, 15.0$  Hz), 3.00 (3H, s), 2.93 (1H, dd,  $J = 10.0, 15.0$  Hz).

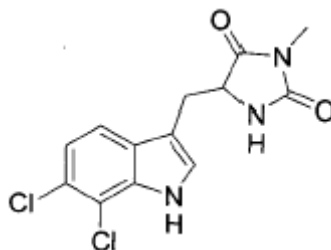


5

(893-0142)  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.38 (1H, brs), 7.50-7.34 (5H, m), 7.22 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.06 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.04 (1H, d,  $J = 3.0$  Hz), 6.75 (1H, d,  $J = 7.0$  Hz), 5.25 (1H, brs), 5.21 (2H, s), 4.29 (1H, ddd,  $J = 1.0, 3.5, 9.5$  Hz), 3.48 (1H, dd,  $J = 3.0, 14.5$  Hz), 3.00 (3H, s), 2.93 (1H, dd,  $J = 10.5, 15.5$  Hz).



10 (893-47)  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.32 (1H, brs), 7.18 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.08-7.03 (2H, m), 6.66 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 5.22 (1H, brs), 4.29 (1H, ddd,  $J = 1.0, 4.0, 9.5$  Hz), 4.14 (2H, t,  $J = 6.5$  Hz), 3.48 (1H, dd,  $J = 3.0, 14.0$  Hz), 3.00 (3H, s), 2.93 (1H, dd,  $J = 10.0, 14.5$  Hz), 1.88-1.80 (2H, m), 1.60-1.50 (2H, m), 1.00 (3H, t,  $J = 7.5$  Hz).



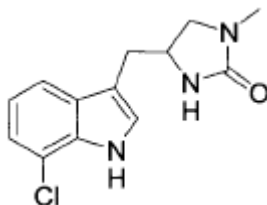
15 (893-50)  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.33 (1H, brs), 7.43 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.22 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.14 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz), 5.19 (1H, brs), 4.28 (1H, ddd,  $J = 1.5, 4.0, 8.5$  Hz), 3.40 (1H, dd,  $J = 3.0, 14.5$  Hz), 3.01 (1H, dd,  $J = 9.0, 15.0$  Hz), 2.96 (3H, s).

### Ejemplo 23

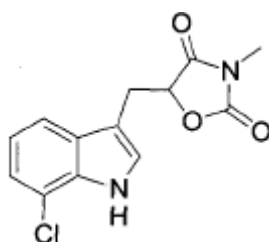
Síntesis de 4-(7-Cloro-1H-indol-3-ilmetil) -1-metil-imidazolidin -2- ona y 5-(7-Cloro-1H-indol -3-ilmetil) - 3-metil-oxazolidina-2,4- diona.



La síntesis de 4-(7-cloro-1H-indol-3-ilmetil) -1-metil-imidazolidin-2-ona y 5-(7-cloro-1H-indol-3-ilmetil) - 3-metil-oxazolidina-2,4-diona se logra siguiendo el procedimiento de Lewis, R. et al. (J. Med. Chem., 1995, 923), excepto que se utiliza metil amina en lugar de bencil aminas.



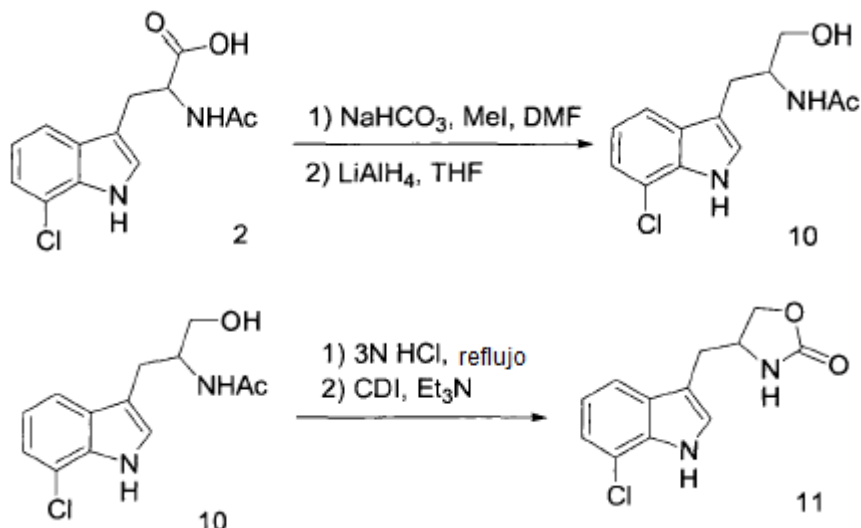
- 5 (893-52)  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.33 (1H, brs), 7.48 (1H, d,  $J = 9.5$  Hz), 7.22 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.13 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz), 7.08 (1H, t,  $J = 10.0$  Hz), 4.40 (1H, brs), 3.95 (1H, quintet,  $J = 8.5$  Hz), 3.53 (1H, t,  $J = 10.5$  Hz), 3.19 (1H, dd,  $J = 6.5, 11.0$  Hz), 2.98 (1H, dd,  $J = 5.5, 17.5$  Hz), 2.95 (1H, dd,  $J = 9.0, 18.0$  Hz), 2.79 (3H, s).



- 10 (893-53)  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.33 (1H, brs), 7.53 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz), 7.20 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.19 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz), 7.08 (1H, t,  $J = 8.0$  Hz), 5.06 (1H, t,  $J = 5.0$  Hz), 3.48 (1H, dd,  $J = 4.5, 15.5$  Hz), 3.36 (1H, dd,  $J = 5.5, 16.0$  Hz), 2.84 (3H, s).

#### Ejemplo 24

Síntesis de 4-(7-Cloro-1H-indol-3-ilmetil) -oxazolidin-2-ona



- 15 A una solución de 2 (500 mg, 1.78 mmol) en solución de DMF (18 mL) se agrega bicarbonato de sodio (299 mg, 3.56 mmol) y yodometano (0.554 mL, 8.9 mmol). Después la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 7 h, se agrega agua. La mezcla se extrae (3x) con acetato de etilo y las capas orgánicas se secan ( $\text{MgSO}_4$ ) y se evapora para dar éster como un aceite amarillo.

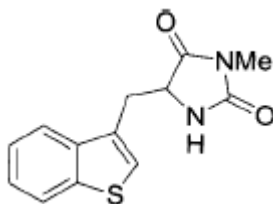
- 20 Hidruro de litio aluminio (68 mg, 1.78 mmol) se suspende en solución de éter (15 mL). El éster en éter (3 mL) se agrega en forma de gotas a  $0^\circ\text{C}$ . Después se agita a temperatura ambiente durante 1 h, la mezcla se detiene con agua (0.068 mL) a  $0^\circ\text{C}$ , seguido por adición de solución de NaOH al 15% (0.068 mL) y agua (0.200 mL). El precipitado se filtra, el filtrado orgánico se concentra y el residuo se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice para dar alcohol 10 (370 mg, 78%).

Una solución del alcohol 10 (60 mg, 0.225 mmol) en solución de HCl 3N se calienta a 120°C durante 12 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se evapora para dar un sólido marrón, que se utiliza para la siguiente reacción sin purificación.

5 El sólido marrón obtenido antes se disuelve en diclorometano (2.25mL). Se agregan trietilamina (0.063 mL, 0.45 mmol) y 1,1'-carbonyldimidazol (73 mg, 0.45 mmol) a temperatura ambiente. Después se agita durante 12 h, la mezcla se concentra y el residuo se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice para dar 4-(7-cloro-1H-indol-3-ilmetil)-oxazolidin-2-ona, 11, como un sólido blanco (24 mg, 42%). (893-51) <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.35 (1H, brs), 7.47 (1H, d, J = 10.0 Hz), 7.24 (1H, d, J = 10.0 Hz), 7.15 (1H, d, J = 2.5 Hz), 7.10 (1H, t, J = 10.0 Hz), 5.14 (1H, brs), 4.56-4.44 (1H, m), 4.24-4.10 (2H, m), 3.08-2.96 (2H, m).

## 10 Ejemplo 25

Síntesis de 5-benzo[b]tiofen-3-ilmetil-3-metil-imidazolidina-2,4-diona



15 Cloruro de tionilo (0.36 mL, 4.8 mmol) se disuelve en 10 mL de metanol anhidro a -5°C. Esta solución luego se agrega a un matraz que contiene (R)-3-benzotienilalanina cruda (200 mg, 0.5 mmol). Después de agitación a -5°C durante 4 h, la mezcla de reacción se deja calentar durante la noche y luego se concentra. El sólido blanco [clorhidrato de éter de metilo de ácido (R)-2-Amino-benzo[b]tiofen-2-il-propiónico] se recolecta y se lava con acetato de etilo. Este material luego se seca bajo vacío y utiliza directamente para la siguiente etapa.

20 Al clorhidrato de éster de metilo de ácido (R)-2-Amino-benzo[b]tiofen-2-il-propiónico crudo se agrega 5 mL de solución 2.0 M de metil amina en metanol. La mezcla se agita durante 2 d a temperatura ambiente bajo argón. La concentración de la mezcla da el producto crudo [clorhidrato de (R)-2-Amino-benzo[b]tiofen-2-il-N-metil-propionamida] como un sólido blanco (600 mg), que se utiliza directamente para la siguiente reacción sin purificación adicional.

25 A una mezcla del clorhidrato de (R)-2-Amino-benzo[b]tiofen-2-il-N-metil-propionamida crudo (600 mg, ca. 2.0 mmol), trietilamina (0.6 mL, 4.0 mmol), y diclorometano (20 mL) se agrega diimidazol carbonilo (2.44g, 15 mmol). La mezcla de reacción se agita durante la noche a temperatura ambiente bajo argón y luego se diluye con 200 mL de acetato de etilo. La solución orgánica se lava con HCl 1N (2x50 mL) y solución salina (60 mL), se seca sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y se concentra. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice utilizando hexano/acetato de etilo (50:50) para dar 370 mg de 5-benzo[b]tiofen-2-ilmetil-3-metil-imidazolidina-2,4-diona como un sólido blanco (71% de rendimiento total). –es notable que el producto es racémico lo que indica que ha ocurrido racemización bajo estas condiciones de reacción. (893-39) <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.89 (1H, dd, J = 1.5, 7.5 Hz), 7.78 (1H, dd, J = 1.0, 7.0 Hz), 7.41 (2H, m), 7.27-7.24 (1H, m), 5.46 (1H, s), 4.33 (1H, ddd, J = 1.0, 3.5, 9.5 Hz), 3.60 (1H, ddd, J = 1.0, 3.5, 14.5 Hz), 3.03 (1H, dd, J = 9.5, 14.5 Hz), 3.02(3H, s).

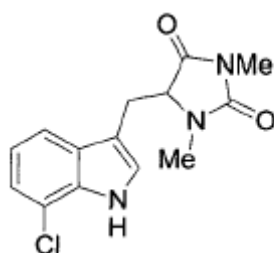
## Ejemplo 26

Citotoxicidad de serie de compuestos de hidantoína y tiohidantoína

35 Se siembran células FADD-/- Jurkat (Juo P, et al. Cell Growth Differ. 1999, 10(12):797-804) en la densidad de 5\*10<sup>5</sup> células/mL de placas blancas de 96 pozos (Costar) a 100 µL/pozo. Las células se tratan en duplicado con diferentes concentraciones de 893-10 o 893-54. Después de 30 horas se determina la viabilidad de las células utilizando ensayo de viabilidad celular con base en ATP luminescente (CellTiter-Glo, Promega). Se calcula el valor de la toxicidad como una relación de células viables en los pozos tratados con los compuestos con células viables en los pozos tratados con DMSO (Figura 11).

## Ejemplo 27

Síntesis de 5-(7-Cloro-1H-indol-3-ilmetil)-1,3-dimetil-imidazolidina-2,4-diona



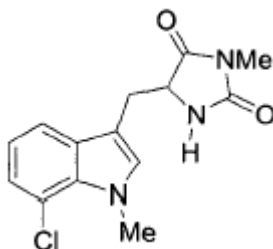
A una solución de 1-metilhidantoína (1.14 g, 10 mmol) en metanol (40 mL) se agrega NaOH 10N (1mL) y yodometano (0.8 ml, 12.9 mmol). La mezcla se somete a reflujo durante 4 h y luego se deja enfriar. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc (200 mL), se lava de forma secuencial con HCl 1N (50 mL x 3), NaHCO<sub>3</sub> saturado (50 mL x 3), NaCl saturado (50 mL x 3), se seca sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y se concentra. El producto crudo (1,3-Dimetilimidazolidina- 2,4-diona) como un aceite ligeramente amarillo se utiliza directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

5-(7-Cloro-1H-indol-3-ilmetileno)-1,3-dimetilimidazolidina -2,4-diona se prepara 1,3-Dimetilimidazolidina- 2,4-diona utilizando el mismo procedimiento como se describe en el Ejemplo 16. Este material se utiliza sin purificación adicional.

5-(7-Cloro-1H-indol-3-ilmetileno)-1,3-dimetilimidazolidina -2,4-diona se convierte a 5-(7-Cloro-1H-indol- 3-ilmetil) -1,3-dimetilimidazolidina-2,4-diona utilizando el mismo procedimiento como se describe en Ejemplo 16. (893-36) <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.32 (1H, brs), 7.49 (1H, d J = 8.0 Hz), 7.19 (1H, d J = 8.0 Hz), 7.08-7.04 (2H, m), 4.14 (1H, t, J = 4.5 Hz), 3.37 (1H, dd, J = 3.5, 15.0 Hz), 3.33 (1H, dd, J = 5.0, 16.0 Hz), 2.93 (3H, s), 2.84 (3H, s).

### 15 Ejemplo 28

Síntesis de 5-(7-Cloro-1-metil-1H-indol-3-ilmetil) -3-metil-imidazolidina-2,4-diona



A una solución de 7-cloroindol (610 mg, 4 mmol) en DMF anhidro (6 mL) se agrega NaH (170 mg, 60% de dispersión en aceite mineral, 4.3 mmol) a 0°C bajo argón. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 30 min antes de agregar yodometano (240 mg, 4 mmol). La mezcla resultante se agita durante la noche. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc (200 mL), se lava con NaCl saturado (10 mL x 3), se seca sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtra, y se concentra para dar 7-cloro-1-metilindol. El residuo se utiliza directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4.14 (s, 3H), 6.46 (d, 1H, J=2.5), 6.95-6.98 (m, 2H), 7.12-7.14 (m, 1H), 7.48 (1H, dd, J=1.5, 7.5).

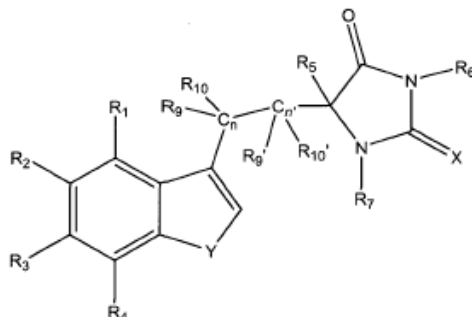
7-Cloro-1-metil-1H-indol-3-carboxaldehído se prepara a partir de 7-cloro-1-metilindol utilizando el mismo procedimiento como se describe en Ejemplo 16. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4.23 (s, 3H), 7.19 (1H, t, J=7.5), 7.28 (1H, dd, J=1.0, 7.5), 7.62 (s, 1H), 8.22-8.24 (1H, m), 9.98 (s, 1H).

5-(7-Cloro-1-metil-1H-indol-3-ilmetileno)-3- metilimidazolidina-2,4-diona se prepara a partir de 7-Cloro- 1-metil-1H-indol-3-carboxaldehído utilizando el mismo procedimiento como se describe en Ejemplo 16. Este material crudo se utiliza en la siguiente etapa sin purificación adicional.

5-(7-Cloro-1-metil-1H-indol-3-ilmetil) -3-metilimidazolidina-2,4-diona se prepara a partir de 5-(7-Cloro-1- metil-1H-indol-3-ilmetileno)-3-metilimidazolidina-2,4- diona utilizando el mismo procedimiento como se describe en Ejemplo 16. (893-37) <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.45 (1H, dd, J = 1.0, 8.0 Hz), 7.17 (1H, dd, J = 1.0, 7.5 Hz), 7.01 (1H, t, J = 7.5 Hz), 6.88 (1H, s), 5.25 (1H, brs), 4.24 (1H, ddd, J = 1.0, 3.5, 9.0 Hz), 4.11 (3H, s), 3.42 (1H, dd, J = 4.5, 15.0 Hz), 2.99 (3H, s), 2.92 (1H, dd, J = 10.0, 15.0 Hz).

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula:



5 una forma estereoisomérica del mismo, una sal de adición ácida o base farmacéuticamente aceptable del mismo; en donde

X representa O;

Y representa NH;

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, y R<sub>3</sub> representan independientemente H, OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos;

10 R<sub>4</sub> representa OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, metoxilo, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos;

R<sub>5</sub> y R<sub>7</sub> representan independientemente H o alquilo que tiene 1 a 10 carbonos;

R<sub>6</sub> representa alquilo que tiene 1 a 10 carbonos;

15 R<sub>8</sub> representa H, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, alqueno que tiene menos de 12 carbonos, o alquino que tiene menos de 12 carbonos;

R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, R<sub>9</sub>', R<sub>10</sub>', representan independientemente H, F, Cl, Br, I, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, o un cicloalquilo de tres a seis miembros o cicloalquilo sustituido que incluye C<sub>n</sub> y/o C<sub>n</sub>'; y

n y n' es igual a un entero desde cero hasta cinco; y

20 en donde los grupos sustituidos comprenden uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alqueno que tiene menos de 12 carbonos, alquino que tiene menos de 12 carbonos, cicloalquilo, hidroxilo, amino, nitro, sulfhidrido, imino, amido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquiltio, sulfonilo, cetona, aldehído, éster, heterociclilo, -CF<sub>3</sub>, y -CN.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R<sub>6</sub> representa un grupo metilo.

3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, en donde R<sub>4</sub> representa un halógeno, un metilo, o un metoxilo.

25 4. El compuesto de la reivindicación 3, en donde R<sub>4</sub> representa Cl o F.

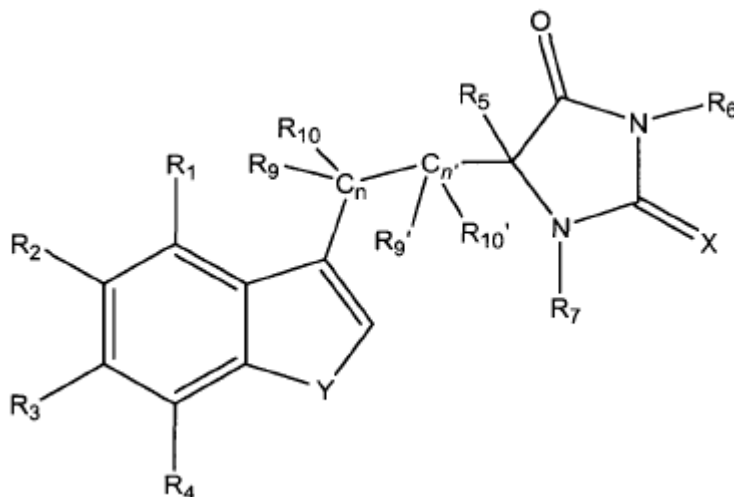
5. Una preparación farmacéutica que comprende un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y un portador farmacéuticamente aceptable.

6. La preparación farmacéutica de la reivindicación 5, en donde

30 i) el portador farmacéuticamente aceptable se selecciona de un diluyente, un relleno sólido, y un material que encapsula solvente; o

ii) el portador farmacéuticamente aceptable se selecciona de un azúcar, un almidón, celulosa, tragacanto en polvo, malta, gelatina, talco, un excipiente, un aceite, un glicol, un poliol, un éster, un agar, un agente de regulación, ácido algínico, agua libre de pirógenos, solución salina isotónica, solución de Ringer, alcohol etílico, una solución con pH regulado, un poliéster, un polianhídrido, y un policarbonato.

- 5 7. Un compuesto para uso en un método para tratar una enfermedad celular necrótica que comprende administrar a un sujeto que tiene una enfermedad celular necrótica un compuesto de la fórmula:



una forma estereoisomérica del mismo, una sal de adición ácida o base farmacéuticamente aceptable del mismo; en donde

- 10 X representa O;

Y representa NH;

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, y R<sub>3</sub> representan independientemente H, OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos;

- 15 R<sub>4</sub> representa OR<sub>8</sub>, F, Cl, Br, I, N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>R<sub>8</sub>, NO<sub>2</sub>, NHC(O)R<sub>8</sub>, metoxilo, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos;

R<sub>5</sub> y R<sub>7</sub> representan independientemente H o alquilo que tiene 1 a 10 carbonos;

R<sub>6</sub> representa alquilo que tiene 1 a 10 carbonos;

R<sub>8</sub> representa H, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, alquenilo que tiene menos de 12 carbonos, o alquinilo que tiene menos de 12 carbonos;

- 20 R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, R<sub>9'</sub>, R<sub>10'</sub>, representan independientemente H, F, Cl, Br, I, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, o un cicloalquilo de tres a seis miembros o cicloalquilo sustituido que incluye C<sub>n</sub> y/o C<sub>n'</sub>;

n y n' es igual a un entero desde cero hasta cinco;

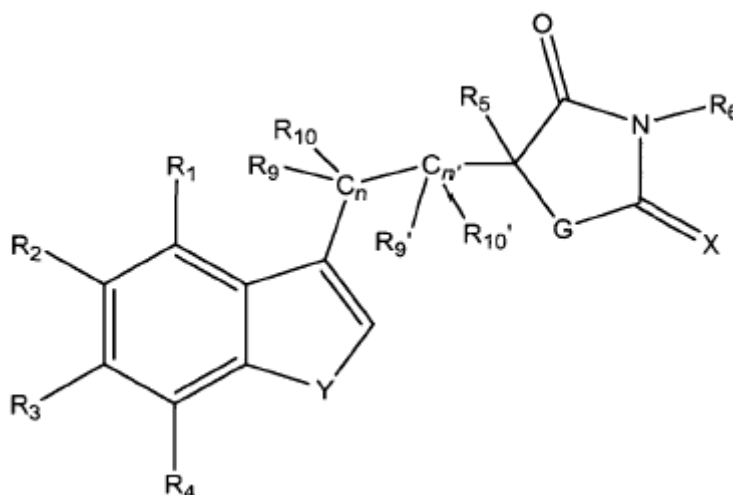
- 25 en donde los grupos sustituidos comprenden uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquenilo que tiene menos de 12 carbonos, alquinilo que tiene menos de 12 carbonos, cicloalquilo, hidroxilo, amino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquiltio, sulfonilo, cetona, aldehído, éster, heterociclilo, -CF<sub>3</sub>, y -CN; y

en donde el compuesto se administra en una cantidad efectiva para tratar la enfermedad celular necrótica.

8. El compuesto para uso de la reivindicación 7, en donde R<sub>6</sub> representa un grupo metilo.

9. El compuesto para uso de la reivindicación 7 u 8, en donde R<sub>4</sub> es halógeno, metilo, o metoxilo.

10. El compuesto para uso de la reivindicación 9, en donde  $R_4$  representa Cl o F.
11. El compuesto para uso de cualquiera de las reivindicaciones 7-10, en donde
- i) la enfermedad celular necrótica se selecciona del grupo que consiste de trauma, isquemia, apoplejía, infarto cardiaco, infección y septicemia;
- 5 ii) la enfermedad celular necrótica es una enfermedad neurodegenerativa seleccionada de enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, y demencia asociada con VIH;
- iii) el compuesto se administra a través de una ruta seleccionada de rutas oral, parenteral, topical, ocular, transdérmica, y nasal;
- 10 iv) el compuesto se administra mediante inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o epidural;
- v) el compuesto se administra en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable; o
- vi) el compuesto se administra en combinación con otro compuesto, particularmente cuando el compuesto se selecciona de la lista que consiste de inhibidores de apoptosis, inhibidores PARP, inhibidores Src, agentes para tratar apoplejía, agentes para tratar trastornos cardiovasculares y agentes antimicrobianos.
- 15 12. Un compuesto de la fórmula:



una forma estereoisomérica del mismo, una sal de adición ácida o base farmacéuticamente aceptable del mismo; en donde

X representa O;

20 Y representa  $NR_8$ ;

G representa O o  $NR_7$ ;

$R_1$ ,  $R_2$ , y  $R_3$  representan independientemente H, OH,  $OR_8$ , F, Cl, Br, I,  $N(R_8)_2$ , COOH,  $CO_2R_8$ ,  $NO_2$ ,  $NHC(O)R_8$ , alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos;

25  $R_4$  representa OH,  $OR_8$ , F, Cl, Br, I,  $N(R_8)_2$ , COOH,  $CO_2R_8$ ,  $NO_2$ ,  $NHC(O)R_8$ , metoxilo, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, o alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos;

$R_5$  y  $R_7$  representan independientemente H o alquilo que tiene 1 a 10 carbonos;

$R_6$  representa alquilo que tiene 1 a 10 carbonos;

R<sub>8</sub> representa alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, alqueno que tiene menos de 12 carbonos, o alquino que tiene menos de 12 carbonos;

R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, R<sub>9'</sub>, R<sub>10'</sub>, representan independientemente H, F, Cl, Br, I, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alquilo sustituido que tiene 1 a 10 carbonos, o un cicloalquilo de tres a seis miembros o cicloalquilo sustituido que incluye C<sub>n</sub> y/o C<sub>n'</sub>; y

5 n y n' es igual a un entero desde cero hasta cinco;

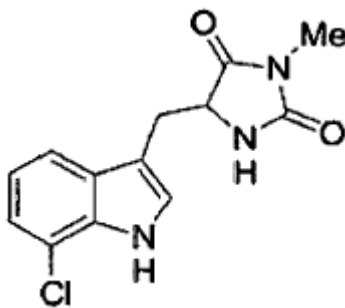
en donde los grupos sustituidos comprenden uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, alquilo que tiene 1 a 10 carbonos, alqueno que tiene menos de 12 carbonos, alquino que tiene menos de 12 carbonos, cicloalquilo, hidroxilo, amino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquilo, sulfonilo, cetona, aldehído, éster, heterociclilo, -CF<sub>3</sub>, y -CN.

10 13. Una preparación farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 12 o 15, y un portador farmacéuticamente aceptable.

14. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, 12 o 15 para uso en un método para tratar una enfermedad celular necrótica que comprende administrar dicho compuesto a un sujeto que tiene una enfermedad celular necrótica, en donde el compuesto se administra en una cantidad efectiva para tratar la enfermedad celular necrótica.

15

15. Un compuesto de la fórmula



una forma estereoisomérica-particularmente un enantiómero (R)- o (S) de la misma, o una sal de adición ácida o base farmacéuticamente aceptable del mismo.

20

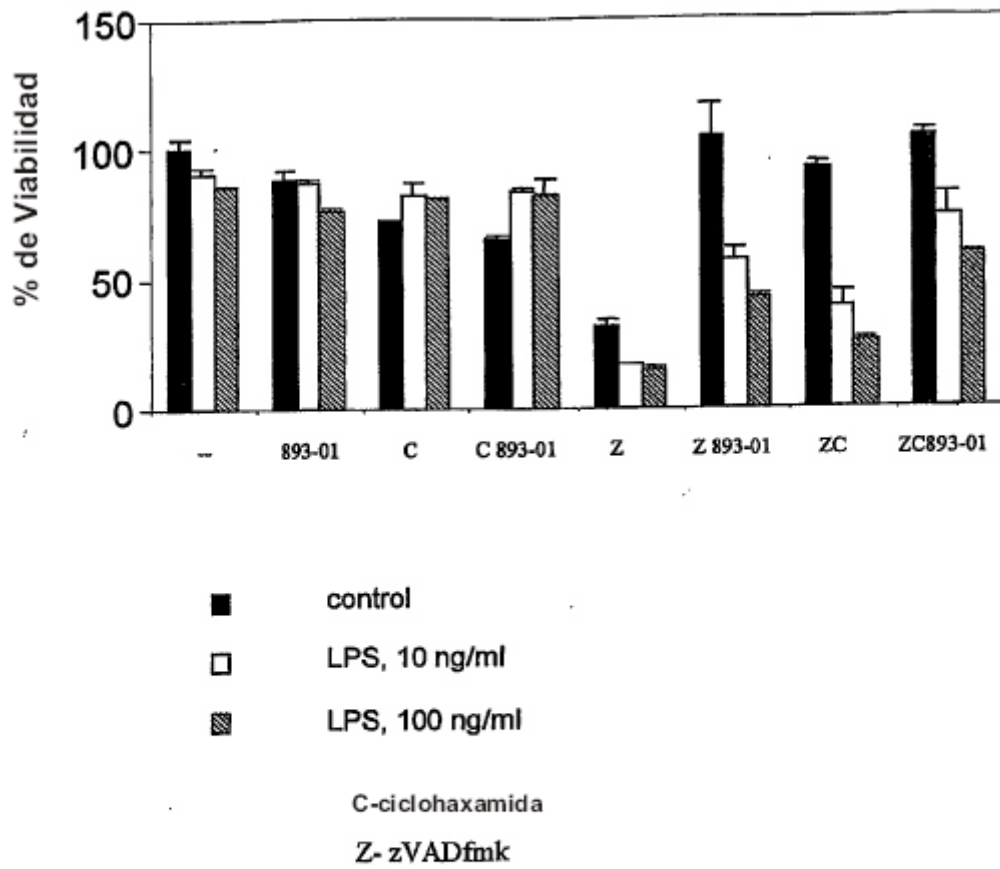


Figura 1

(no de acuerdo con la invención reivindicada)



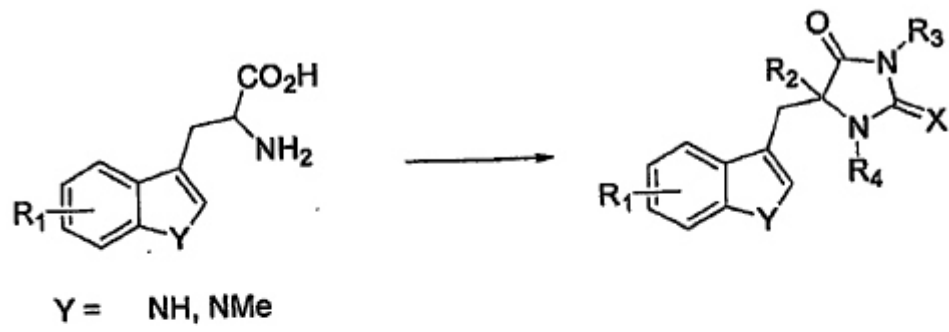


Figura 2

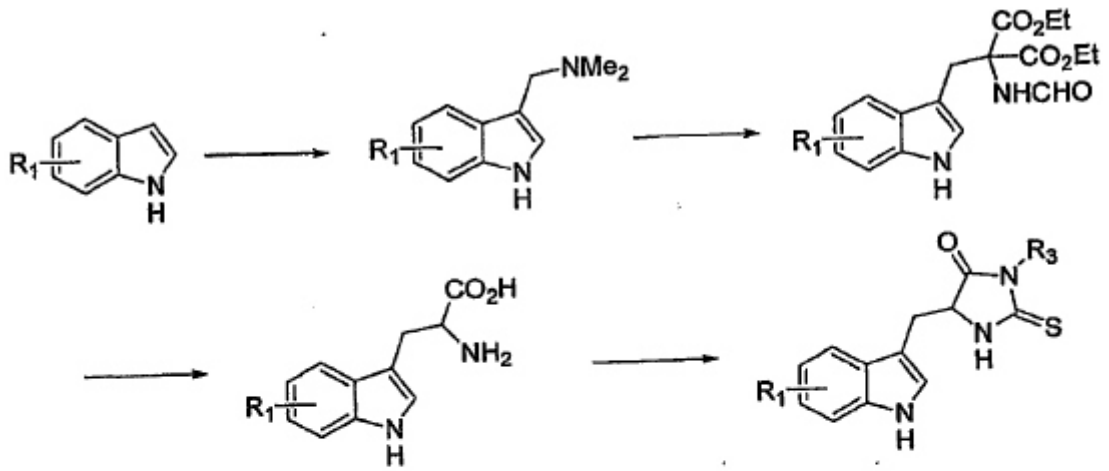


Figura 3

(no de acuerdo con la invención reivindicada)

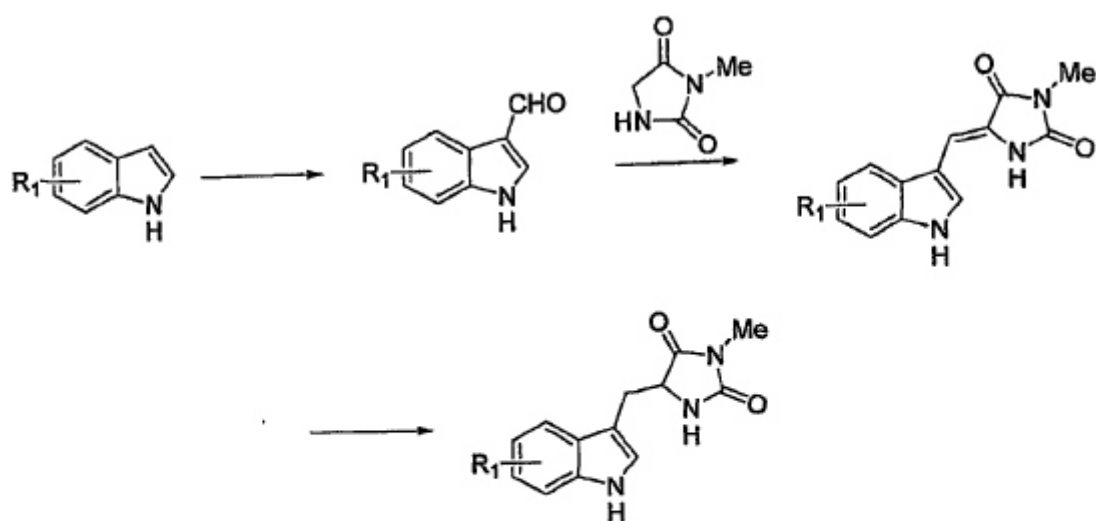


Figura 4

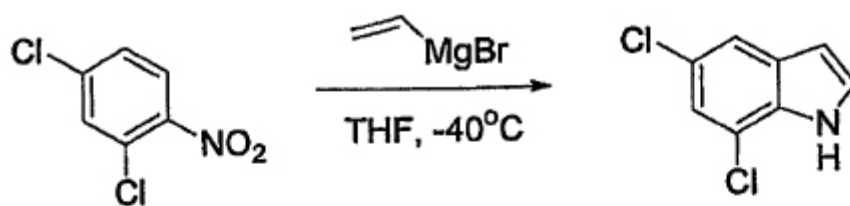


Figura 5

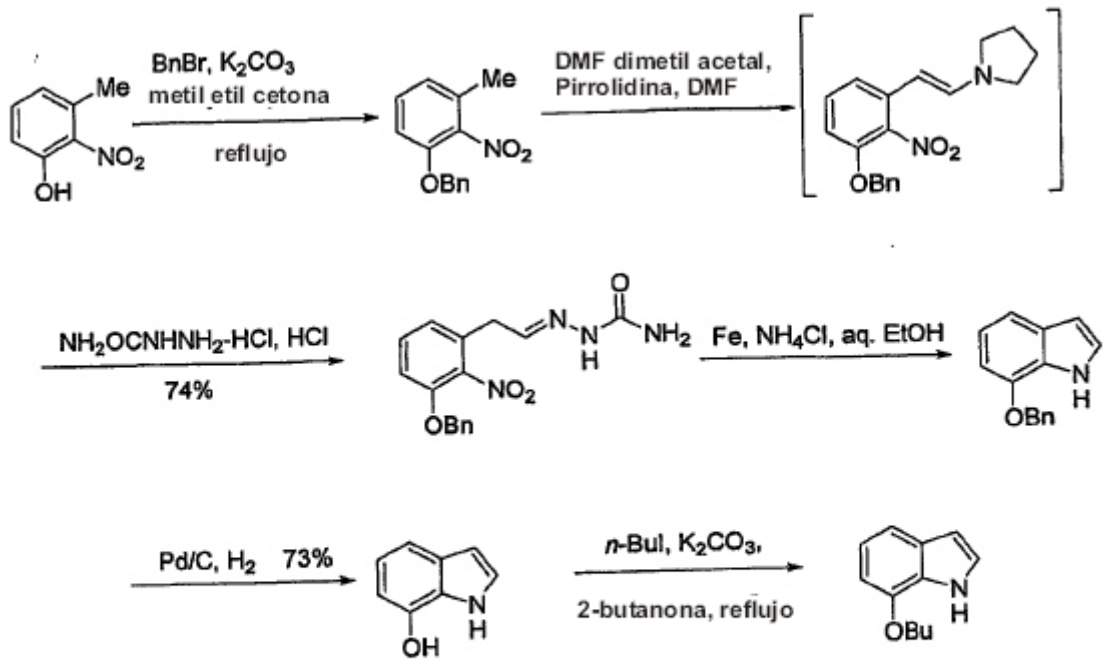


Figura 6

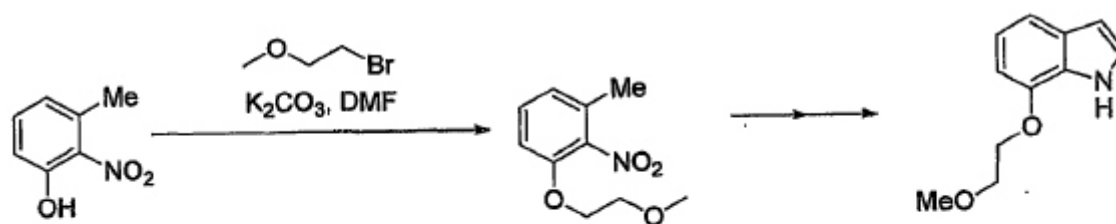


Figura 7

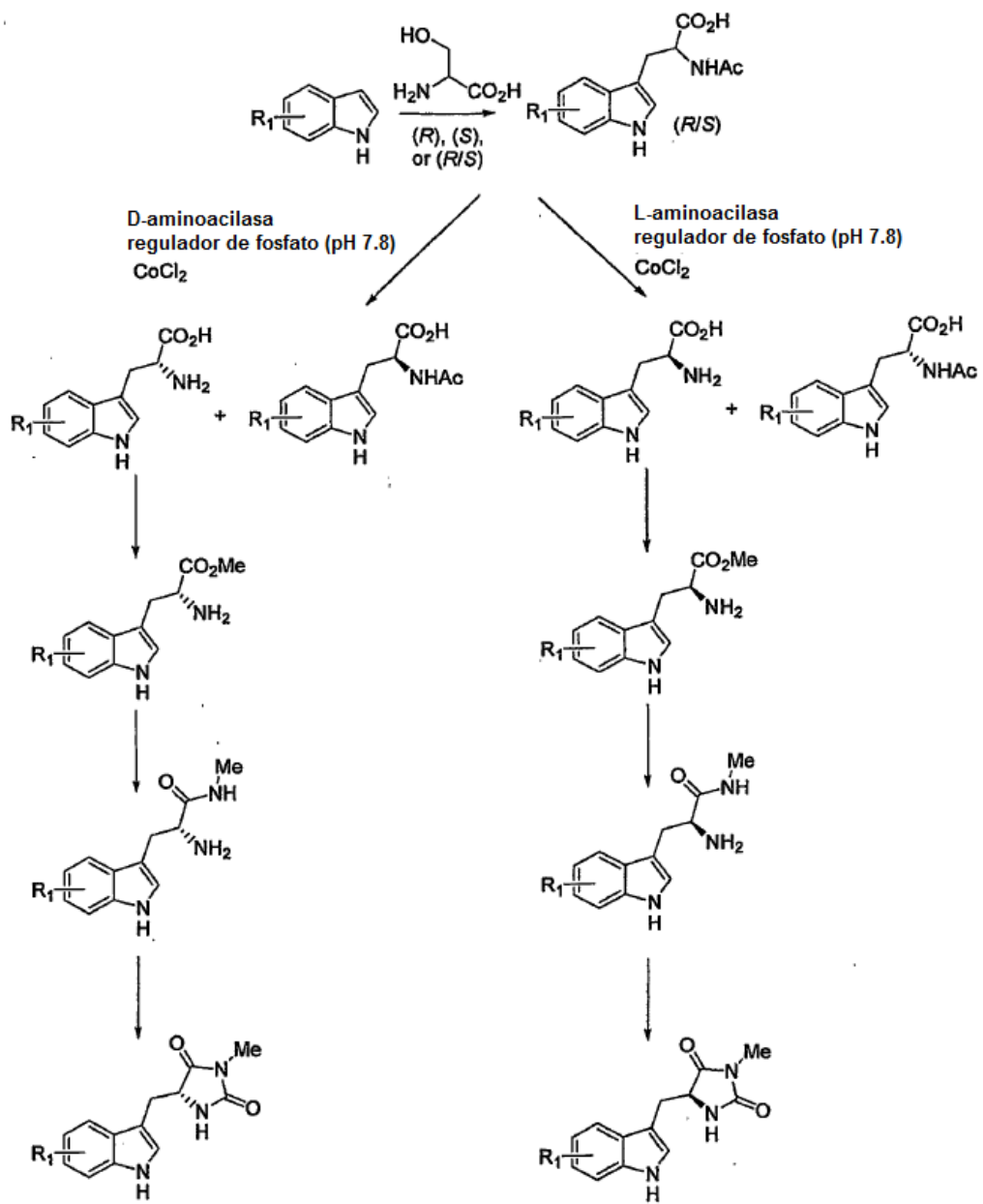


Figure 8A

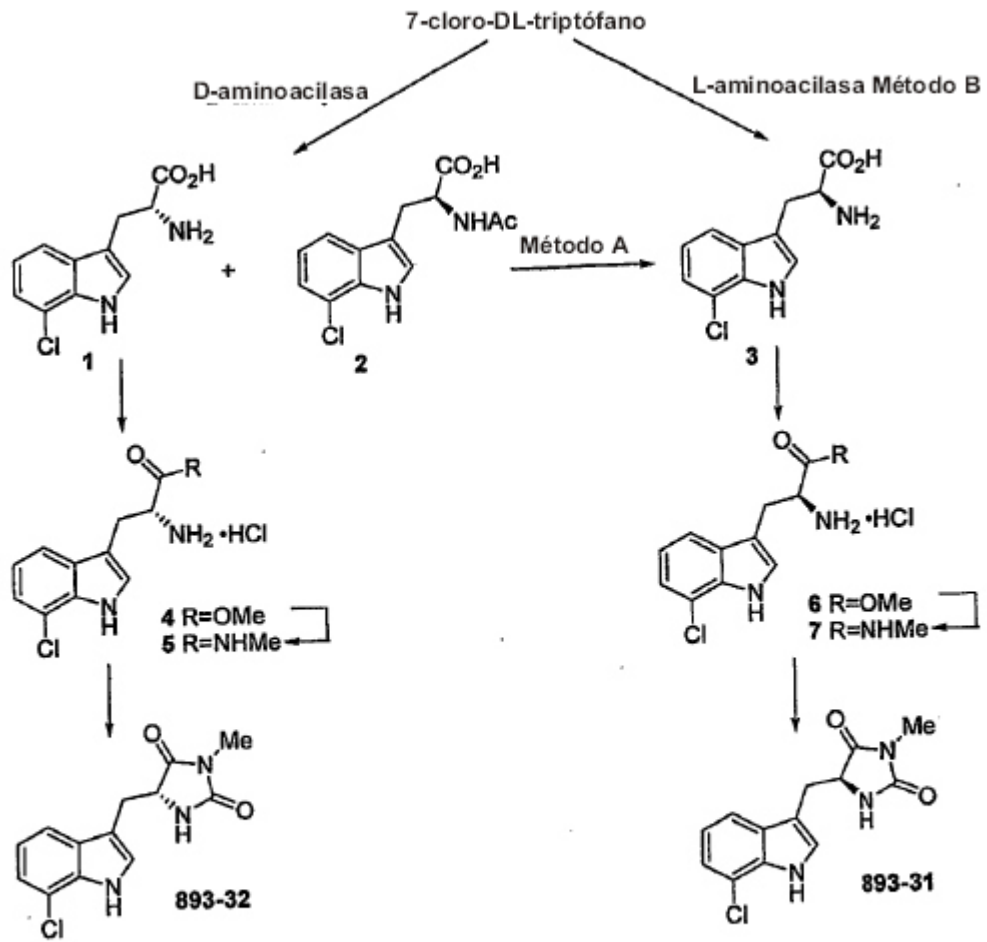


Figura 8B



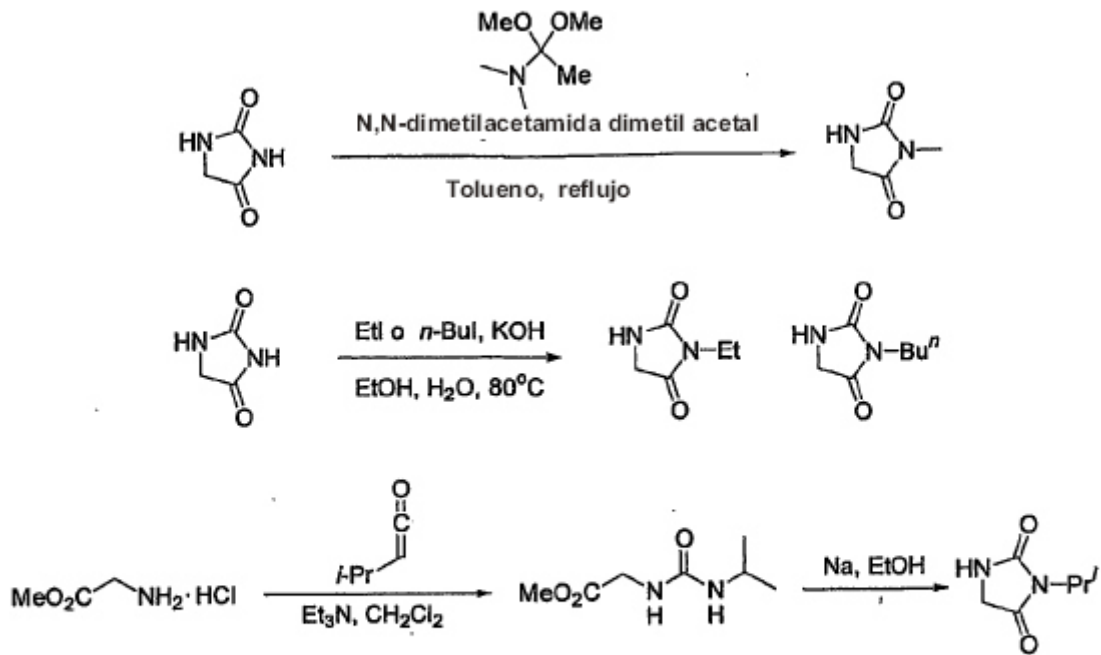
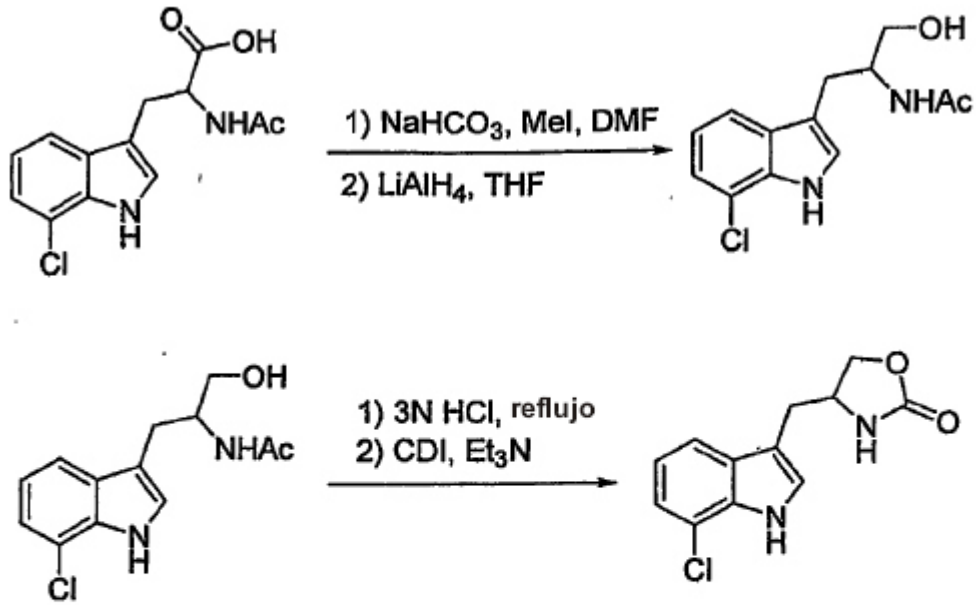


Figura 9



**Figura 10**

(no de acuerdo con la invención reivindicada)

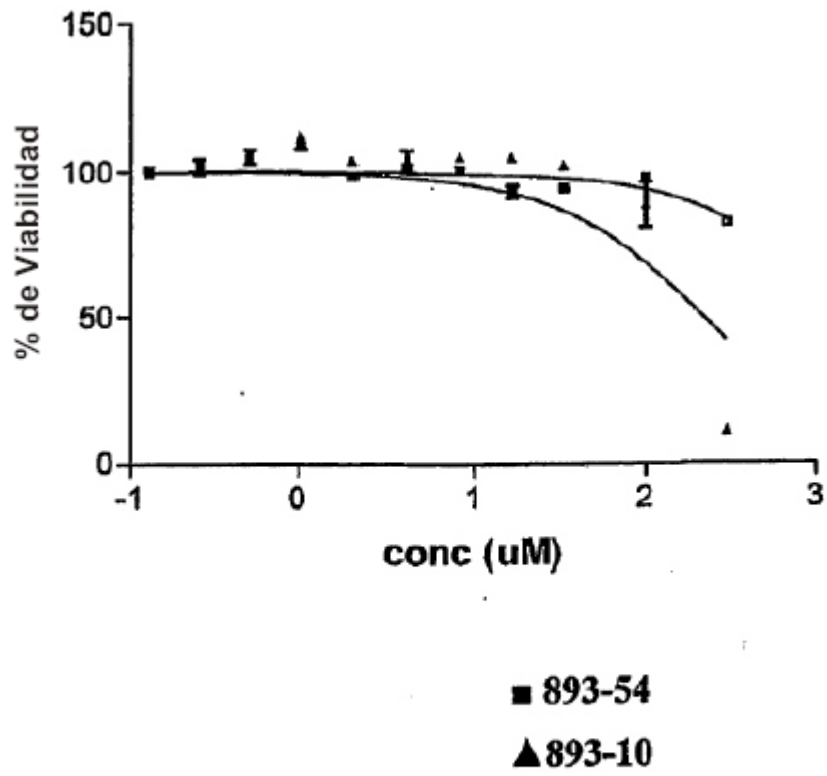


Figura 11