(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 591 004**

(51) Int. Cl.:

C07D 405/04 (2006.01)
C07D 405/14 (2006.01)
C07D 213/81 (2006.01)
C07D 213/72 (2006.01)
A61K 31/443 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.04.2011 PCT/US2011/031992**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **10.11.2011 WO11139489**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.04.2011 E 11777791 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.06.2016 EP 2563776**

(54) Título: **Compuestos moduladores del calcio intracelular**

(30) Prioridad:

04.02.2011 US 439786 P
07.01.2011 US 430894 P
10.12.2010 US 422088 P
27.04.2010 US 328569 P
27.08.2010 US 377825 P
28.10.2010 US 407819 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.11.2016

(73) Titular/es:

CALCIMEDICA, INC. (100.0%)
505 Coast Blvd S., Ste 202
La Jolla, CA 92037, US

(72) Inventor/es:

WHITTEN, JEFFREY P.;
PEI, YAZHONG;
CAO, JIANGUO;
WANG, ZHIJUN;
ROGERS, EVAN;
DYCK, BRIAN y
GREY, JONATHAN

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 591 004 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos moduladores del calcio intracelular

CAMPO DE LA INVENCIÓN

Se describen en esta invención compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos que incluyen dichos compuestos, y métodos de uso de dichos compuestos para modular la actividad de los canales del calcio activado por depósitos intracelulares (SOC, por sus siglas en inglés).

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

El calcio juega un rol vital en la función y supervivencia celular. Por ejemplo, el calcio es un elemento clave en la transducción de señales hacia adentro y dentro de las células. Las respuestas celulares a factores de crecimiento, neurotransmisores, hormonas y una variedad de otras moléculas de señal son iniciadas a través de procesos dependientes del calcio.

Virtualmente todos los tipos celulares dependen en cierto medida de la generación de señales de Ca^{2+} citoplásmico para regular la función celular, o para activar las respuestas específicas. Las señales de Ca^{2+} citosólico controlan un amplio grupo de funciones celulares que van desde respuestas a corto plazo tales como contracción y secreción hasta la regulación a más largo plazo del crecimiento y proliferación celular. Generalmente, estas señales involucran cierta combinación de liberación de Ca^{2+} de depósitos intracelulares, tales como el retículo endoplásmico (RE), y el influjo de Ca^{2+} a través de la membrana plasmática. En un ejemplo, la activación celular comienza con un agonista que se une a un receptor de membrana superficial, el cual es acoplado a fosfolipasa C (PLC) a través de un mecanismo de proteína G. La activación de PLC conduce a la producción de inositol 1,4,5–trifosfato (IP_3), el cual a su vez activa el receptor IP_3 causando la liberación de Ca^{2+} del RE. La caída en Ca^{2+} de RE luego emite señales para activar los canales del calcio activado por depósitos intracelulares (SOC) de membrana plasmática.

El influjo de calcio activado por depósitos intracelulares (SOC) es un proceso en fisiología celular que controla funciones diversas tales como, aunque sin limitarse a, rellenado de depósitos de Ca^{2+} intracelulares (Putney *et al. Cell*, 75, 199–201, 1993), activación de actividad enzimática (Fagan *et al.*, *J. Biol. Chem.* 275:26530–26537, 2000), transcripción génica (Lewis, *Annu. Rev. Immunol.* 19:497–521, 2001), proliferación celular (Nunez *et al., J. Physiol.* 571.1, 57–73, 2006), y liberación de citoquinas (Winslow *et al.*, *Curr. Opin. Immunol.* 15:299–307, 2003). En algunas células no excitables, por ej., células sanguíneas, células inmunes, células hematopoyéticas, linfocitos T y células cebadas, el influjo de SOC se produce a través de los canales de calcio activados por liberación de calcio (CRAC, por sus siglas en inglés), un tipo de canal de SOC.

El mecanismo de influjo de calcio ha sido denominado entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares (SOCE, por sus siglas en inglés). Las proteínas moleculares de interacción estromal (STIM, por sus siglas en inglés) son un componente esencial de la función de los canales de SOC, sirviendo como los sensores para detectar la depleción de calcio de depósitos intracelulares y para activar canales de SOC.

WO2007056341 describe piridin-2-aminas para el tratamiento de la inflamación y enfermedades autoinmunes.

US2007254912 describe compuestos basados en piridin-2-aminas aciladas por grupos alquilocarbonilo, benzoílo o heteroarilocarbonilo para el tratamiento de la inflamación y enfermedades autoinmunes.

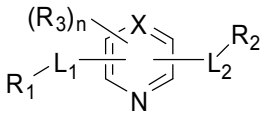
US2007249609 describe compuestos basados en pirazin-2-aminas aciladas para el tratamiento de la inflamación y enfermedades autoinmunes.

SÍNTESIS DE LA INVENCIÓN

Se describen compuestos de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) composiciones que incluyen dichos compuestos, y métodos para su utilización, para modular el calcio intracelular. En un caso, los compuestos de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) modulan el calcio intracelular mediante la inhibición de la actividad de los canales de calcio activado por depósitos intracelulares. En un caso, los compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) modulan el calcio intracelular evitando la actividad de complejos de canales de calcio operado por depósitos activados. En un caso, los compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) inhiben la activación de canales activados por depósitos intracelulares. En un caso, compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) inhiben la activación de canales de calcio activados por liberación de calcio. En un caso, los compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) modulan una actividad de, modulan una interacción de, o modulan el nivel de, o distribución de, o se unen a, o interactúan con por lo menos una proteína del complejo de canales de SOC. En un caso, los compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) modulan una actividad de,

modulan una interacción de, o modulan el nivel de, o distribución de, o se unen a, o interactúan con por lo menos una proteína del complejo de canales de CRAC.

En un caso, se describe en esta invención un compuesto que tiene la estructura de Fórmula (I):



Fórmula (I);

donde:

X es CR_3 o N;

L_1 es O, S o NR_{11} donde R_{11} es H, alqueniloC_2–C_6 o alquilo C_1–C_6;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

R_1 es arilo o heteroarilo; donde arilo o heteroarilo es opcionalmente sustituido con al menos uno R_3; o forma un sistema bicíclico;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo o heteroarilo donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo o heteroarilo es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

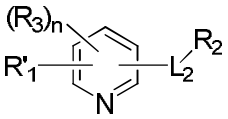
R_3 se selecciona independientemente entre H, D, F, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, $–NR_5R_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, $–NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2N(R_5)_2$, $–N(R_5)S(=O)_2N(R_5)_2$, $–C(=O)CF_3$, $–C(=O)NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2NHC(=O)R_4$, $–N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)R_5$, $–N(R_5)C(=O)N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)OR_4$, $–CO_2R_5$, $–C(=O)R_5$, $–OC(=O)R_4$, $–OC(=O)N(R_5)_2$, $–CON(R_5)_2$, $–SR_5$, $–S(=O)R_4$, y $–S(=O)_2R_4$;

cada R_4 se selecciona independientemente entre alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

cada R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

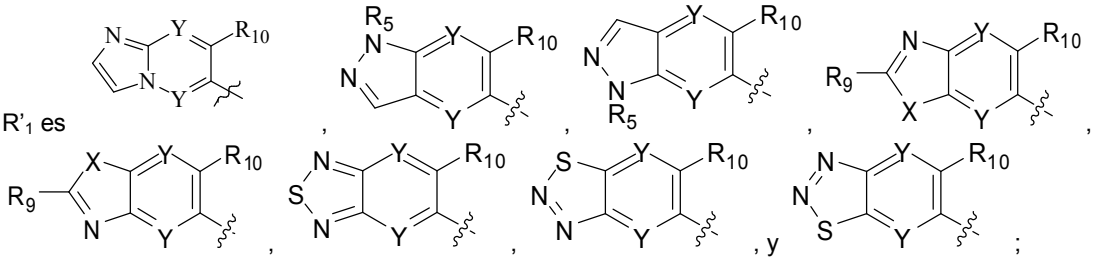
n es un número entero seleccionado entre 0 y 2; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otro caso es un compuesto que tiene la estructura de Fórmula (II):



Fórmula (II);

donde:

R'_1 es 

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es S, O, o NR_5;

Y se selecciona independientemente entre CR_9 o N;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

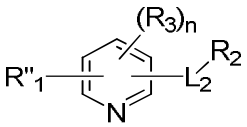
R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido;

R_5 se selecciona entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

n es un número entero seleccionado entre 0–3;

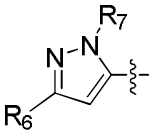
R_9 y R_{10} cada uno se selecciona independientemente entre H, D, alquilo C_1–C_6, halógeno, carbonilalquilo C_1–C_6, o CF_3; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otro caso es un compuesto de Fórmula (III) que tiene la estructura:



Fórmula (III);

donde:

R''_1 es 

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre F, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–OCF_3$, $–OR_5$, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, $–NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2N(R_5)_2$, $–N(R_5)S(=O)_2N(R_5)_2$, $–C(=O)CF_3$, $–C(=O)NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2NHC(=O)R_4$, $–N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)R_5$, $–N(R_5)C(=O)N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)OR_4$, $–CO_2R_5$, $–C(=O)R_5$, $–OC(=O)R_4$, $–OC(=O)N(R_5)_2$, $–CON(R_5)_2$, $–SR_5$, $–S(=O)R_4$, y $–S(=O)_2R_4$;

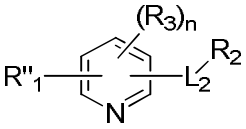
n es un número entero seleccionado entre 0–3;

cada R_4 se selecciona independientemente entre alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

R_5 y R_7 cada uno se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

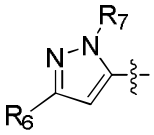
R_6 se selecciona entre H, F, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_4, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, $–NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2N(R_5)_2$, $–N(R_5)S(=O)_2N(R_5)_2$, $–C(=O)CF_3$, $–C(=O)NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2NHC(=O)R_4$, $–N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)R_4$, $–N(R_5)C(=O)N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)OR_4$, $–CO_2R_5$, $–C(=O)R_5$, $–OC(=O)R_4$, $–OC(=O)N(R_5)_2$, $–CON(R_5)_2$, $–SR_5$, $–S(=O)R_4$, y $–S(=O)_2R_4$; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otro caso es un compuesto de Fórmula (IV) que tiene la estructura:



Fórmula (IV);

donde:

R''$_1$ es  ;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado, o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, D, F, Cl, Br, I, –CN, –NO_2, –OH, –CF_3, –OCF_3, –OR_5, –NR_5R_5, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, –$NHS(=O)_2R_4$, –$S(=O)_2N(R_5)_2$, –$N(R_5)S(=O)_2N(R_5)_2$, –$C(=O)CF_3$, –$C(=O)NHS(=O)_2R_4$, –$S(=O)_2NHC(=O)R_4$, –$N(R_5)_2$, –$N(R_5)C(=O)R_5$, –$N(R_5)C(=O)N(R_5)_2$, –$N(R_5)C(=O)OR_4$, –CO_2R_5, –$C(=O)R_5$, –$OC(=O)R_4$, –$OC(=O)N(R_5)_2$, –$CON(R_5)_2$, –SR_5, –$S(=O)R_4$, y –$S(=O)_2R_4$;

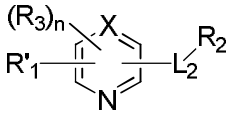
n es un número entero seleccionado entre 0–3;

cada R_4 se selecciona independientemente entre alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

R_5 y R_7 cada uno se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

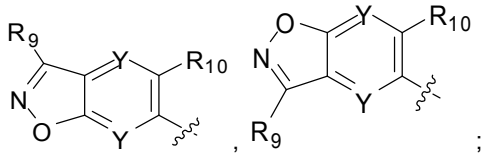
R_6 se selecciona entre CN o arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otro caso es un compuesto de Fórmula (V) que tiene la estructura:



Fórmula (V);

donde:

R'$_1$ es  ;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es CH, CR_3 o N;

Y se selecciona independientemente entre CR_9 o N;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo

C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

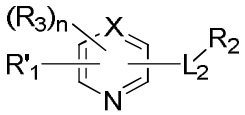
R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido,

n es un número entero seleccionado entre 0–2;

R_9 y R_{10} cada uno se selecciona independientemente entre H, D, alquilo C_1–C_6, halógeno, haloalquilo C_1–C_6, $–OR_5$, $–OCF_3$, carbonilalquilo C_1–C_6, o $–CF_3$;

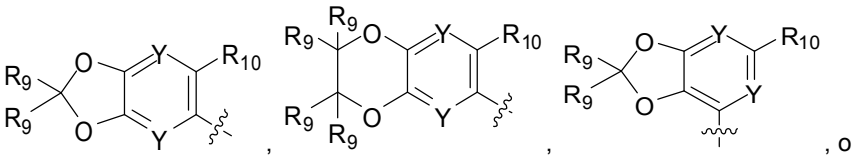
R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

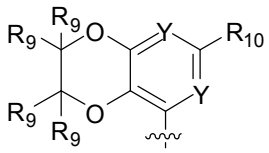
Otro caso es un compuesto de Fórmula (VI) que tiene la estructura:



Fórmula (VI);

donde:

R'_1 es  , o

 ;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es CR_3 o N;

Y se selecciona independientemente entre CR_9 o N;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido,

n es un número entero seleccionado entre 0–2;

R_9 se selecciona independientemente entre H, D, halógeno, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, $–OR_5$, $–OCF_3$, carbonilalquilo C_1–C_6, o $–CF_3$; o dos R_9 unidos al mismo átomo de carbono forman un anillo oxetano;

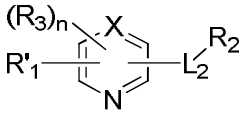
R_{10} se selecciona entre halógeno, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, $–OR_5$, $–OCF_3$, carbonilalquilo C_1–C_6, o $–CF_3$;

R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Una instancia es un compuesto de Fórmula (II) donde R_{10} se selecciona entre CF_3, alquilo C_1–C_6. En otra instancia, R_{10} es C_2H_5. En una instancia adicional, R_{10} es alquilo C_1–C_6. En aun otra instancia, R_{10} es CH_3.

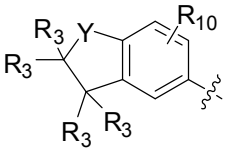
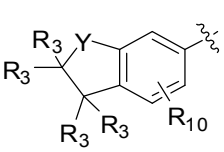
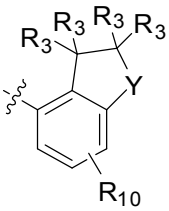
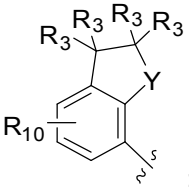
En aun otra instancia, R_2 es arilo. En una instancia adicional, arilo es fenilo. En aun otra instancia, el grupo fenilo es sustituido con por lo menos un sustituyente seleccionado entre D, F, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo $C_1–C_6$, cicloalquilo $C_3–C_8$, heteroalquilo $C_1–C_6$, haloalquilo $C_1–C_6$, heterocicloalquilo $C_2–C_8$, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, y heteroarilo opcionalmente sustituido. En una instancia, el sustituyente es flúor. En una instancia, fenilo es sustituido con al menos 2 sustituyentes. En otra instancia, fenilo es sustituido con al menos 3 sustituyentes.

Un caso adicional es un compuesto de Fórmula (VII) que tiene la estructura:



Fórmula (VII);

donde:

R'_1 es  ,  ,  , o  ;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es CR_3 o N;

Y es CR_3, O, NR_5, o S;

R_2 es alquilo $C_1–C_6$, cicloalquilo $C_3–C_8$, heteroalquilo $C_1–C_6$, haloalquilo $C_1–C_6$, heterocicloalquilo $C_2–C_8$, alquilen $C_1–C_4$heterocicloalquilo $C_2–C_8$, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo $C_1–C_6$, cicloalquilo $C_3–C_8$, heteroalquilo $C_1–C_6$, haloalquilo $C_1–C_6$, heterocicloalquilo $C_2–C_8$, alquilen $C_1–C_4$heterocicloalquilo $C_2–C_8$, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

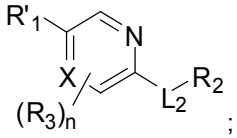
R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo $C_1–C_6$, cicloalquilo $C_3–C_8$, carbonilalquilo $C_1–C_6$, heteroalquilo $C_1–C_6$, haloalquilo $C_1–C_6$, heterocicloalquilo $C_2–C_8$, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido,

n es un número entero seleccionado entre 0–2;

R_{10} se selecciona entre halógeno, alquilo $C_1–C_6$, haloalquilo $C_1–C_6$, $–OR_5$, $–OCF_3$, carbonilalquilo $C_1–C_6$, o $–CF_3$;

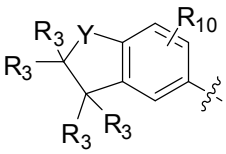
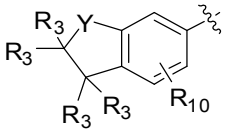
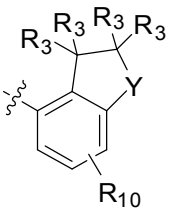
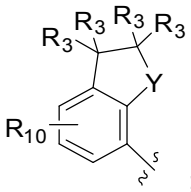
R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo $C_1–C_6$, haloalquilo $C_1–C_6$, cicloalquilo $C_3–C_8$, fenilo y bencilo; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Un caso adicional es un compuesto de Fórmula (VII) que tiene la estructura de Fórmula (VIIA):



Fórmula (VIIA).

donde:

R'_1 es  ,  ,  , o  ;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es CR_3 o N;

Y es CR_3, O, NR_5, o S;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, carbonilalquilo C_1–C_6, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido,

n es un número entero seleccionado entre 0–2;

R_{10} se selecciona entre halógeno, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, $–OR_5$, $–OCF_3$, carbonilalquilo C_1–C_6, o –CF_3;

R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otro caso es una composición farmacéutica que comprende un diluyente, excipiente o aglutinante farmacéuticamente aceptable, y un compuesto que tiene la estructura de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) o su sal farmacéuticamente aceptable, su profármaco farmacéuticamente aceptable, o su solvato farmacéuticamente aceptable.

Otro caso es un compuesto de la presente invención para su uso en un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección en un mamífero que se beneficiaría de la inhibición de la actividad de los canales de calcio activado por depósitos intracelulares que comprende administrar al mamífero un compuesto que tiene la estructura de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que lo comprende con un diluyente, excipiente o aglutinante farmacéuticamente aceptable.

Otro caso es un compuesto de la presente invención para su uso en un método para modular la actividad de los canales de calcio activado por depósitos intracelulares (SOC) que comprende contactar el complejo de canales de SOC, o una porción del mismo, con un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que lo comprende con un diluyente, excipiente o aglutinante farmacéuticamente aceptable.

Otro caso es un compuesto de la presente invención para su uso en un método para modular la actividad de los canales de calcio activados por la liberación de calcio (CRAC) en un mamífero que comprende administrar al mamífero un compuesto de Fórmula (I), (II), (III), (IV) , (V) o (VI) donde el compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) modula la actividad de CRAC en el mamífero.

Otro caso es un compuesto de la presente invención para su uso en un método para inhibir la activación de la entrada de calcio activado por depósitos intracelulares (SOCE) de factor nuclear de células T activadas (NFAT) en un mamífero que comprende administrar al mamífero un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) donde el compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) inhibe la activación de SOCE de NFAT en el mamífero.

Aun otro caso es un compuesto de la presente invención para su uso en un método para disminuir la liberación de citoquina inhibiendo la activación de SOCE de NFAT en un mamífero que comprende administrar al mamífero un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) donde el compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) reduce la liberación de citoquinas en el mamífero.

Un caso adicional es un compuesto de la presente invención para su uso en un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección en un mamífero el cual se beneficiaría de la inhibición de la actividad de los canales de calcio activado por depósitos intracelulares que comprende administrar al mamífero un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA).

Un caso es un compuesto de la presente invención para su uso en un método para tratar una enfermedad autoinmune, enfermedad o afección heteroinmune, o enfermedad inflamatoria en un mamífero que comprende administrar al mamífero un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) o su sal o profármaco farmacéuticamente aceptable.

En una instancia, la enfermedad autoinmune es enfermedad intestinal inflamatoria, artritis reumatoide, miastenia grave, esclerosis múltiple, síndrome de Sjogren, diabetes tipo I, lupus eritematoso, soriasis, osteoartritis, esclerodermia, y anemia hemolítica autoinmune.

En otra instancia, la enfermedad o afección heteroinmune es enfermedad de injerto contra huésped, rechazo de injerto, dermatitis atópica, conjuntivitis alérgica, rechazo de trasplante de órganos, trasplante alogeneico o xenogénico y rinitis alérgica.

En una instancia adicional, la enfermedad inflamatoria es uveítis, vasculitis, vaginitis, asma, enfermedad muscular inflamatoria, dermatitis, cistitis intersticial, colitis, enfermedad de Crohn, dermatomiositis, hepatitis, y hepatitis recurrente crónica.

Otro caso es un compuesto de la presente invención para su uso en un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección en un mamífero el cual se beneficiaría de la inhibición de la actividad de los canales de calcio activado por depósitos intracelulares que comprende administrar al mamífero un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) o una sal, o N–óxido farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una instancia, la enfermedad, trastorno o afección en el mamífero se selecciona entre glomerulonefritis, enfermedades o trastornos hepáticos, enfermedad o trastornos renales, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, osteoporosis, eccema, fibrosis pulmonar, tiroiditis, fibrosis quística, y cirrosis biliar primaria.

Los compuestos proporcionados en esta invención son empleados para modular el calcio intracelular. En un caso, los compuestos proporcionados en esta invención modulan la actividad de los canales de SOC. En un caso, los compuestos proporcionados en esta invención modulan la actividad de los canales CRAC. En otro caso, los compuestos proporcionados en esta invención modulan la actividad de la proteína STIM. En otro caso, los compuestos proporcionados en esta invención modulan la actividad de proteína Orai. En otro caso, los compuestos proporcionados en esta invención modulan las interacciones funcionales de proteínas STIM con proteínas Orai. En otro caso, los compuestos proporcionados en esta invención reducen la cantidad de canales de SOC funcionales. En otro caso, los compuestos proporcionados en esta invención reducen la cantidad de canales de CRAC funcionales. En un caso, los compuestos descritos en esta invención son bloqueadores de los canales de SOC. En un caso, los compuestos descritos en esta invención son bloqueadores de los canales de CRAC o moduladores de los canales de CRAC.

En un caso, los compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) son inhibidores selectivos de la actividad de los canales de CRAC.

Otros objetivos, características y ventajas de los compuestos, composiciones, métodos y usos descritos en esta invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada. Sin embargo, debe entenderse que la descripción detallada y los ejemplos específicos, si bien indican instancias específicas, son proporcionados a modo de ilustración solamente, puesto que diversos cambios y modificaciones serán evidentes a partir de esta descripción detallada.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 delinea la ruta de los canales I_{CRAC}.

La Figura 2 muestra las trazas típicas de I_{CRAC} en células que sobreexpresan establemente Orail y STIM 1 humanas como respuesta al estímulo de voltaje inmediatamente después de la interrupción (“break-in”), antes que I_{CRAC} se active, y a 5 min luego de que I_{CRAC} se activa por completo por depleción de depósitos de calcio intracelulares.

La Figura 3 muestra los resultados de compuesto de ensayo descrito en esta invención en modelo de artritis inducida por colágeno en rata (CIA, por sus siglas en inglés).

La Figura 4 muestra los resultados de compuesto de ensayo descrito en esta invención en un modelo de asma de rata.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La homeostasis de calcio celular es un resultado de la sumatoria de sistemas reguladores involucrados en el control de niveles y movimientos de calcio intracelulares. La homeostasis de calcio celular es lograda, por lo menos en parte, por la unión de calcio y por el movimiento de calcio hacia dentro y hacia afuera de la célula a través de la membrana plasmática y dentro de la célula mediante movimiento de calcio a través de membranas de organelos intracelulares incluyendo, por ejemplo, el retículo endoplásmico, retículo sarcoplásmico, mitocondrias y organelos endocíticos incluyendo endosomas y lisosomas.

El movimiento de calcio a través de las membranas celulares es llevado a cabo por proteínas especializadas. Por ejemplo, el calcio del espacio extracelular puede entrar en la célula a través de diversos canales de calcio y un intercambiador de sodio/ calcio y es activamente extruido de la célula por bombas de calcio e intercambiadores de sodio/ calcio. El calcio también puede ser liberado de depósitos internos a través de receptores de trisfosfato de inositol o rianodina y puede ser absorbido por estos organelos por medio de bombas de calcio.

El calcio puede entrar a las células por cualquiera de diversas clases generales de canales, incluyendo aunque sin limitarse a, canales de calcio activados por voltaje (VOC, por sus siglas en inglés), canales de calcio activado por depósitos intracelulares (SOC, por sus siglas en inglés), e intercambiadores de sodio/ calcio que operan en modo inverso. Los canales de VOC son activados por despolarización de membrana y son encontrados en células excitables tales como nervio y músculo y en su mayoría no encontrados en células no excitables. Bajo algunas condiciones, Ca^{2+} puede entrar en las células por medio de intercambiadores de Na^{+}–Ca^{2+} que operan en modo inverso.

La endocitosis proporciona otro proceso mediante el cual las células pueden absorber calcio del medio extracelular a través de endosomas. Adicionalmente, algunas células, por ej. células exocrinas, pueden liberar calcio por medio de exocitosis.

La concentración de calcio citosólico está estrechamente regulada con niveles en reposo generalmente estimados a aproximadamente 0.1 μM en células de mamífero, mientras que la concentración de calcio extracelular es típicamente de aproximadamente 2 mM. Esta estrecha regulación facilita la transducción de señales en y dentro de células a través de flujo de calcio transitorio a través de la membrana plasmática y de las membranas de organelos intracelulares. Existe una multiplicidad de sistemas de transporte y buffer de calcio intracelulares en células que sirven para conformar señales de calcio intracelular y mantener la concentración de calcio citoplásmica en reposo baja. En células en reposo, los componentes principales involucrados en mantener los niveles de calcio basales son las bombas de calcio y trayectorias de pérdida tanto en el retículo endoplásmico como en la membrana plasmática. La alteración de los niveles de calcio citosólico en reposo puede afectar la transmisión de señales dependientes de calcio y dar origen a defectos en una cantidad de procesos celulares. Por ejemplo, la proliferación celular involucra una secuencia de señalización de calcio prolongada. Otros procesos celulares que involucran la señalización de calcio incluyen, aunque sin limitarse a, secreción, señalización de factor de transcripción y fertilización.

Los receptores de superficie celular que activan fosfolipasa C (PLC) crean señales de Ca^{2+} citosólico de fuentes intra– y extra–celulares. Una suba transitoria inicial de $[Ca^{2+}]_i$ (concentración de calcio intracelular) es el resultado de la liberación de Ca^{2+} del retículo endoplásmico (RE), la cual es activada por el producto de PLC, inositol–1,4,5–trisfosfato (IP_3), abriendo los receptores de IP_3 en el RE (Streb *et al. Nature*, 306, 67–69, 1983). Una fase posterior de la entrada de Ca^{2+} sostenida a través de la membrana plasmática luego sigue, a través de canales de calcio activados por depósitos intracelulares (SOC) especializados (en el caso de células inmunes, los canales de SOC son canales de calcio activados por la liberación de calcio (CRAC)) en la membrana plasmática. La entrada de Ca^{2+} activada por el vaciado de depósitos intracelulares (SOCE) es el proceso en el cual el vaciado de depósitos de Ca^{2+} en si mismo activa los canales de Ca^{2+} en la membrana plasmática para ayudar a rellenar los depósitos (Putney, *Cell Calcium*, 7, 1–12, 1986; Parekh *et al.*, *Physiol.Rev*. 757–810; 2005). SOCE hace más que simplemente proporcionar Ca^{2+} para el rellenado de depósitos intracelulares, pero puede por si misma generar señales de Ca^{2+} sostenidas que controlan funciones esenciales tales como la expresión genética, el metabolismo celular y la exocitosis (Parekh y Putney, *Physiol. Rev*. 85, 757–810 (2005).

En linfocitos y células cebadas, la activación de antígeno o receptores Fc, causa respectivamente la liberación de Ca^{2+} de los depósitos intracelulares, lo cual a su vez, conduce al influjo de Ca^{2+} a través de los canales de CRAC en la membrana plasmática. La subsiguiente suba en Ca^{2+} intracelular activa calcineurina, una fosfatasa que regula el factor de transcripción NFAT. En células en reposo, NFAT es fosforilado y reside en el citoplasma, pero cuando es desfosforilado por calcineurina, NFAT se transloca al núcleo y activa diferentes programas genéticos que dependen de condiciones de estimulación y tipo celular. Como respuesta a las infecciones y durante el rechazo de trasplante, NFAT se asocia con el factor de transcripción AP–1 (Fos–Jun) en el núcleo de células T “efectoras”, transactivando de ese modo genes de citoquina, genes que regulan la proliferación de células T y otros genes que orquestan una respuesta inmune activa (Rao *et al.*, *Annu Rev Immunol.*, 1997;15:707–47). En contraste, en células T que reconocen auto–antígenos, NFAT es activado en

ausencia de AP–1, y activa un programa transcripcional conocido como “anergia” que suprime respuestas autoinmunes (Macian *et al.*, Transcriptional mechanisms underlying lymphocyte tolerance. Cell. 14 de junio 2002;109(6):719–31). En una subclase de células T conocida como células T reguladoras las cuales suprimen la autoinmunidad mediada por células T efectoras auto–reactivas, NFAT se asocia con el factor de transcripción FOXP3 para activar genes responsables de la función supresora (Wu *et al.*, *Cell*, 28 julio 2006;126(2):375–87; Rudensky AY, Gavin M, Zheng Y. *Cell*. 28 Jul 2006;126(2):253–256).

El retículo endoplásmico (RE) lleva a cabo una variedad de procesos. El RE tiene un rol como un sumidero de Ca^{2+} y como un depósito de Ca^{2+} sensible al agonista y, el plegado/ procesamiento proteico ocurre dentro de su lumen. En este último caso, numerosas proteínas chaperonas dependientes de Ca^{2+} aseguran que las proteínas recientemente sintetizadas sean plegadas correctamente y enviadas a su destino adecuado. El RE está también involucrado en el tráfico vesicular, liberación de señales de estrés, regulación de metabolismo de colesterol y apoptosis. Muchos de estos procesos requieren Ca^{2+} intraluminal y plegado erróneo de proteínas, respuestas de estrés de RE, y apoptosis todos pueden ser inducidos por la depleción de RE de Ca^{2+} durante períodos prolongados de tiempo. Debido a que contiene una cantidad finita de Ca^{2+}, resulta claro que el contenido de Ca^{2+} de RE debe caer luego de la liberación de ese Ca^{2+} durante la estimulación. Sin embargo, para preservar la integridad funcional del RE, resulta vital que el contenido de Ca^{2+} no caiga demasiado bajo o sea mantenido por lo menos en un nivel bajo. El rellenado del RE con Ca^{2+} es por ende un proceso central para todas las células eucarióticas. Debido a que una caída en el contenido de Ca^{2+} de RE activa los canales de Ca^{2+} activado por depósitos intracelulares en la membrana plasmática, se cree que una función principal de esta trayectoria de entrada de Ca^{2+} es el mantenimiento de los niveles de Ca^{2+} en RE que son necesarios para una síntesis y plegado de proteínas adecuados. Sin embargo, los canales de Ca^{2+} activados por depósitos tienen otros roles importantes.

La comprensión de la entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares fue proporcionada por estudios electrofisiológicos los cuales establecieron que el proceso de vaciado de los depósitos activaba una corriente de Ca^{2+} en células cebadas denominada corriente de Ca^{2+} activada por liberación de Ca^{2+} o I_{CRAC}. I_{CRAC} no es activada por voltaje, rectificando hacia adentro y selectiva notablemente para Ca^{2+}. Se encuentra en diversos tipos celulares principalmente de origen hematopoyético. I_{CRAC} no es la única corriente activada por depósitos, y ahora es evidente que el influjo activado por depósitos abarca una familia de canales permeables a Ca^{2+}, con diferentes propiedades en diferentes tipos celulares. I_{CRAC} fue la primera corriente de Ca^{2+} activada por el vaciado de depósitos intracelulares a ser descrita y sigue siendo un modelo popular para estudiar el influjo activado por depósitos intracelulares.

Los canales de calcio activados por depósitos intracelulares pueden ser activados por cualquier procedimiento que vacíe los depósitos de Ca^{2+} de RE; parece no importar cómo los depósitos son vaciados, el efecto neto es la activación de la entrada de Ca^{2+} activada por el vaciado de depósitos intracelulares. Fisiológicamente, el vaciado de depósitos intracelulares es evocado por un aumento en los niveles de IP_3 u otras señales liberadoras de Ca^{2+} seguido por la liberación de Ca^{2+} de los depósitos. Pero existen diversos otros métodos para el vaciado de depósitos intracelulares. Estos métodos incluyen los siguientes:

1) elevación de IP_3 en el citosol (luego de estimulación de receptores o, diálisis del citosol con IP_3 mismo o congéneres relacionados como el análogo no metabolizable $Ins(2,4,5)P_3$);

2) aplicación de un ionóforo de Ca^{2+} (por ej., ionomicina) para permeabilizar la membrana de RE;

3) dializar el citoplasma con elevadas concentraciones de quelantes de Ca^{2+} (por ej., EGTA o BAPTA), los cuales quelan Ca^{2+} que se filtra desde los depósitos y por ende evitan el rellenado de los depósitos;

4) exposición a los inhibidores de Ca^{2+}–ATPasa de retículo sarcoplásmico/ endoplásmico (SERCA) tales como tapsigargina, ácido ciclopiazónico, y di–terc–butilhidroquinona;

5) sensibilizar los receptores de IP_3 a niveles en reposo de $InsP_3$ con agentes tales como timerosal; y

6) cargar quelantes de Ca^{2+} de metal permeables a membrana como N,N,N’,N’–tetrakis(2–piridilmetil)etilendiamina (TPEN) directamente en los depósitos.

A través de la acción en masa, TPEN reduce la concentración de Ca2+ intraluminal libre sin cambiar Ca2+ total de los depósitos de modo que se genere la señal dependiente de depleción de depósitos intracelulares.

Estos métodos de vaciado de depósitos no están desprovistos de problemas potenciales. La característica clave de la entrada de Ca^{2+} activada por el vaciado de los depósitos intracelulares es que es la caída en el contenido de Ca^{2+} dentro de los depósitos y no la subsiguiente suba en la concentración de Ca^{2+} citoplásmica lo que activa los canales. Sin embargo, los bloqueadores de la bomba de ionomicina y SERCA generalmente causan una suba en la concentración de Ca^{2+} citoplásmica como consecuencia de la depleción de los depósitos intracelulares, y dicha suba en Ca^{2+} podría abrir los canales catiónicos activados por Ca^{2+} permeables a Ca^{2+}. Un modo de evitar dichos problemas consiste en emplear agentes bajo condiciones donde

el Ca^{2+} citoplásmico ha sido fuertemente tamponado con elevadas concentraciones de quelante de Ca^{2+} tal como EGTA o BAPTA.

Entrada de Calcio Activada por el Vaciado de los Depósitos Intracelulares

La concentración reducida de calcio en los depósitos de calcio intracelulares tales como el retículo endoplásmico resultante de la liberación de calcio de ahí proporciona una señal para el influjo de calcio del medio extracelular en la célula. Este influjo de calcio, el cual produce una elevación "meseta" sostenida de la concentración de calcio citosólico, generalmente no se basa en los canales de membrana plasmática dependiente del voltaje y no involucra la activación de canales de calcio por calcio. Este mecanismo de influjo de calcio es denominado entrada de calcio capacitativa (CCE, por sus siglas en inglés), entrada de calcio activada por liberación de calcio, activada por el vaciado de depósitos intracelulares o entrada de calcio activada por depleción. La entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares puede ser registrada como una corriente iónica con propiedades distintivas. Esta corriente es denominada I_{SOC} (corriente activada por el vaciado de los depósitos intracelulares) o I_{CRAC} (corriente activada por la liberación de calcio).

El análisis electrofisiológico de corrientes activadas por el vaciado de depósitos intracelulares o activadas por la liberación de calcio revela propiedades biofísicas distintas (ver, por ej., Parekh y Penner (1997) *Physiol. Rev*. 77:901–930) de estas corrientes. Por ejemplo, la corriente puede ser activada por depleción de depósitos de calcio intracelulares (por ej., por activadores no fisiológicos tales como tapsigargina, CPA, ionomicina y BAPTA, y activadores fisiológicos tales como IP_3) y puede ser selectiva para cationes divalentes, tales como calcio, sobre iones monovalentes en soluciones o condiciones fisiológicas, puede ser influenciada por cambios en los niveles de calcio citosólico, y puede mostrar selectividad y conductividad alteradas en presencia de bajas concentraciones extracelulares de cationes divalentes. La corriente también puede ser bloqueada o aumentada por 2–APB (dependiendo de la concentración) y bloqueada por SKF96365 y Gd^{3+} y generalmente puede ser descrita como una corriente de calcio que no es estrictamente dependiente del voltaje.

Los estudios de "patch–clamp" (pinzamiento local) en células cebadas y células T leucémicas Jurkat han establecido el mecanismo de entrada de CRAC como un canal de iones con características biofísicas distintivas, incluyendo una elevada selectividad para Ca^{2+} apareada con una conductancia excedidamente baja. Adicionalmente, el canal de CRAC demostró satisfacer los rigurosos criterios para ser activado por vaciado de depósitos intracelulares que es la activación solamente por la reducción de Ca^{2+} en el RE más que por Ca^{2+} citosólico u otros mensajeros generados por PLC (Prakriya et al., In *Molecular y Cellular Insights into Ion Channel Biology* (ed. Robert Maue) 121–140 (Elsevier Science, Ámsterdam, 2004)).

Regulación de la Entrada de calcio activada por vaciado de depósitos por Depósitos de Calcio Intracelulares

La entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos es regulada por el nivel de calcio dentro de un depósito de calcio intracelular. Los depósitos de calcio intracelulares pueden ser caracterizados por sensibilidad a agentes, los cuales pueden ser fisiológicos o farmacológicos, los cuales activan la liberación de calcio de los depósitos o inhiben la absorción de calcio en los depósitos. Se han estudiado diferentes células en caracterización de depósitos intracelulares de calcio y se han caracterizado depósitos como sensibles a diversos agentes, incluyendo, aunque sin limitarse a, IP_3 y compuestos que afectan al receptor IP_3, tapsigargina, ionomicina y/o ADP–ribosa cíclica (cADPR) (ver, por ej., Berridge (1993) *Nature* 361:315–325; Churchill y Louis (1999) *Am. J. Physiol*. 276 :C426–C434 ; Dargie *et al*. (1990) *Cell Regul*. 1 :279–290; Gerasimenko *et al*. (1996) *Cell* 84 :473–480 ; Gromoda *et al*. (1995) *FEBS Lett*. 360 :303–306 ; Guse *et al*. (1999) *Nature* 398 :70–73).

La acumulación de calcio dentro de los organelos de almacenamiento del retículo endoplásmico y del retículo sarcoplásmico (SR; una versión especializada del retículo endoplásmico en la musculatura estriada) se logra a través de ATPasas de calcio de retículo sarcoplásmico–endoplásmico (SERCAs), comúnmente denominados bombas de calcio. Durante la señalización (es decir, cuando los canales del retículo endoplásmico son activados para proporcionar la liberación de calcio del retículo endoplásmico en el citoplasma), el calcio del retículo endoplásmico es reaprovisionado por la bomba SERCA con calcio citoplásmico que ha entrado a la célula desde el medio extracelular (Yu y Hinkle (2000) *J. Biol. Chem*. 275:23648–23653; Hofer *et al*. (1998) *EMBO J*. 17:1986–1995).

Los canales de liberación del calcio asociados con receptores de IP_3 y rianodina proporcionan una liberación controlada de calcio desde el retículo endoplásmico y sarcoplásmico en el citoplasma dando como resultado aumentos transitorios en la concentración de calcio citoplásmico. La liberación de calcio mediada por el receptor IP_3 es activada por IP_3 formado por la descomposición de fosfoinositidas de membrana plasmática a través de la acción de fosfolipasa C, la cual es activada por la unión de un agonista a un receptor acoplado a proteína G de membrana plasmática o tirosina quinasa. La liberación de calcio mediada por el receptor rianodina es activada por un aumento en el calcio citoplásmico y se denomina liberación de calcio inducida por calcio (CICR, por sus siglas en inglés). La actividad de los receptores de rianodina (los cuales tienen afinidad para rianodina y cafeína) también puede ser regulada por ADP–ribosa cíclica.

Por lo tanto, los niveles de calcio en los depósitos, y en el citoplasma, fluctúan. Por ejemplo, la concentración de calcio libre de RE puede disminuir desde un rango de alrededor de 60–400 μM hasta alrededor de 1–50 μM cuando las células HeLa son tratadas con histamina, un agonista de receptores de histamina vinculados con PLC (Miyawaki *et al*. (1997) *Nature* 388:882–887). La entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares es activada a medida que la concentración de calcio libre de los depósitos intracelulares es reducida. La depleción de calcio de los depósitos, así como también el aumento concomitante en la concentración de calcio citosólico, puede regular por ende la entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares en las células.

Tamponación de Calcio Citoplásmico

La activación de agonista de procesos de señalización en células puede involucrar aumentos dramáticos en la permeabilidad de calcio del retículo endoplásmico, por ejemplo, a través de la abertura de los canales de receptores IP_3, y la membrana plasmática a través de la entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares. Estos aumentos en la permeabilidad de calcio están asociados con un aumento en la concentración de calcio citosólico que puede ser separada en dos componentes: un “pico” (“spike”) de liberación de calcio del retículo endoplásmico durante la activación del receptor IP_3 y una fase de meseta la cual es una elevación sostenida de los niveles de calcio resultantes de la entrada de calcio en el citoplasma desde el medio extracelular. Luego de la estimulación, la concentración de calcio libre intracelular en reposo de aproximadamente 100 nM puede subir globalmente hasta más de 1 μM y superior en microdominios de la célula. La célula modula estas señales de calcio con buffers de calcio endógenos, incluyendo tamponación fisiológica por organelos tales como las mitocondrias, retículo endoplásmico y Golgi. La absorción por las mitocondrias del calcio a través de un uniportador en la membrana interna es activada por el gran potencial de membrana mitocondrial negativo y el calcio acumulado es liberado lentamente a través de intercambiadores dependientes e independientes del sodio, y, bajo algunas circunstancias, el poro de transición de la permeabilidad (PTP, por sus siglas en inglés). Por lo tanto, las mitocondrias pueden actuar como buffers del calcio absorbiendo calcio durante los períodos de activación celular y pueden liberarlo lentamente más tarde. La absorción de calcio en el retículo endoplásmico es regulada por la ATPasa de calcio del retículo sarcoplásmico y endoplásmico (SERCA, por sus siglas en inglés). La absorción de calcio en el Golgi es mediada por una ATPasa de transporte de calcio tipo P (PMR1/ATP2C1). Adicionalmente, existe evidencia de que una cantidad significativa del calcio liberada luego de la activación del receptor IP_3 es extruida de la célula a través de la acción de la ATPasa de calcio de la membrana plasmática. Por ejemplo, las ATPasas del calcio de la membrana plasmática proporcionan el mecanismo dominante para la evacuación del calcio en células T humanas y células Jurkat, si bien el intercambio de sodio/ calcio también contribuye con la evacuación del calcio en células T humanas. Dentro de los organelos de los depósitos intracelulares del calcio, los iones de calcio pueden estar unidos a proteínas de tamponación de calcio especializadas, tales como, por ejemplo, calsequestrinas, calreticulinas y calnexinas. Adicionalmente, existen proteínas de tamponación de calcio en el citosol que modulan los picos de calcio y ayudan a la redistribución de los iones calcio. Por lo tanto, las proteínas y otras moléculas que participan en cualquiera de estos y otros mecanismos a través de los cuales los niveles de calcio citosólico pueden ser reducidos son proteínas que están involucradas en, participan en, y/o proporcionan tamponación de calcio citoplásmico. Por consiguiente, la tamponación de calcio citoplásmico ayuda a regular los niveles de Ca^{2+} citoplásmico durante períodos de influjo de calcio sostenido a través de los canales SOC o estallidos de liberación de Ca^{2+}. Grandes aumentos en los niveles de Ca2+ citoplásmico o rellenado de depósitos intracelulares desactivan SOCE.

Eventos Mediados por la Entrada de Calcio corriente abajo

Además de los cambios intracelulares en los depósitos de calcio, la entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares afecta a una multitud de eventos que son consecuentes con, o además de, los cambios activados por el vaciado de los depósitos intracelulares. Por ejemplo, el influjo de Ca^{2+} da como resultado la activación de una gran cantidad de enzimas dependientes de calmodulina incluyendo la serina fosfatasa calcineurina. La activación de calcineurina mediante un aumento en el calcio intracelular da como resultado procesos secretorios tales como la desgranulación de células cebadas. Las células cebadas activadas liberan gránulos preformados que contienen histamina, heparina, TNFα y enzimas tales como β–hexosaminidasa. Algunos eventos celulares, tales como la proliferación de células B y T, requieren señalización de calcineurina sostenida, lo cual requiere un aumento sostenido en el calcio intracelular. Una cantidad de factores de transcripción son regulados por calcineurina, incluyendo NFAT (factor nuclear de células T activadas), MEF2 y NFκB. Los factores de transcripción NFAT juegan roles importantes en muchos tipos celulares, incluyendo células inmunes. En las células inmunes, NFAT interviene en la transcripción de una gran cantidad de moléculas, incluyendo citoquinas, quimioquinas y receptores de superficie celular. Los elementos transcripcionales para NFAT han sido encontrados dentro de los promotores de citoquinas tales como IL–2, IL–3, IL–4, IL–5, IL–8, IL–13, así como también el factor alfa de necrosis tumoral (TNFα), factor estimulador de colonias de granulocitos (G–CSF), y gamma–interferón (γ–IFN).

La actividad de las proteínas NFAT es regulada por su nivel de fosforilación, el cual a su vez es regulado por calcineurina y NFAT quinasas. La activación de calcineurina por un aumento en los niveles de calcio

intracelulares da como resultado la desfosforilación de NFAT y la entrada en el núcleo. La refosforilación de NFAT enmascara la secuencia de localización nuclear de NFAT y evita su entrada en el núcleo. Debido a su fuerte dependencia de desfosforilación mediada por calcineurina para localización y actividad, NFAT es un indicador sensible de los niveles de calcio libre intracelulares.

Enfermedades, Trastornos o Condiciones

Los estudios clínicos demuestran que el canal CRAC es absolutamente requerido para la activación de genes detrás de la respuesta de células T a antígeno. La entrada de calcio sostenida es necesaria para la activación de linfocitos y la respuesta inmune adaptativa. La entrada del calcio en linfocitos ocurre principalmente a través de los canales CRAC. El aumento del calcio conduce a la activación de NFAT y expresión de citoquinas requeridas para la respuesta inmune. La inhibición de la entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares es un modo eficaz de evitar la activación de células T.

La inhibición de la actividad de los canales CRAC con los compuestos descritos en esta invención, tales como los compuestos de fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) proporciona un medio para proveer terapia inmunosupresiva según lo demostrado por la eliminación de la entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares notada en pacientes con inmunodeficiencia severa combinada (SCID, por sus siglas en inglés). Las células T, los fibroblastos y en algunos casos las células B, de pacientes con inmunodeficiencia de células T o SCID que tienen un defecto principal en la activación de células T muestran un fuerte defecto en la entrada de calcio activado por depósitos intracelulares ("store–operated calcium entry") (Feske *et al*. (2001) *Nature Immunol*. 2 :316–324 ; Paratiseti *et al*. (1994) *J. Biol. Chem*. 269 :32327–32335 ; y Le Deist *et al*. (1995) *Blood* 85:1053–1062). Los pacientes con SCID carecen de respuesta inmune adaptativa, pero sin deterioro alguno o toxicidad en los órganos principales. El fenotipo de pacientes SCID indica que la inhibición de los canales CRAC es una estrategia eficaz para la inmunosupresión.

Enfermedades / Trastornos que Involucran Inflamación y Enfermedades/ Trastornos Relacionados con el Sistema Inmune

Las enfermedades o trastornos que pueden ser tratados o evitados empleando los compuestos, composiciones y métodos proporcionados en esta invención incluyen enfermedades y trastornos que involucran la inflamación y/o que están relacionados con el sistema inmune. Estas enfermedades incluyen, aunque sin limitarse a, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, artritis reumatoide, enfermedad intestinal inflamatoria, glomerulonefritis, enfermedades neuroinflamatorias tales como esclerosis múltiple, y trastornos del sistema inmune.

La activación de los neutrófilos (PMN) mediante mediadores inflamatorios es lograda parcialmente aumentando la concentración de calcio citosólico. El influjo de calcio activado por el vaciado de los depósitos intracelulares en particular se cree que juega un rol importante en la activación de PMN. Se ha demostrado que el traumatismo aumenta el influjo de calcio activado por el vaciado de los depósitos intracelulares de PMN (Hauser *et al*. (2000) *J. Trauma Injury Infection y Critical Care* 48 (4):592–598) y que las elevaciones prolongadas de la concentración de calcio citosólico debido al aumento de influjo de calcio activado por el vaciado de los depósitos intracelulares puede alterar el acoplamiento de respuesta al estímulo a quimiotaxinas y contribuir con la disfunción de PMN luego de la lesión. La modulación de la concentración de calcio citosólico de PMN a través de los canales de calcio activados por el vaciado de los depósitos intracelulares podría por lo tanto ser útil en la regulación de la inflamación mediada por PMN y función cardiovascular de sobra luego de la lesión, choque o sepsis (Hauser *et al*. (2001) *J. Leukocyte Biology* 69 (1):63–68).

El calcio juega un rol importante en la activación de linfocitos. La activación de linfocitos, por ej., mediante la estimulación antigénica, da como resultado aumentos rápidos en la concentración de calcio libre intracelular y activación de los factores de transcripción, incluyendo el factor nuclear de células T activadas (NFAT), NF–κB, JNK1, MEF2 y CREB. NFAT es un regulador transcripcional clave de los genes IL–2 (y otras citoquinas) (ver, por ej. Lewis (2001) *Annu. Rev. Immunol* 19:497–521). Una elevación sostenida del nivel de calcio intracelular es requerida para mantener NFAT en un estado transcripcionalmente activo, y depende de la entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares. La reducción o bloqueo de la entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares en linfocitos bloquea la activación de linfocitos dependiente del calcio. Por lo tanto, la modulación del calcio intracelular, y particularmente la entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares (por ej., reducción en, eliminación de la entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares), en los linfocitos puede ser un método para tratar trastornos inmunes y relacionados con la inmunidad, incluyendo, por ejemplo, enfermedades / trastornos inmunes crónicos, enfermedades / trastornos inmunes agudos, enfermedades / trastornos autoinmunes y de inmunodeficiencia, enfermedades / trastornos que involucran la inflamación, rechazo de injerto en trasplante de órganos y enfermedad de injerto versus huésped y respuestas inmunes alteradas (por ej., hiperactivas). Por ejemplo el tratamiento de una enfermedad/ trastorno autoinmune podría involucrar la reducción, bloqueo o eliminación de la entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares en los linfocitos.

Los ejemplos de trastornos inmunes incluyen psoriasis, artritis reumatoide, vasculitis, enfermedad intestinal inflamatoria, dermatitis, osteoartritis, asma, enfermedad muscular inflamatoria, rinitis alérgica, vaginitis, cistitis intersticial, esclerodermia, osteoporosis, eccema, rechazo de injerto en trasplante alogeneico o xenogeneico (órgano, médula ósea, células madre y otras células y tejidos), enfermedad de injerto versus huésped, lupus eritematoso, enfermedad inflamatoria, diabetes tipo I, fibrosis pulmonar, dermatomiositis, síndrome de Sjogren, tiroiditis (por ej., tiroiditis de Hashimoto y autoinmune), miastenia grave, anemia hemolítica autoinmune, esclerosis múltiple, fibrosis quística, hepatitis recurrente crónica, cirrosis biliar primaria, conjuntivitis alérgica y dermatitis atópica.

Cáncer y Otras Enfermedades Proliferativas

Los compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), las composiciones de los mismos, y los métodos proporcionados en esta invención pueden ser empleados en conexión con el tratamiento de enfermedades malignas, incluyendo, aunque sin limitarse a, enfermedades de origen linforeticular, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer endometrial, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de pulmón, melanoma, cáncer de ovario, cáncer de próstata y cáncer rectal. La entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares ("Store–operated calcium entry") puede jugar un rol importante en la proliferación celular en células cancerígenas (Weiss *et al.* (2001) *International Journal of Cancer* 92 (6):877–882).

La inhibición de SOCE es suficiente para prevenir la proliferación de células tumorales. El derivado de pirazol BTP–2, un bloqueador de I_{CRAC} directo inhibe SOCE y la proliferación en células Jurkat (Zitt *et al., J. Biol. Chem.*, 279, 12427–12437, 2004) y en células de cáncer de colon. Se ha sugerido que SOCE sostenida requiere la absorción de Ca^{2+} mitocondrial (Nunez *et al., J. Physiol.* 571.1, 57–73, 2006) y que la prevención de la absorción de Ca^{2+} mitocondrial conduce a la inhibición de SOCE (Hoth *et al., P.N.A.S.*, 97, 10607–10612, 2000; Hoth *et al., J. Cell. Biol.* 137, 633–648, 1997; Glitsch *et al., EMBO J.*, 21, 6744–6754, 2002). La estimulación de células Jurkat induce SOCE sostenida y la activación de la fosfatasa calcineurina dependiente del Ca^{2+} que desfosforila NFAT, promoviendo la expresión y proliferación de interleuquina–2. Lo Compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) inhiben SOCE y pueden emplearse en el tratamiento de cáncer o de otras enfermedades o afecciones proliferativas.

Enfermedades y Trastornos Hepáticos

Las enfermedades o trastornos que pueden ser tratados o evitados empleando los compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), las composiciones de los mismos, y los métodos proporcionados en esta invención incluyen las enfermedades y trastornos hepáticos o del hígado. Estas enfermedades y trastornos incluyen aunque sin limitarse a lesión hepática por ejemplo, debido a trasplante, hepatitis y cirrosis.

La entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares ha sido implicada en la enfermedad hepática crónica (Tao *et al.* (1999) *J. Biol. Chem.*, 274(34):23761–23769) así como también en la lesión por trasplante luego de reoxigenación de preservación en frío– calor (Elimadi *et al.* (2001) *Am J. Physiology*, 281(3 Parte 1):G809–G815).

Enfermedades y Trastornos Renales

Las enfermedades o trastornos que pueden tratarse o evitarse con el empleo de los métodos proporcionados en esta invención incluyen las enfermedades y trastornos de los riñones o renales. La hiperplasia de células mesangiales es a menudo una característica clave de ese tipo de enfermedades y trastornos. Dichas enfermedades y trastornos pueden ser causados por mecanismos inmunológicos u otros mecanismos de lesión, incluyendo IgAN, glomerulonefritis membranoproliferativa o lupus nefritis. Los desequilibrios en el control de la replicación de células mesangiales también parecen jugar un rol clave en la patogénesis de la insuficiencia renal progresiva.

El recambio de células mesangiales en el riñón adulto normal es muy bajo con un índice de renovación de menos de 1%. Una característica prominente de las enfermedades glomerulares/ renales es la hiperplasia mesangial debida a un índice elevado de proliferación o pérdida celular reducida de células mesangiales. Cuando la proliferación de células mesangiales es inducida sin pérdida celular, por ejemplo debido a la estimulación mitogénica, puede resultar la glomerulonefritis mesangioproliferativa. Los datos han indicado que los reguladores del crecimiento de células mesangiales, particularmente los factores de crecimiento, pueden actuar regulando los canales de calcio activados por el vaciado de depósitos intracelulares (Ma *et al.* (2001) *J Am. Soc. Of Nephrology*, 12:(1) 47–53). Los moduladores del influjo de calcio activado por el vaciado de depósitos intracelulares pueden ayudar en el tratamiento de enfermedades glomerulares inhibiendo la proliferación de células mesangiales.

Canales de Calcio Activados por el vaciado de depósitos intracelulares

Los estudios clínicos demuestran que el canal CRAC, un tipo de canal de SOC, es absolutamente requerido para la activación de genes que yacen detrás de la respuesta de células T a antígeno (Partiseti *et al.*, *J Biol. Chem.*, 269, 32327–32335, 1994; Feske *et al.*, *Curr. Biol.* 15, 1235–1241, 2005). SOCE puede contribuir directamente con la elevación de los niveles de Ca^{2+} citosólico ($[Ca^{2+}]_i$), como en los linfocitos T donde los canales CRAC generan las señales de Ca^{2+} sostenidas necesarias para impulsar la expresión genética subyacente a la activación de células T por el antígeno. La entrada de calcio sostenida es necesaria para la activación de linfocitos y respuesta inmune adaptativa. La entrada de calcio en los linfocitos se produce principalmente a través de los canales CRAC. El aumento de los niveles de calcio conduce a la activación de NFAT y la expresión de citoquinas requeridas para la respuesta inmune.

El canal CRAC tiene una huella biofísica distintiva, dependencia de la activación de los depósitos intracelulares cuantificable y función esencial en células T. Los estudios han demostrado que los canales CRAC son formados a partir de dos proteínas componentes, las cuales interactúan para formar canales CRAC. El canal CRAC es ensamblado por dos componentes funcionales, STIM1 y Orai1. STIM1 (molécula de interacción estromal 1) fue identificada como el sensor de Ca2+ en RE de mamífero (Liou, J. *et al. Curr. Biol.* 15, 1235–1241 (2005); Roos, J. *et al. J. Cell Biol.* 169, 435–445 (2005); WO 20041078995; US 2007/0031814). Orai1/CRACM1 fue identificada como un componente del canal CRAC de mamífero (Feske, S. *et al. Nature* 441, 179–185 (2006) ; Vig, M. *et al. Science* 312, 1220–1223 (2006) ; Zhang, S. L. *et al. Proc. Natl Acad. Sci. USA* 103, 9357–9362 (2006)).

STIM1 es el sensor de Ca^{2+} dentro de los depósitos de Ca^{2+} en RE, moviéndose como respuesta al vaciado de los depósitos intracelulares en puntos de RE cerca de la membrana plasmática. Orai1 es una subunidad de canal CRAC formadora de poro en la membrana plasmática. Las dos proteínas de membrana STIM1 y Orai1 cada una han demostrado ser esencial para la activación de los canales CRAC.

La expresión tanto de STIM1 como de Orai1 en células 293 de riñón embriónicas humanas (células HEK293) reconstituye los canales CRAC funcionales. La expresión de Orai1 por sí sola reduce fuertemente la entrada de Ca2+ activada por el vaciado de los depósitos intracelulares en células HEK293 y la corriente de Ca2+ activada por la liberación de Ca^{2+} (I_{CRAC}) en células de leucemia basófilas de rata. Sin embargo, expresada junto con la proteína STIM1 sensora del vaciado de los depósitos intracelulares, Orai1 causa un aumento masivo en SOCE, aumentando el índice de entrada de Ca^{2+} en hasta 103 veces. Esta entrada de Ca^{2+} es totalmente dependiente de los depósitos intracelulares puesto que la misma coexpresión no causa entrada alguna de Ca2+ independiente del vaciado de los depósitos intracelulares medible. La entrada es completamente bloqueada por el bloqueador de los canales activado por el vaciado de los depósitos intracelulares, 2–aminoetoxidifenilborato. Las proteínas STIM intervienen en el acoplamiento de membrana plasmática del retículo endoplásmico y de sensibilización del vaciado de los depósitos intracelulares de Ca^{2+} sin ninguna propiedad de canales intrínseca. Orai1 contribuye el componente del canal de membrana plasmática responsable de la entrada de Ca^{2+}. La supresión de la función de los canales de CRAC por la sobreexpresión de Orai1 refleja una estequiometría requerida entre STIM1 y Orai1 (Soboloff *et al., J. Biol. Chem.* Vol. 281, no. 30, 20661–20665, 2006).

Proteínas de Molécula de Interacción Estromal (STIM)

En un screen de RNAi en células Drosophila S2 empleando entrada de Ca2+ activada por tapsigargina como un marcador para los canales activados por el vaciado de los depósitos intracelulares un gen dio una entrada de Ca2+ sustancialmente reducida, y ese gen codificó para la molécula de interacción estromal proteica (Stim) (Roos, J. *et al. J. Cell Biol.* 169, 435–445, 2005). Existen dos homólogos de Stim en células de mamífero, STIM1 y STIM2, ambos parecen estar distribuidos ubicuamente (Williams *et al.*, *Biochem J.* 2001 Aug 1;357(Pt 3):673–85). STIM1 es el sensor de Ca2+ de RE para la entrada de Ca2+ activada por el vaciado de los depósitos intracelulares. STIM1 es una proteína de membrana tipo I de 77 kDa con múltiples dominios de señalización o interacción proteica y está situada predominantemente en el RE, pero también en un grado limitado en la membrana plasmática.

La desactivacion ("knockdown") de STIM1 por RNAi redujo sustancialmente I_{CRAC} en células T de Jurkat, y la entrada de Ca2+ activada por el vaciado de los depósitos intracelulares en células epiteliales HEK293 y células de neuroblastoma SH–SY5Y. Sin embargo, la desactivación de la STIM2 cercanamente relacionada no tuvo efecto alguno. Estos resultados indican un rol esencial de STIM (Drosophila) y STIM1 (mamíferos) en el mecanismo de activación de los canales activados por el vaciado de los depósitos intracelulares. Es improbable que STIM1 sea el canal activado por el vaciado de los depósitos intracelulares por sí misma. No tiene secuencia del tipo canal, y la sobreexpresión de la proteína únicamente aumenta modestamente la entrada de Ca^{2+}. STIM1 es situada tanto en la membrana plasmática como en las membranas intracelulares como el RE (Manji et al., *Biochim Biophys Acta*. 2000 Aug 31; 1481(1):147–55. 2000). La secuencia proteica sugiere que abarca la membrana una vez, con su término NH_2 orientado hacia el lumen del RE o el espacio extracelular. El término NH_2 contiene un dominio de mano EF y funcional como el sensor de Ca^{2+} en el RE. La proteína también contiene dominios de interacción de proteína– proteína, notablemente dominios enrollados–enrollados en el citoplasma y un motivo estéril (SAM) en el RE (o espacio extracelular), ambos cerca del dominio transmembrana pronosticado. STIM1 puede oligomerizarse y así la proteína en el RE y en la

membrana plasmática podrían interactuar puenteando a los dos (Roos, J. *et al. J. Cell Biol.* 169, 435–445 (2005)).

La fluorescencia de reflexión interna total (TIRF, por sus siglas en inglés) y la microscopia confocal revelan que STIM1 es distribuida por todo el RE cuando los depósitos de Ca2+ están llenos, pero se redistribuye en puntos discretos cerca de la membrana plasmática con la depleción de los depósitos. Si bien la redistribución de STIM1 en regiones de RE de empalme es lenta (Liou, J. *et al. Curr. Biol.* 15, 1235–1241 (2005); Zhang, S. L. *et al. Nature* 437, 902–905 (2005), la misma precede la abertura de los canales de CRAC por diversos segundos (Wu *et al.*, *J. Cell Biol.* 174, 803–813 (2006)) y es por lo tanto lo suficientemente rápida para ser un paso esencial en la activación de los canales de CRAC.

Se ha sugerido que el vaciado de los depósitos intracelulares causa la inserción de STIM1 en la membrana plasmática donde puede controlar la entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares a través de los canales de CRAC (Zhang, S. L. *et al. Nature* 437, 902–905 (2005) ; Spassova, M. A. *et al. Proc. Natl Acad. Sci. USA* 103, 4040–4045 (2006)).

La evidencia crítica para STIM1 como el sensor de Ca^{2+} para SOCE es que la mutación de residuos de unión a Ca2+ pronosticados del motivo estructural de mano EF, que se espera que reduzca su afinidad para Ca^{2+} y por ende imitar el estado de vaciado de depósitos intracelulares, hace que STIM1 se redistribuya espontáneamente en puntos y active el influjo de Ca2+ constitutivo a través de los SOCs aun cuando los depósitos se encuentran llenos (Spassova, M. A. *et al. Proc. Natl Acad. Sci.* USA 103, 4040–4045 (2006) ; Liou, J. *et al. Curr. Biol.* 15, 1235–1241 (2005)).

Proteínas Orai

Orai1 (también conocida como CRACM1) es una proteína de membrana plasmática de 33 kDa ampliamente expresada con 4 dominios transmembrana y una falta de homología de secuencia significativa con otros canales iónicos (Vig, M. *et al. Science* 312, 1220–1223 (2006) ; Zhang, S. L. *et al. Proc. Natl Acad. Sci. USA* 103, 9357–9362 (2006)).

Los estudios de células T de pacientes humanos con un síndrome de inmunodeficiencia combinada severa (SCID, por sus siglas en inglés), en el cual la vinculación de receptor de células T o depleción de depósitos intracelulares no pudieron activar la entrada de Ca^{2+}, se demostró que se debía a una única mutación puntual en Orai1 (Feske, S. *et al. Nature* 441, 179–185 (2006)).

Existen otros homólogos de Orai mamíferos, por ej., Orai2 y Orai3, sin embargo, su función no está claramente definida. Orai2 y Orai3 pueden exhibir actividad de canales SOC cuando son sobreexpresadas con STIM1 en células HEK (Mercer, J. C. et al. J. Biol. Chem. 281, 24979–24990 (2006)).

Se obtuvo evidencia de que Orai1 contribuye con el poro de canal de CRAC mediante estudios de mutagénesis de Orai1. La selectividad del canal de CRAC para iones Ca^{2+} se demostró mediante mutaciones en Glu 106 o Glu 190, las cuales debilitan la capacidad de unión de Ca^{2+} en permeación de bloque en orden de cationes monovalentes (similar a los mecanismos descritos para los canales de Ca2+ dependientes del voltaje) (Yeromin, A. V. *et al. Nature* 443, 226–229 (2006) ; Vig, M. *et al. Curr. Biol.* 16, 2073–2079 (2006) ; Prakriya, M. *et al. Nature* 443, 230–233 (2006)).

La neutralización de la carga en un par de aspartatos en el lazo I–II (Asp 110 y Asp 112) reduce el bloqueo por Gd^{3+} y el bloqueo de la corriente hacia afuera mediante Ca^{2+} extracelular, lo cual indica que estos sitios de carga negativa pueden promover la acumulación de cationes polivalentes cerca de la boca del poro.

Las corrientes observadas a través de la sobreexpresión de Orai1 se asemejan cercanamente a I_{CRAC}, y el hecho de que Orai1 pueda formar multímeros (Yeromin, A. V. *et al. Nature* 443, 226–229 (2006) ; Vig, M. *et al. Curr. Biol.* 16, 2073–2079 (2006) ; Prakriya, M. *et al. Nature* 443, 230–233 (2006)), hace probable que el canal de CRAC nativo sea un multímero de Orai1 por sí solo o en combinación con las subunidades estrechamente relacionadas Orai2 y/o Orai3.

Canales de Calcio Activados por Vaciado de Depósitos Intracelulares Funcionales

Se ha obtenido en gran medida la caracterización de los canales SOC mediante un tipo de canal SOC, el canal CRAC. La actividad del canal de CRAC es activada por la pérdida de Ca^{2+} desde el lumen de RE, que es acoplado a la abertura de los canales de CRAC en la membrana plasmática a través de las acciones de STIM1 y Orai1. La depleción de Ca^{2+} es captada por STIM1, haciendo que se acumule en RE de unión adyacente a la membrana plasmática. En un estudio de imágenes de Ca2+ basado en TIRF para mapear las ubicaciones de los canales de CRAC abiertos, las elevaciones de $[Ca^{2+}]_i$ fueron observadas para co–localizar con puntos de STIM1, demostrando directamente que los canales de CRAC se abren solamente en proximidad extrema a estos sitios (Luik, *et al., J. Cell Biol.* 174, 815–825 (2006)).

En células que co–expresan tanto STIM1 como Orai1, la depleción de los depósitos intracelulares hace que Orai1 misma se mueva desde una distribución dispersa para acumularse en la membrana plasmática directamente opuesta a STIM1, permitiendo que STIM1 active el canal (Luik, *et al.*, *J. Cell Biol.* 174, 815–825 (2006); Xu, P. *et al. Biochem. Biophys. Res. Commun*. 350, 969–976 (2006)). Por consiguiente, los canales de CRAC son formados por agrupamientos opuestos de STIM1 en el RE y Orai1 en la membrana plasmática. El espacio vacío en la unión entre el RE y la membrana plasmática donde se forman los agrupamientos de Orail/STIM 1 (aproximadamente 10–25 nm) puede ser lo suficientemente pequeño para permitir interacciones proteína– proteína entre STIM 1 y Orail. Esto es respaldado por el hecho de que STIM1 y Orai1 sobreexpresadas pueden ser co–inmunoprecipitadas (Yeromin, A. V. *et al. Nature* 443, 226–229 (2006); Vig, M. *et al. Curr. Biol.* 16, 2073–2079 (2006)).

Por consiguiente, STIM1 y Orai1 interactúan ya sea directamente o como miembros de un complejo de múltiples proteínas. Se observó un respaldo para esto cuando la expresión de la porción citosólica de STIM1 por sí misma fue suficiente para activar los canales de CRAC en un estudio (Huang, G. N. *et al. Nature Cell Biol*. 8, 1003–1010 (2006)), y los efectos de seleccionar el ERM/hélice superenrrollada y otros dominios de terminal C sugieren roles en agrupamiento de STIM1 y activación del canal SOC (Baba, Y. *et al. Proc. Natl Acad. Sci. USA* 103, 16704–16709 (2006)). En el lado luminal de STIM1, la región EF–SAM aislada forma dímeros y multímeros de orden más elevado con la remoción de Ca^{2+} in vitro, lo cual indica que la oligomerización de STIM1 puede ser un paso temprano en la activación del calcio activada por los depósitos intracelulares (Stathopulos, *et al., J. Biol. Chem*. 281, 35855–35862 (2006)).

En algunas instancias, los compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) descritos en esta invención modulan el calcio intracelular, tal como, inhibición o reducción de SOCE y/o I_{CRAC}. En otras instancias, la modulación por los compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) es el resultado de una variedad de efectos, tales como, aunque sin limitarse a, la unión a una proteína, interacción con una proteína, o modulación de interacciones, actividades, niveles o cualquier propiedad física, estructural u otra propiedad de una proteína involucrada en la modulación del calcio intracelular (por ej., una proteína STIM y/o proteína Orai).

Por ejemplo, los métodos para evaluar la unión o interacción de un agente de ensayo con una proteína involucrada en la modulación de calcio intracelular incluyen RMN, espectroscopia de masas, espectroscopia por fluorescencia, ensayos de proximidad por centelleo, ensayos de resonancia de plasmones superficiales y demás. Los ejemplos de métodos para evaluar la modulación de interacciones, actividades, niveles o cualquier propiedad física, estructural u otra propiedad de una proteína involucrada en la modulación de calcio intracelular incluyen, aunque sin limitarse a, ensayos FRET para evaluar los efectos sobre las interacciones proteicas, RMN, cristalografía de rayos X y dicroismo circular para evaluar los efectos sobre las interacciones proteicas y sobre las propiedades físicas y estructurales de una proteína, y ensayos de actividad adecuados para evaluar una actividad en particular de una proteína.

Supervisión o Evaluación de Efectos sobre el Calcio Intracelular

En algunas instancias, la supervisión o evaluación del efecto de un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) sobre calcio intracelular en cualquiera de los métodos de screening/identificación descritos en esta invención, una evaluación directa o indirecta o medición de calcio celular (incluyendo citosólico y organelo intracelular o compartimiento) y/o movimiento de iones en, dentro o fuera de una célula, organelo, depósito de calcio o sus porciones (por ej., una membrana) se llevan a cabo. En la presente invención se describe una variedad de métodos para evaluar los niveles de calcio y movimientos de iones o flujo. El método en particular empleado y las condiciones empleadas dependen de si un caso en particular de calcio intracelular está siendo monitoreado o evaluado. Por ejemplo, en algunas instancias descritas en esta invención, se conocen y se emplean reactivos y condiciones para evaluar específicamente la entrada del calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares, niveles de calcio citosólico en reposo, tamponación de calcio y niveles y absorción de calcio por o liberación de organelos intracelulares y depósitos de calcio. En otras instancias, el efecto de un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) sobre el calcio intracelular es controlado o evaluado empleando, por ejemplo, una célula, un organelo intracelular o compartimiento de almacenamiento de calcio, una membrana (incluyendo por ej., un parche de membrana desprendido o una bicapa lipídica) o un sistema de ensayo libre de célula (por ej., vesícula de membrana hacia afuera– afuera (“outside–out”)). En general, algún caso de calcio intracelular es controlado o evaluado en presencia de agente de ensayo y comparado con un control, por ej., calcio intracelular en ausencia de agente de ensayo.

Métodos de Modulación de Calcio Intracelular

En algunas instancias, la modulación de calcio intracelular es cualquier alteración o ajuste en calcio intracelular incluyendo, aunque sin limitarse a, alteración de la concentración o nivel de calcio en el citoplasma y/o organelos de almacenamiento de calcio intracelular, por ej., retículo endoplásmico, alteración en el movimiento de calcio hacia adentro, hacia afuera y dentro de una célula o depósito de calcio intracelular u organelo, alteración en la ubicación de calcio dentro de una célula, y alteración de la cinética, u otras propiedades, de los

flujo de calcio hacia adentro, hacia afuera y dentro de las células. En algunas instancias, la modulación del calcio intracelular involucra la alteración o ajuste, por ej. reducción o inhibición, de la entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares, tamponación de calcio citosólico, niveles de calcio en o movimiento de calcio hacia adentro, hacia afuera o dentro de un depósito de calcio intracelular u organelo, y/o niveles de calcio citosólico basales o en reposo. En algunas instancias, la modulación de calcio intracelular involucra un alteración o ajuste en el movimiento de iones mediado por receptor (por ej., calcio), movimiento de iones (por ej. calcio) activado por segundo mensajero, influjo de calcio y flujo saliente de una célula, y/o absorción de iones (por ej., calcio) hacia dentro o liberación de compartimientos intracelulares, incluyendo, por ejemplo, endosomas y lisosomas.

En un caso, los compuestos descritos en esta invención modulan el calcio intracelular, tal como aunque sin limitarse a, modulación (por ej., reducción o inhibición) de la actividad del canal SOC, tal como inhibición de la actividad de canal de CRAC (por ej. inhibición de I_{CRAC}, inhibición de SOCE), en una célula del sistema inmune (por ej., un linfocito, glóbulo blanco, célula T, célula B), un fibroblasto (o una célula derivada de un fibroblasto), o una célula epidérmica, dérmica o cutánea (por ej., un queratinocito). En algunas instancias, el paso de modular una o más proteínas involucradas en la modulación del calcio intracelular (por ej. una proteína STIM y/o proteína Orai) involucra, por ejemplo, reducir el nivel, expresión de, una actividad de, función de y/o interacciones moleculares de una proteína. Por ejemplo, si una célula exhibe un aumento en los niveles de calcio o falta de regulación de un caso de la modulación del calcio intracelular, por ej., entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares, entonces en otras instancias, la modulación involucra reducir el nivel de, expresión de, una actividad o función de, o una interacción molecular de una proteína, por ej. una proteína STIM y/o proteína Orai.

Compuestos

Los compuestos descritos en esta invención modulan el calcio intracelular y pueden ser empleados en el tratamiento de enfermedades o afecciones donde la modulación del calcio intracelular tiene un efecto beneficioso. En una instancia, los compuestos descritos en esta invención inhiben la entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelular. En una instancia, los compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) interrumpen el ensamblaje de unidades de SOCE. En otra instancia, los compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) alteran las interacciones funcionales de proteínas que forman complejos de canales de calcio activados por los depósitos intracelulares. En una instancia, los compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) alteran las interacciones funcionales de STIM1 con Orai1. En otras instancias, los compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) son bloqueadores del poro del canal SOC. En otras instancias, los compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) son bloqueadores del poro del canal de CRAC.

En un caso, los compuestos descritos en esta invención inhiben la corriente electrofisiológica (I_{SOC}) directamente asociada con los canales SOC activados. En otro caso, los compuestos descritos en esta invención inhiben la corriente electrofisiológica (I_{CRAC}) directamente asociada con los canales de CRAC activados.

Las enfermedades o trastornos que pueden beneficiarse de la modulación del calcio intracelular incluyen, aunque sin limitarse a, una enfermedad relacionada con el sistema inmunológico (por ej., una enfermedad autoinmune), una enfermedad o trastorno que involucra inflamación (por ej., asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, artritis reumatoide, enfermedad intestinal inflamatoria, glomerulonefritis, enfermedades neuroinflamatorias, esclerosis múltiple, y trastornos del sistema inmunológico), cáncer u otra enfermedad proliferativa, enfermedad renal y enfermedad hepática. En un caso, los compuestos descritos en esta invención pueden ser empleados como inmunosupresores para evitar los rechazos de injerto con trasplante, rechazo de trasplante alogeneico o xenogeneico (órgano, médula ósea, células madre, otras células y tejidos), enfermedad de injerto versus huésped. Los rechazos de injertos en trasplantes puede ser el resultado de trasplantes de tejidos u órganos. La enfermedad de injerto versus huésped puede ser resultado de trasplante de médula ósea o de células madre.

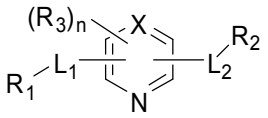
Los Compuestos descritos en esta invención modulan una actividad de, modulan una interacción de, o se unen a, o interactúa con por lo menos una porción de una proteína en el complejo de canales de calcio activados por el vaciado de los depósitos intracelulares. En una instancia, los compuestos descritos en esta invención modulan una actividad de, modulan una interacción de, o se unen a, o interactúan con por lo menos una porción de una proteína en el complejo de canales de calcio activados por liberación de calcio. En un caso, los compuestos descritos en esta invención reducen el nivel de complejos de canales de calcio activados por el vaciado de los depósitos intracelulares funcionales. En un caso, los compuestos descritos en esta invención reducen el nivel de complejos de canales del calcio activados por el vaciado de los depósitos intracelulares activados. En un caso, complejos de canales del calcio activados por el vaciado de los depósitos intracelulares son complejos de canales de calcio activados por la liberación del calcio.

Los compuestos descritos en esta invención para tratamiento de una enfermedad o trastorno, cuando se administran a un sujeto que tiene una enfermedad o trastorno reducen eficazmente, mejora o elimina un síntoma o manifestación de la enfermedad o trastorno. Los compuestos descritos en esta invención también pueden ser administrados a un sujeto predispuesto a una enfermedad o trastorno quien no manifiesta aun un síntoma de la enfermedad o trastorno, evita o retrasa el desarrollo de los síntomas. El agente puede tener ese tipo de efectos por sí solo o en combinación con otros agentes, o puede funcionar para aumentar un efecto terapéutico de otro agente.

Los compuestos descritos en esta invención, sales farmacéuticamente aceptables, profármacos farmacéuticamente aceptables, o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, modulan el calcio intracelular, pueden ser empleados para tratar pacientes donde la modulación del calcio intracelular proporciona beneficio.

En un caso, los compuestos descritos en esta invención son inhibidores selectivos de la actividad del canal de CRAC.

En otro caso, descrito en esta invención es un compuesto que tiene la estructura de Fórmula (I):



Fórmula (I);

donde:

X es CR_3 o N;

L_1 es O, S, o NR_{11} donde R_{11} es H, alqueniloC_2–C_6 o alquilo C_1–C_6;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

R_1 es arilo o heteroarilo; donde arilo o heteroarilo es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3; o forma un sistema bicíclico;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo o heteroarilo donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo o heteroarilo es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, D, F, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, $–NR_5R_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, $–NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2N(R_5)_2$, $–N(R_5)S(=O)_2N(R_5)_2$, $–C(=O)CF_3$, $–C(=O)NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2NHC(=O)R_4$, $–N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)R_5$, $–N(R_5)C(=O)N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)OR_4$, $–CO_2R_5$, $–C(=O)R_5$, $–OC(=O)R_4$, $–OC(=O)N(R_5)_2$, $–CON(R_5)_2$, $–SR_5$, $–S(=O)R_4$, y $–S(=O)_2R_4$;

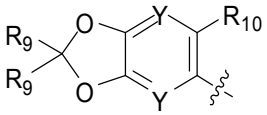
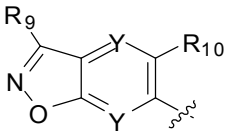
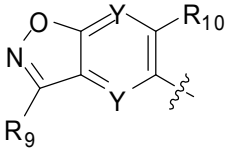
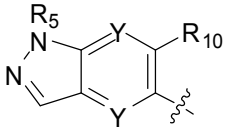
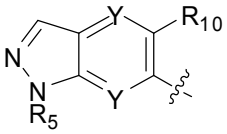
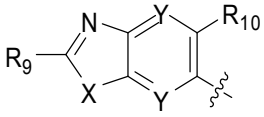
cada R_4 se selecciona independientemente entre alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

cada R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

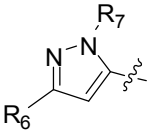
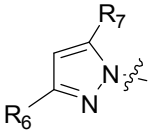
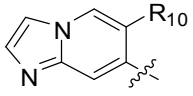
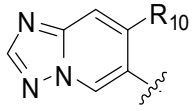
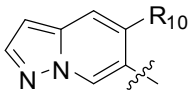
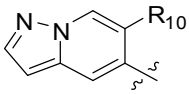
n es un número entero seleccionado entre 0 y 2;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Para cualquiera y todas las instancias, los sustituyentes se seleccionan entre un subconjunto de las alternativas enlistadas. Por ejemplo, en algunas instancias, R_1 es heteroarilo. En otras instancias, heteroarilo se selecciona entre tienilo, tiantrenilo, furilo, piranilo, tiadiazolilo, benzotiadiazolilo, isobenzofuranilo, cromenilo, xantenilo, fenoxatiinilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, indolizinilo, isoindolilo, 3*H*–indolilo, indolilo, indazolilo, purinilo, 4*H*–quinolizinilo, isoquinolilo, quinolilo, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, oxazolilo, cinolinilo, pteridinilo, 4a*H*–carbazolilo, carbazolilo, carbolinilo, fenantridinilo, acridinilo, perimidinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenarsazinilo, fenotiazinilo, furazanilo, y fenoxazinilo.

En algunas instancias, heteroarilo o sistema bicíclico se selecciona entre  ,  ,  ,  ,  ,  , donde R_9 y R_{10} son independientemente H, alquilo C_1–C_6, halógeno, carbonilalquilo C_1–C_6, o CF_3.

En otras instancias, el heteroarilo o sistema bicíclico se selecciona entre un benzoimidazolilo opcionalmente sustituido, un 5,6,7,8–tetrahidroindolizinilo opcionalmente sustituido, un imidazo[4,5–a]piridilo opcionalmente sustituido, un imidazo[1,2–a]piridilo opcionalmente sustituido, un imidazo[4,5–b]piridilo opcionalmente sustituido, y un imidazo[4,5–c]piridilo opcionalmente sustituido.

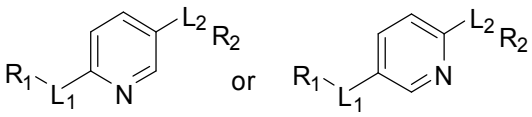
En una instancia, R_1 es un heteroarilo seleccionado entre  ,  ,  ,  ,  , o  ;

donde R_{10} se selecciona entre H, D, alquilo C_1–C_6. En una instancia, R_{10} es CF_3. En una instancia adicional, R_{10} es alquilo C_1–C_6. En una instancia R_{10} es C_2H_5. En aun otra instancia, R_{10} es CH_3.

En ciertas instancias, R_2 es arilo. En otras instancias, R_2 es fenilo. En ciertas instancias, el grupo fenilo es sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre F, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, y heteroarilo opcionalmente sustituido. En algunas instancias, fenilo es sustituido con al menos 2 sustituyentes o al menos 3 sustituyentes. En ciertas instancias, R_3 es flúor.

Una instancia es un compuesto de Fórmula (I) donde L_1 es O u S. En otra instancia, L_1 es O. En otra instancia, L_1 es NR_{11}. En una instancia, R_{11} es H. En otra instancia, R_{11} es alquilo C_1–C_6. En aun otra instancia, R_{11} es metilo. En otra instancia, R_{11} es etilo. En aun otra instancia, R_{11} es iso–propilo. En aun otra instancia, L_2 es –NH–C(=O)–. En aun otra instancia, L_2 es –C(=O)NH–.

En una instancia es un compuesto que tiene la estructura:



donde:

L_1 es O u NH;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

R_1 es arilo o heteroarilo; donde arilo o heteroarilo es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3; o forma un sistema bicíclico;

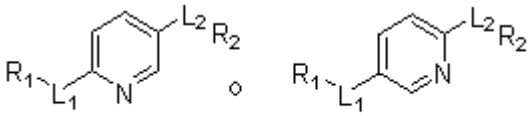
R_2 es arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, D, F, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, $–NR_5R_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, $–NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2N(R_5)_2$, $–N(R_5)S(=O)_2N(R_5)_2$, $–C(=O)CF_3$, $–C(=O)NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2NHC(=O)R_4$, $–N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)R_5$, $–N(R_5)C(=O)N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)OR_4$, $–CO_2R_5$, $–C(=O)R_5$, $–OC(=O)R_4$, $–OC(=O)N(R_5)_2$, $–CON(R_5)_2$, $–SR_5$, $–S(=O)R_4$, y $–S(=O)_2R_4$;

cada R_4 se selecciona independientemente entre alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

cada R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

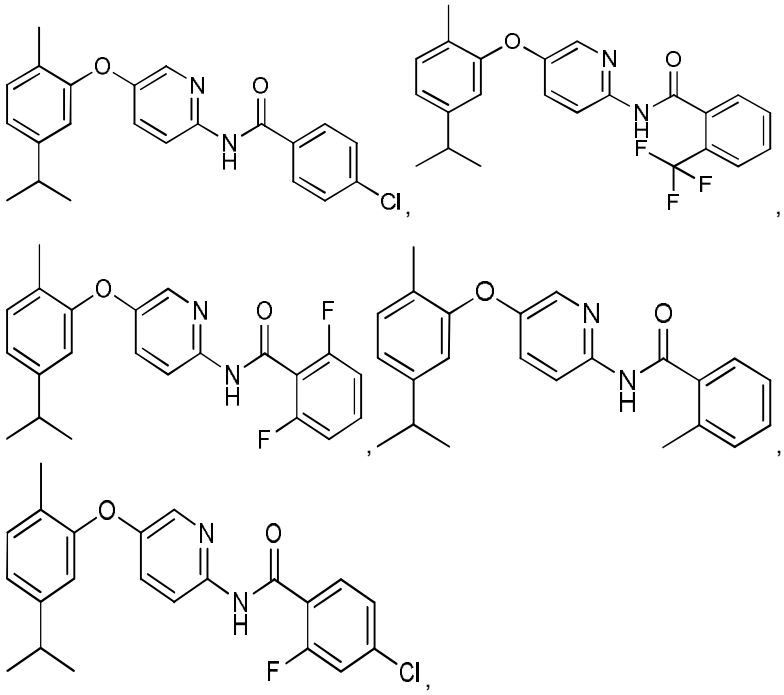
En una instancia, es un compuesto que tiene la estructura:

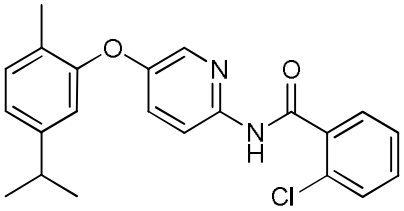
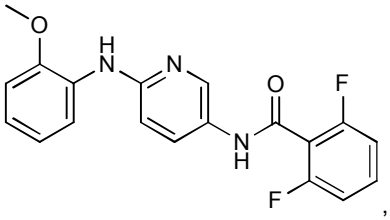
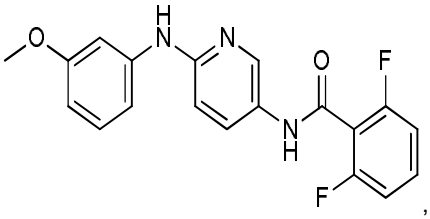
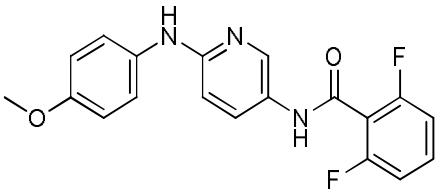
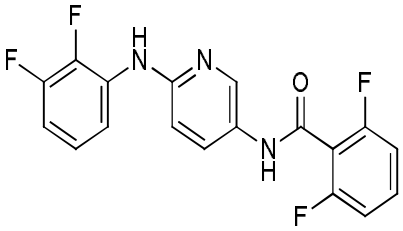
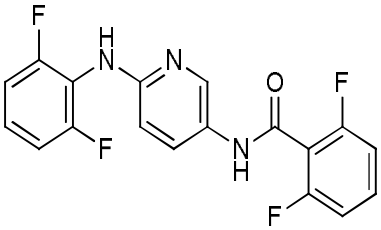
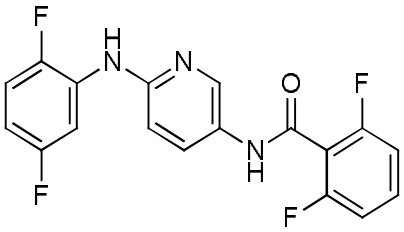
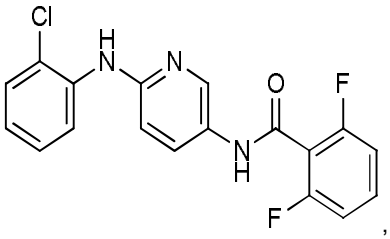
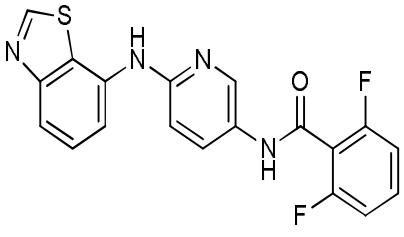


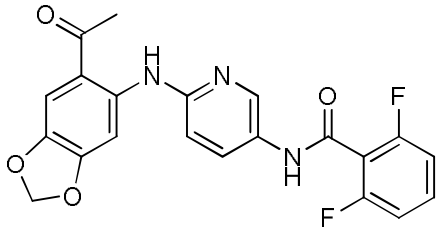
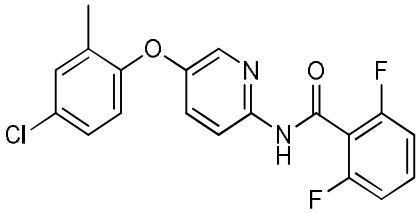
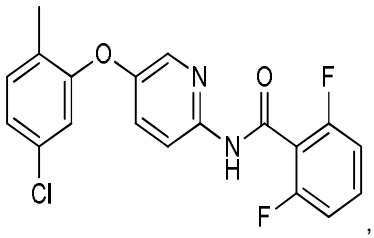
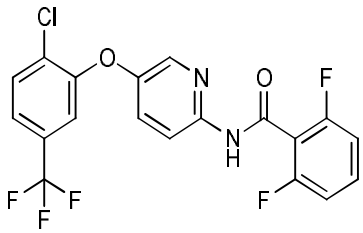
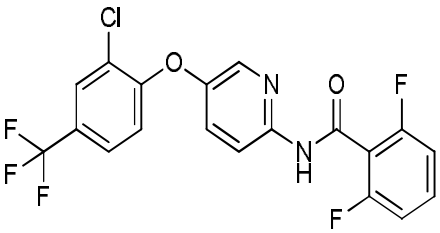
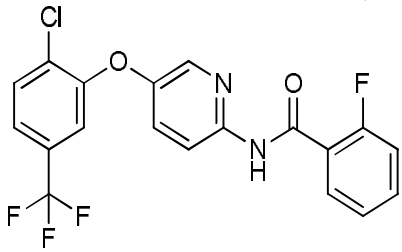
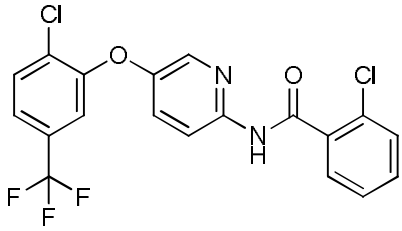
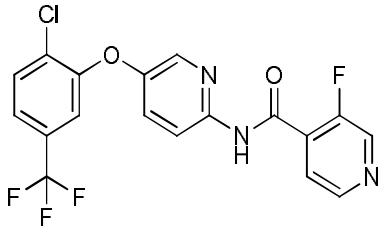
;

donde L_1 es O u NH; R_1 y R_2 son cada uno independientemente fenilo opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre halógeno, alquilo C_1–C_6, OH, OR_5, donde R_5 es alquilo C_1–C_6; L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–.

Aun otro caso es un compuesto seleccionado entre:

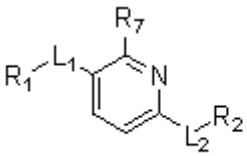
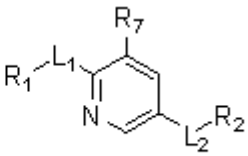



,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

, y

;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otra instancia es un compuesto que tiene la estructura:


o

;

donde:

L_1 es O, S, o NR_{11} donde R_{11} es H, alqueniloC_2–C_6 o alquilo C_1–C_6;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

R_1 es arilo o heteroarilo; donde arilo o heteroarilo es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3; o forma un sistema bicíclico;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo o heteroarilo donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo o heteroarilo es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

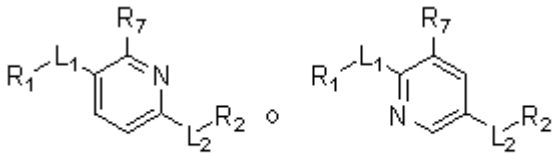
R_3 y R_7 cada uno se selecciona independientemente entre H, D, F, Cl, Br, I, –CN, –NO_2, –OH, –CF_3, –OCF_3, –OR_5, –NR_6R_5, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, –$NHS(=O)_2R_4$, –$S(=O)_2N(R_5)_2$, –$N(R_5)S(=O)_2N(R_5)_2$, –$C(=O)CF_3$, –$C(=O)NHS(=O)_2R_4$, –$S(=O)_2NHC(=O)R_4$, –$N(R_5)_2$, –$N(R_5)C(=O)R_5$, –$N(R_5)C(=O)N(R_5)_2$, –$N(R_5)C(=O)OR_4$, –CO_2R_5, –$C(=O)R_5$, –$OC(=O)R_4$, –$OC(=O)N(R_5)_2$, –$CON(R_5)_2$, –SR_5, –$S(=O)R_4$, y –$S(=O)_2R_4$;

cada R_4 se selecciona independientemente entre alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

cada R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

R_6 se selecciona entre H, alquilo C_1–C_6, C(O)H, C(O) alquilo C_1–C_6; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otra instancia es un compuesto que tiene la estructura:



;

donde:

L_1 es O, S, o NR_{11} donde R_{11} es H, C_2–C_6alquenilo o alquilo C_1–C_6;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

R_1 es arilo o heteroarilo; donde arilo o heteroarilo es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3; o forma un sistema bicíclico;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo o heteroarilo donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo o heteroarilo es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, D, F, Cl, Br, I, –CN, –NO_2, –OH, –CF_3, –OCF_3, –OR_5, –NR_6R_5, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, –$NHS(=O)_2R_4$, –$S(=O)_2N(R_5)_2$, –$N(R_5)S(=O)_2N(R_5)_2$, –$C(=O)CF_3$, –$C(=O)NHS(=O)_2R_4$, –$S(=O)_2NHC(=O)R_4$, –$N(R_5)_2$, –$N(R_5)C(=O)R_5$, –$N(R_5)C(=O)N(R_5)_2$, –$N(R_5)C(=O)OR_4$, –CO_2R_5, –$C(=O)R_5$, –$OC(=O)R_4$, –$OC(=O)N(R_5)_2$, –$CON(R_5)_2$, –SR_5, –$S(=O)R_4$, y –$S(=O)_2R_4$;

R_7 es –NR_6R_5;

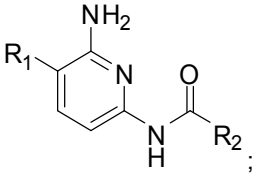
cada R_4 se selecciona independientemente entre alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

cada R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

R_6 se selecciona entre H, alquilo C_1–C_6, C(O)H, C(O) alquilo C_1–C_6; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una instancia R_7 es NH_2. En otra instancia, R_7 es F. En una instancia adicional, R_7 es OMe.

En aun otra instancia es un compuesto que tiene la estructura:



donde:

R_1 es arilo o heteroarilo; donde arilo o heteroarilo es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3; o forma un sistema bicíclico;

R_2 es arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

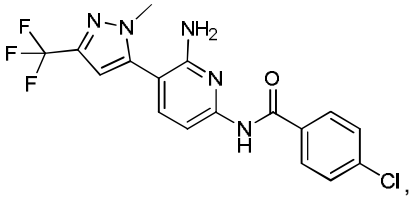
R_3 se selecciona independientemente entre H, D, F, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, $–NR_6R_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, $–NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2N(R_5)_2$, $–N(R_5)S(=O)_2N(R_5)_2$, $–C(=O)CF_3$, $–C(=O)NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2NHC(=O)R_4$, $–N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)R_5$, $–N(R_5)C(=O)N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)OR_4$, $–CO_2R_5$, $–C(=O)R_5$, $–OC(=O)R_4$, $–OC(=O)N(R_5)_2$, $–CON(R_5)_2$, $–SR_5$, $–S(=O)R_4$, y $–S(=O)_2R_4$;

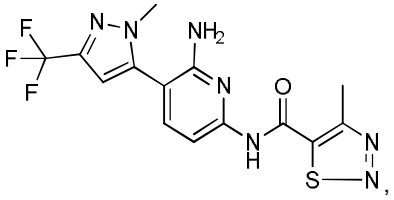
cada R_4 se selecciona independientemente entre alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

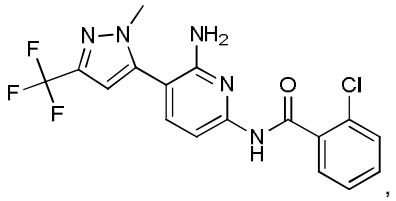
cada R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

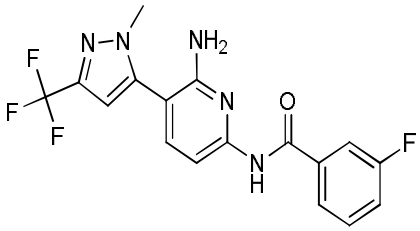
R_6 se selecciona entre H, alquilo C_1–C_6, C(O)H, C(O) alquilo C_1–C_6; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

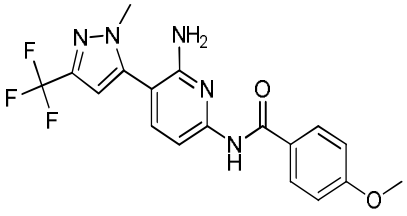
Una instancia adicional es un compuesto seleccionado entre:

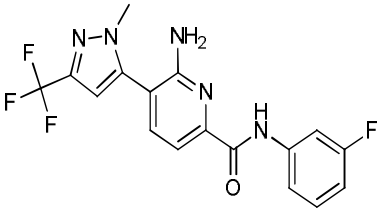


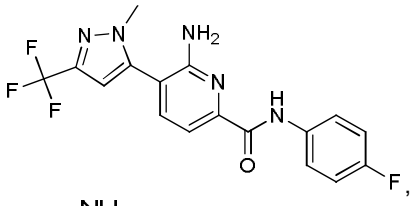


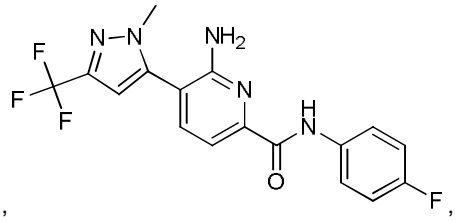


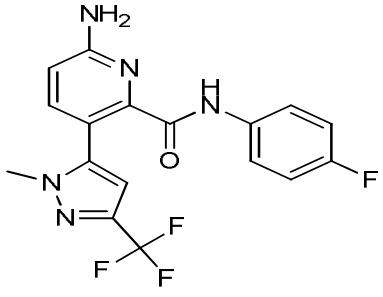


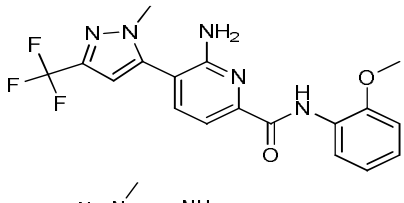


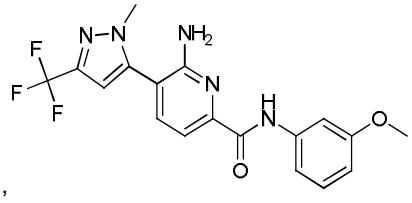


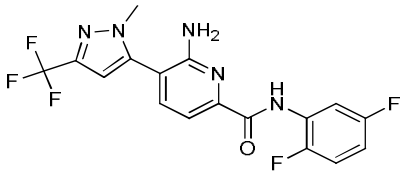


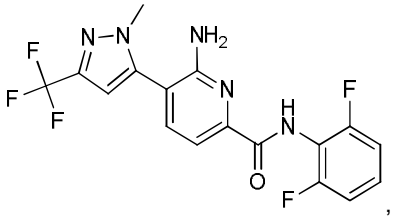


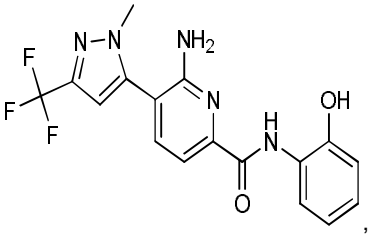


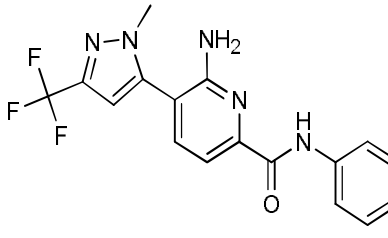


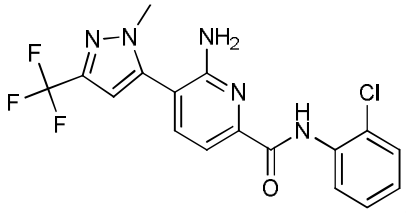
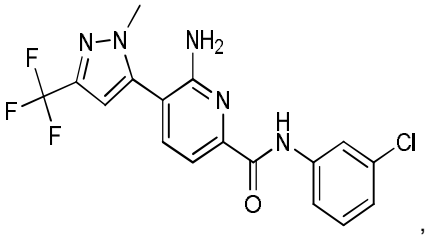
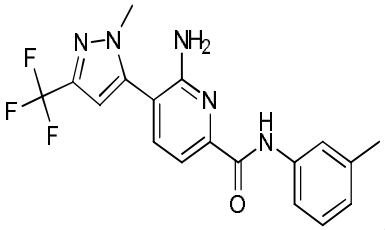
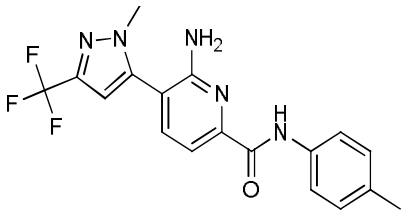
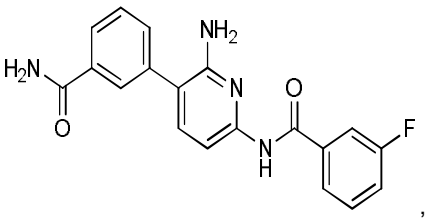
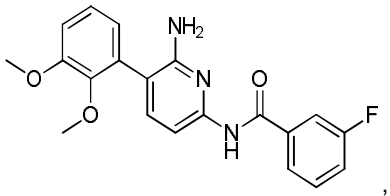
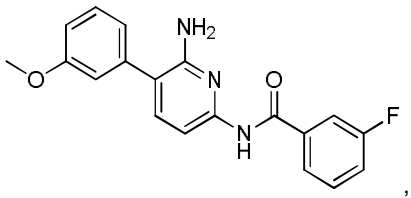
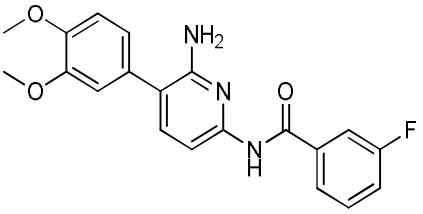
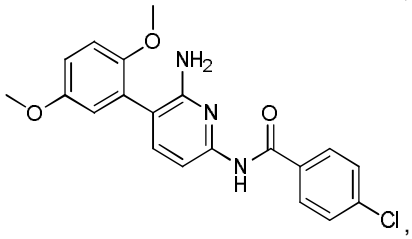


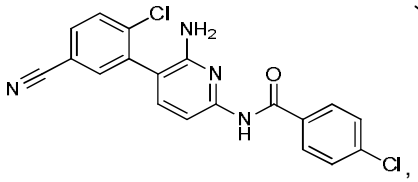


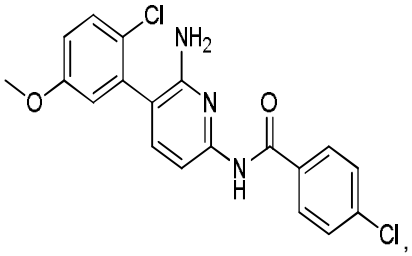


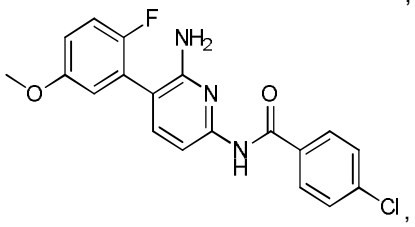


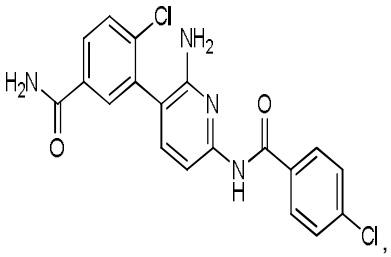


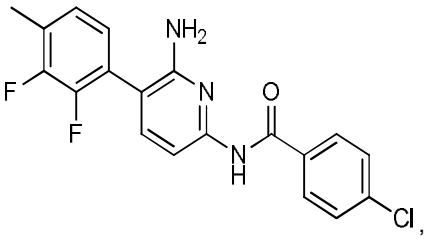

,

,

,

,

,

,

,

,

.

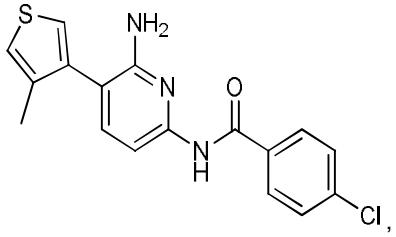


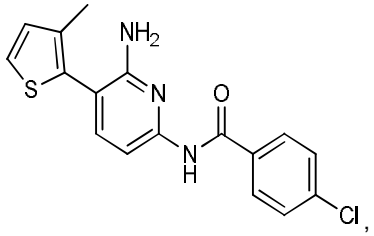


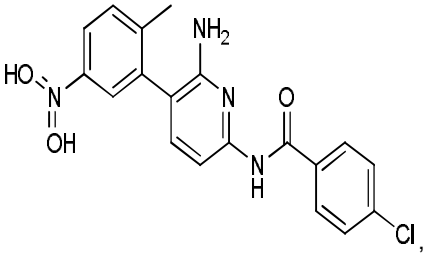


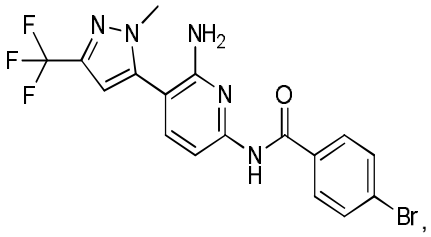


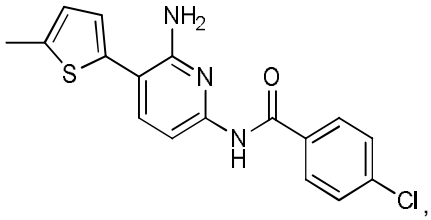


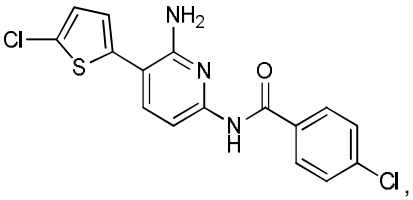


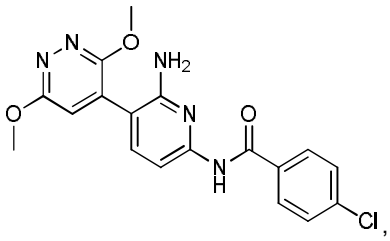


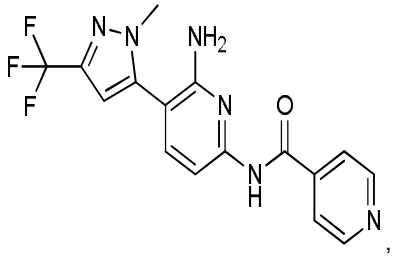


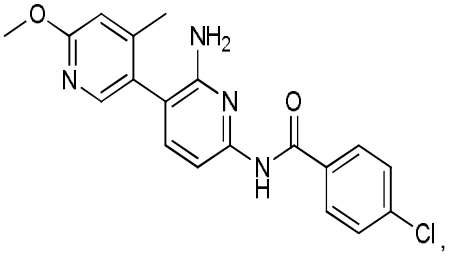


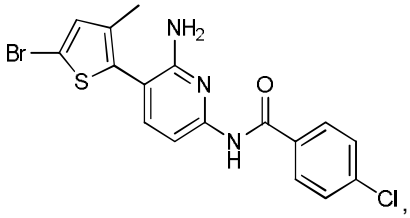


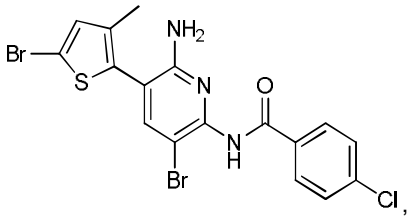


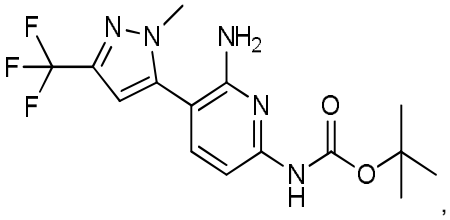


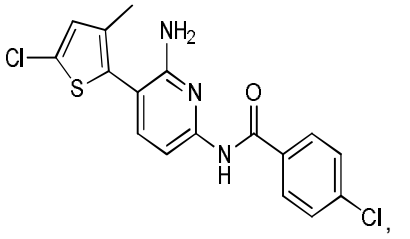


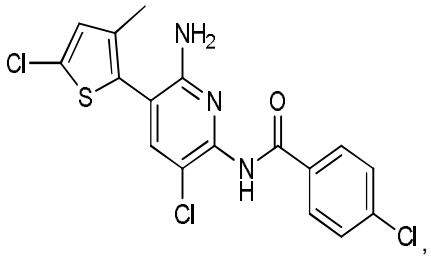


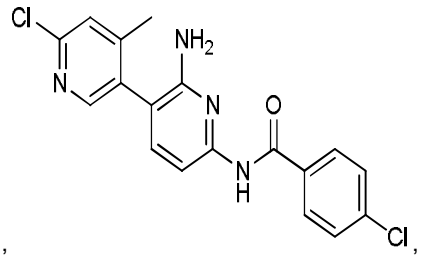


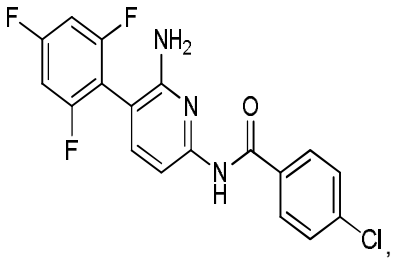


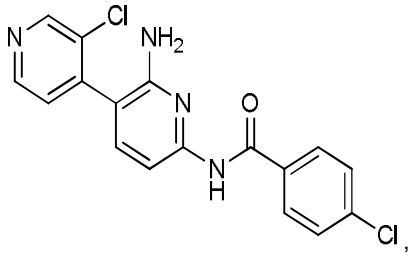


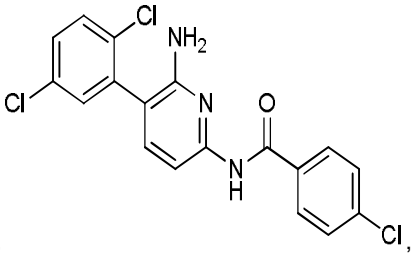


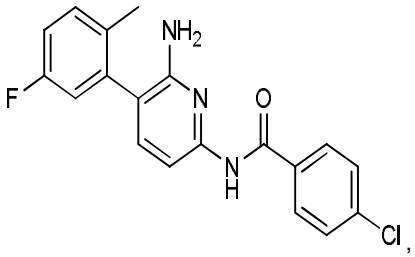


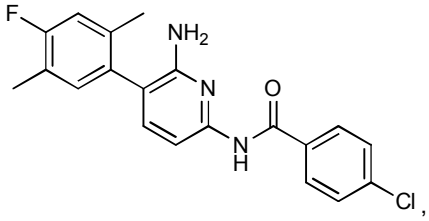


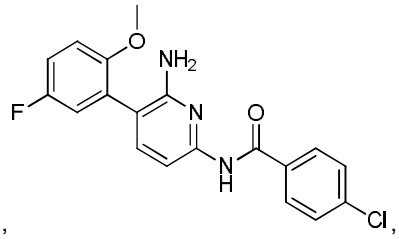


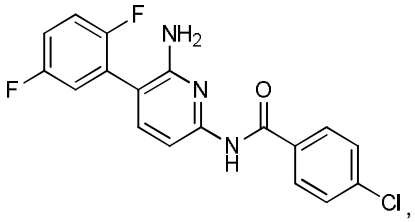


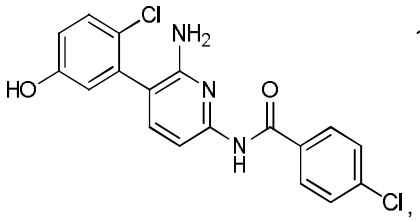


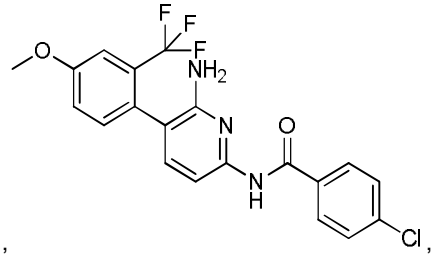


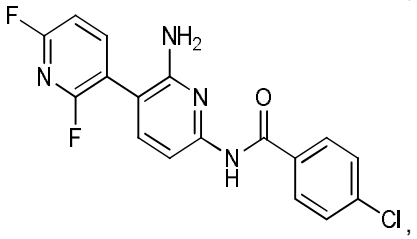


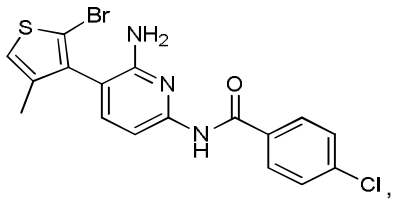


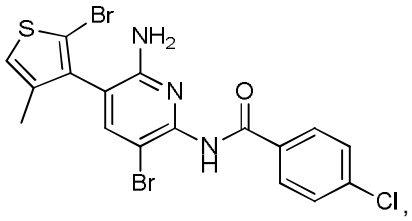


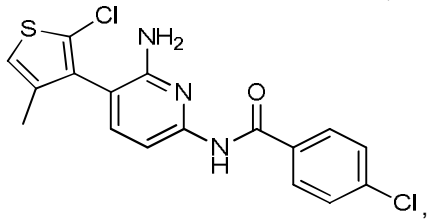


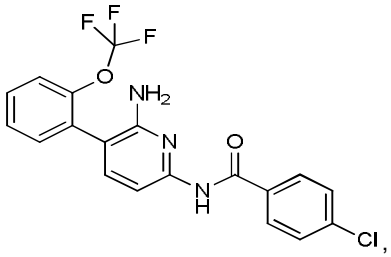


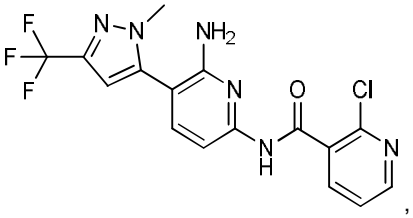


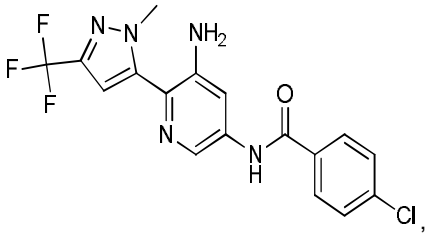


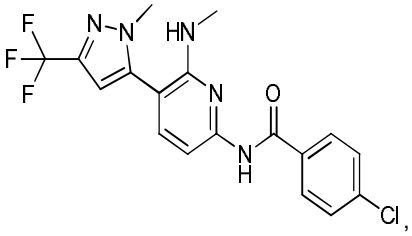


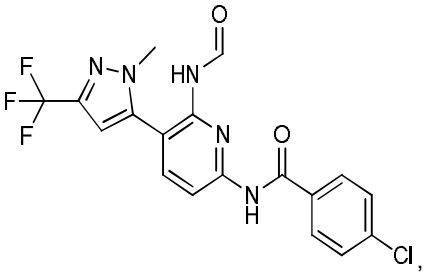


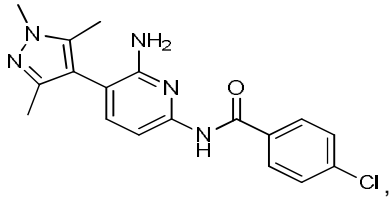


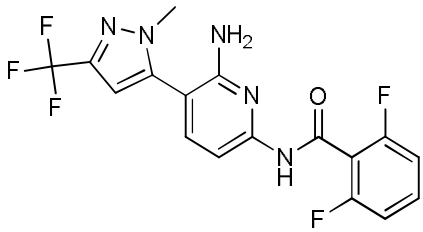


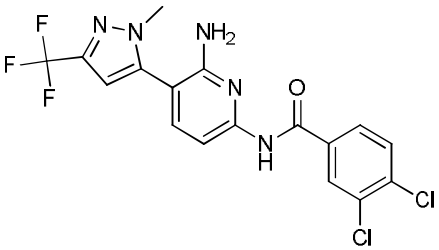


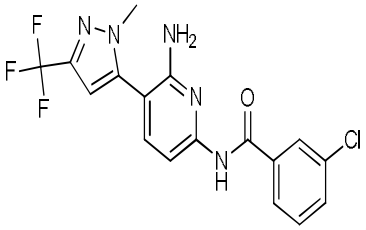


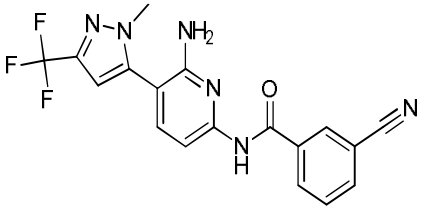


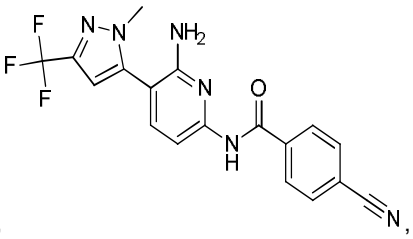


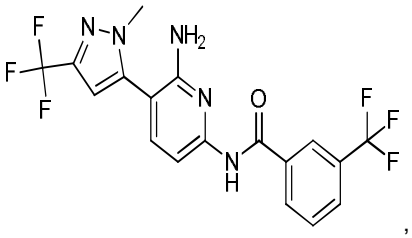


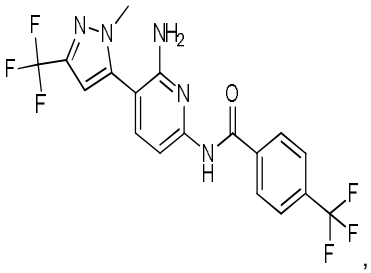


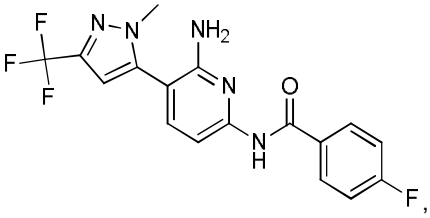


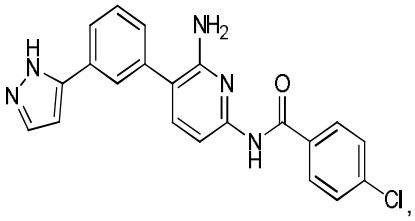


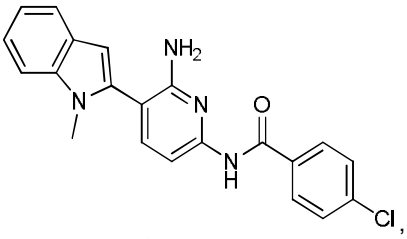


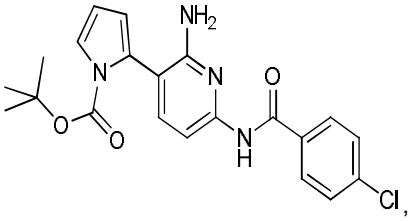


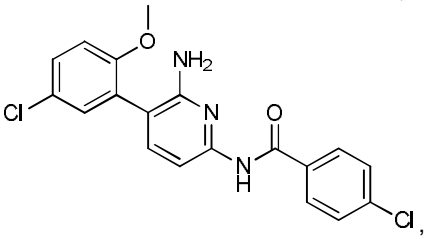


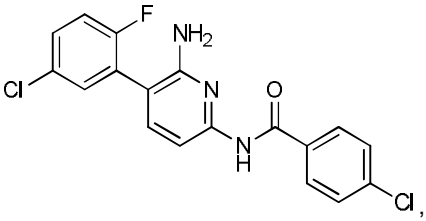


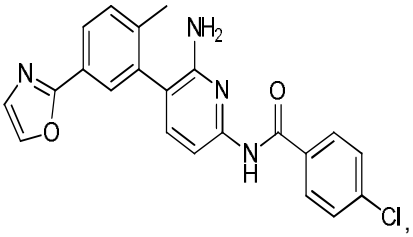


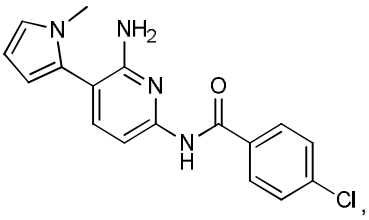


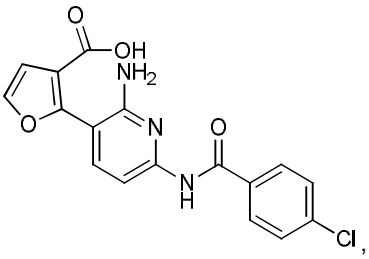


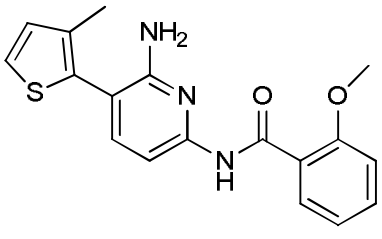


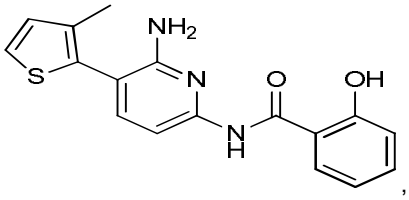


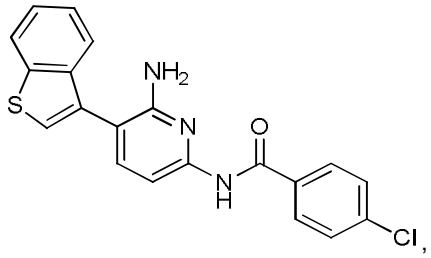


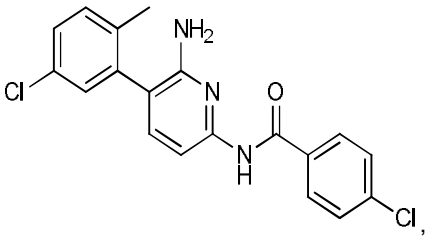


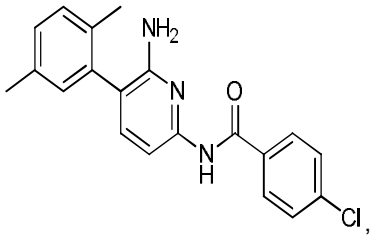


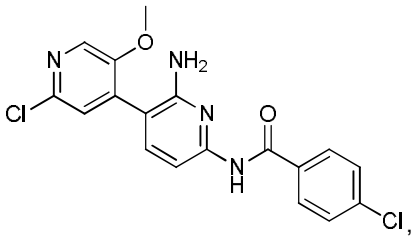


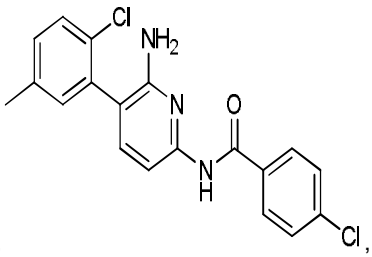


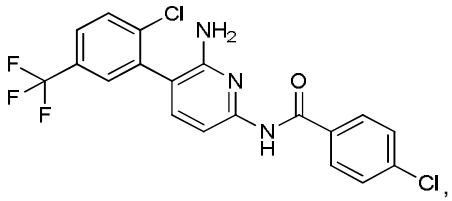


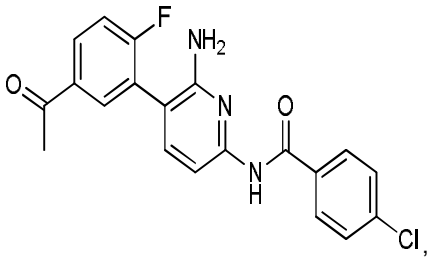


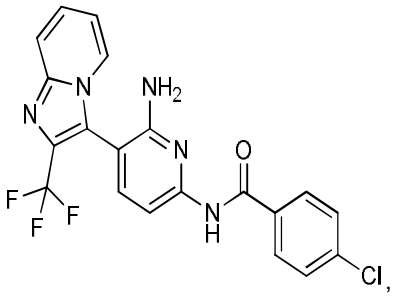


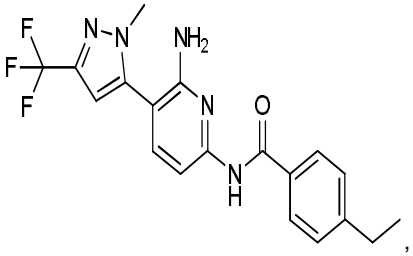


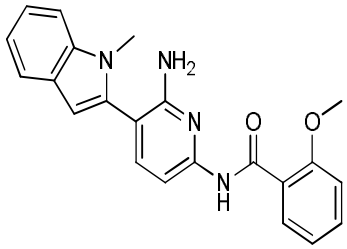
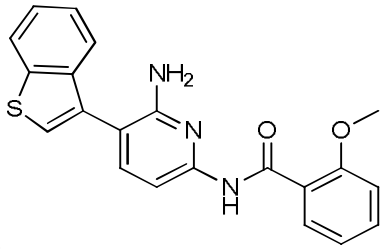
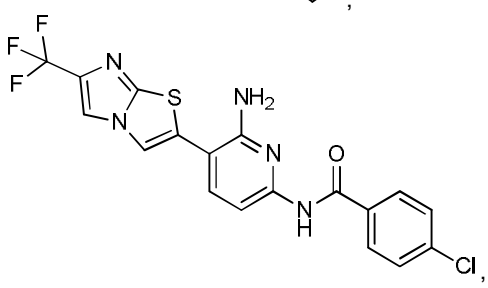
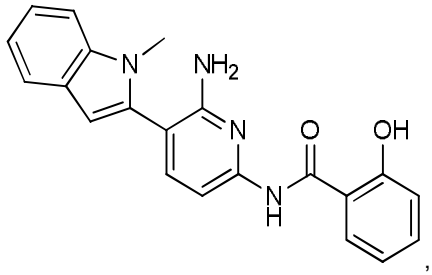
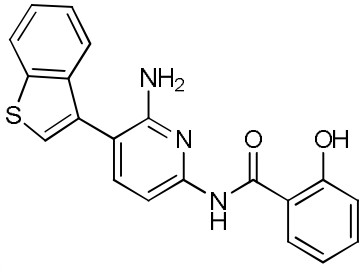
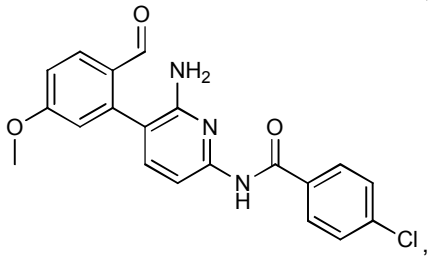
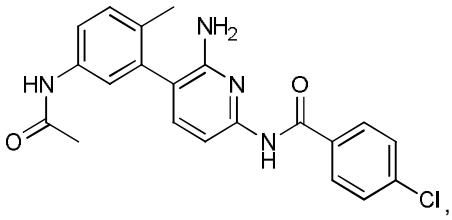
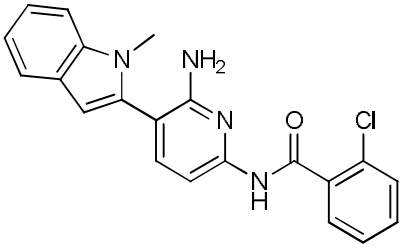
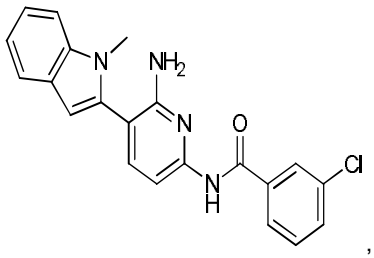


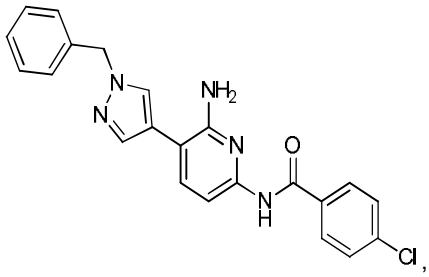


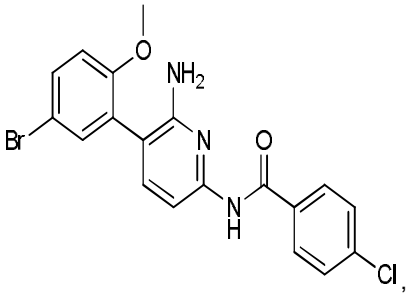


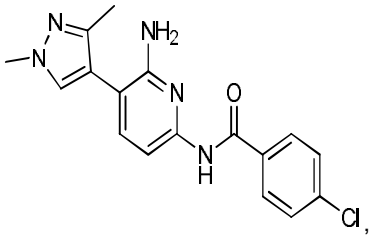


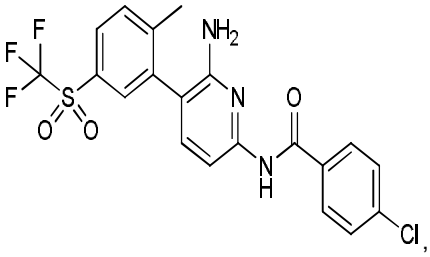


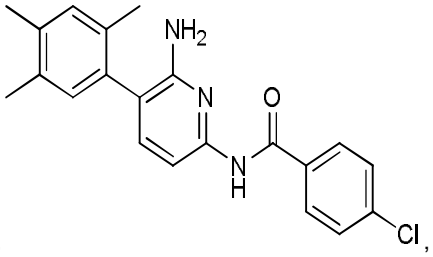

,

,

,

,

,

,

,

,

,

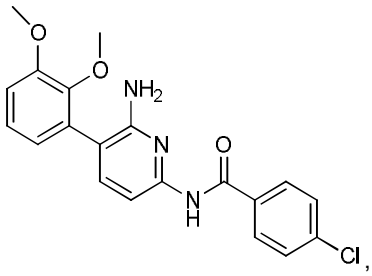


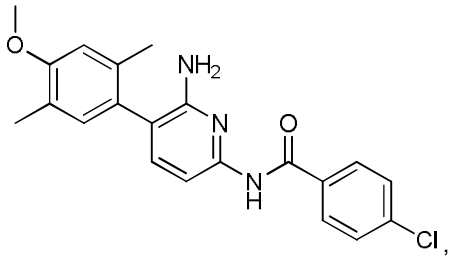


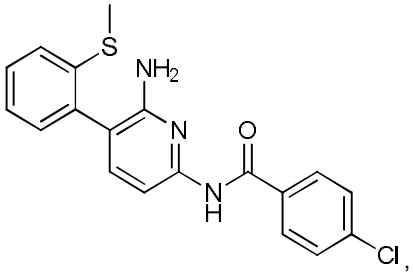


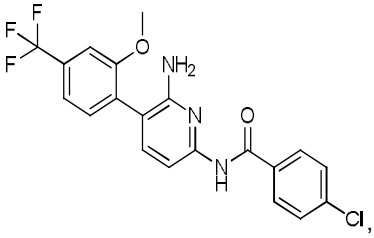


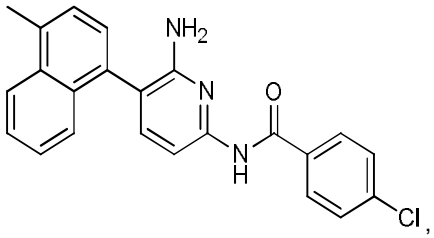


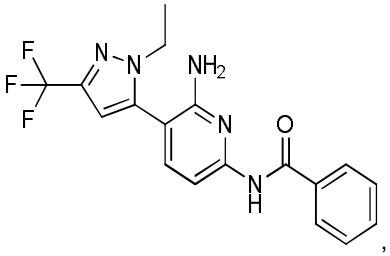


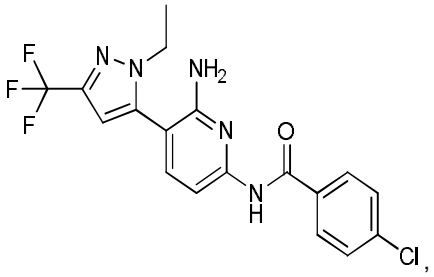


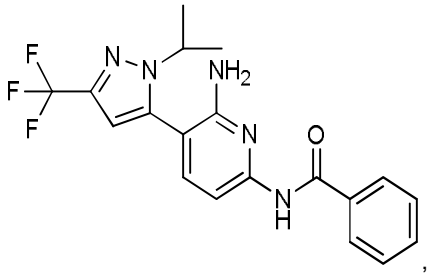


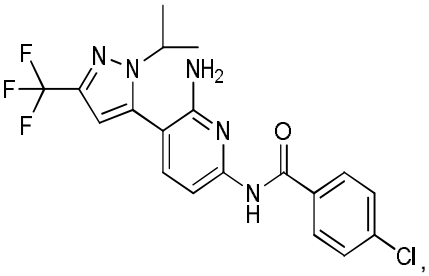


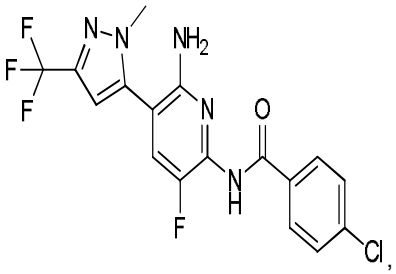


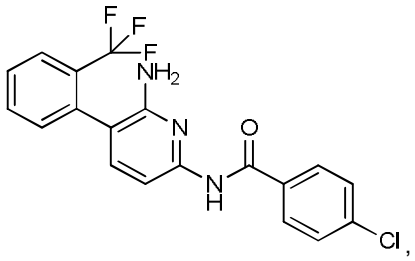


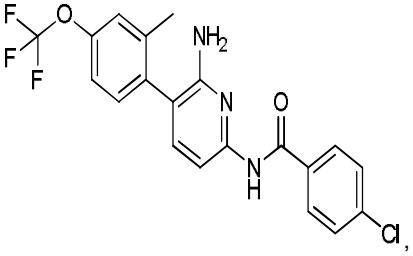


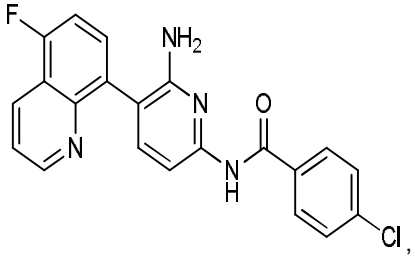


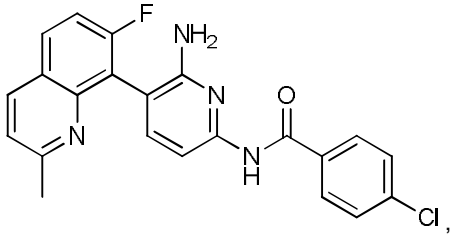


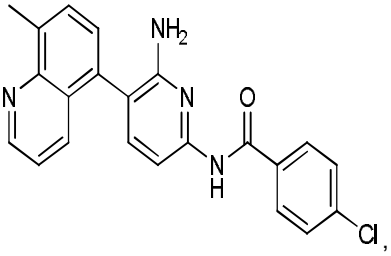


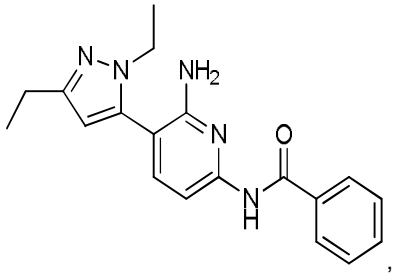


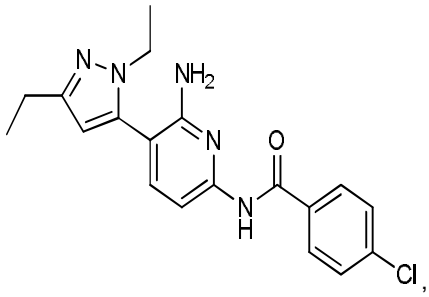


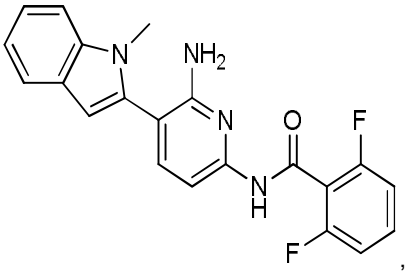


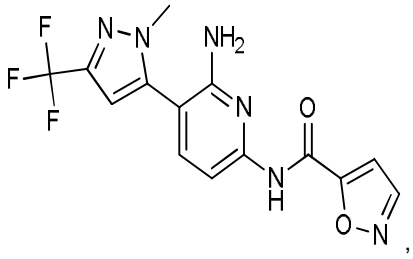


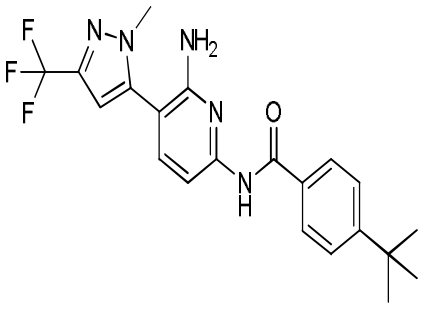


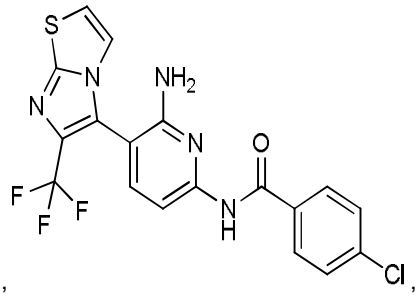


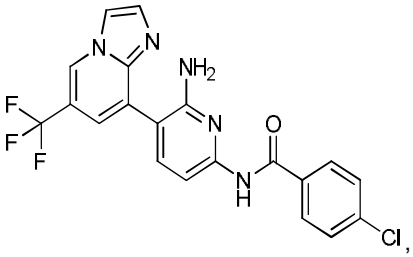


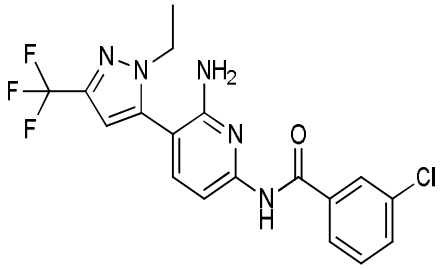
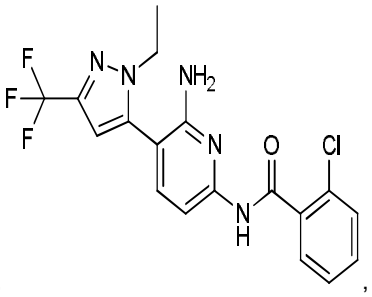
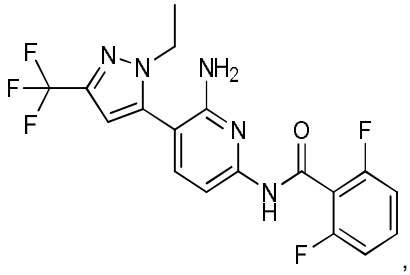
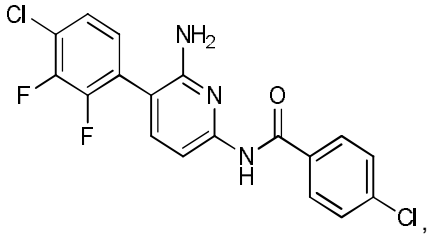
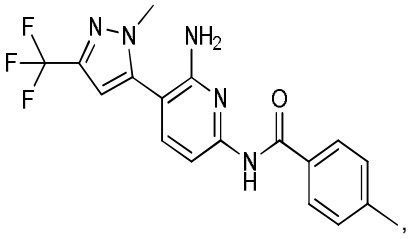
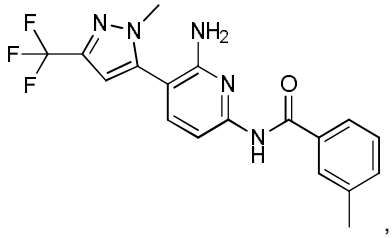
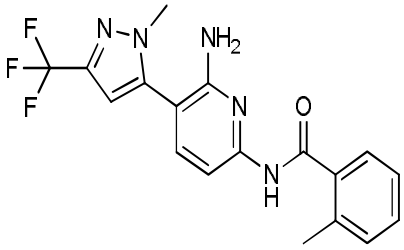
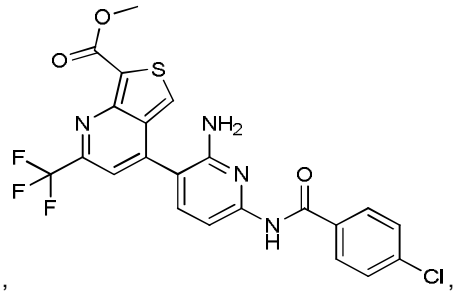
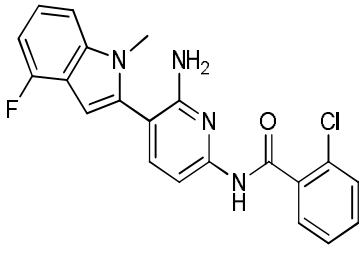


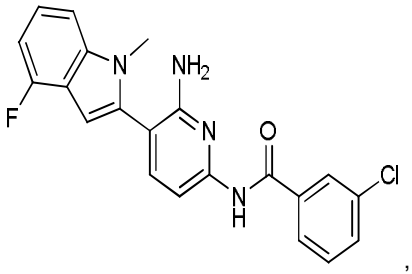
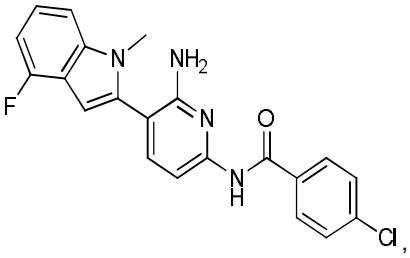
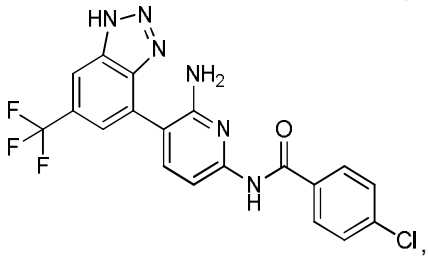
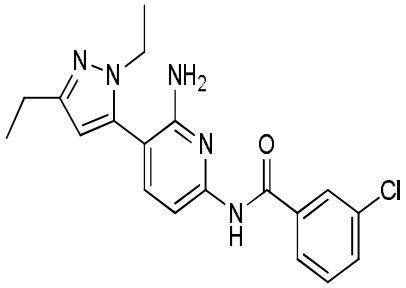
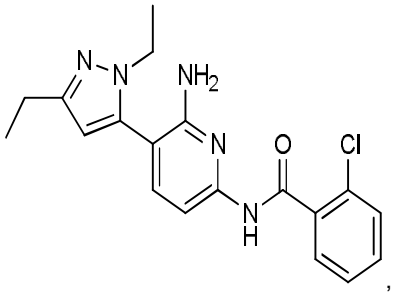
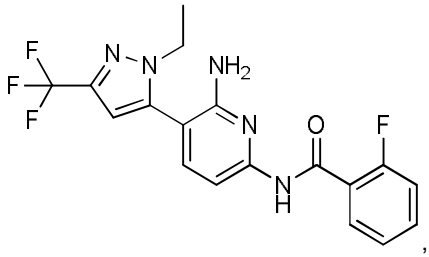
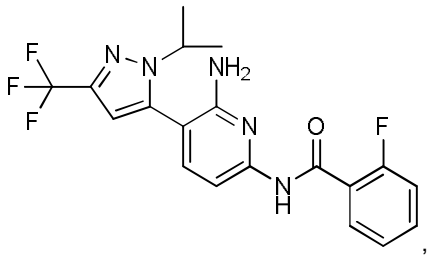
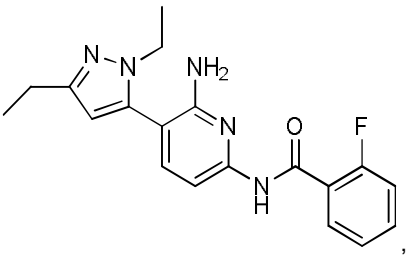
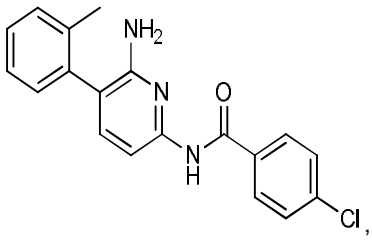


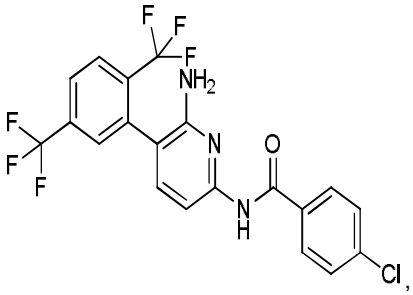


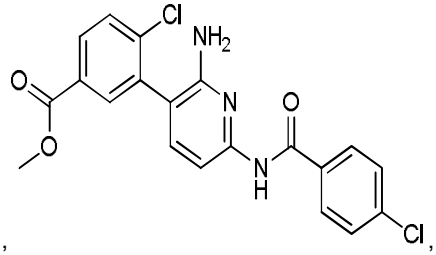


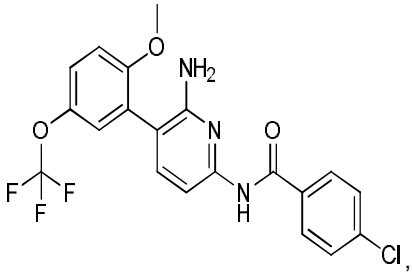


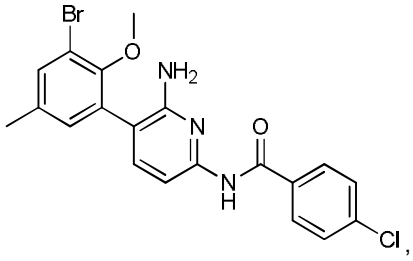

,

,

,

,

,

,

,

,

,

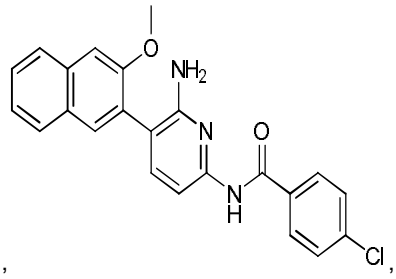

,

,

,

,

,

,

,

,

,

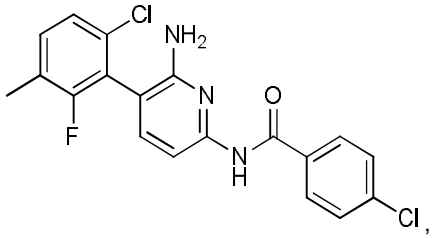


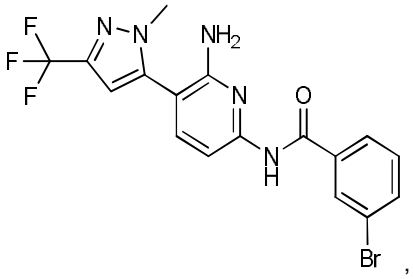


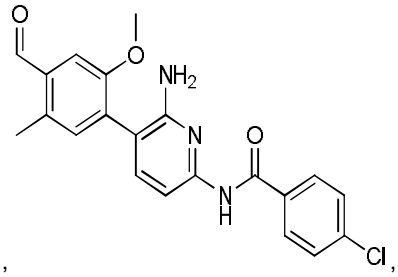


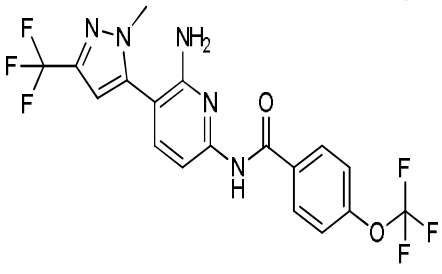


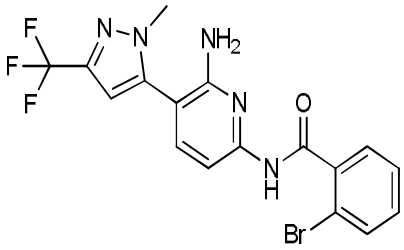
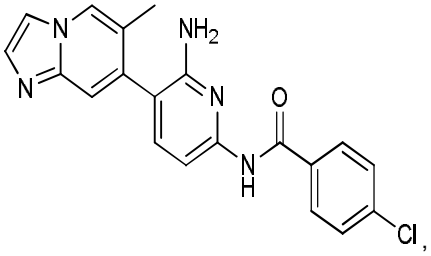
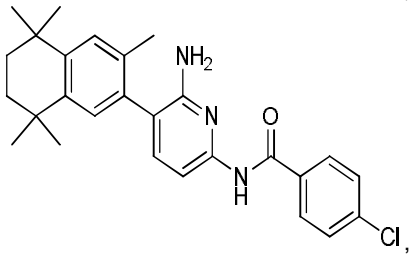
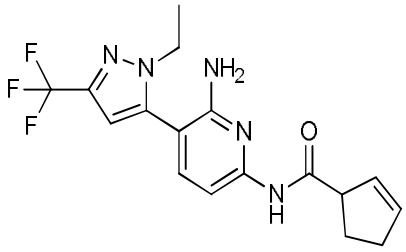
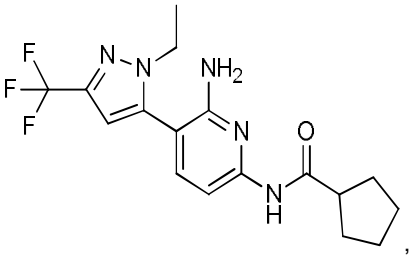
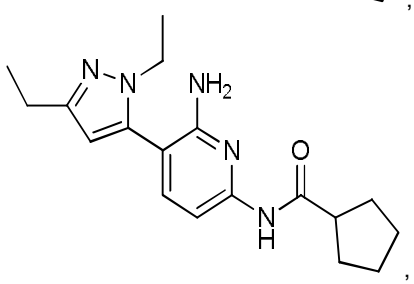
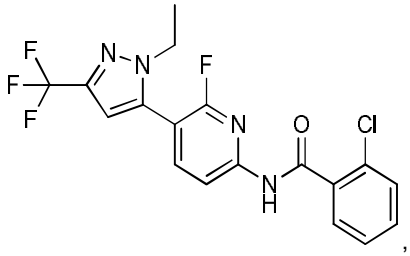
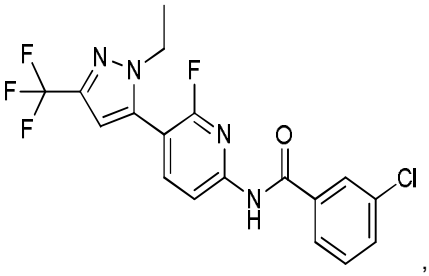
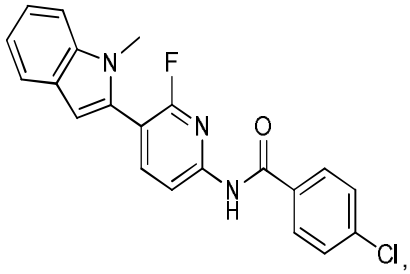


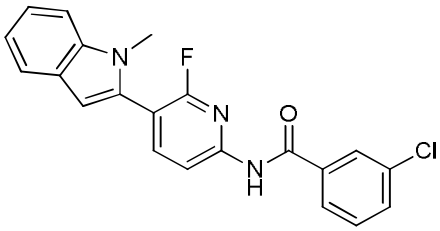
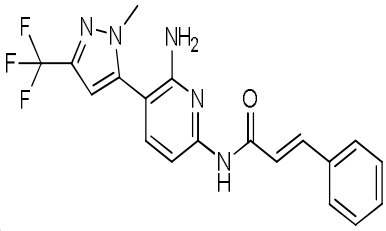
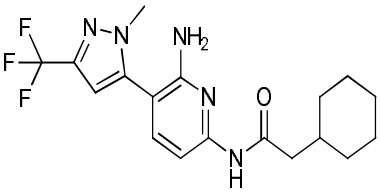
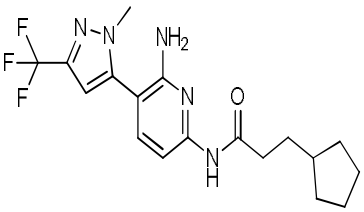
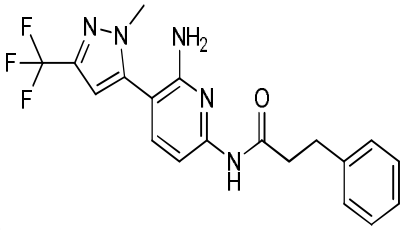
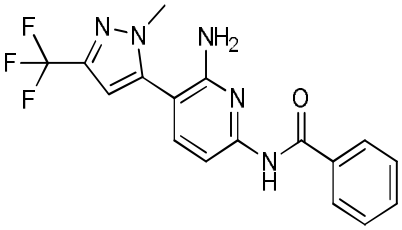
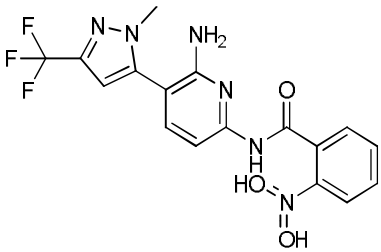
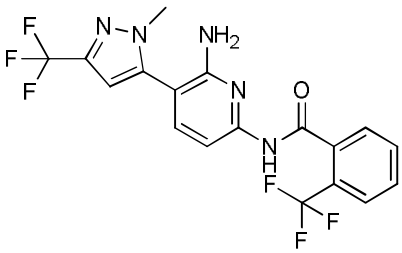
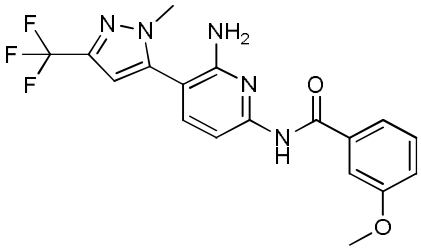
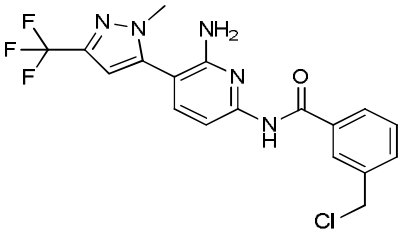
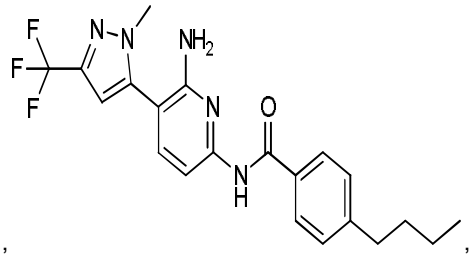
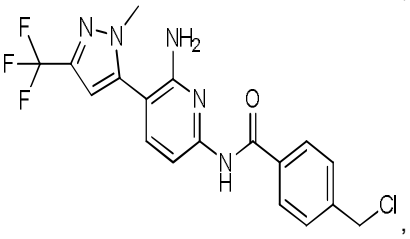


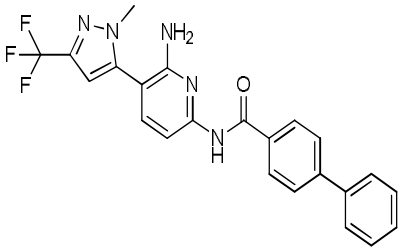
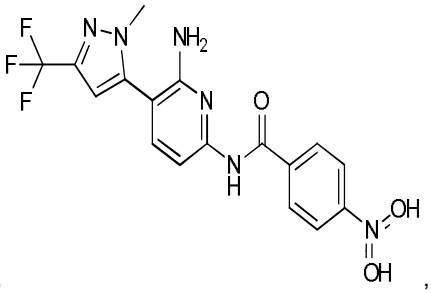
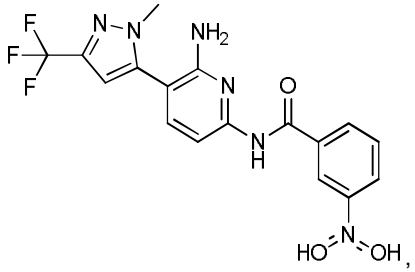
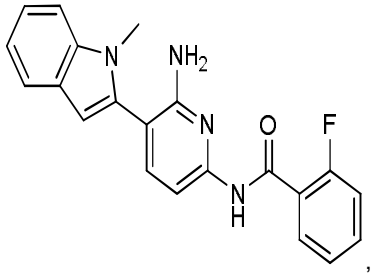
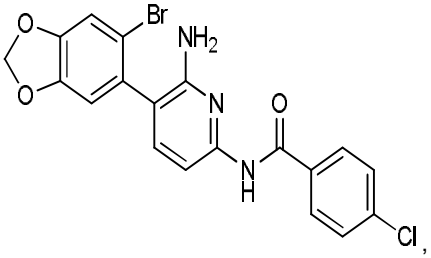
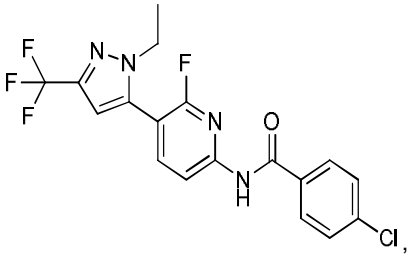
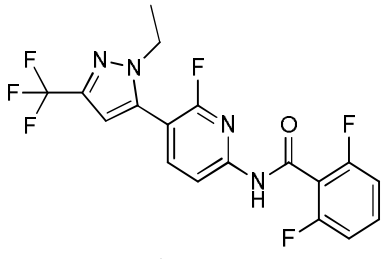
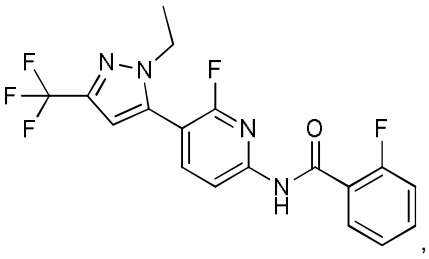
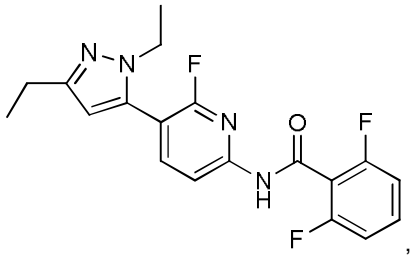


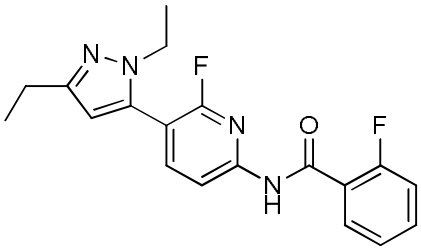
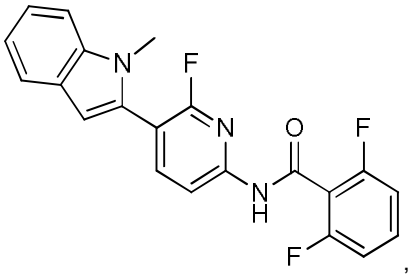
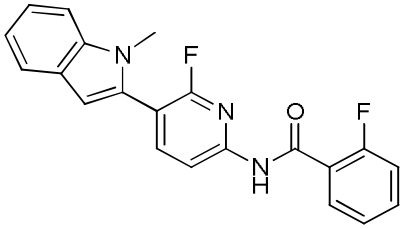
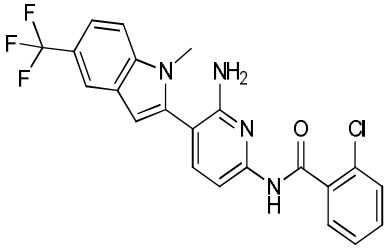
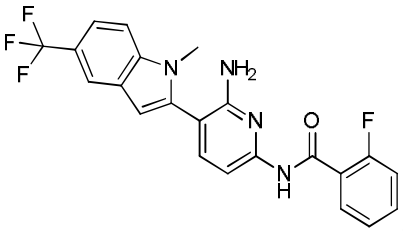
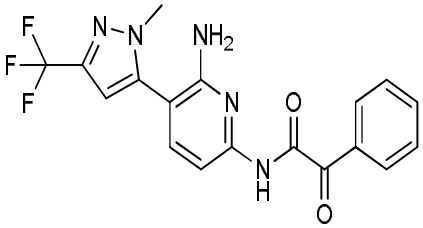
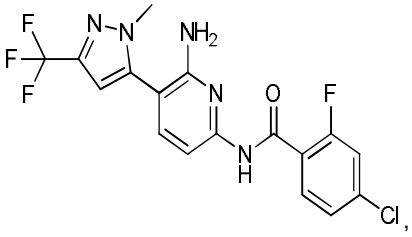
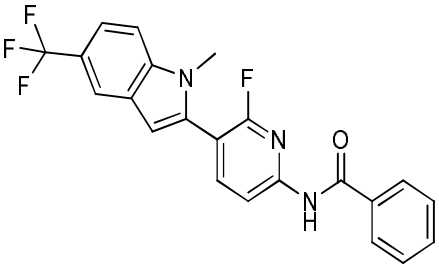
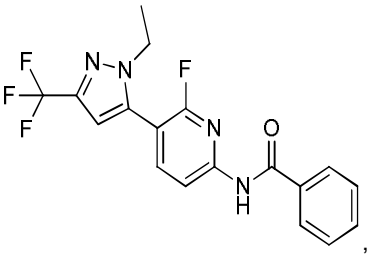


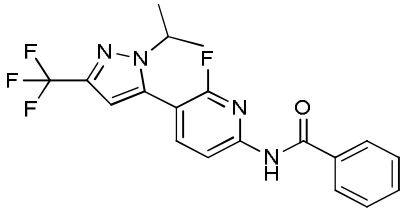
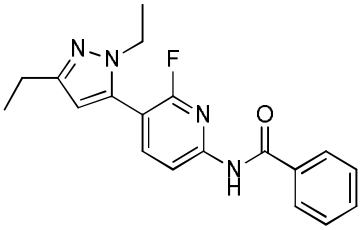
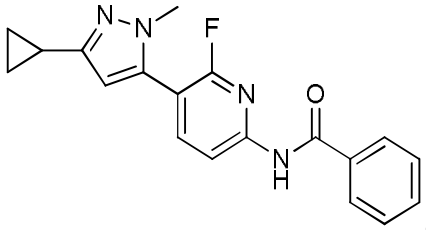
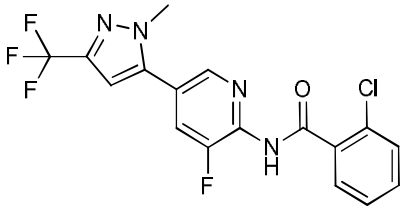
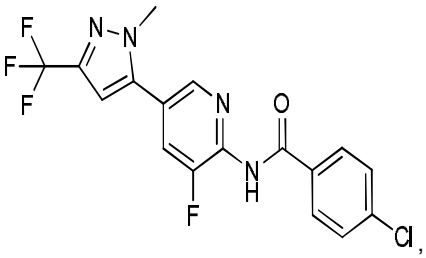
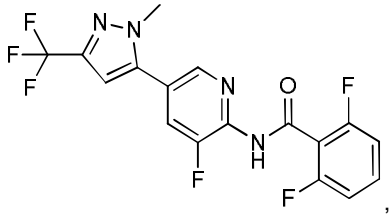
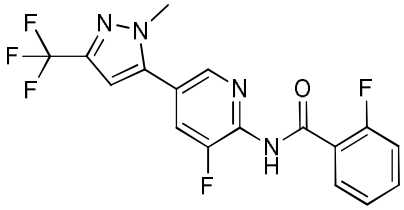
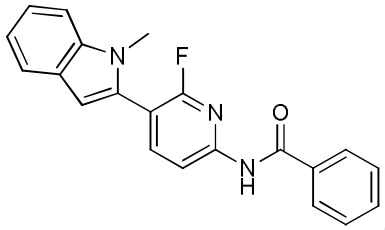
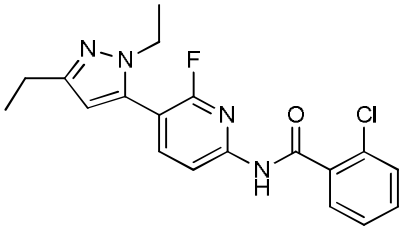


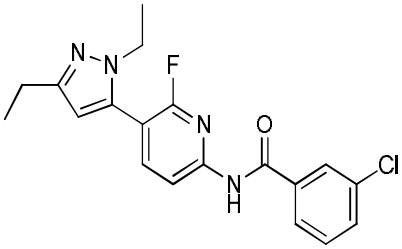
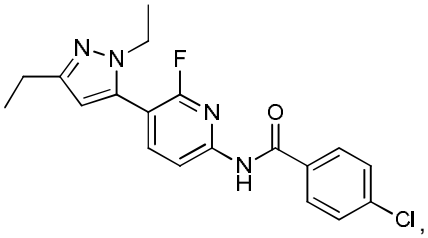
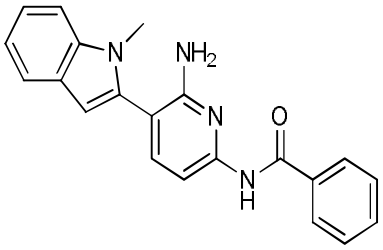
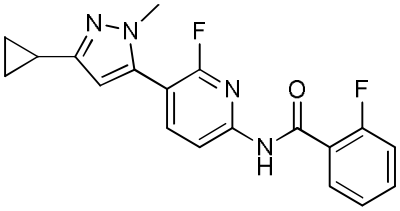
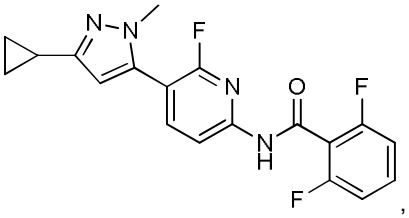
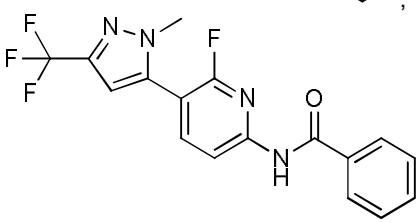
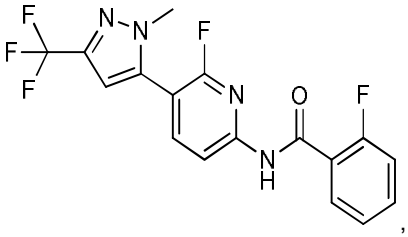
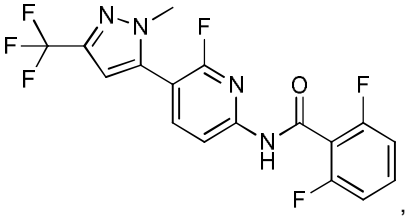
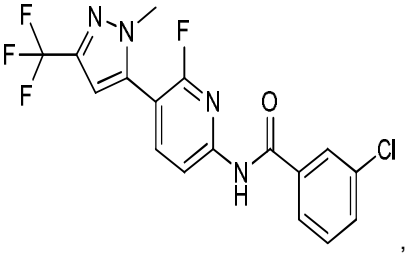

,

,

,

,

,

,

,

,

,

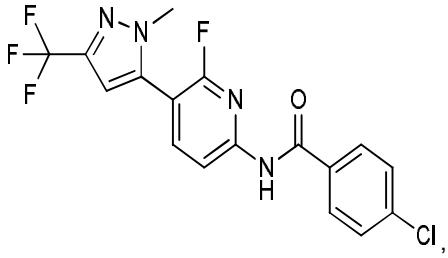

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

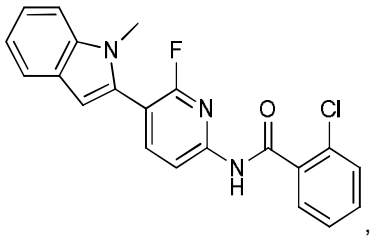

,

,

,

,

,

,

,

,

,

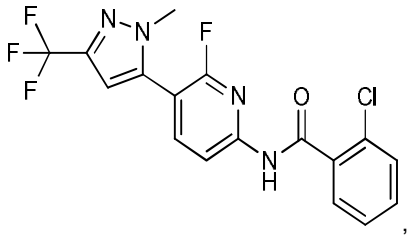

,

,

,

,

,

,

,

,

,

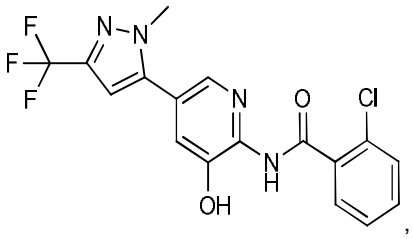

,

,

,

,

,

,

,

,

,

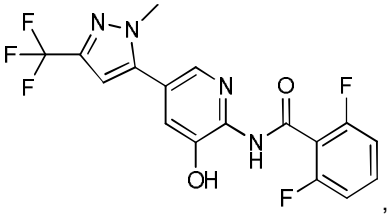

,

,

,

,

,

,

,

,

,

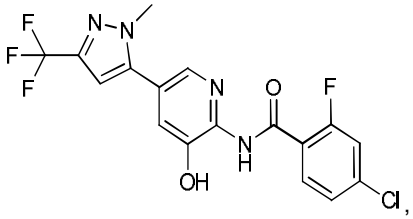


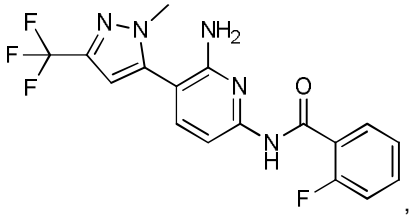


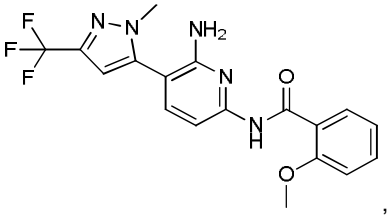


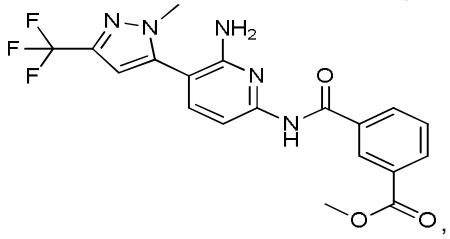


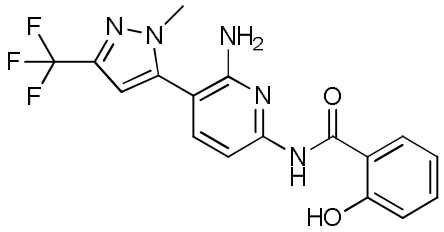
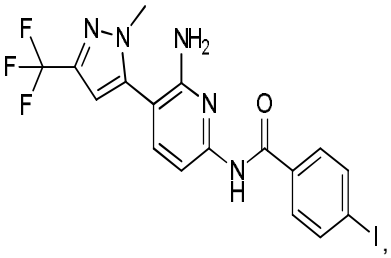
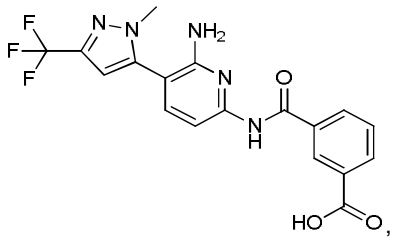
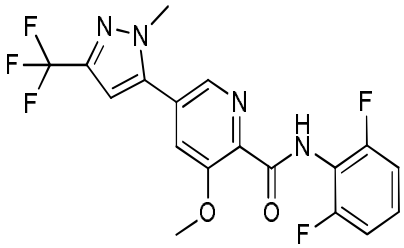
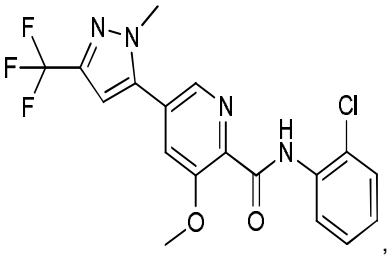
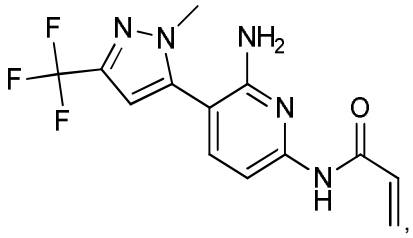
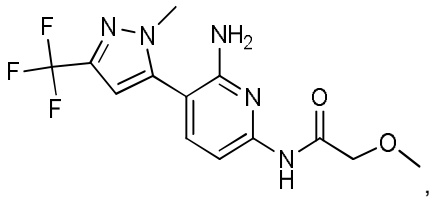
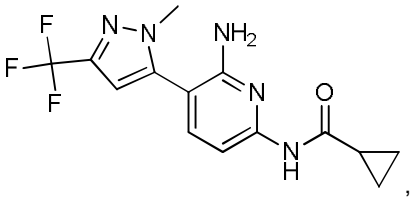
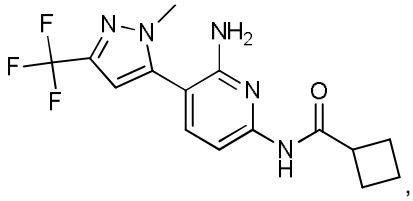


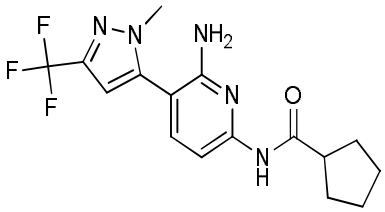
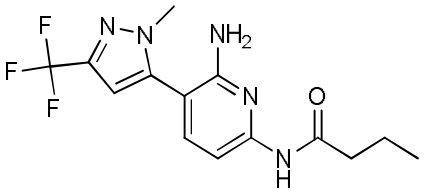
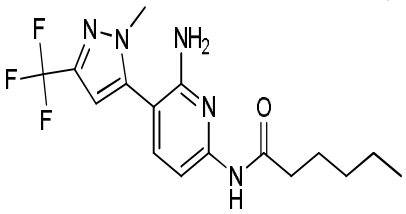
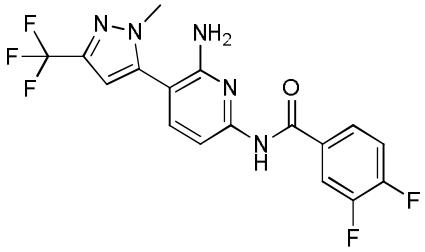
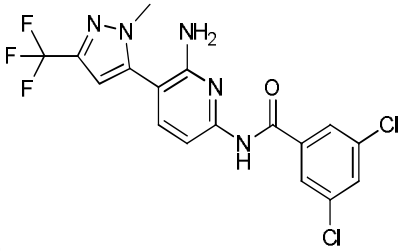
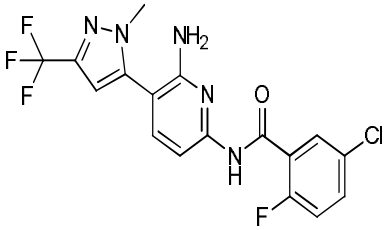
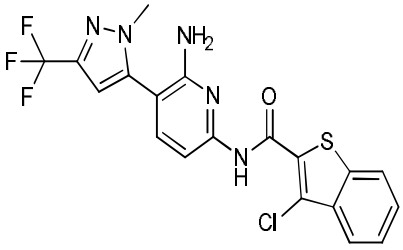
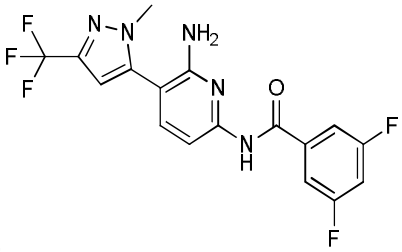
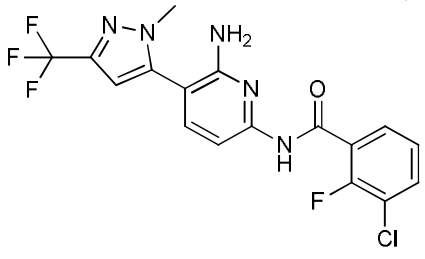


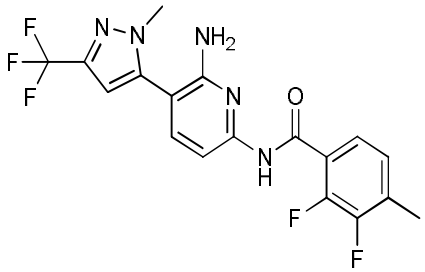
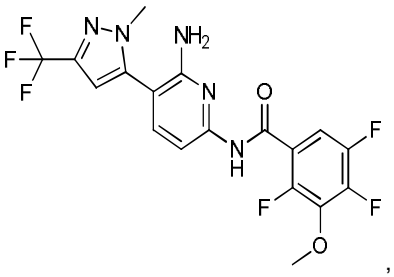
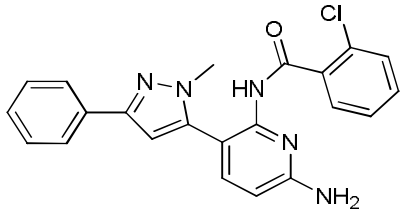
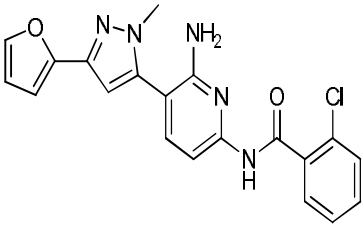
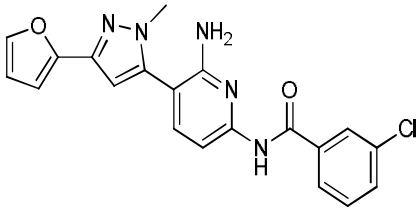
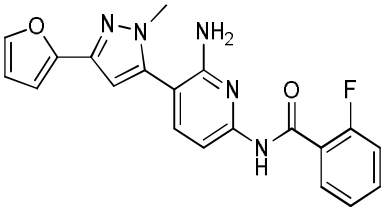
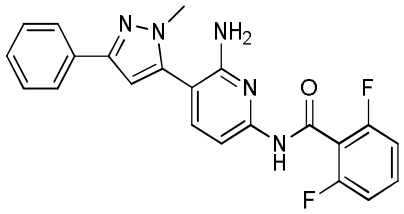
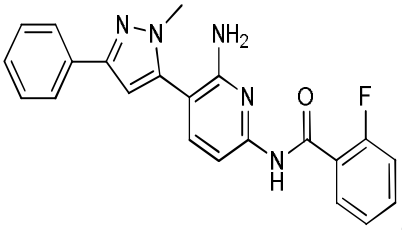
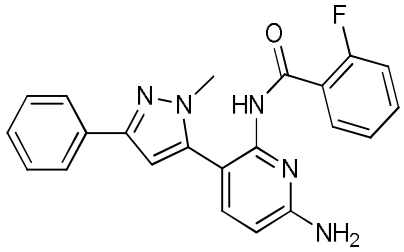




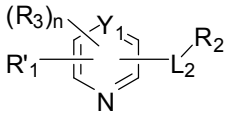



,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

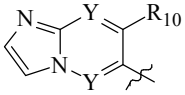
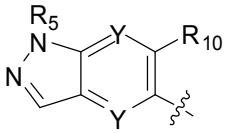
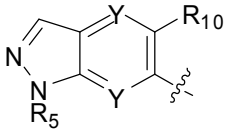
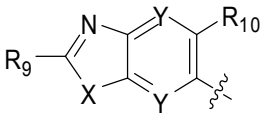
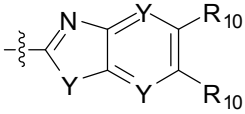
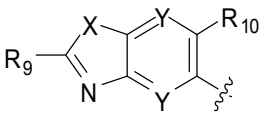
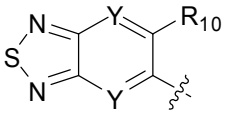
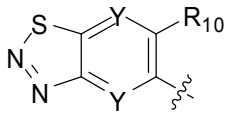
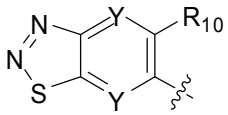

,

,

,

,

,

,

,

, y

; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otro caso es un compuesto que tiene la estructura de Fórmula (II):



Fórmula (II);

donde:

R'_1 es  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  , y  ;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es S, O, o NR_5;

Y se selecciona independientemente entre CR_9 o N;

Y_1 se selecciona independientemente entre CH o N;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

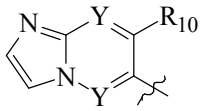
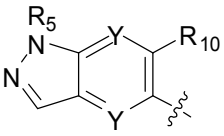
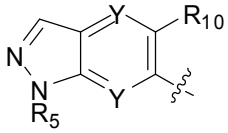
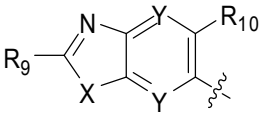
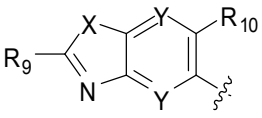
R_3 se selecciona independientemente entre F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido,;

n es un número entero seleccionado entre 0–2;

cada R_4 se selecciona independientemente entre alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

R_5 se selecciona entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

R_9 y R_{10} cada uno se selecciona independientemente entre H, D, alquilo C_1–C_6, halógeno, carbonilalquilo C_1–C_6, o CF_3; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una instancia, L_2 es –NH–C(=O)–. En aun otra instancia, L_2 es –C(=O)NH–. Una instancia es un compuesto de Fórmula (II) donde R'_1 se selecciona entre,   ,  ,  , y 

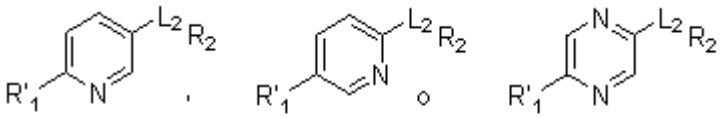
donde Y es CR_9; R_9 es H, alquilo C_1–C_6, halógeno, carbonilalquilo C_1–C_6, o CF_3. En una instancia, R_9 es H. En una instancia, X es O. En otra instancia, X es S. En una instancia adicional, X es NR_5 donde R_5 es H o alquilo C_1–C_6. En otra instancia R_9 es alquilo C_1–C_6. En una instancia adicional, R_9 es metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, y terc–butilo. En una instancia, R_{10} es metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo. En una instancia adicional R_{10} es halógeno seleccionado entre F, Cl, Br, y I. En otra instancia, R_{10} es F. En una instancia R_{10} es Cl. En otra instancia, R_{10} es Br. En otra instancia, R_{10} es CF_3.

Otra instancia es un compuesto de Fórmula (II) donde R_2 es arilo opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3. En otra instancia, arilo es fenilo. En una instancia adicional, fenilo es sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre F, Cl, Br, y I. En otra instancia, fenilo es sustituido con –OH, –CN, CF_3, o alquilo C_1–C_6. En otra instancia, alquilo C_1–C_6 se selecciona entre metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, o terc–butilo. En una instancia, alquilo C_1–C_6 es metilo. En otra instancia, alquilo C1–C6 es etilo. En otra

instancia, R_3 es cicloalquilo C_3–C_8. En una instancia adicional, R_3 es ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo. En aun otra instancia, R_2 es fenilo sustituido con al menos 2 sustituyentes. En una instancia adicional, al menos 3 sustituyentes.

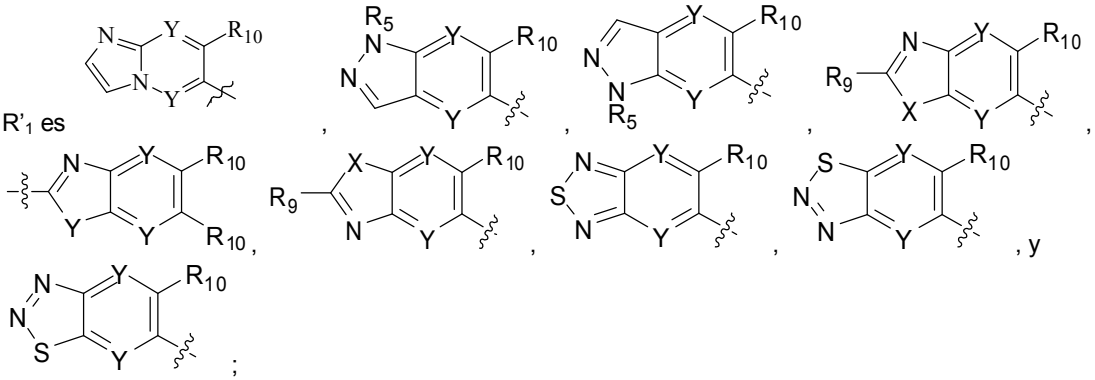
En aun otra instancia es un compuesto de Fórmula (II) donde R_2 es heteroarilo seleccionado entre tienilo, tiantrenilo, furilo, piranilo, tiadiazolilo, benzotiadiazolilo, isobenzofuranilo, cromenilo, xantenilo, fenoxatiinilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, indolizinilo, isoindolilo, 3*H*–indolilo, indolilo, indazolilo, purinilo, 4*H*–quinolizinilo, isoquinolilo, quinolilo, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, oxazolilo, cinolinilo, pteridinilo, 4a*H*–carbazolilo, carbazolilo, carbolinilo, fenantridinilo, acridinilo, perimidinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenarsazinilo, fenotiazinilo, furazanilo, y fenoxazinilo. En otra instancia, heteroarilo es furano. En aun otra instancia, heteroarilo es pirazol. En otra instancia, heteroarilo es tiofeno. En aun otra instancia, heteroarilo es sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre F, Cl, Br, I, –OH, –CN, NO_2, y alquilo C_1–C_6. En una instancia, heteroarilo es sustituido con por lo menos un F. En otra instancia, con por lo menos un Cl. En una instancia adicional, por lo menos un Br. En aun otra instancia, por lo menos uno alquilo C_1–C_6 seleccionado entre metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, o tercbutilo. En aun otra instancia, heteroarilo es sustituido con por lo menos un metilo. En aun otra instancia, heteroarilo es sustituido con al menos dos grupos R_3. En otra instancia, al menos tres grupos R_3.

Otro caso es un compuesto que tiene la estructura:



;

donde:

R'_1 es 

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es S, O, o NR_5;

Y se selecciona independientemente entre CR_9 o N;

R_2 es arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

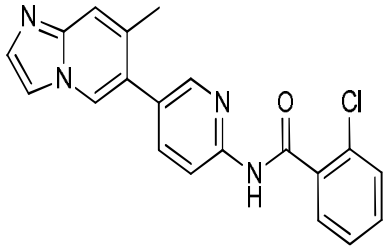
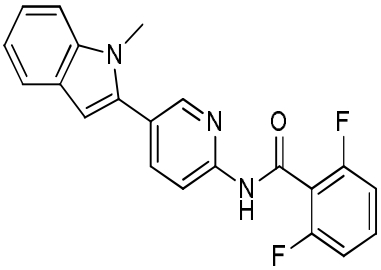
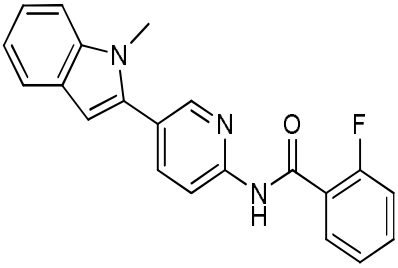
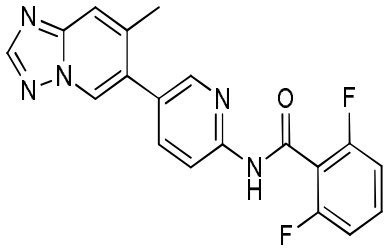
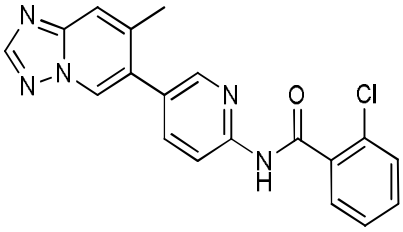
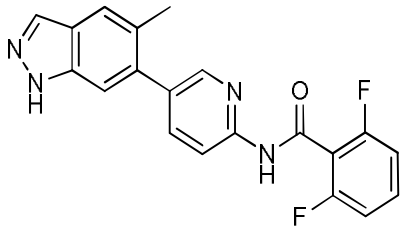
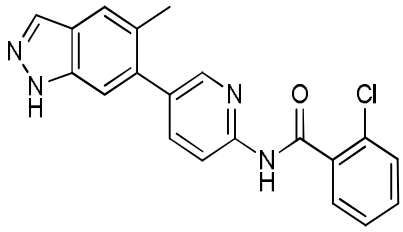
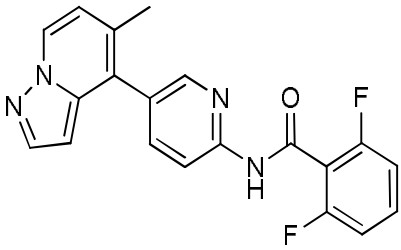
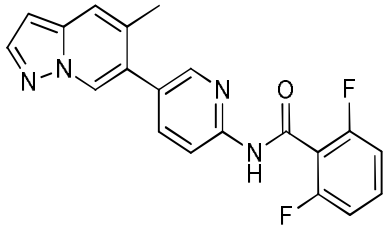
R_3 se selecciona independientemente entre F, D, Cl, Br, I, –CN, –NO_2, –OH, –CF_3, –OCF_3, –OR_5, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido;

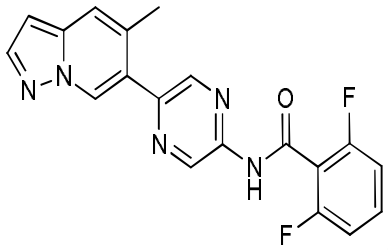
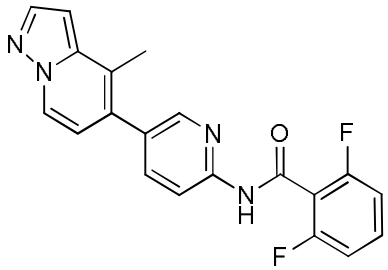
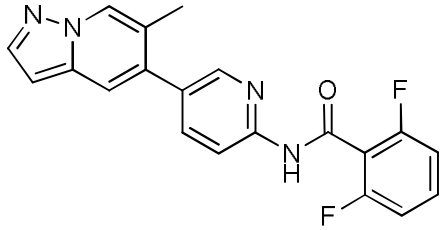
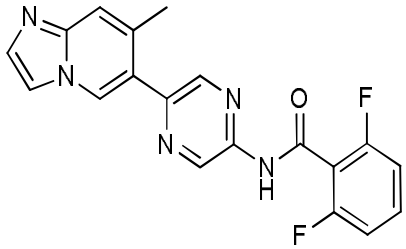
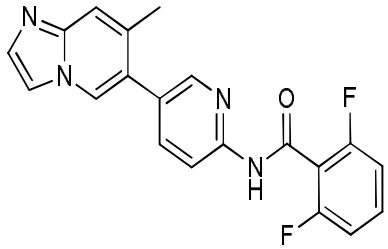
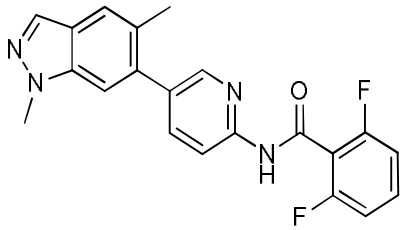
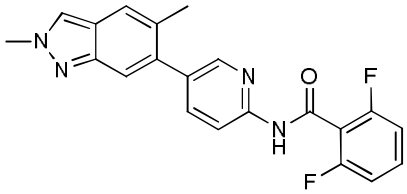
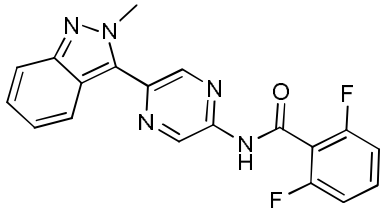
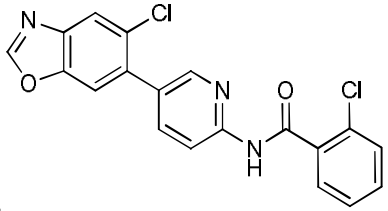
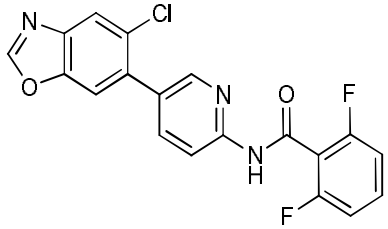
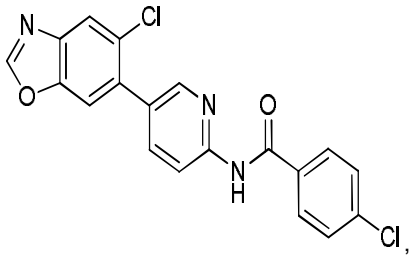
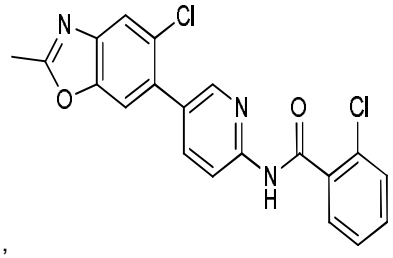
cada R_4 se selecciona independientemente entre alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

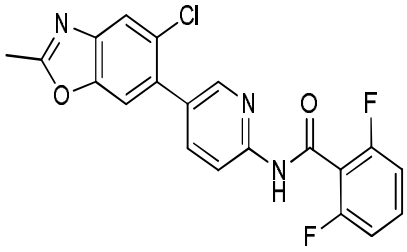
R_5 se selecciona entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

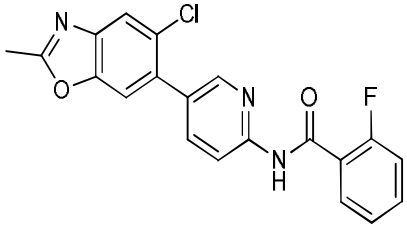
R_9 y R_{10} cada uno se selecciona independientemente entre H, D, alquilo C_1–C_6, halógeno, carbonilalquilo C_1–C_6, o CF_3; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

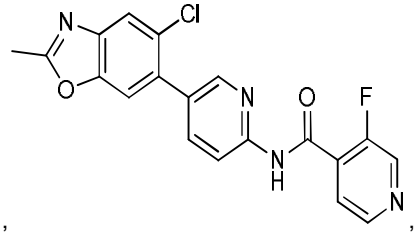
Otra instancia es un compuesto seleccionado entre:

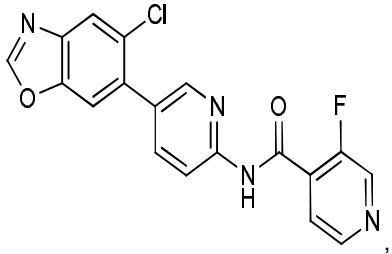

,

,

,

,

,

,

,

,

,

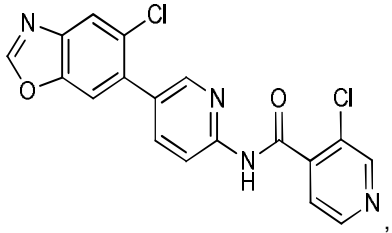

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

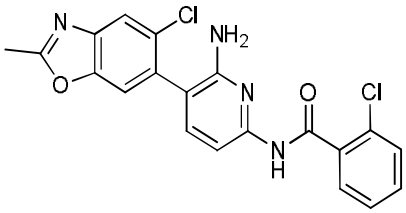

,

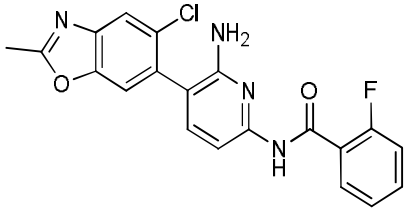

,

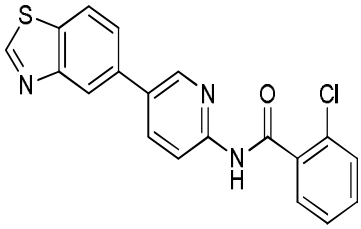

,

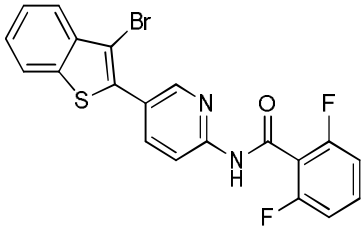

,

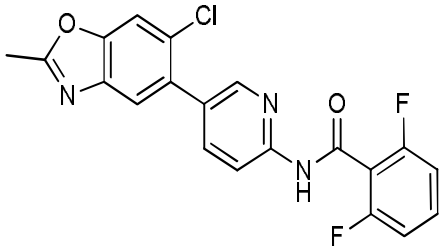

,

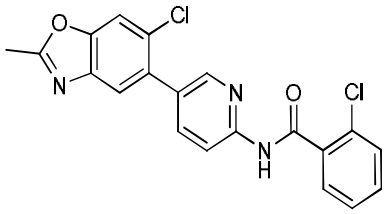

,

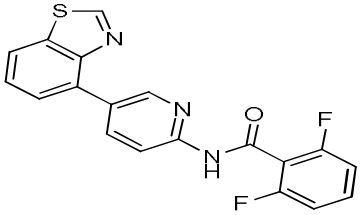

,

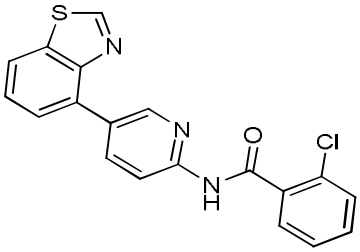

,

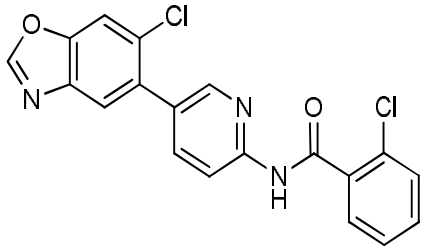
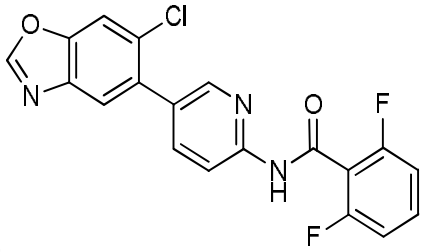
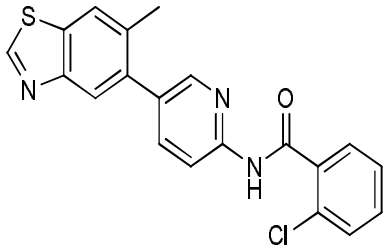
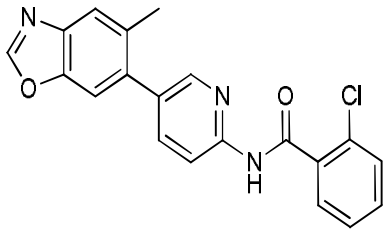
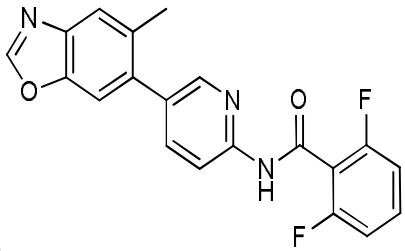
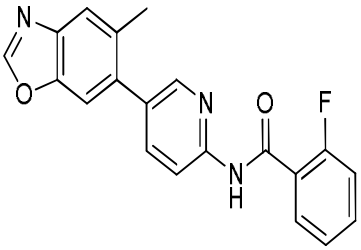
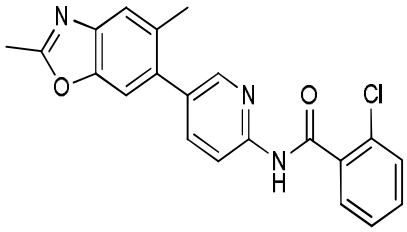
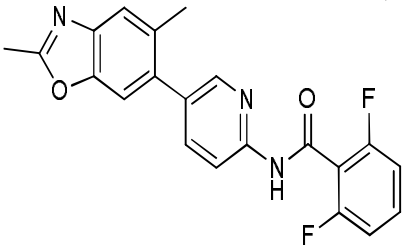
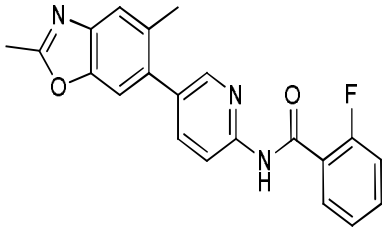
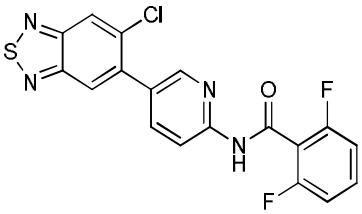
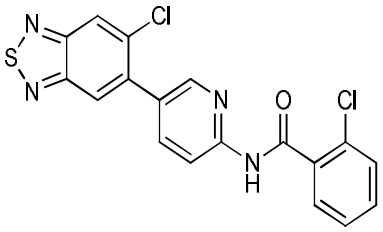
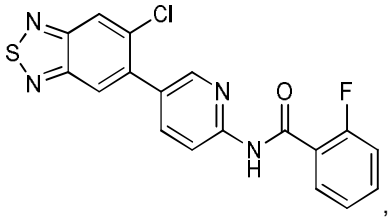
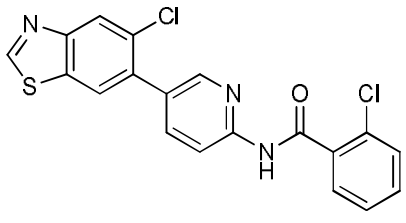
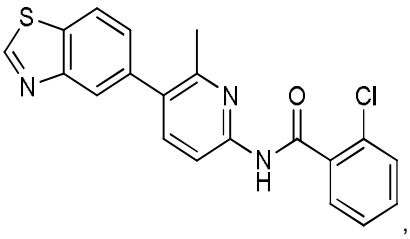

,

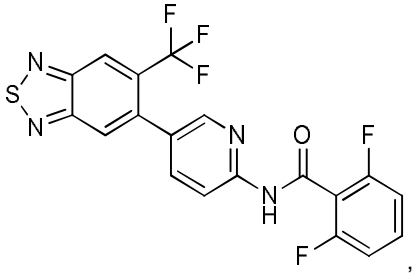

,

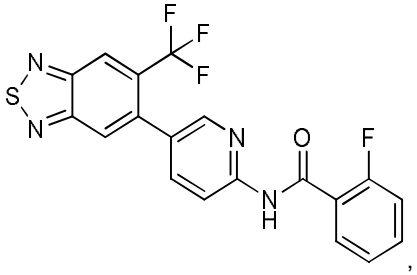

,

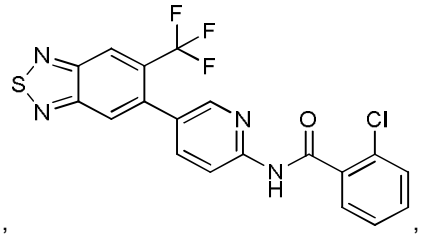

,

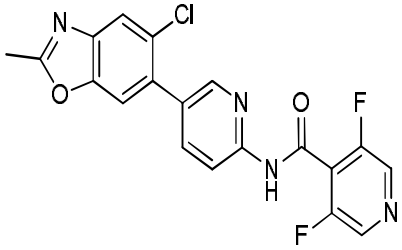

,

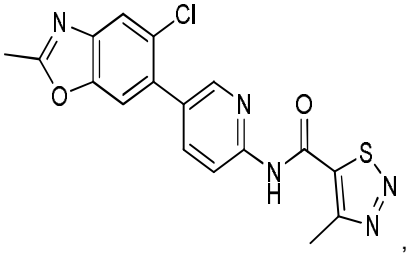

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

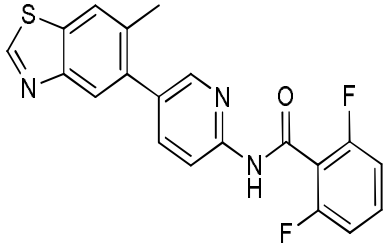


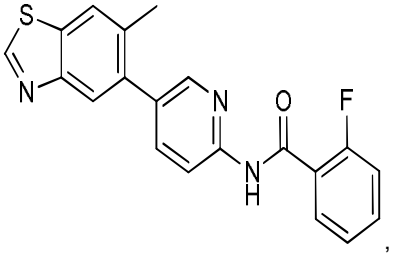


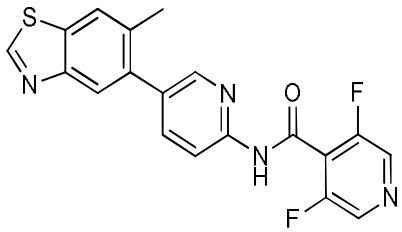


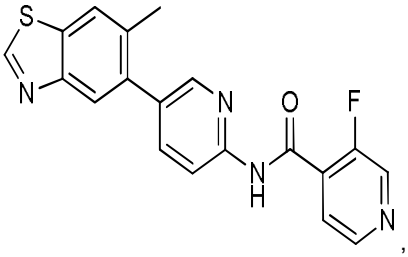


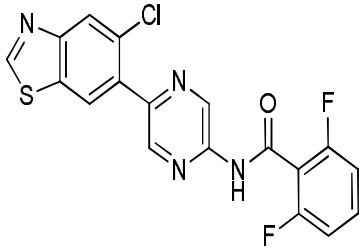


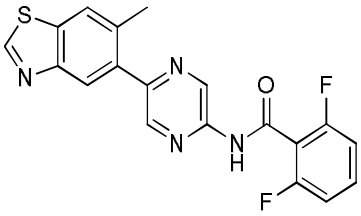


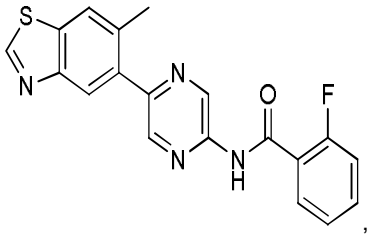


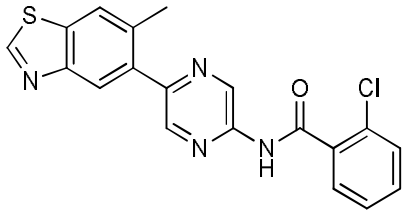


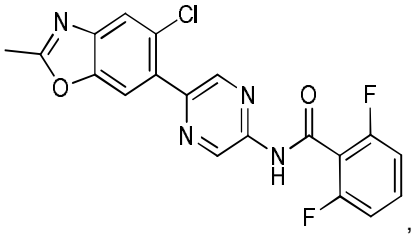


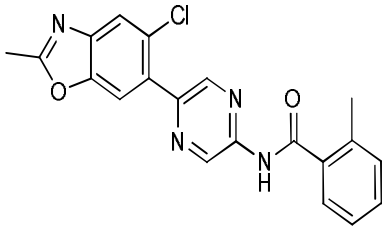
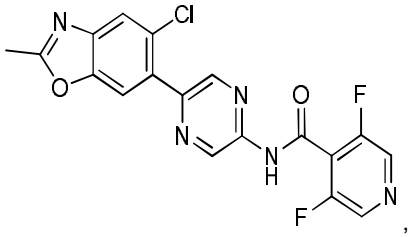
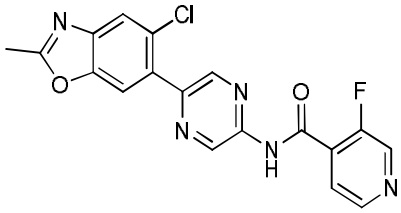
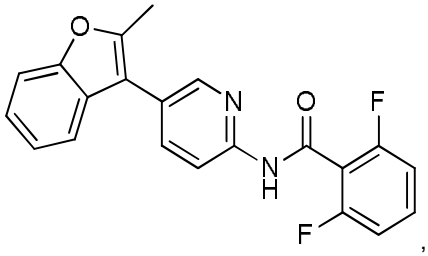
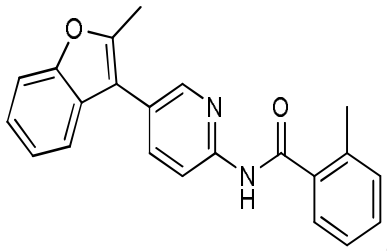
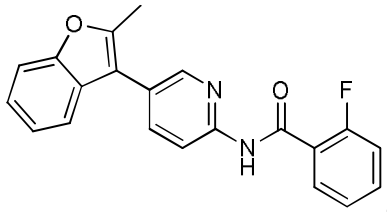
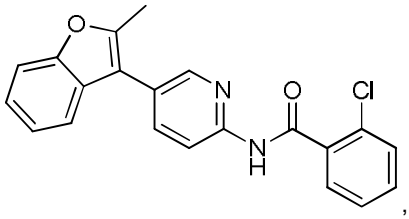
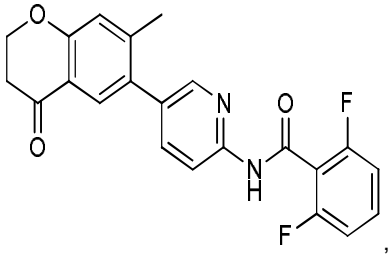
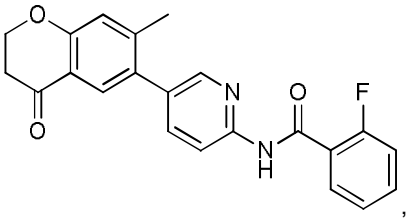
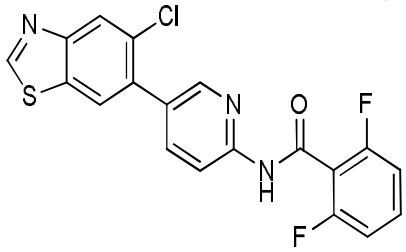
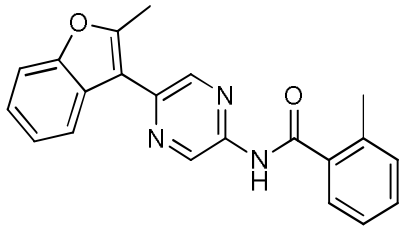
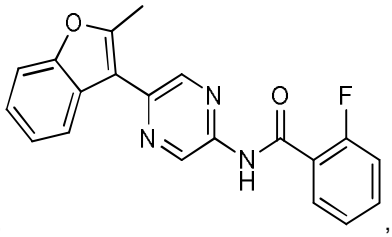
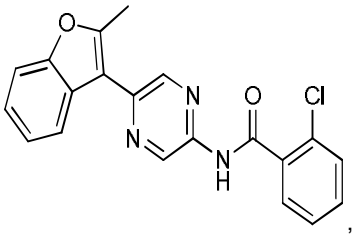


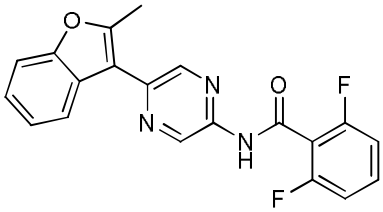
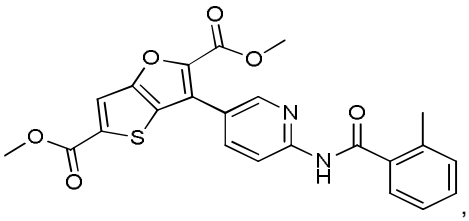
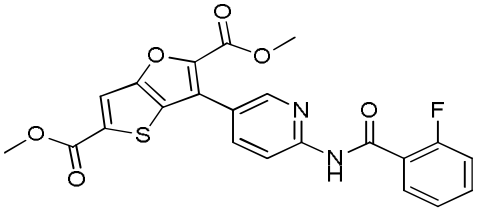
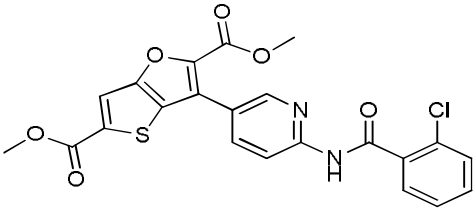
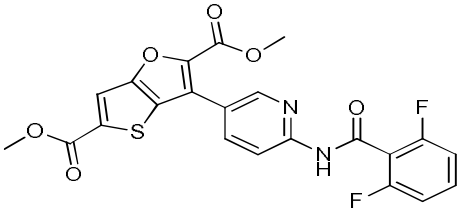
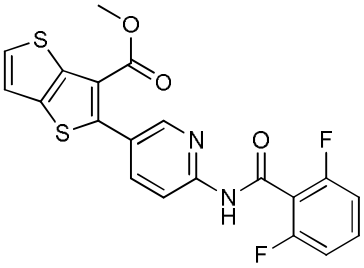
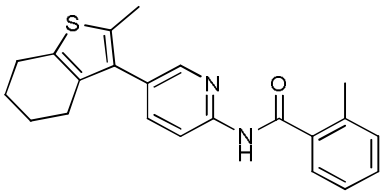
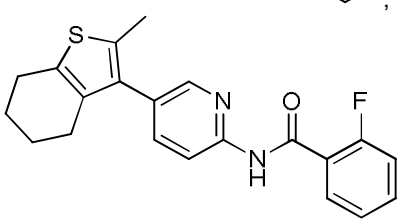
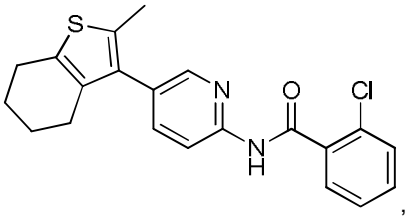
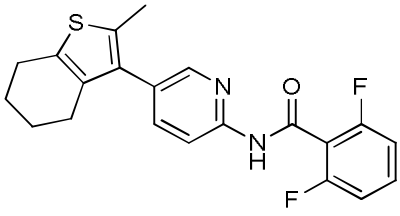


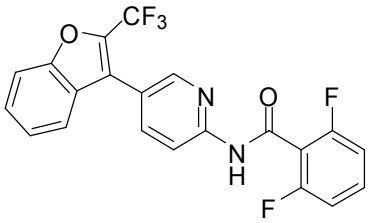
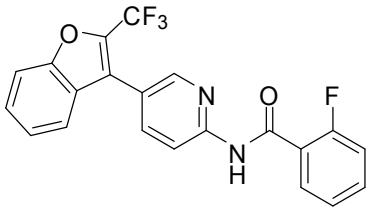
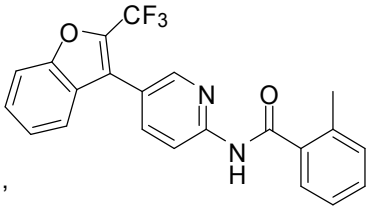
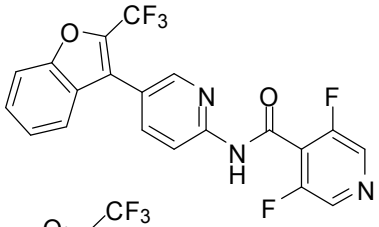
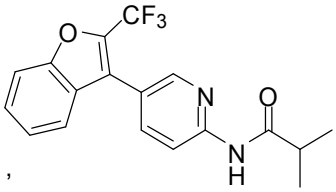
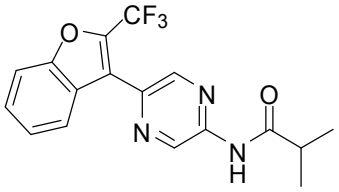
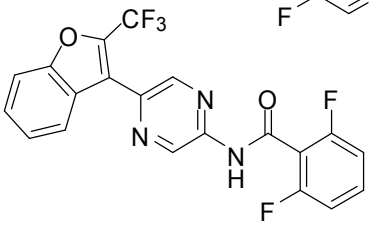
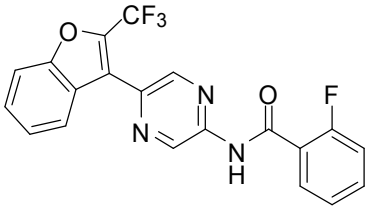
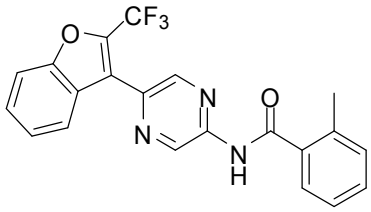
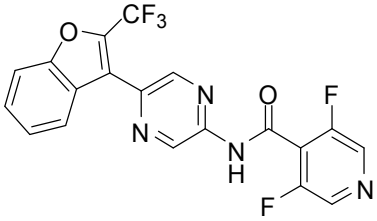
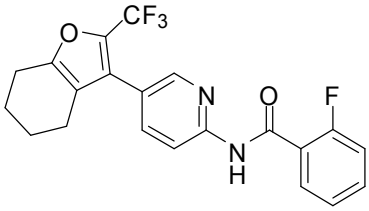
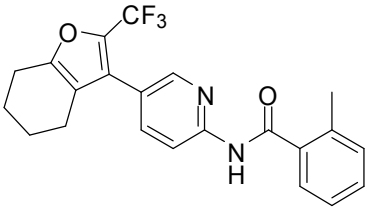
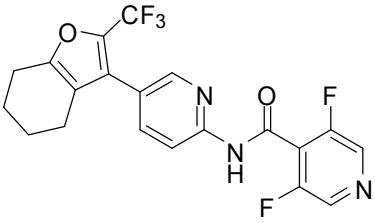
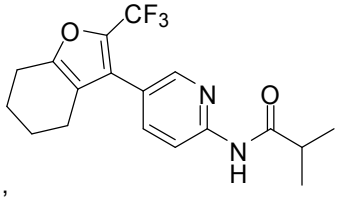
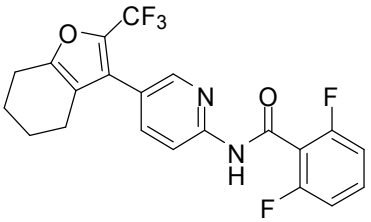
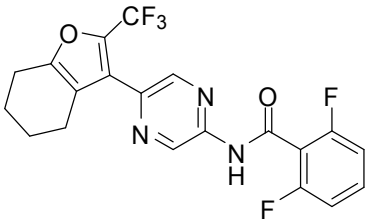
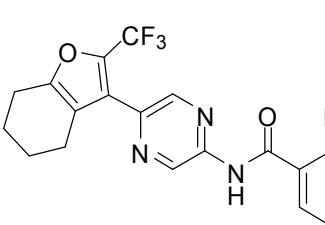






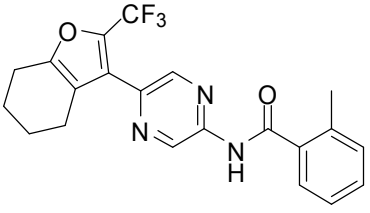
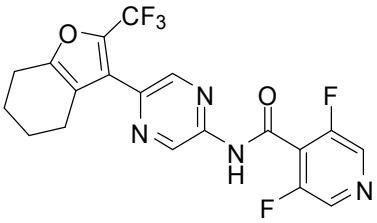
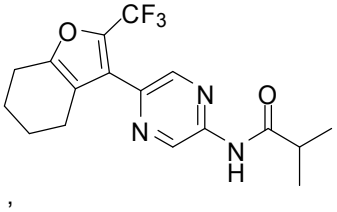
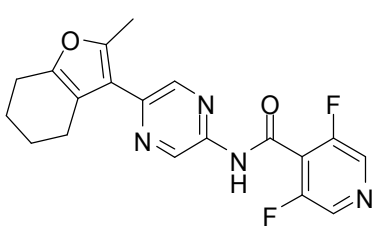

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

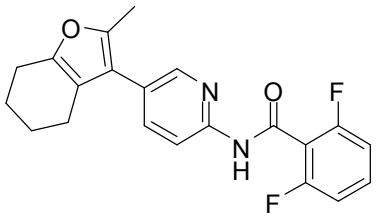
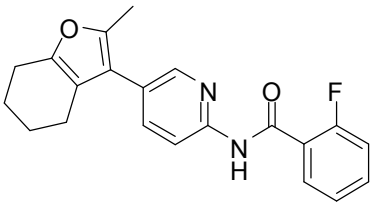
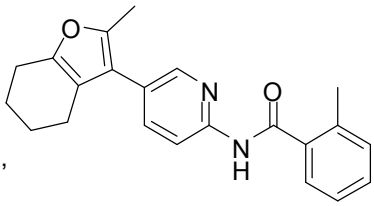
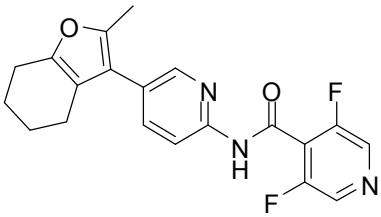
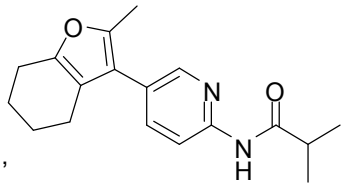
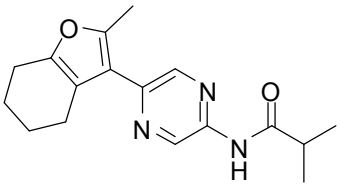
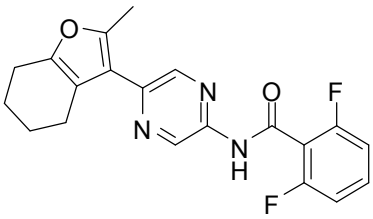
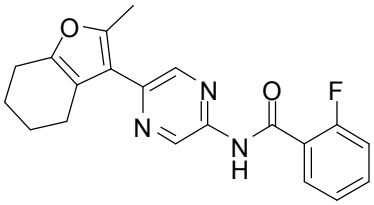
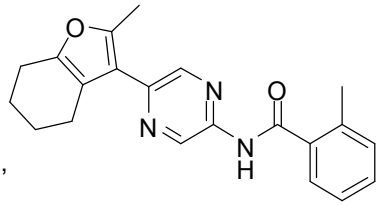
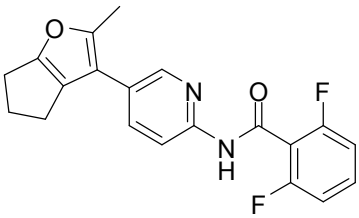
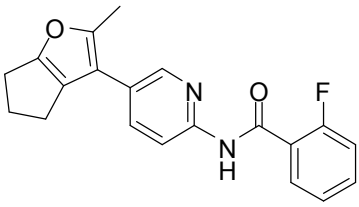
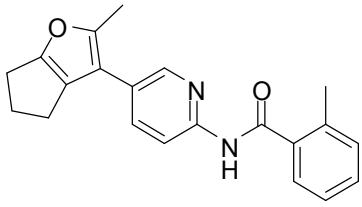
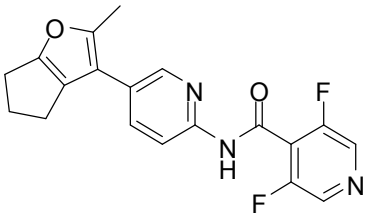
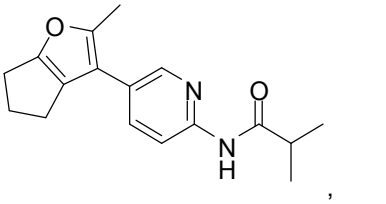
,

,

,

,

,

,

,

,

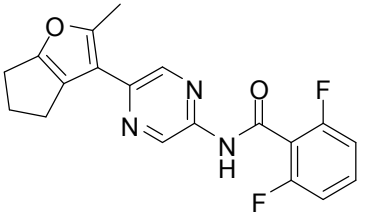
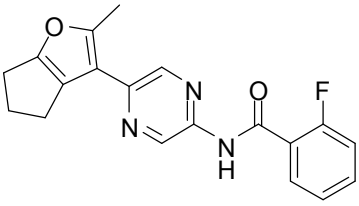
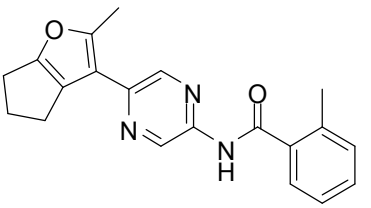
,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

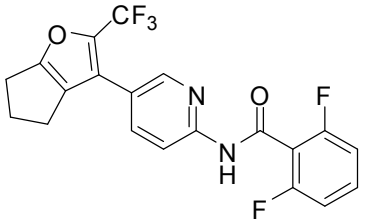
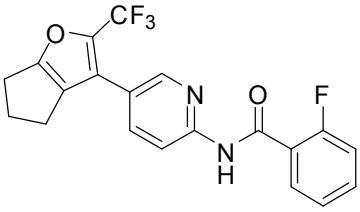
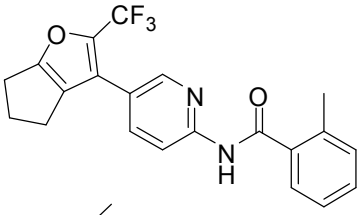
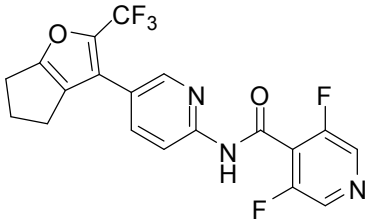
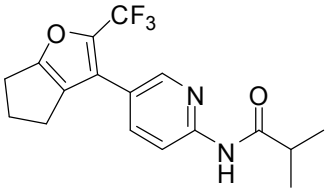
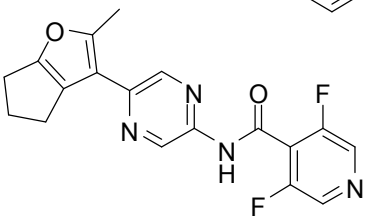
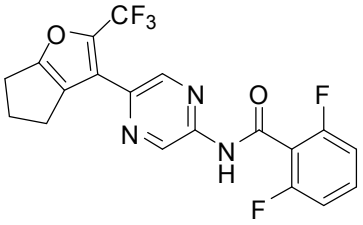
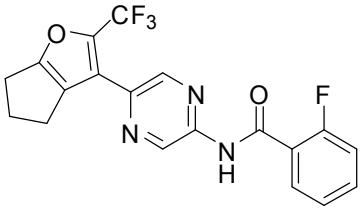
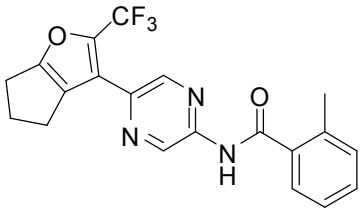
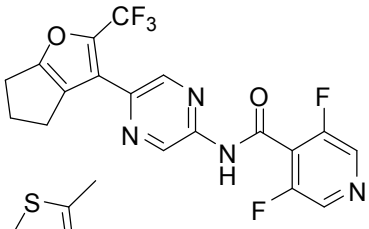
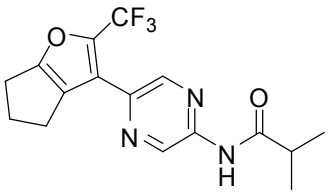
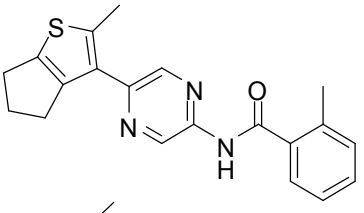
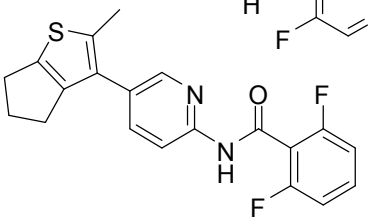
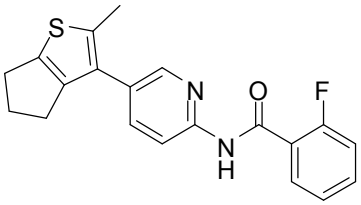
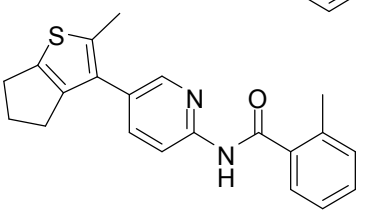
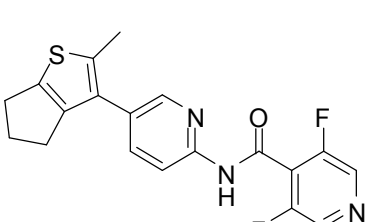
,

,

,

,

,

,

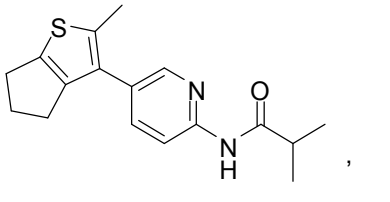
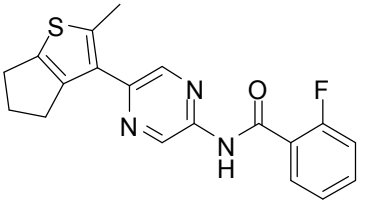
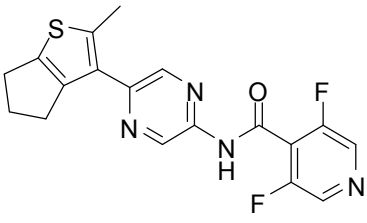
,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

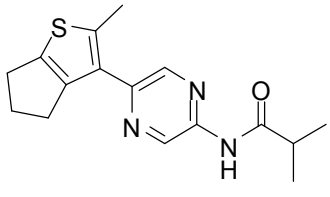
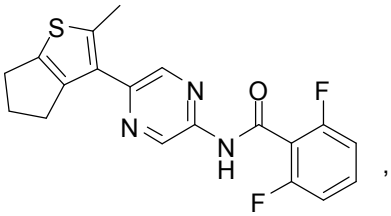
,

,

,

,

,

,

,

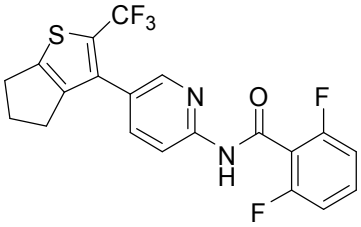
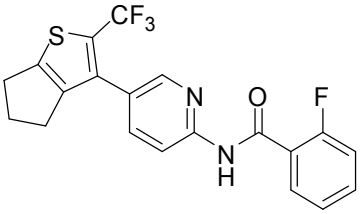
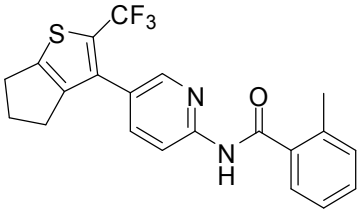
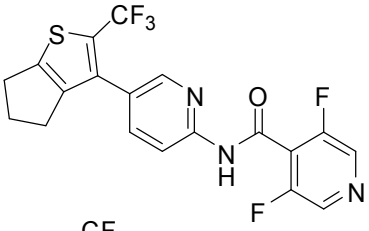
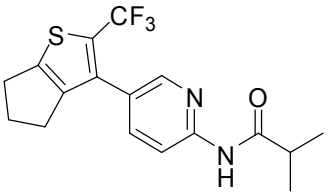
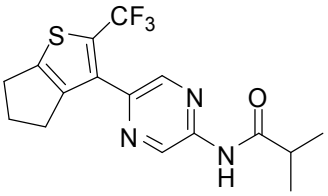
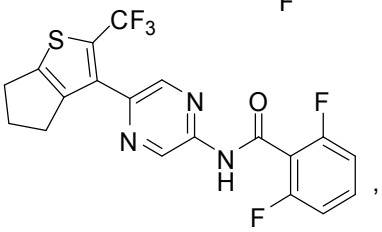
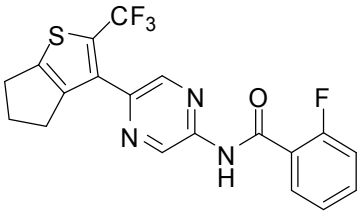
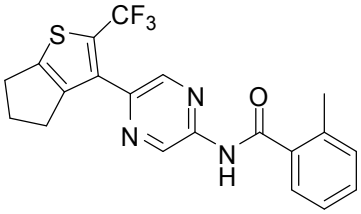
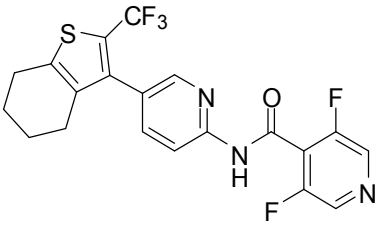
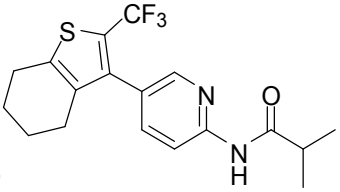
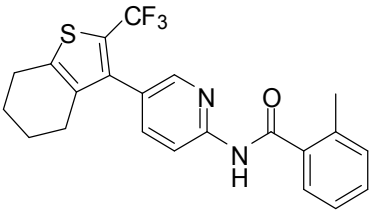
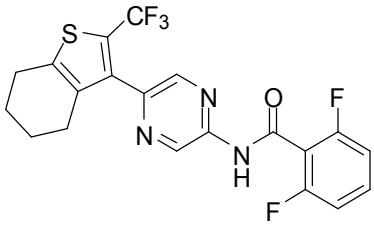
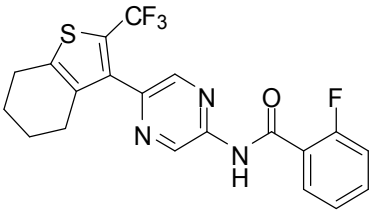
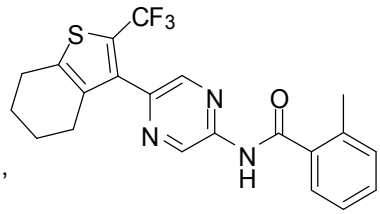
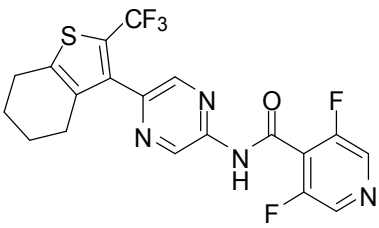
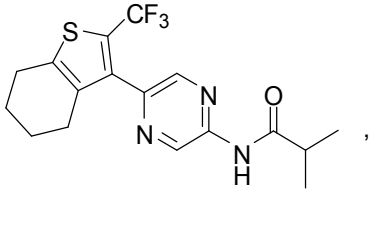
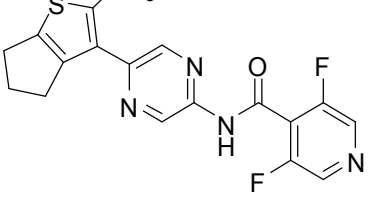
,

,

,

,

,

,

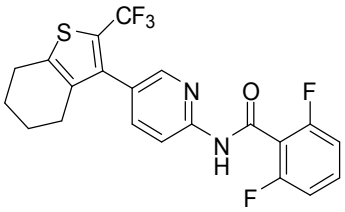
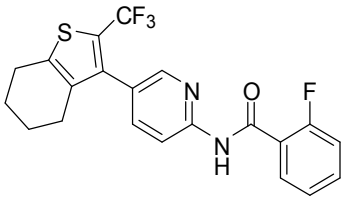
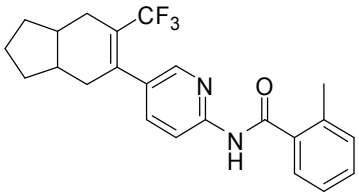
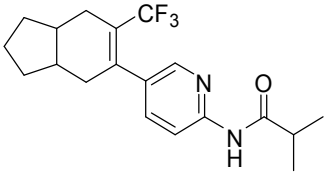
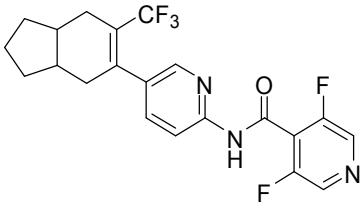
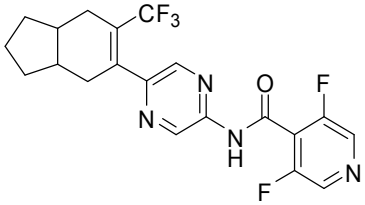
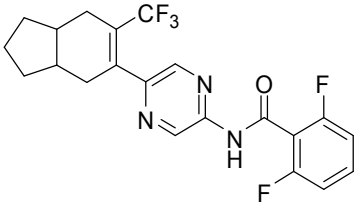
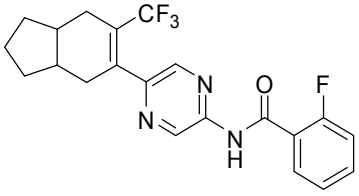
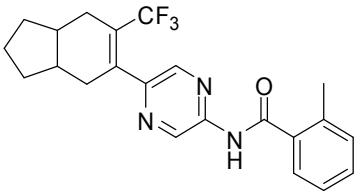
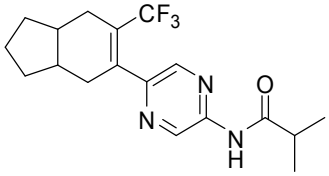
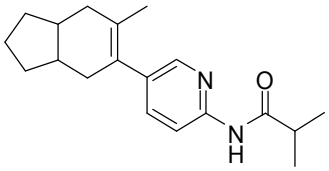
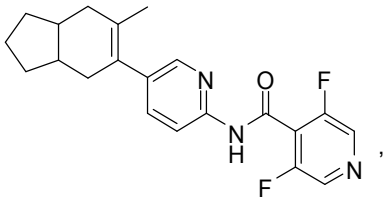
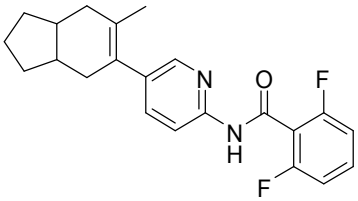
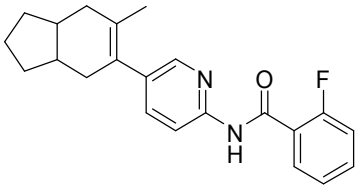
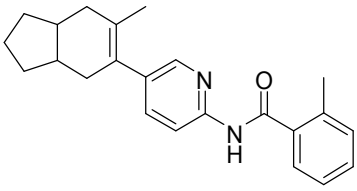
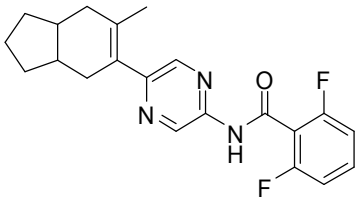
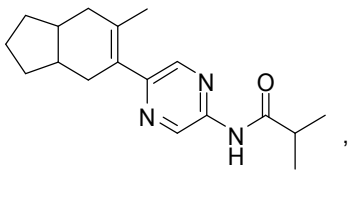
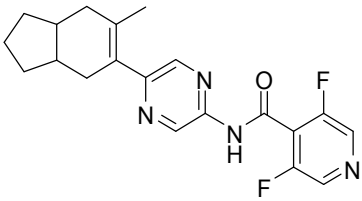
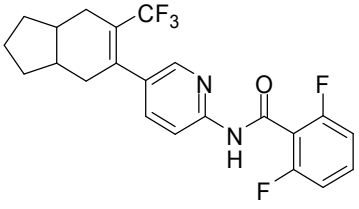
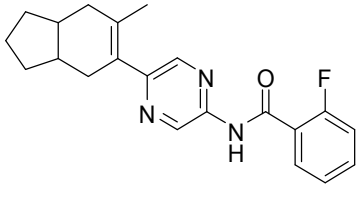
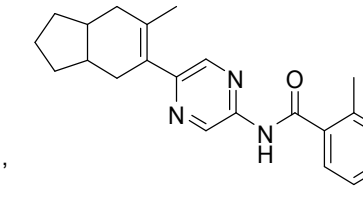
,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

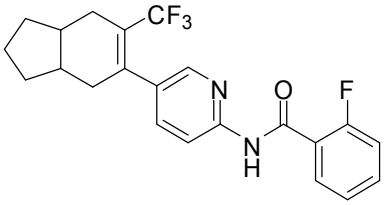
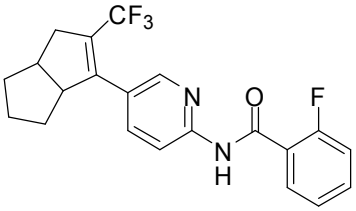
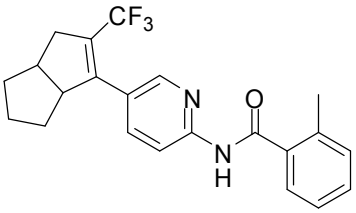
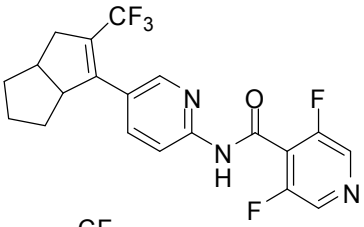
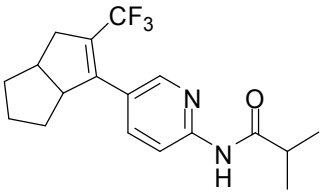
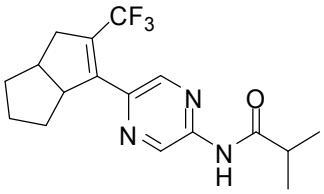
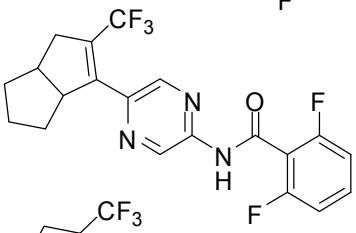
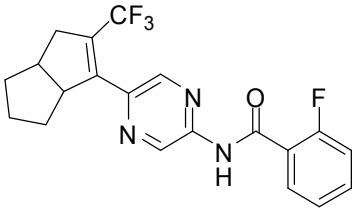
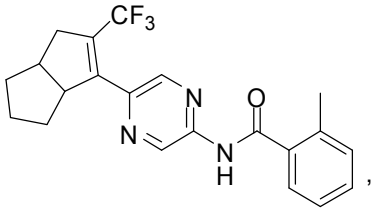
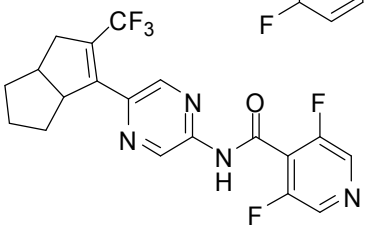
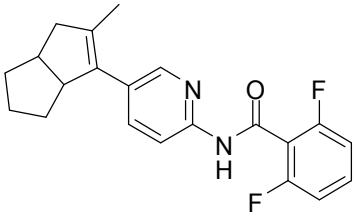
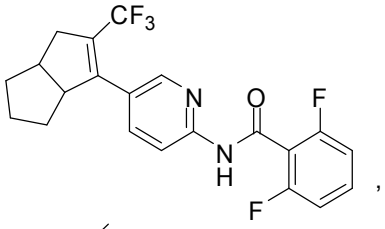
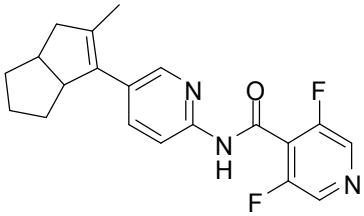
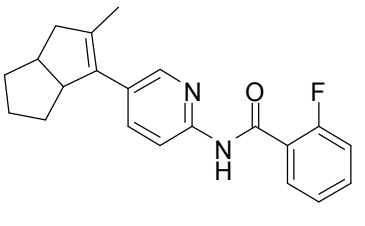
,

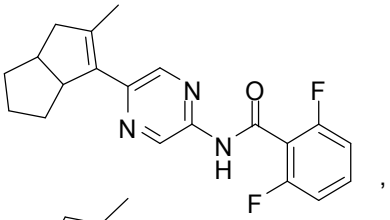

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

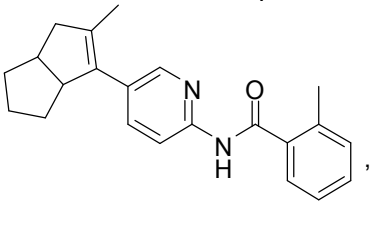
,

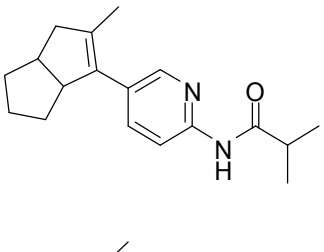
,

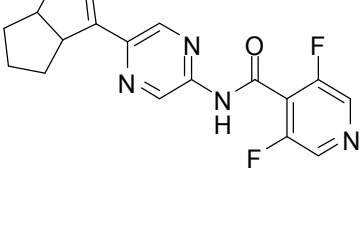
,

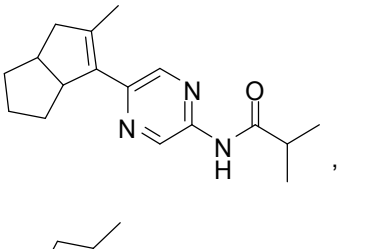

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

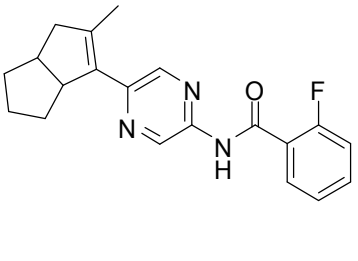
,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

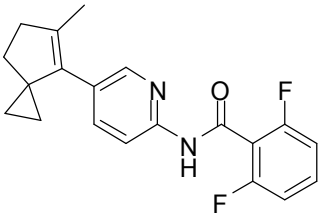
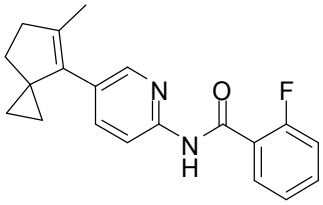
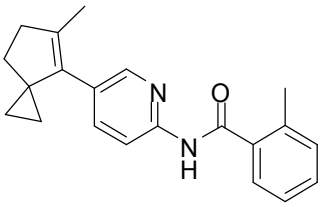
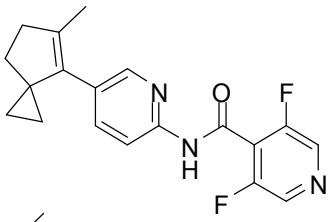
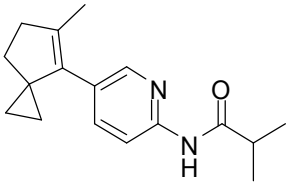
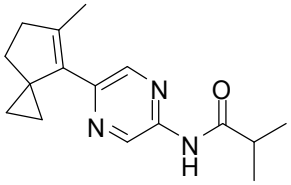
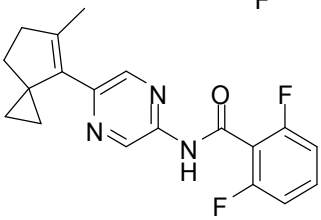
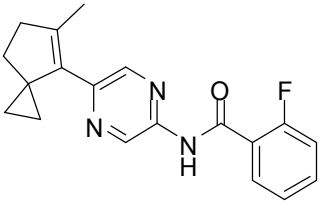
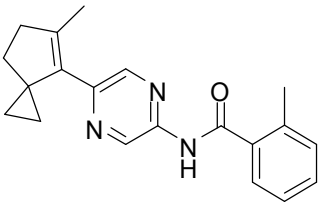
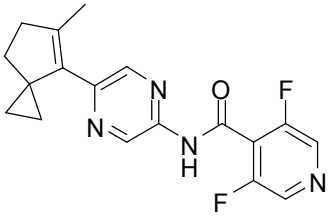
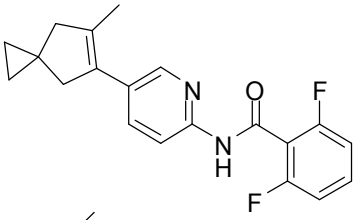
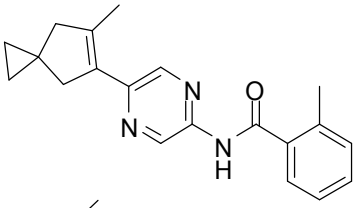
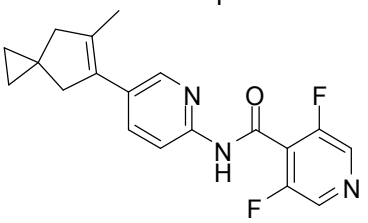
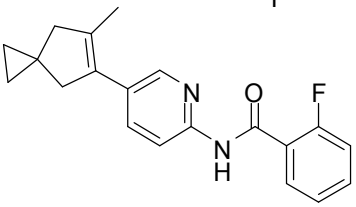
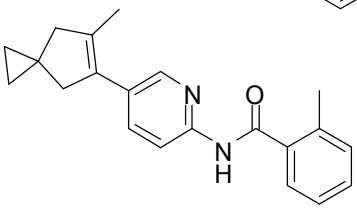
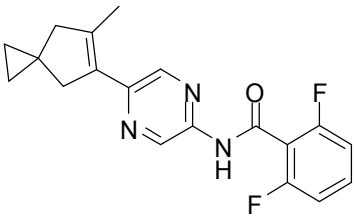
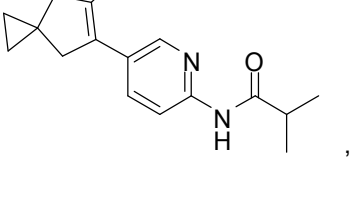
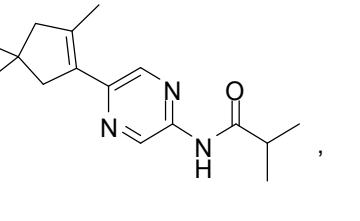
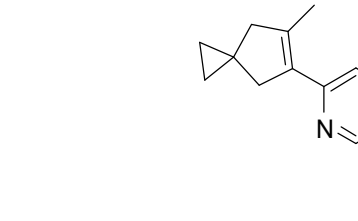
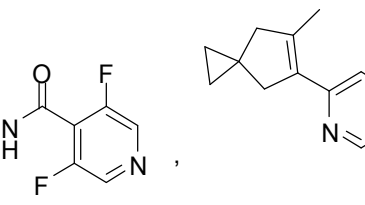
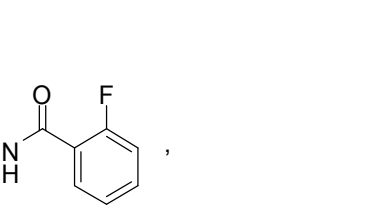
,

,

,

,

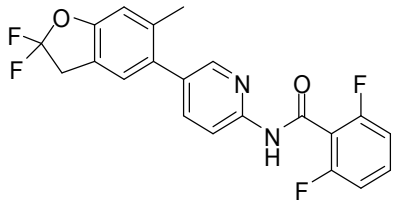
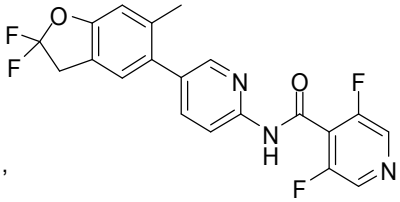
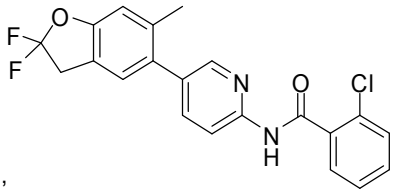
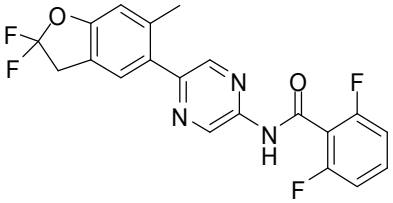
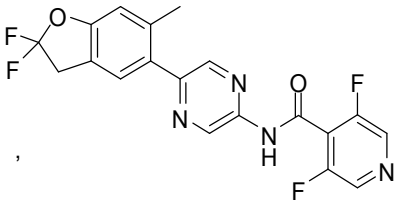
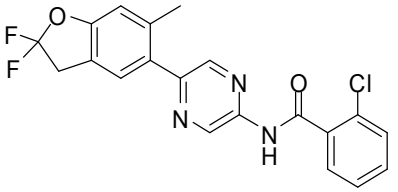
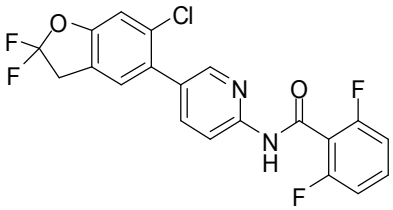
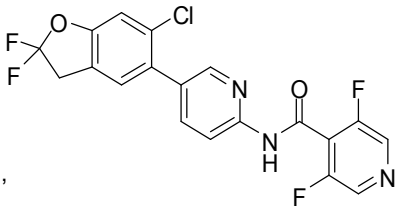
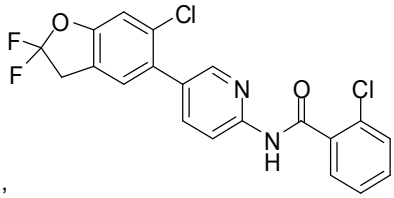
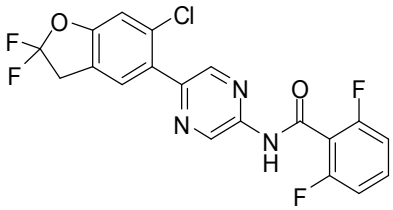
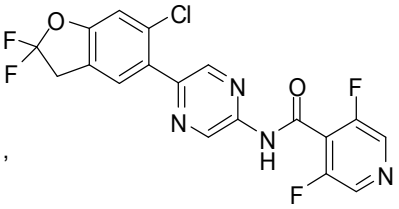
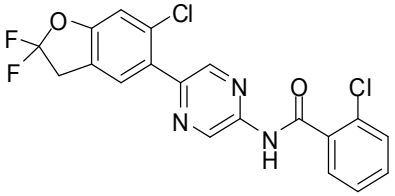
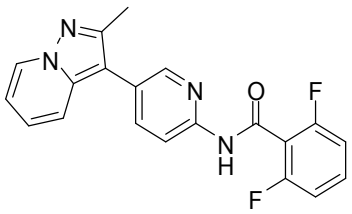
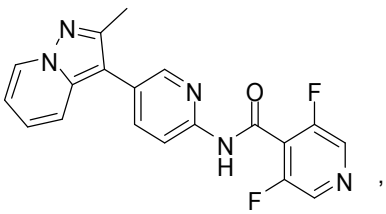
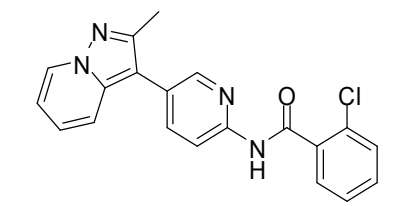
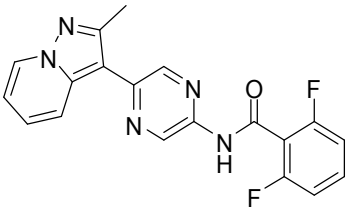
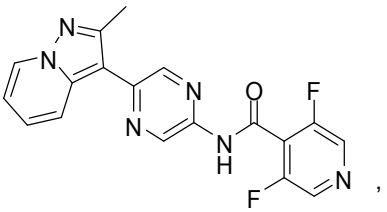
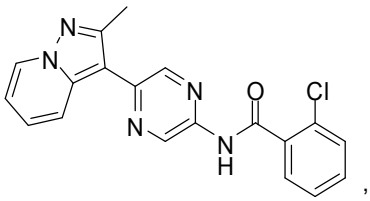
,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

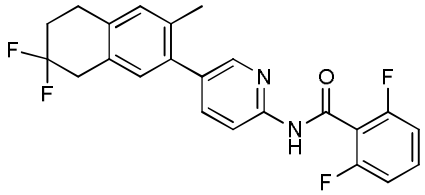
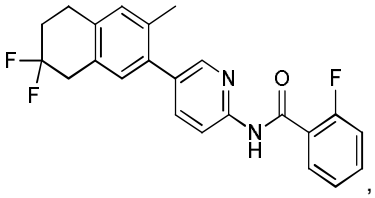
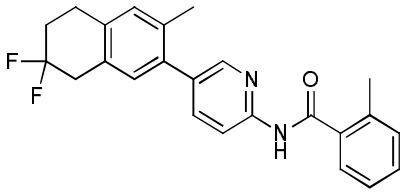
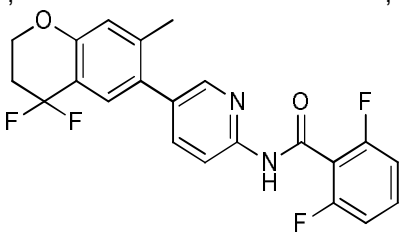
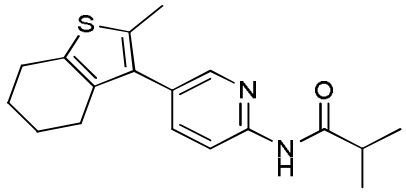
,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

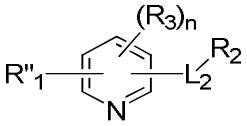
,

,

,


,

,

,

, y

; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otra instancia es un compuesto que tiene la estructura:


;

donde:

R''_1 es un heteroarilo de 5 miembros opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, D, F, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–OCF_3$, $–OR_5$, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, $–NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2N(R_5)_2$, $–N(R_5)S(=O)_2N(R_5)_2$, $–C(=O)CF_3$, $–C(=O)NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2NHC(=O)R_4$, $–N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)R_5$, $–N(R_5)C(=O)N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)OR_4$, $–CO_2R_5$, $–C(=O)R_5$, $–OC(=O)R_4$, $–OC(=O)N(R_5)_2$, $–CON(R_5)_2$, $–SR_5$, $–S(=O)R_4$, y $–S(=O)_2R_4$;

n es un número entero seleccionado entre 1–3;

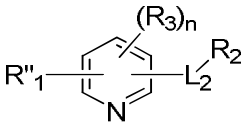
cada R_4 se selecciona independientemente entre alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

R_5 y R_7 cada uno se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

R_6 se selecciona entre H, F, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_4, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, $–NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2N(R_5)_2$, $–N(R_5)S(=O)_2N(R_5)_2$, $–C(=O)CF_3$, $–C(=O)NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2NHC(=O)R_4$, $–N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)R_4$, $–N(R_5)C(=O)N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)OR_4$, $–CO_2R_5$, $–C(=O)R_5$, $–OC(=O)R_4$, $–OC(=O)N(R_5)_2$, $–CON(R_5)_2$, $–SR_5$, $–S(=O)R_4$, y $–S(=O)_2R_4$;

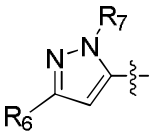
o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

También se describe en esta invención un compuesto de Fórmula (III) que tiene la estructura:



Fórmula (III);

donde:

R"$_1$ es  ;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC1–C4heterocicloalquiloC2–C8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC1–C4heterocicloalquiloC2–C8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, D, F, Cl, Br, I, –CN, –NO_2, –OH, –OCF_3, –OR_5, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, –$NHS(=O)_2R_4$, –$S(=O)_2N(R_5)_2$, –$N(R_5)S(=O)_2N(R_5)_2$, –$C(=O)CF_3$, –$C(=O)NHS(=O)_2R_4$, –$S(=O)_2NHC(=O)R_4$, –$N(R_5)_2$, –$N(R_5)C(=O)R_5$, –$N(R_5)C(=O)N(R_5)_2$, –$N(R_5)C(=O)OR_4$, –CO_2R_5, –$C(=O)R_5$, –$OC(=O)R_4$, –$OC(=O)N(R_5)_2$, –$CON(R_5)_2$, –SR_5, –$S(=O)R_4$, y –$S(=O)_2R_4$;

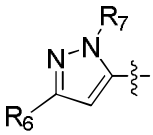
n es un número entero seleccionado entre 1–3;

cada R_4 se selecciona independientemente entre alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

R_5 y R_7 cada uno se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

R_6 se selecciona entre H, F, Cl, Br, I, –CN, –NO_2, –OH, –CF_3, –OCF_3, –OR_5, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_4, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, –$NHS(=O)_2R_4$, –$S(=O)_2N(R_5)_2$, –$N(R_5)S(=O)_2N(R_5)_2$, –$C(=O)CF_3$, –$C(=O)NHS(=O)_2R_4$, –$S(=O)_2NHC(=O)R_4$, –$N(R_5)_2$, –$N(R_5)C(=O)R_4$, –$N(R_5)C(=O)N(R_5)_2$, –$N(R_5)C(=O)OR_4$, –CO_2R_5, –$C(=O)R_5$, –$OC(=O)R_4$, –$OC(=O)N(R_5)_2$, –$CON(R_5)_2$, –SR_5, –$S(=O)R_4$, y –$S(=O)_2R_4$;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En esta invención también se describe un compuesto de Fórmula (III) donde R''$_1$ es  donde

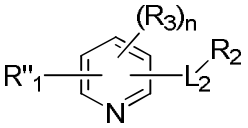
R_6 se selecciona entre H, D, F, Cl, Br, I, –CN, NO_2, OH, CF_3, OCF_3, OR_5, alquilo C_1–C_6, y cicloalquilo C_3–C_8. En una instancia, R_6 es –CN. En otra instancia, R_6 es OH. En aun otra instancia, R_6 es alquilo C_1–C_6. En una instancia adicional, R_6 se selecciona entre metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, y tercbutilo. En una instancia, R_6 es metilo. En otra instancia R_6 es etilo.

Otra instancia es un compuesto de Fórmula (III) donde R_6 se selecciona entre CF_3, alquilo C_1–C_6, y cicloalquilo C_3–C_8. En ciertas instancias, R_6 es CF_3. En otras instancias, R_6 es ciclopropilo. En otras instancias, R_7 es alquilo C_1–C_6. En ciertas instancias, R_7 es CH_3. En ciertas instancias, R_7 es C_2H_5. En ciertas instancias, R_7 es isopropilo.

Una instancia es un compuesto de Fórmula (III) donde L_2 es –NH–C(=O)–. En una instancia, L_2 es –C(=O)NH–. En una instancia, R_2 es arilo. En otra instancia, R_2 es fenilo. En una instancia adicional, fenilo es sustituido con por lo menos un halógeno seleccionado entre F, Cl, Br, o I. En otra instancia, fenilo es sustituido con Cl. En aun otra instancia, fenilo es sustituido con F. En una instancia adicional, fenilo es sustituido con Br.

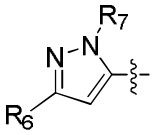
En aun otra instancia, fenilo es sustituido con OH, –CN, OR_5, alquilo C_1–C_6 o $N(R_5)_2$. En aun otra instancia, fenilo es sustituido con alquilo C_1–C_6 seleccionado entre metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, o tercbutilo. En aun otra instancia R_2 es heteroarilo. En una instancia, es un compuesto de Fórmula (III) donde heteroarilo se selecciona entre tienilo, tiantrenilo, furilo, piranilo, tiadiazolilo, benzotiadiazolilo, isobenzofuranilo, cromenilo, xantenilo, fenoxatiinilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, indolizinilo, isoindolilo, 3*H*–indolilo, indolilo, indazolilo, purinilo, 4*H*–quinolizinilo, isoquinolilo, quinolilo, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, oxazolilo, cinolinilo, pteridinilo, 4a*H*–carbazolilo, carbazolilo, carbolinilo, fenantridinilo, acridinilo, perimidinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenarsazinilo, fenotiazinilo, furazanilo, y fenoxazinilo. En otra instancia, heteroarilo es piridina. En una instancia adicional, heteroarilo es sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre halógeno, OH, –CN, $–NO_2$, CF_3, OCF_3, OR_5, $–N(R_5)_2$, alquilo C_1–C_6 o cicloalquilo C_3–C_8. En esta invención también se describe un compuesto de Fórmula (III) donde la porción tiofeno unida al anillo de piridina de Fórmula (III) es sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre F, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, $–NR_5R_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6. En una instancia, R_3 es F, Cl, Br, o I. En una instancia, R_3 es sustituido con alquilo C_1–C_6 seleccionado entre metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, o tercbutilo. En otra instancia R_3 es metilo. En aun otra instancia, R_3 es etilo. En una instancia adicional, R_3 es isopropilo. En otra instancia, la porción tiofeno unida al anillo de piridina del compuesto de Fórmula (III) es sustituida con al menos dos R_3. Otra instancia es un compuesto de Fórmula (III) donde n es 1. En una instancia adicional, n es 2. En aun otra instancia, n es 3.

Otro caso es un compuesto de Fórmula (IV) que tiene la estructura:



Fórmula (IV);

donde:

R''_1 es 

;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC_1–C_4heterocicloalquiloC_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC_1–C_4heterocicloalquiloC_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado, o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, D, F, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, $–NR_5R_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, $–NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2N(R_5)_2$, $–N(R_5)S(=O)_2N(R_5)_2$, $–C(=O)CF_3$, $–C(=O)NHS(=O)_2R_4$, $–S(=O)_2NHC(=O)R_4$, $–N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)R_5$, $–N(R_5)C(=O)N(R_5)_2$, $–N(R_5)C(=O)OR_4$, $–CO_2R_5$, $–C(=O)R_5$, $–OC(=O)R_4$, $–OC(=O)N(R_5)_2$, $–CON(R_5)_2$, $–SR_5$, $–S(=O)R_4$, y $–S(=O)_2R_4$;

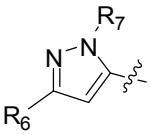
n es un número entero seleccionado entre 0–3;

cada R_4 se selecciona independientemente entre alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

R_5 y R_7 cada uno se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

R_6 se selecciona entre CN o arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido;

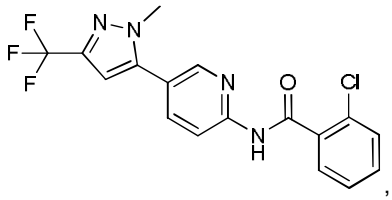
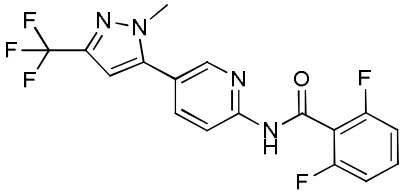
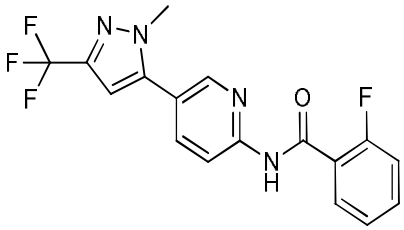
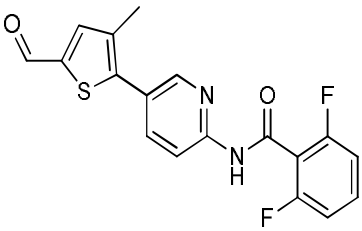
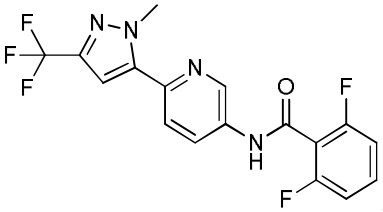
o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

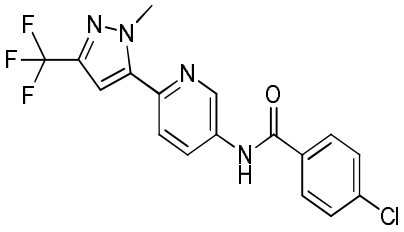
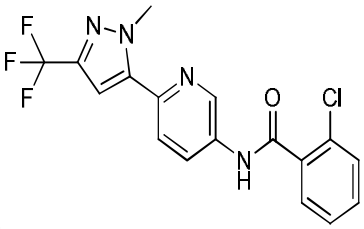
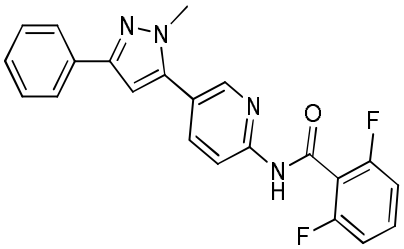
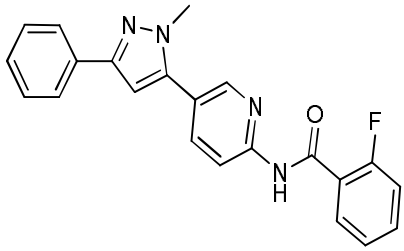
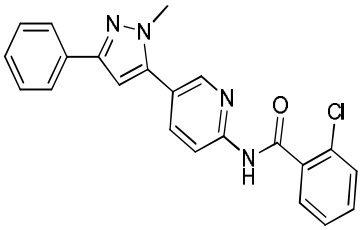
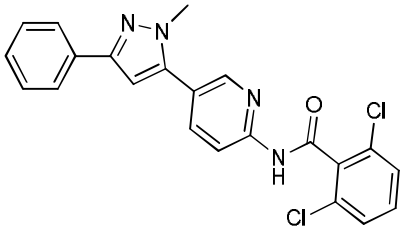
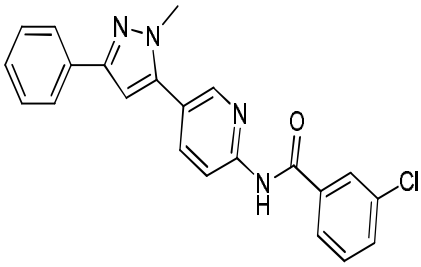
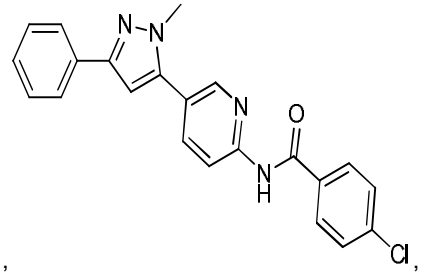
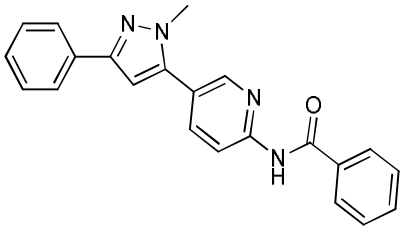
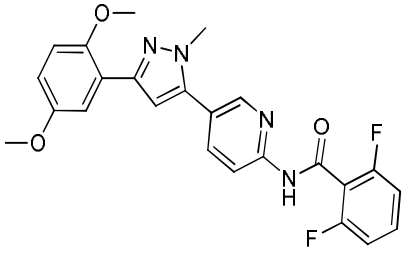
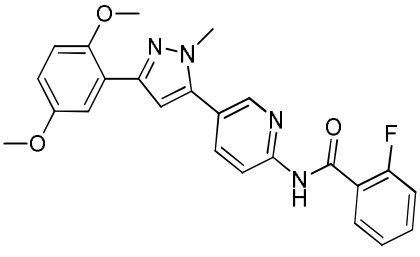
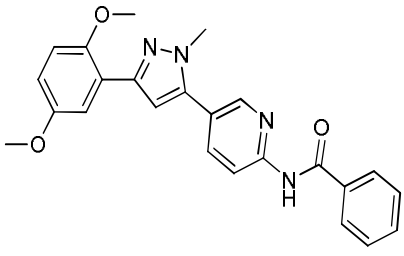
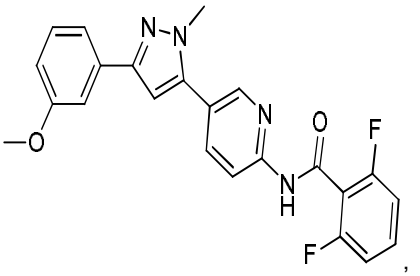
Una instancia es un compuesto de Fórmula (IV) donde R'$_1$ es 

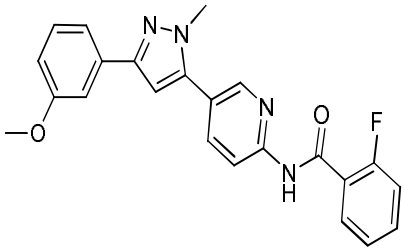
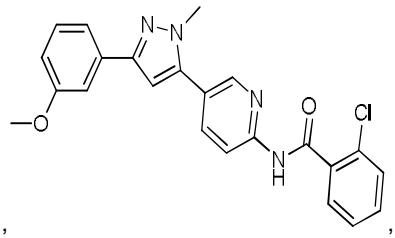
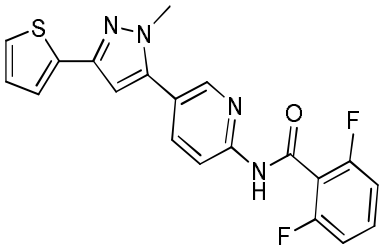
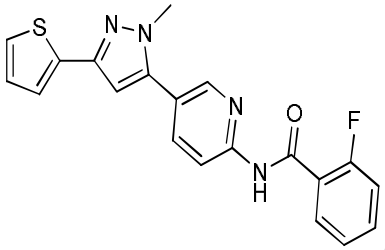
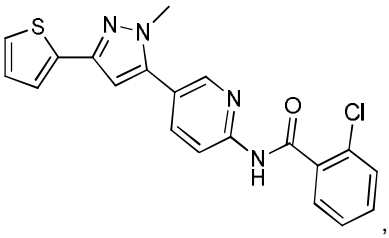
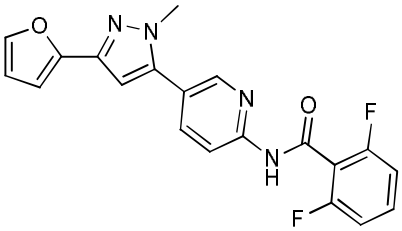
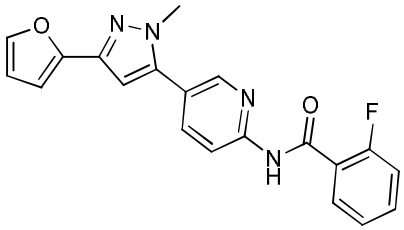
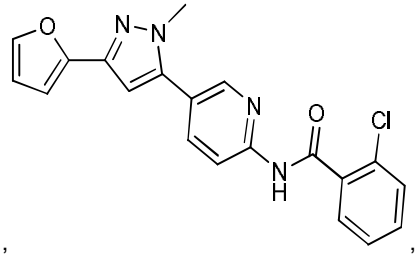
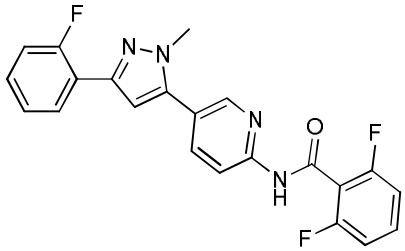
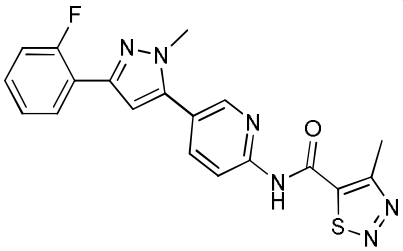
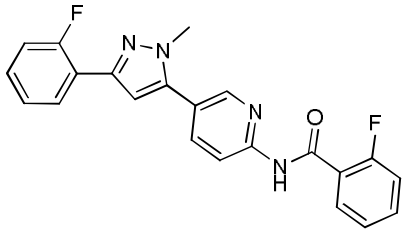
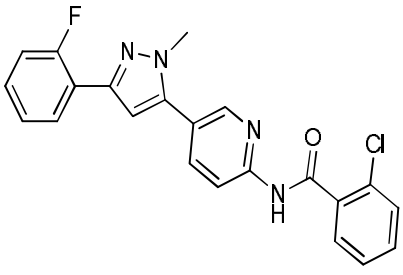
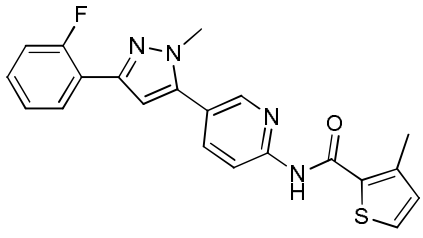
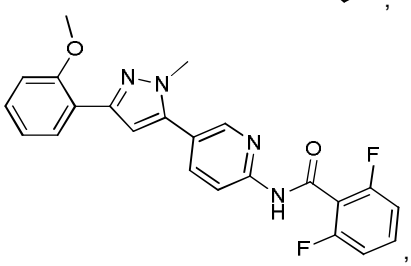
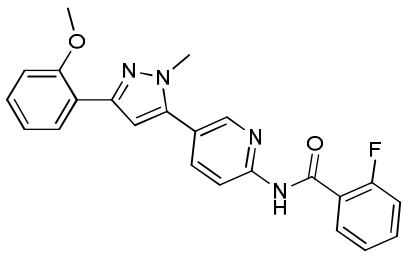
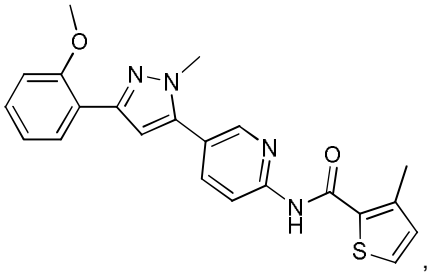
donde R_6 es independientemente un arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido. En una instancia, cada R_6 es independientemente un arilo opcionalmente sustituido. En otra instancia, aril es un grupo fenilo. En otra instancia, el grupo fenilo es sustituido con por lo menos un halógeno. En otra instancia, el por lo menos un halógeno se selecciona entre F, Cl, Br, y I. En otra instancia, halógeno es F. En otra instancia, halógeno es Cl. En una instancia adicional, halógeno es Br. Una instancia es un compuesto de Fórmula (IV) donde R_6 es CN. En aun otra instancia es un compuesto de Fórmula (IV) donde R_6 es un heteroarilo opcionalmente sustituido. En una instancia, heteroarilo se selecciona entre tienilo, tiantrenilo, furilo, piranilo, tiadiazolilo, benzotiadiazolilo, isobenzofuranilo, cromenilo, xantenilo, fenoxatiinilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, indolizinilo, isoindolilo, 3*H*–indolilo, indolilo, indazolilo, purinilo, 4*H*–quinolizinilo, isoquinolilo, quinolilo, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, oxazolilo, cinolinilo, pteridinilo, 4a*H*–carbazolilo, carbazolilo, carbolinilo, fenantridinilo, acridinilo, perimidinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenarsazinilo, fenotiazinilo, furazanilo, y fenoxazinilo. En otra instancia, heteroarilo es furano. En aun otra instancia, heteroarilo es pirazol. En otra instancia, heteroarilo es tiofeno. En una instancia adicional, heteroarilo es oxadiazol. En otras instancias, R_7 es alquilo C_1–C_6. En ciertas instancias, R_7 es CH_3. En ciertas instancias, R_7 es C_2H_5. En ciertas instancias, R_7 es isopropilo.

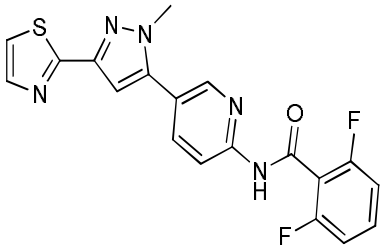
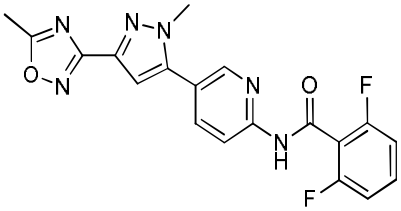
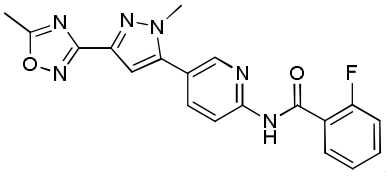
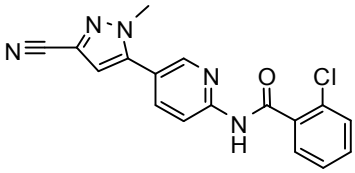
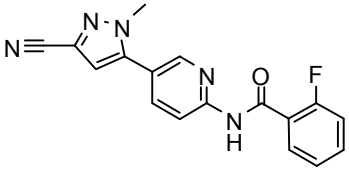
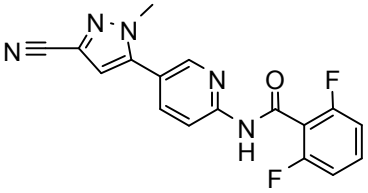
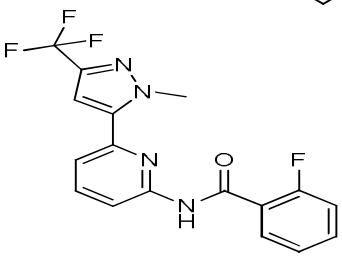
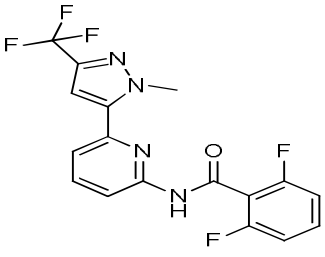
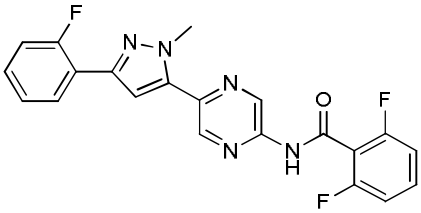
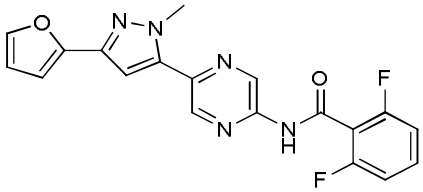
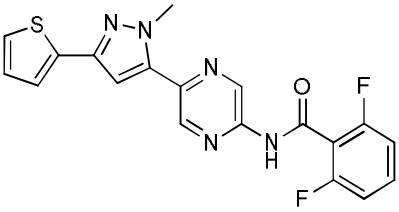
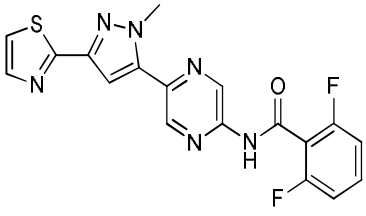
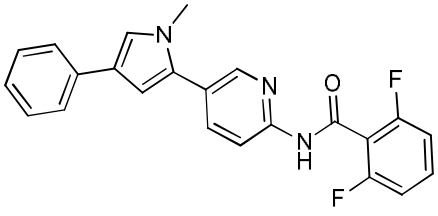
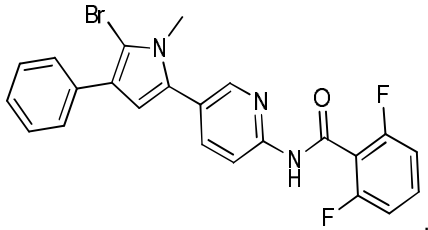
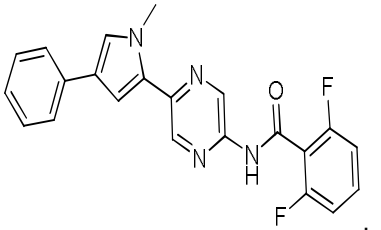
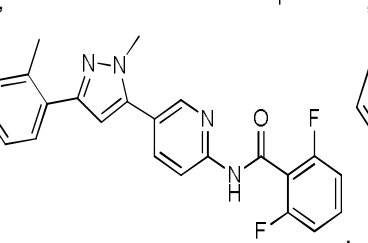
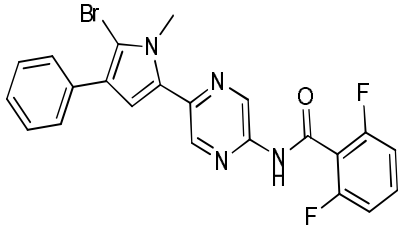
Una instancia es un compuesto de Fórmula (IV) donde L_2 es –NH–C(=O)–. En una instancia, L_2 es –C(=O)NH–. En una instancia, R_2 es arilo. En otra instancia, R_2 es fenilo. En una instancia adicional, fenilo es sustituido con por lo menos un halógeno seleccionado entre F, Cl, Br, o I. En otra instancia, fenilo es sustituido con Cl. En aun otra instancia, fenilo es sustituido con F. En una instancia adicional, fenilo es sustituido con Br. En aun otra instancia, fenilo es sustituido con OH, –CN, OR_5, alquilo C_1–C_6 o $N(R_5)_2$. En aun otra instancia, fenilo es sustituido con alquilo C1–C6 seleccionado entre metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, o tercbutilo. En aun otra instancia R_2 es heteroarilo. En una instancia, es un compuesto de Fórmula (IV) donde heteroarilo se selecciona entre tienilo, tiantrenilo, furilo, piranilo, tiadiazolilo, benzotiadiazolilo, isobenzofuranilo, cromenilo, xantenilo, fenoxatiinilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, indolizinilo, isoindolilo, 3*H*–indolilo, indolilo, indazolilo, purinilo, 4*H*–quinolizinilo, isoquinolilo, quinolilo, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, oxazolilo, cinolinilo, pteridinilo, 4a*H*–carbazolilo, carbazolilo, carbolinilo, fenantridinilo, acridinilo, perimidinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenarsazinilo, fenotiazinilo, furazanilo, y fenoxazinilo. En otra instancia, heteroarilo es piridina. En una instancia adicional, heteroarilo es sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre halógeno, OH, –CN, $–NO_2$, CF_3, OCF_3, OR_5, $–N(R_5)_2$, alquilo C1–C6 o cicloalquilo C_3–C_8. En esta invención también se describe un compuesto de Fórmula (IV) donde la porción tiofeno unida al anillo de piridina de Fórmula (IV) es sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre F, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, $–NR_5R_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6. En una instancia, R_3 es F, Cl, Br, o I. En una instancia, R_3 es sustituido con alquilo C_1–C_6 seleccionado entre metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, o tercbutilo. En otra instancia R_3 es metilo. En aun otra instancia, R_3 es etilo. En una instancia adicional, R_3 es isopropilo. En otra instancia, la porción tiofeno unida al anillo de piridina del compuesto de Fórmula (IV) es sustituida con al menos dos R_3. Otra instancia es un compuesto de Fórmula (IV) donde n es 1. En otras instancias, n es 2. En otras instancias, n es 3.

Una instancia es un compuesto seleccionado entre:


,


,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

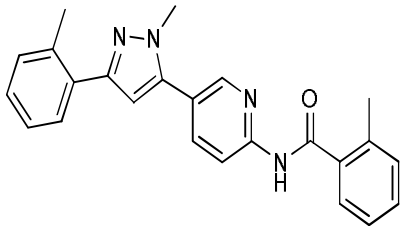
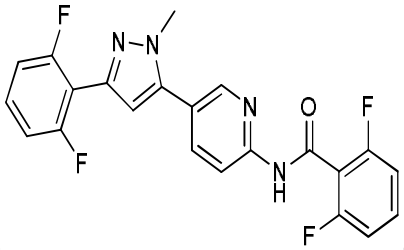
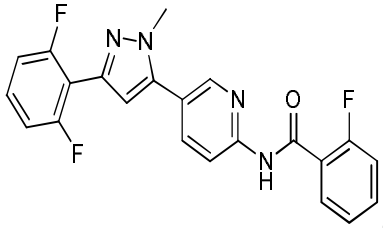
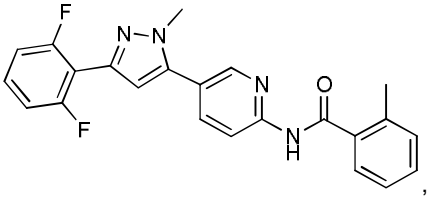
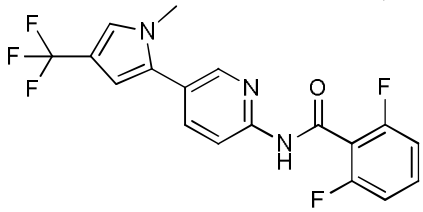
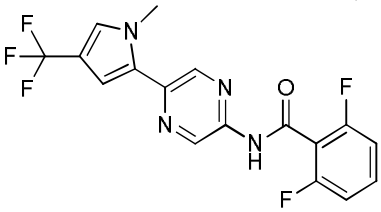

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

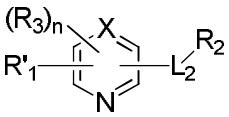
,

,

,

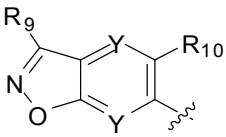
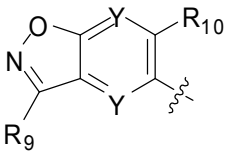

,

,

,

,

, y

; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otro caso es un compuesto de Fórmula (V) que tiene la estructura:



Fórmula (V);

donde:

R'_1 es 
,

;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es CR_3 o N;

Y se selecciona independientemente entre C o N;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC_1–C_4heterocicloalquiloC_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC1–C4heterocicloalquiloC2–C8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido,

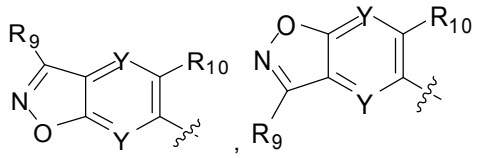
n es un número entero seleccionado entre 0–2;

R_9 y R_{10} cada uno se selecciona independientemente entre H, D, alquilo C_1–C_6, halógeno, haloalquilo C_1–C_6, –OR_5, $–OCF_3$, carbonilalquilo C_1–C_6, o $–CF_3$;

R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una instancia, L_2 es –NH–C(=O)–. En aun otra instancia, L_2 es –C(=O)NH–. Una instancia es un compuesto de Fórmula (V) donde R'_1 se selecciona entre

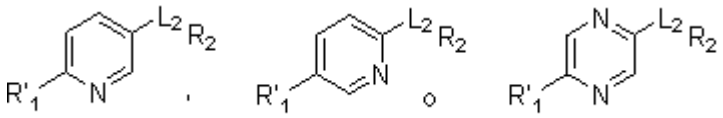


R_9 es H, alquilo C_1–C_6, halógeno, carbonilalquilo C_1–C_6, o CF_3. En una instancia, R_9 es H. En otra instancia R_9 es alquilo C_1–C_6. En una instancia adicional, R_9 es metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, y tercbutilo. En una instancia, R_{10} es metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo. En una instancia adicional R_{10} es halógeno seleccionado entre F, Cl, Br, y I. En una instancia R_{10} es Cl. En otra instancia, R_{10} es Br. En otra instancia, R_{10} es CF_3.

Otra instancia es un compuesto de Fórmula (V) donde R_2 es arilo opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3. En otra instancia, arilo es fenilo. En una instancia adicional, fenilo es sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre F, Cl, Br, y I. En otra instancia, fenilo es sustituido con –OH, –CN, CF_3, o alquilo C_1–C_6. En otra instancia, alquilo C_1–C_6 se selecciona entre metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, o tercbutilo. En una instancia, alquilo C_1–C_6 es metilo. En otra instancia, alquilo C_1–C_6 es etilo. En otra instancia, R_3 es cicloalquilo C_3–C_8. En una instancia adicional, R_3 es ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo. En aun otra instancia, R_2 es fenilo sustituido con al menos 2 sustituyentes. En una instancia adicional, al menos 3 sustituyentes.

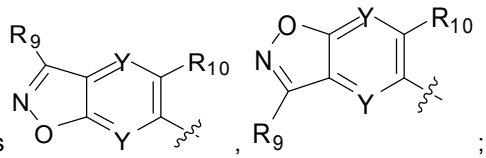
En aun otra instancia es un compuesto de Fórmula (V) donde R_2 es heteroarilo seleccionado entre tienilo, tiantrenilo, furilo, piranilo, tiadiazolilo, benzotiadiazolilo, isobenzofuranilo, cromenilo, xantenilo, fenoxatiinilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, indolizinilo, isoindolilo, 3*H*–indolilo, indolilo, indazolilo, purinilo, 4*H*–quinolizinilo, isoquinolilo, quinolilo, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, oxazolilo, cinolinilo, pteridinilo, 4a*H*–carbazolilo, carbazolilo, carbolinilo, fenantridinilo, acridinilo, perimidinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenarsazinilo, fenotiazinilo, furazanilo, y fenoxazinilo. En otra instancia, heteroarilo es furano. En aun otra instancia, heteroarilo es pirazol. En otra instancia, heteroarilo es tiofeno. En aun otra instancia, heteroarilo es sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre F, Cl, Br, I, –OH, –CN, NO_2, y alquilo C_1–C_6. En una instancia, heteroarilo es sustituido con por lo menos un F. En otra instancia, con por lo menos uno Cl. En una instancia adicional, por lo menos un Br. En aun otra instancia, por lo menos un alquilo C_1–C_6 seleccionado entre metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, o tercbutilo. En aun otra instancia, heteroarilo es sustituido con por lo menos un metilo. En aun otra instancia, heteroarilo es sustituido con al menos dos grupos R_3. En otra instancia, al menos tres grupos R_3.

Otra instancia es un compuesto que tiene la estructura:



Fórmula (V);

donde:

R'_1 es  ;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

Y se selecciona independientemente entre C o N;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC_1–C_4heterocicloalquiloC_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC1–

C4heterocicloalquiloC_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

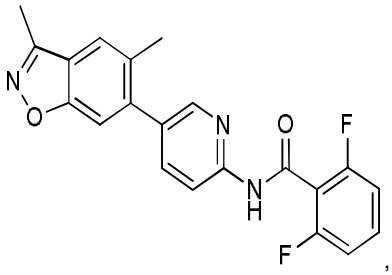
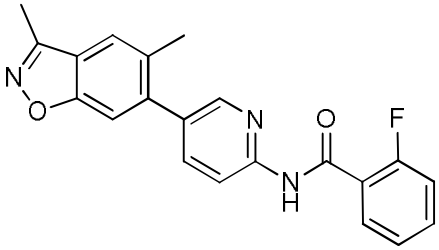
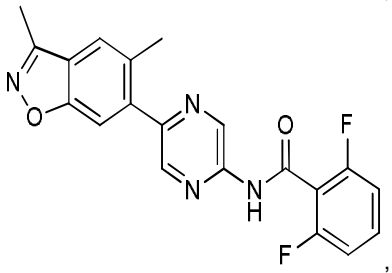
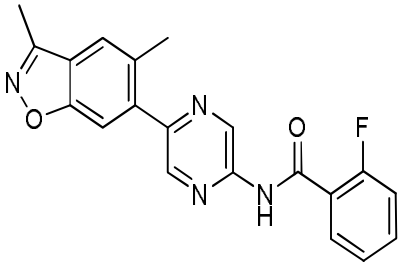
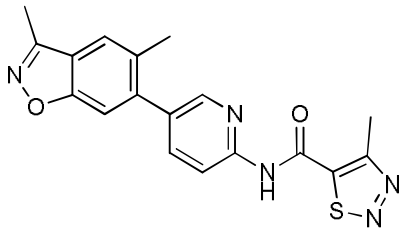
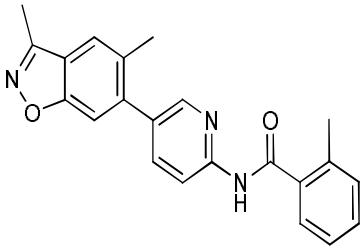
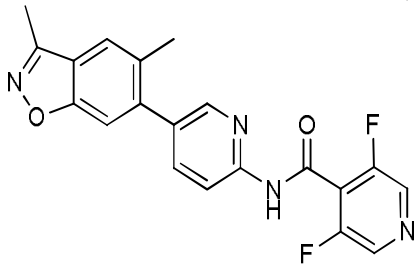
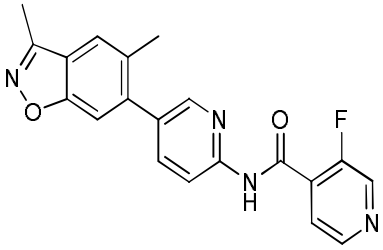
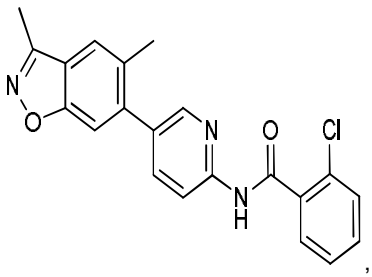
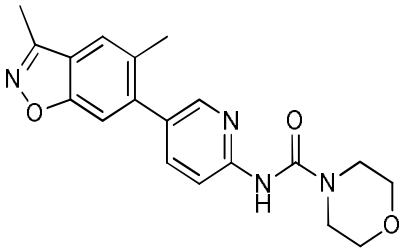
R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, –NO_2, –OH, –CF_3, –OCF_3, –OR_5, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido,

n es un número entero seleccionado entre 0–2;

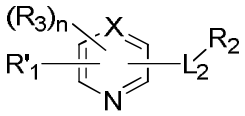
R_9 y R_{10} cada uno se selecciona independientemente entre H, D, alquilo C_1–C_6, halógeno, haloalquilo C_1–C_6, –OR_5, –OCF_3, carbonilalquilo C_1–C_6, o –CF_3;

R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una instancia, el compuesto se selecciona entre:

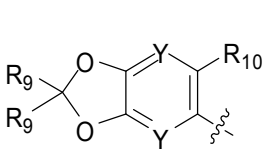
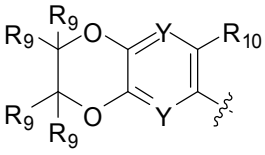
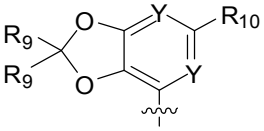
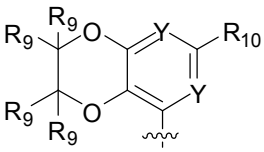

,

,

,

,

,

,

,

,

,

; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otro caso es un compuesto de Fórmula (VI) que tiene la estructura:



Fórmula (VI);

donde:

R'_1 es  ,  ,  , o  ;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es CR_3 o N;

Y se selecciona independientemente entre CR_9 o N;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC_1–C_4heterocicloalquiloC_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC_1–C_4heterocicloalquiloC2–C8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido;

n es un número entero seleccionado entre 0–2;

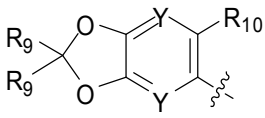
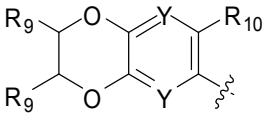
R_9 se selecciona independientemente entre H, D, halógeno, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, $–OR_5$, $–OCF_3$, carbonilalquilo C_1–C_6, o $–CF_3$; o dos R_9 unidos al mismo átomo de carbono forman un anillo oxetano;

R_{10} se selecciona entre halógeno, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, $–OR_5$, $–OCF_3$, carbonilalquilo C_1–C_6, o $–CF_3$;

R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una instancia, L_2 es –NH–C(=O)–. En aun otra instancia, L_2 es –C(=O)NH–. Una instancia es un compuesto de Fórmula (VI) donde R'_1 se selecciona entre

 , 

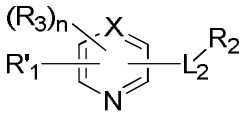
R_9 es H, D, alquilo C_1–C_6, halógeno, carbonilalquilo C_1–C_6, o CF_3. En una instancia, R_9 es H. En otra instancia R_9 es alquilo C_1–C_6. En otra instancia R_9 es F. En una instancia adicional, R_9 es metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, y tercbutilo. En una instancia, R_{10} es metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo. En una instancia adicional R_{10} es halógeno seleccionado entre F, Cl, Br, y I. En una instancia R_{10} es Cl. En otra instancia, R_{10} es Br. En otra instancia, R_{10} es CF_3.

Una instancia es un compuesto de Fórmula (VI) donde cada R_9 es D. Otra instancia es un compuesto de Fórmula (VI) donde cada R_9 es a halógeno. Una instancia adicional es un compuesto de Fórmula (VI) donde cada R_9 es F. En aun otra instancia, cada R_9 es Br. En aun otra instancia cada R_9 es Cl.

Otra instancia es un compuesto de Fórmula (VI) donde R_2 es arilo opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3. En otra instancia, arilo es fenilo. En una instancia adicional, fenilo es sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre F, Cl, Br, y I. En otra instancia, fenilo es sustituido con –OH, –CN, CF_3, o alquilo C_1–C_6. En otra instancia, alquilo C_1–C_6 se selecciona entre metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, o tercbutilo. En una instancia, alquilo C_1–C_6 es metilo. En otra instancia, alquilo C_1–C_6 es etilo. En otra instancia, R_3 es cicloalquilo C_3–C_8. En una instancia adicional, R_3 es ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo. En aun otra instancia, R_2 es fenilo sustituido con al menos 2 sustituyentes. En una instancia adicional, al menos 3 sustituyentes.

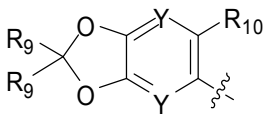
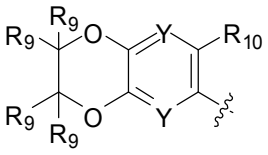
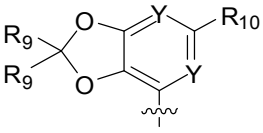
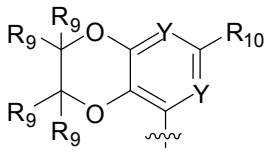
En aun otra instancia es un compuesto de Fórmula (VI) donde R_2 es heteroarilo seleccionado entre tienilo, tiantrenilo, furilo, piranilo, tiadiazolilo, benzotiadiazolilo, isobenzofuranilo, cromenilo, xantenilo, fenoxatiinilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, indolizinilo, isoindolilo, 3*H*–indolilo, indolilo, indazolilo, purinilo, 4*H*–quinolizinilo, isoquinolilo, quinolilo, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, oxazolilo, cinolinilo, pteridinilo, 4a*H*–carbazolilo, carbazolilo, carbolinilo, fenantridinilo, acridinilo, perimidinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenarsazinilo, fenotiazinilo, furazanilo, y fenoxazinilo. En otra instancia, heteroarilo es furano. En una instancia, heteroarilo es benzotiadiazol. En aun otra instancia, heteroarilo es pirazol. En otra instancia, heteroarilo es tiofeno. En aun otra instancia, heteroarilo es sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre F, Cl, Br, I, –OH, –CN, NO_2, y alquilo C_1–C_6. En una instancia, heteroarilo es sustituido con por lo menos uno F. En otra instancia, con por lo menos un Cl. En una instancia adicional, por lo menos un Br. En aun otra instancia, por lo menos un alquilo C_1–C_6 seleccionado entre metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, o tercbutilo. En aun otra instancia, heteroarilo es sustituido con por lo menos uno metilo. En otra instancia heteroarilo es sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido. En una instancia, R_3 es fenilo. En otra instancia, fenilo es sustituido con por lo menos un halógeno o alquilo C_1–C_6. En otra instancia, fenilo es sustituido con metilo. En aun otra instancia, R_3 es heteroarilo es tienilo, tiantrenilo, furilo, piranilo, tiadiazolilo, benzotiadiazolilo, isobenzofuranilo, cromenilo, xantenilo, fenoxatiinilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, indolizinilo, isoindolilo, 3*H*–indolilo, indolilo, indazolilo, purinilo, 4*H*–quinolizinilo, isoquinolilo, quinolilo, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, oxazolilo, cinolinilo, pteridinilo, 4a*H*–carbazolilo, carbazolilo, carbolinilo, fenantridinilo, acridinilo, perimidinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenarsazinilo, fenotiazinilo, furazanilo, y fenoxazinilo. En otra instancia, R_3 es tiofeno. En aun otra instancia, R_3 es furano. En aun otra instancia, R_3 es tiazol. En aun otra instancia, heteroarilo es sustituido con al menos dos grupos R_3. En otra instancia, al menos tres grupos R_3.

Otro caso es un compuesto de Fórmula (VI) que tiene la estructura:



Fórmula (VI);

donde:

R'_1 es  ,  ,  , o  ;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es CR_3 o N;

Y se selecciona independientemente entre CR_9 o N;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8 es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, –NO_2, –OH, –CF_3, –OCF_3, –OR_5, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido;

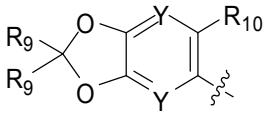
n es un número entero seleccionado entre 0–2;

R_9 se selecciona independientemente entre H, D, halógeno, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, –OR_5, –OCF_3, carbonilalquilo C_1–C_6, o –CF_3; o dos R_9 unidos al mismo átomo de carbono forman un anillo oxetano;

R_{10} se selecciona entre halógeno, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, –OR_5, –OCF_3, carbonilalquilo C_1–C_6, o –CF_3;

R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Una instancia es un compuesto de Fórmula (VI) donde R'_1 es  L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es CR_3 o N;

Y se selecciona independientemente entre CR_9 o N;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8 es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, –NO_2, –OH, –CF_3, –OCF_3, –OR_5, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido;

n es un número entero seleccionado entre 0–2;

R_9 se selecciona independientemente entre H, D, halógeno, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, –OR_5, –OCF_3, carbonilalquilo C_1–C_6, o –CF_3;

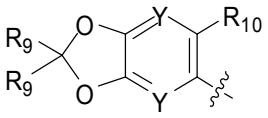
R_{10} se selecciona entre halógeno, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, –OR_5, –OCF_3, carbonilalquilo C_1–C_6, o –CF_3;

R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Una instancia es un compuesto de Fórmula (VI) donde R_2 es alquilo C_1–C_6 opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3. En una instancia, R_2 se selecciona entre metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, y terc butilo. En una instancia adicional R_2 es cicloalquilo C_3–C_8 opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3. En una instancia adicional, R_2 se selecciona entre ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3. En otra instancia, R_2 es ciclopentilo. En una instancia adicional, R_2 es ciclohexilo. En aun otra instancia, R_2 es ciclopentilo sustituido con por lo menos un halógeno. En otra instancia, R_2 es ciclopentilo sustituido con al menos dos halógenos. En una instancia adicional, R_2 es ciclopentilo sustituido con un F. En aun otra instancia, ciclopentilo es sustituido con dos F. En otra instancia, R_2 es ciclopentilo sustituido con por lo menos un alquilo C_1–C_6 seleccionado entre metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, o tercbutilo. En otra instancia, R_2 es ciclopentilo sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre halógeno, CN, NO_2, o OH. En aun otra instancia, R_2 es ciclohexilo sustituido con por lo menos un halógeno. En otra instancia, R_2 es ciclohexilo sustituido con al menos dos halógenos. En una instancia adicional, R_2 es ciclohexilo sustituido con un F. En aun otra instancia, ciclohexilo es sustituido con dos F. En otra instancia, R_2 es ciclohexilo sustituido con por lo menos un alquilo C_1–C_6

seleccionado entre metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, o tercbutilo. En otra instancia, R_2 es ciclohexilo sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre halógeno, CN, NO_2, o OH.

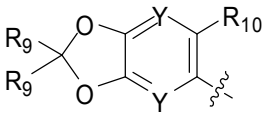
Otra instancia es un compuesto de Fórmula (VI) donde R'_1 es  L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es CR_3 o N;

Y se selecciona independientemente entre CR_9 o N;

R_2 es heteroalquilo C1–C6, opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3.

En una instancia adicional, R_2 es $O–(CH_2)_nCH_3$ donde n es 0–5. En otra instancia, R_2 es OCH_3, OCH_2CH_3, $OCH_2CH_2CH_3$, CH_2OCH_3, $CH_2CH_2OCH_3$. En otra instancia, R_2 es $NH–(CH_2)_nCH_3$ donde n es 0–5. En otra instancia, R_2 es $NHCH_3$, $NHCH_2CH_3$, $NHCH_2CH_2CH_3$, CH_2NHCH_3, $CH_2CH_2NHCH_3$. En una instancia adicional, R_2 es $S–(CH_2)_nCH_3$ donde n es 0–5. En otra instancia, R_2 es SCH_3, SCH_2CH_3, $SCH_2CH_2CH_3$, CH_2SCH_3, $CH_2CH_2SCH_3$.

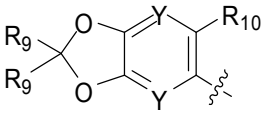
Aun otra instancia se trata de un compuesto de Fórmula (VI) donde R'_1 es  L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es CR_3 o N;

Y se selecciona independientemente entre CR_9 o N;

R_2 es heterocicloalquilo C_2–C_8 opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3.

En una instancia, R_2 se selecciona entre piperidinilo, piperazinilo, indolinilo, isoindolinilo, quinuclidinilo, morfolinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, cromanilo, isocromanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, y piranilo. En otra instancia, piperidinilo, piperazinilo, indolinilo, isoindolinilo, quinuclidinilo, morpholinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, cromanilo, isocromanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, y piranilo es sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8.

Otra instancia es un compuesto de Fórmula (VI) donde R'_1 es,  ,

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es CR_3 o N;

Y se selecciona independientemente entre CR_9 o N;

R_2 es alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8; opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido;

n es un número entero seleccionado entre 0–2;

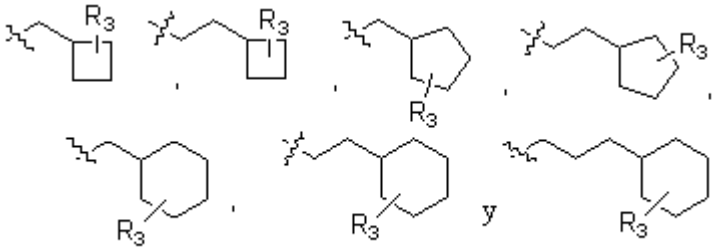
R_9 se selecciona independientemente entre H, D, halógeno, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, $–OR_5$, $–OCF_3$, carbonilalquilo C_1–C_6, o $–CF_3$;

R_{10} se selecciona entre halógeno, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, $–OR_5$, $–OCF_3$, carbonilalquilo C_1–C_6, o $–CF_3$;

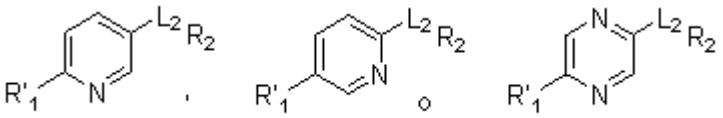
R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

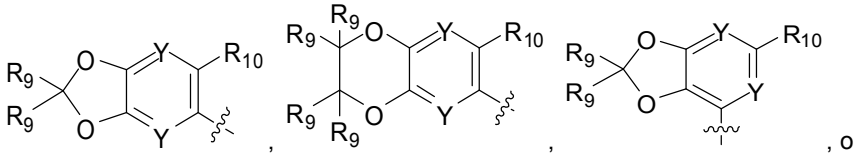
En una instancia, R_2 es alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8 opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, y cicloalquilo C_3–C_8. En una instancia, R_2 es alquilen C_1–C_4heterocicloalquilo C_2–C_8 seleccionado entre:

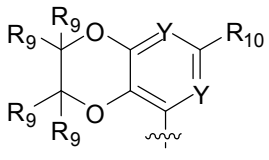


Una instancia es un compuesto que tiene la estructura:



donde:

R'$_1$ es 



L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

Y se selecciona independientemente entre CR_9 o N;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC_1–C_4heterocicloalquiloC_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC_1–C_4heterocicloalquiloC_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido;

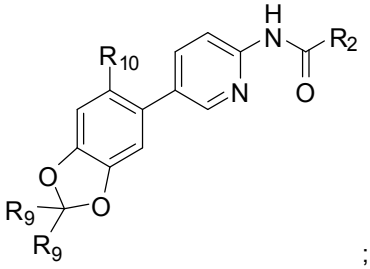
R_9 se selecciona independientemente entre H, D, halógeno, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, $–OR_5$, $–OCF_3$, carbonilalquilo C_1–C_6, o $–CF_3$; o dos R_9 unidos al mismo átomo de carbono forman un anillo oxetano;

R_{10} se selecciona entre halógeno, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, $–OR_5$, $–OCF_3$, carbonilalquilo C_1–C_6, o $–CF_3$;

R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una instancia, es un compuesto que tiene la estructura:



;

donde:

R_2 es arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo $C_1–C_6$, cicloalquilo $C_3–C_8$, heteroalquilo $C_1–C_6$, haloalquilo $C_1–C_6$, heterocicloalquilo $C_2–C_8$, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido;

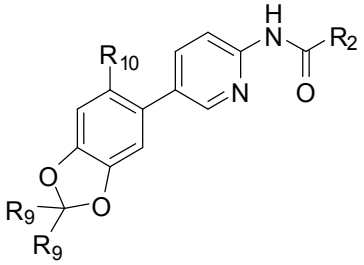
R_9 se selecciona independientemente entre H, D, halógeno, alquilo $C_1–C_6$, haloalquilo $C_1–C_6$, $–OR_5$, $–OCF_3$, carbonilalquilo $C_1–C_6$, o $–CF_3$; o dos R_9 unidos al mismo átomo de carbono forman un anillo oxetano;

R_{10} se selecciona entre halógeno, alquilo $C_1–C_6$, haloalquilo $C_1–C_6$, $–OR_5$, $–OCF_3$, carbonilalquilo $C_1–C_6$, o $–CF_3$;

R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo $C_1–C_6$, haloalquilo $C_1–C_6$, cicloalquilo $C_3–C_8$, fenilo y bencilo;

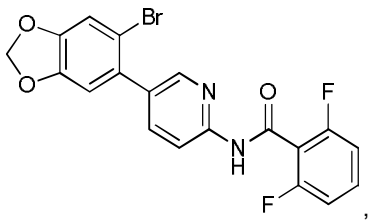
o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una instancia, R_3 es halógeno. En otra instancia el compuesto que tiene la estructura

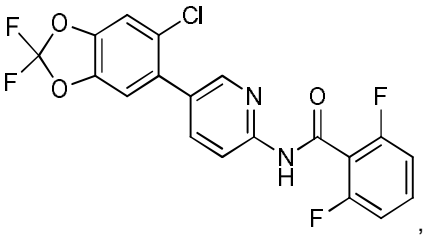


donde R_2 es un arilo es sustituido con dos R_3. En otra instancia, el grupo arilo es un grupo fenilo. En otra instancia, R_{10} es un halógeno. En aun otra instancia, cada R_9 es un halógeno.

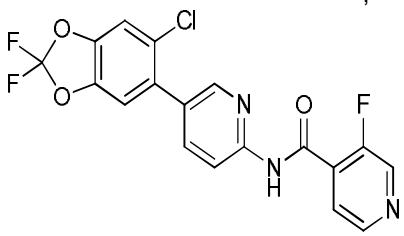
Una instancia adicional es un compuesto seleccionado entre:



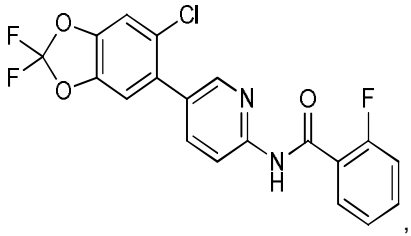
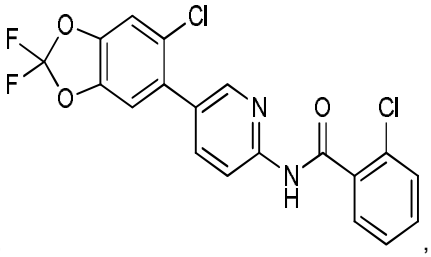
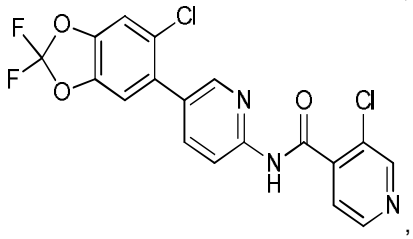
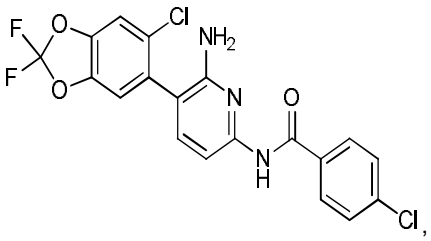
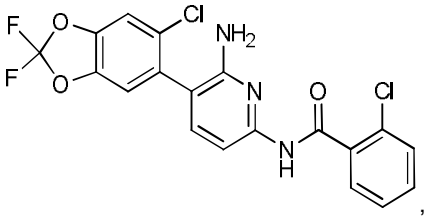
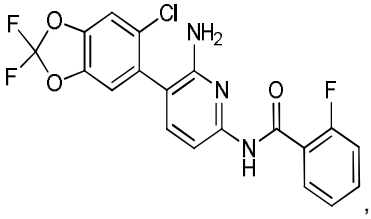
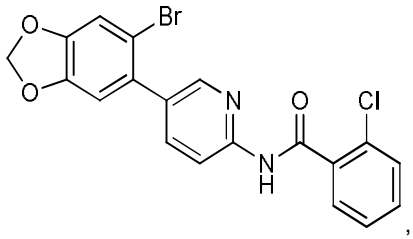
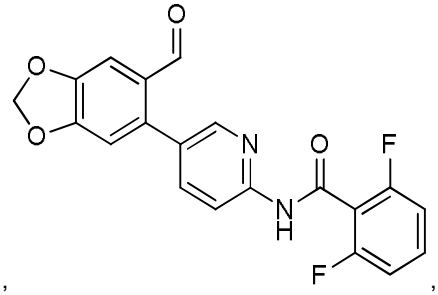
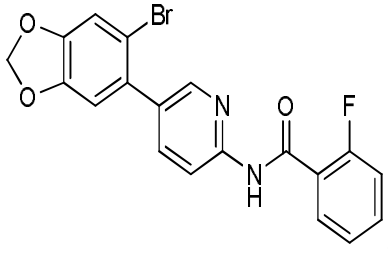
,

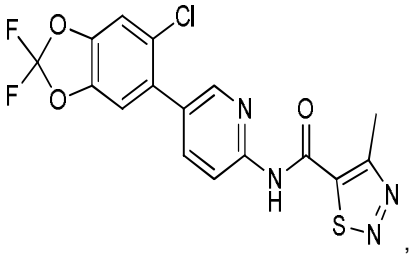
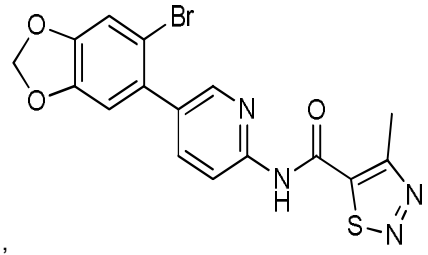
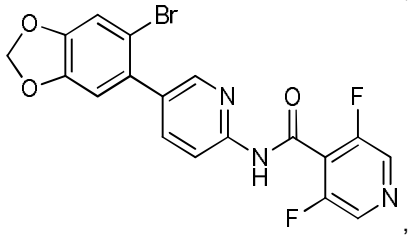
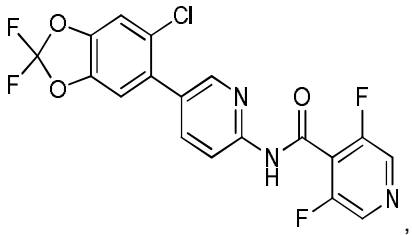
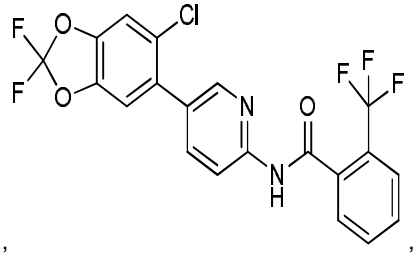
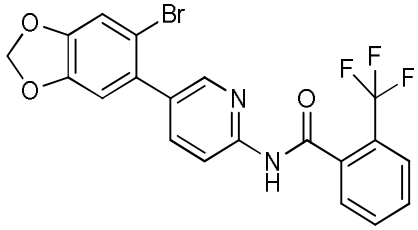
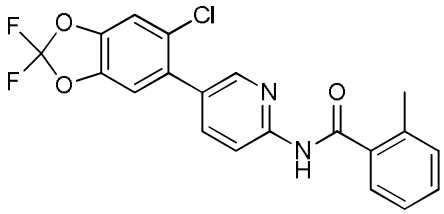
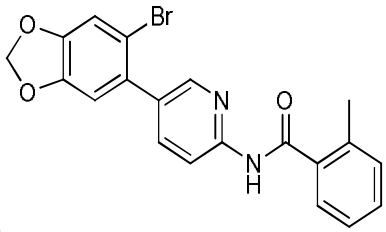
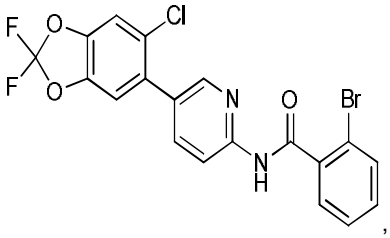


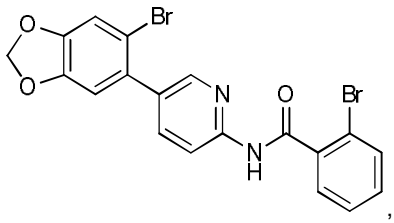
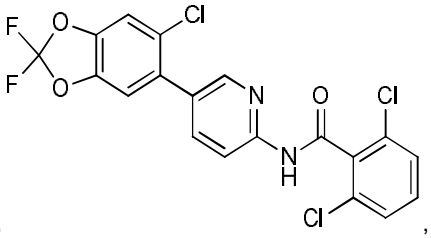
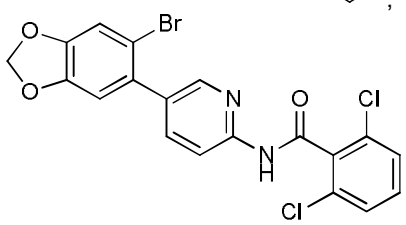
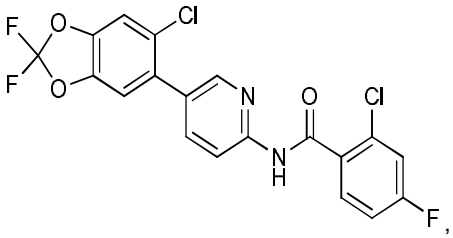
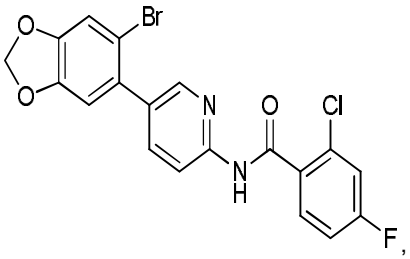
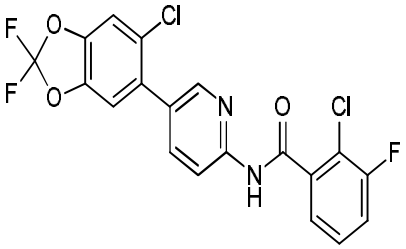
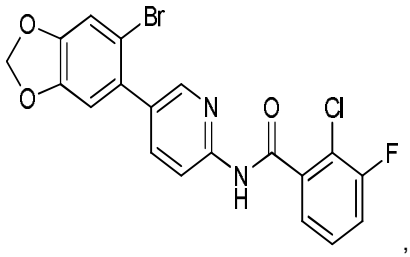
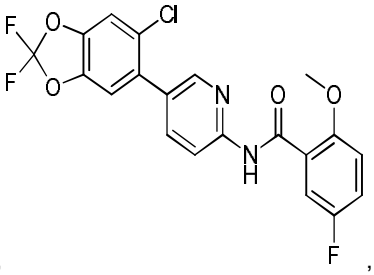
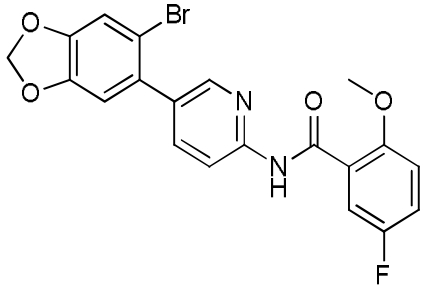
,

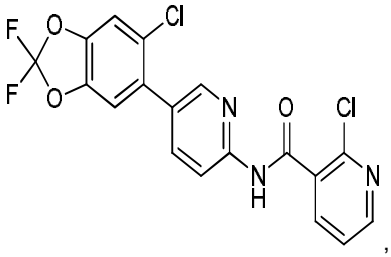
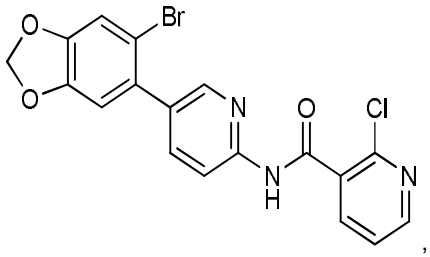
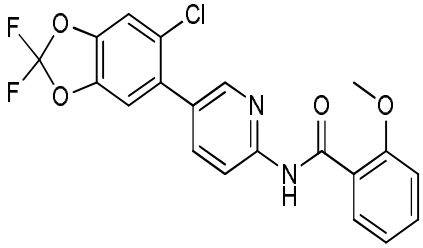
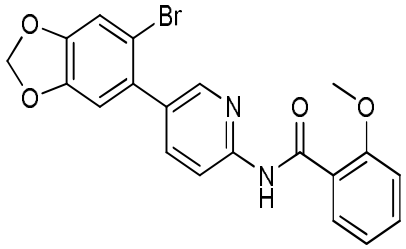
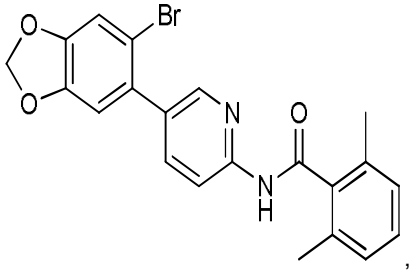
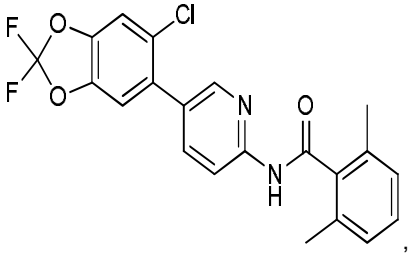
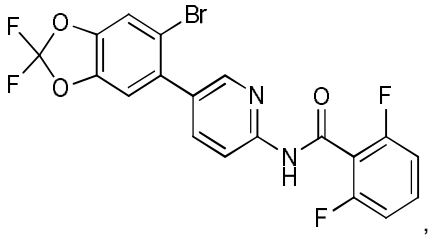
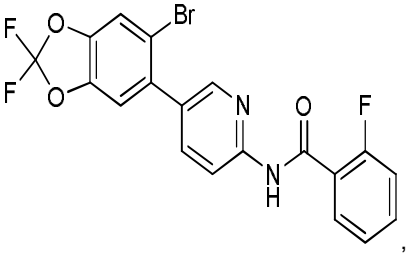
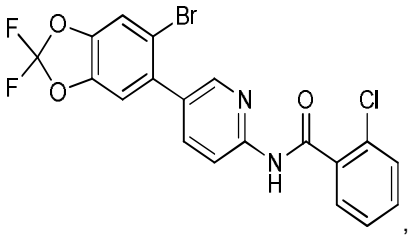


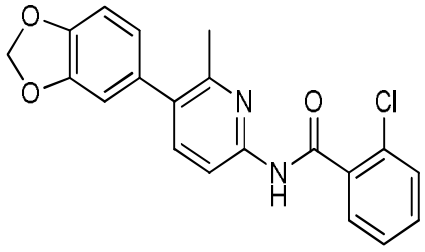
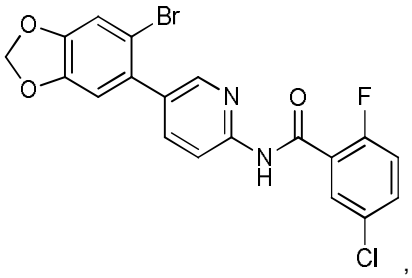
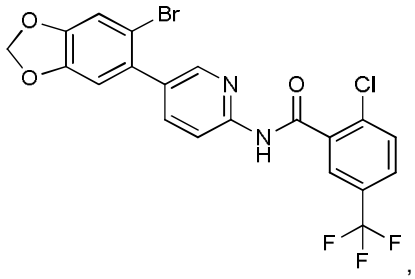
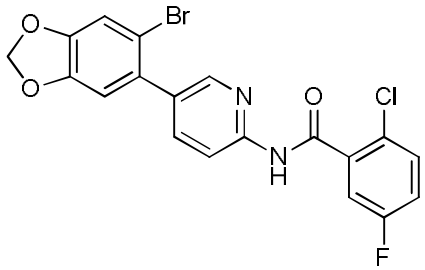
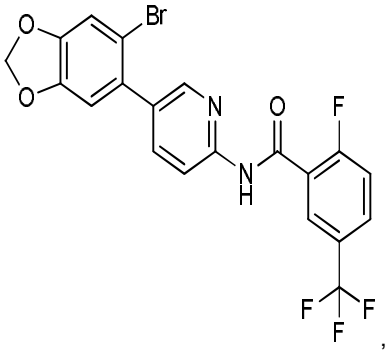
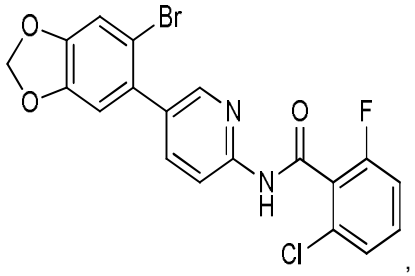
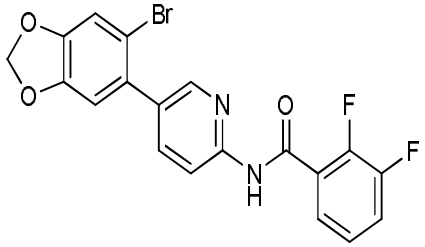
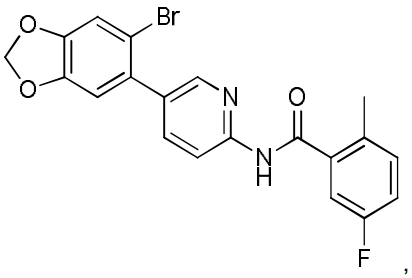
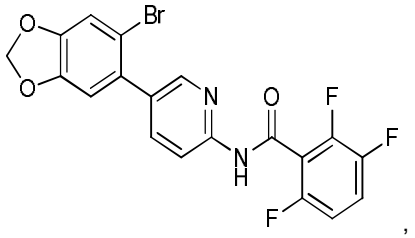
,

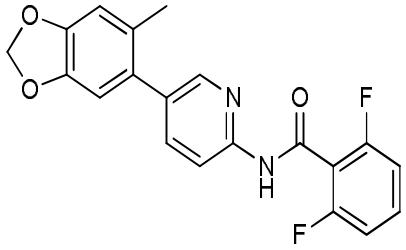
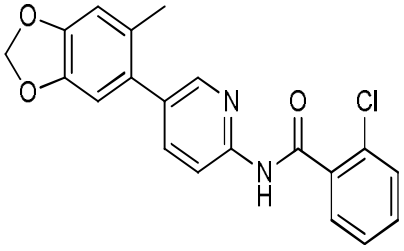
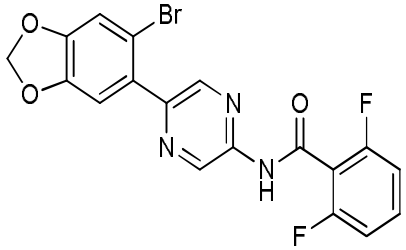
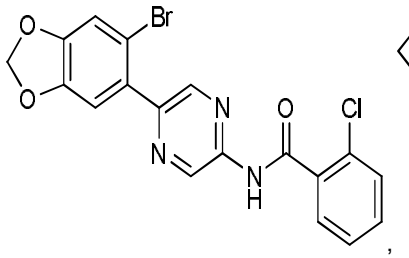
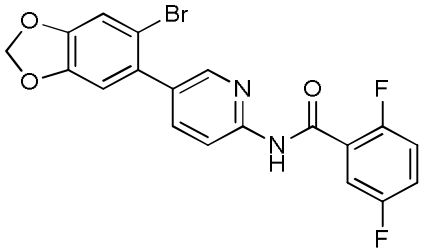
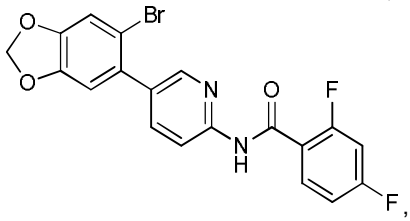
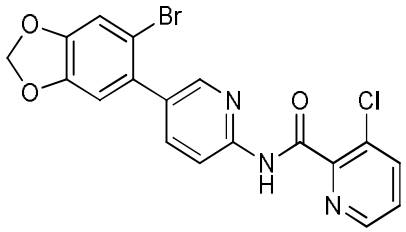
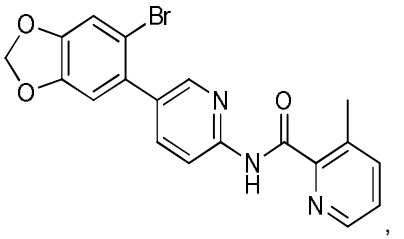
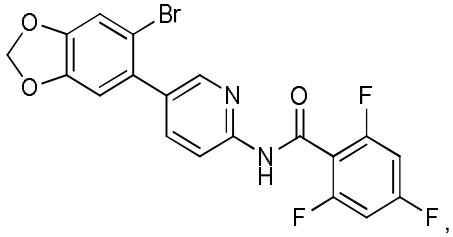

,

,

,

,

,

,

,

,

,

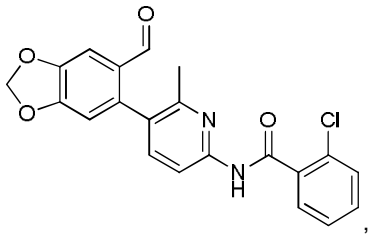
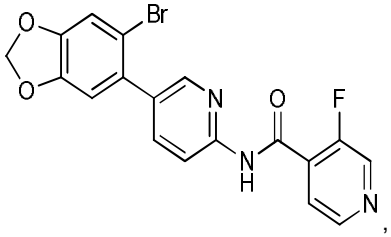
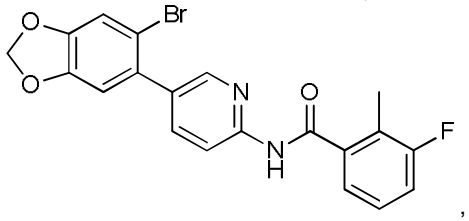
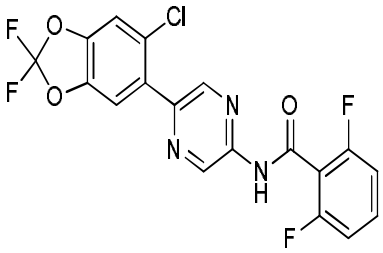
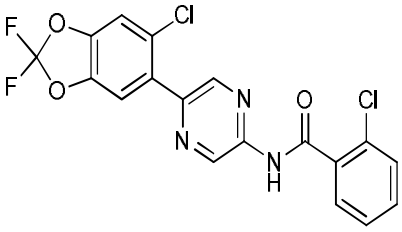
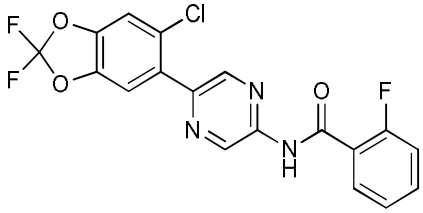
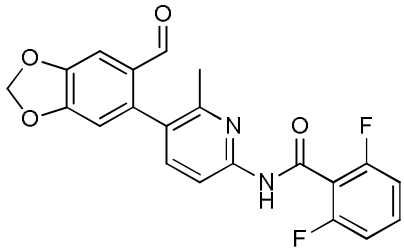
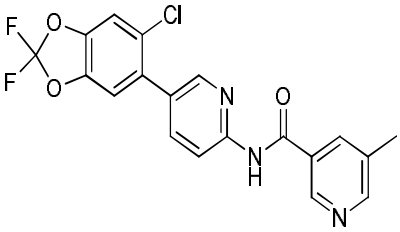
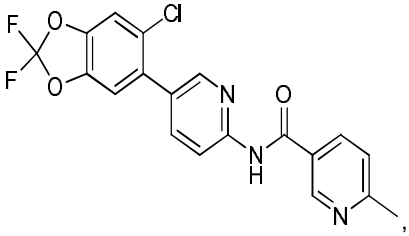

,

,

,

,

,

,

,

,

,

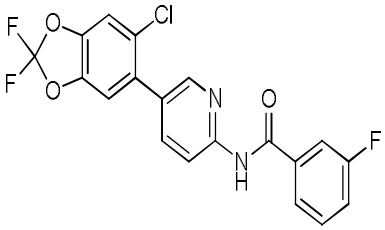
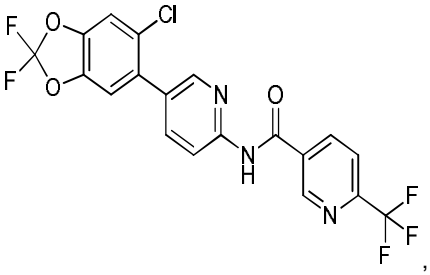
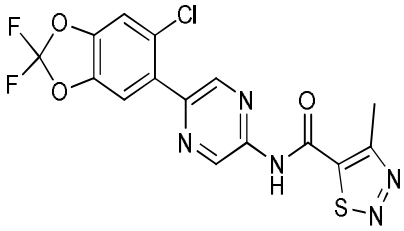
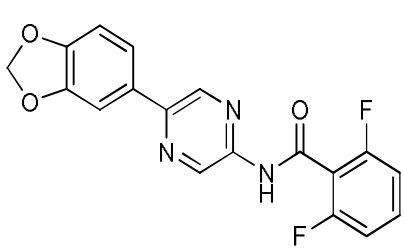
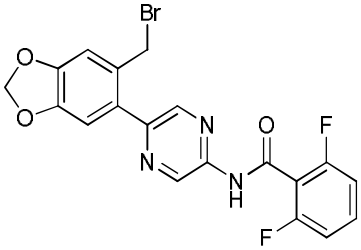
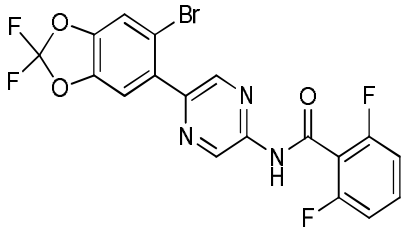
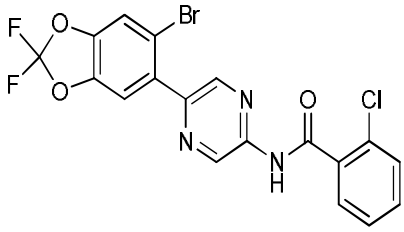
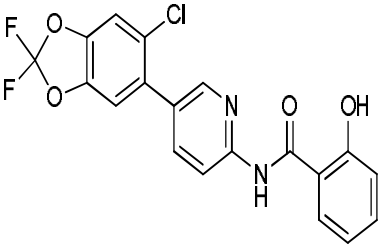
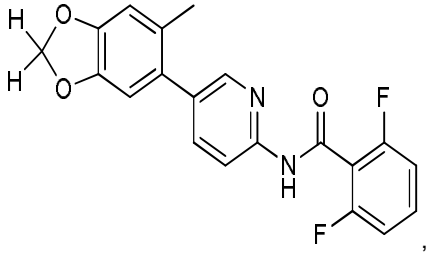

,

,

,

,

,

,

,

,

,

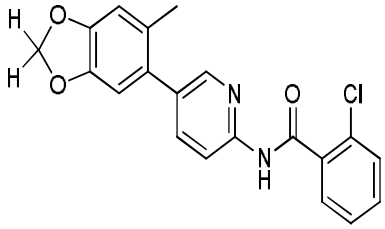
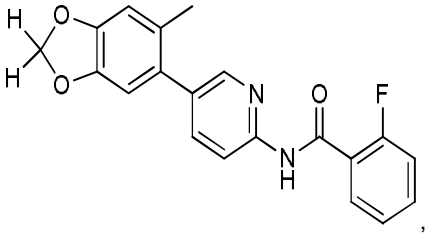
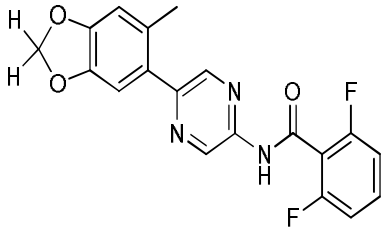
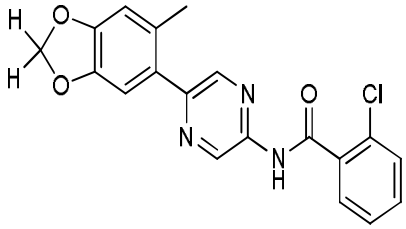
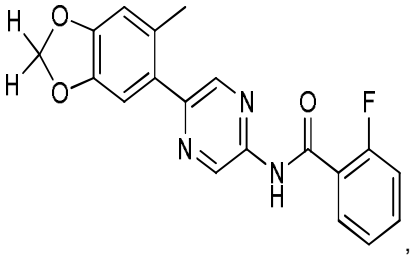
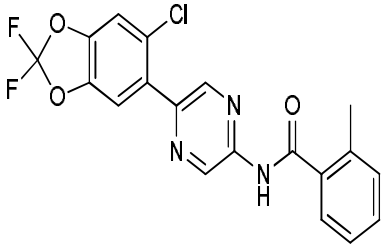
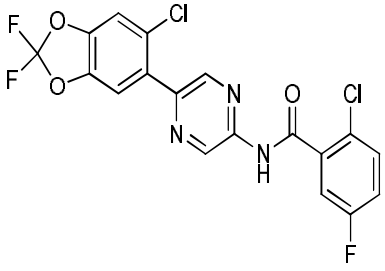
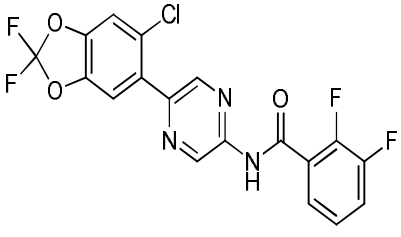
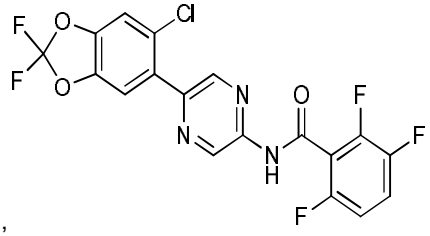

,

,

,

,

,

,

,

,

,

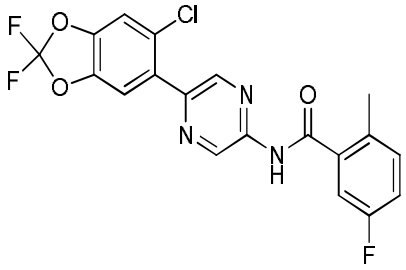
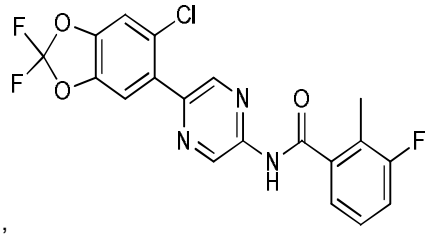
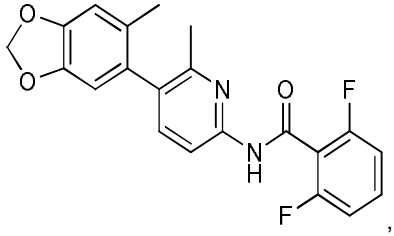
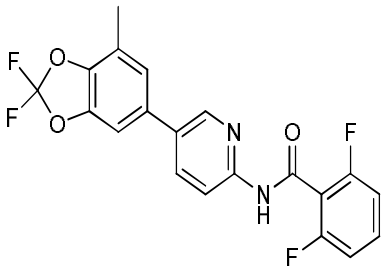
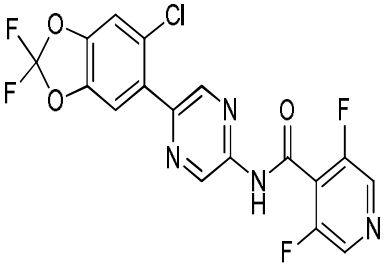
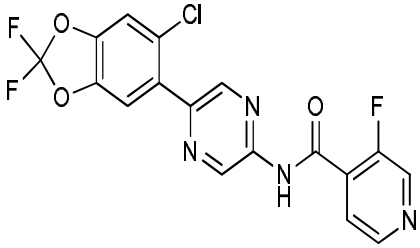
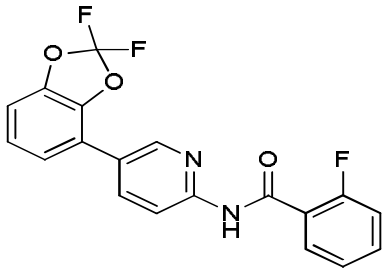
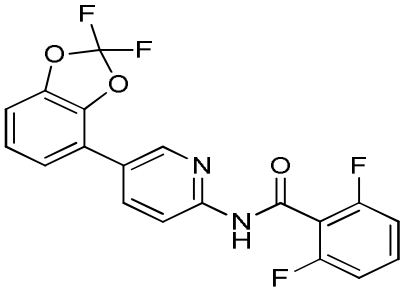
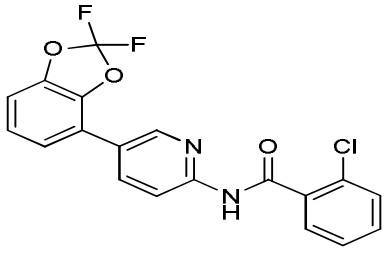

,

,

,

,

,

,

,

,

,

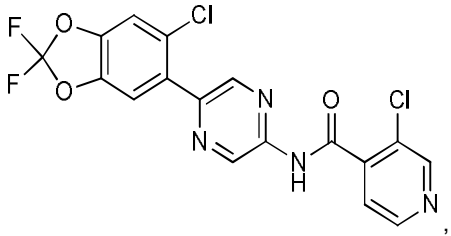
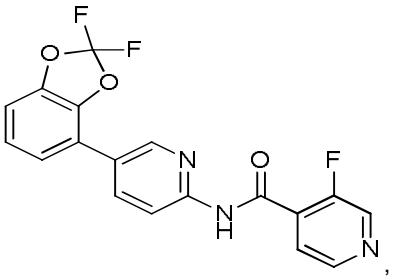
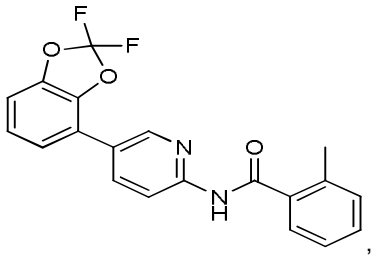
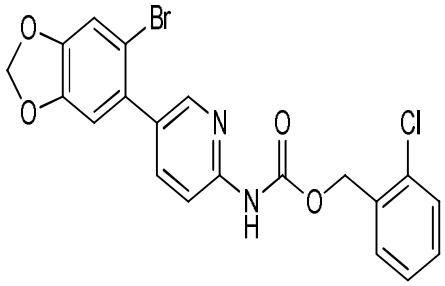
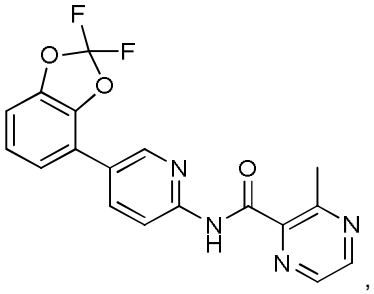
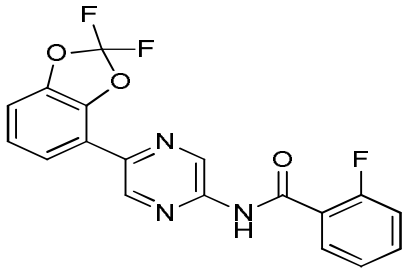
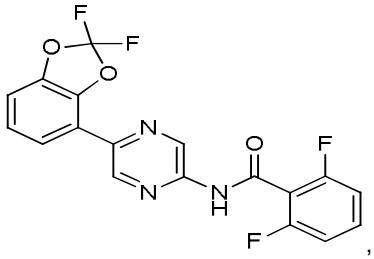
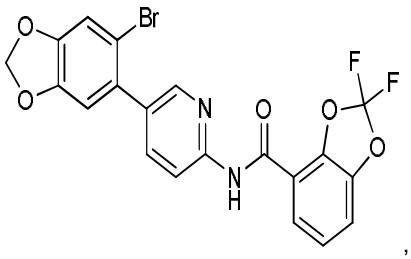
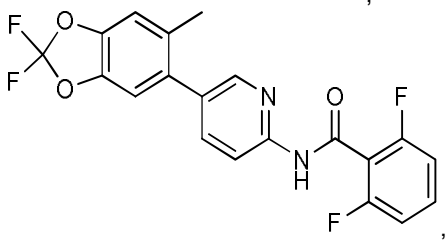

,

,

,

,

,

,

,

,

,

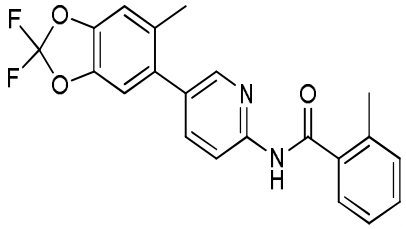
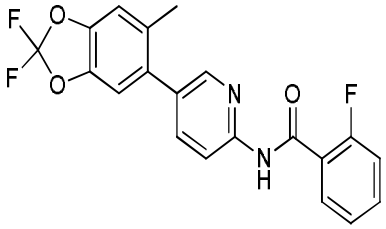
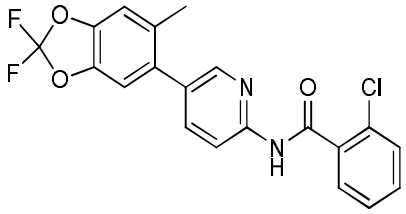
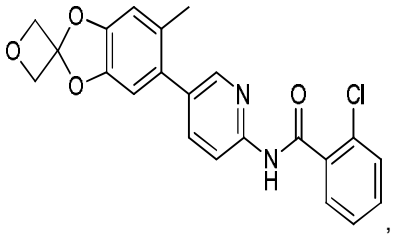
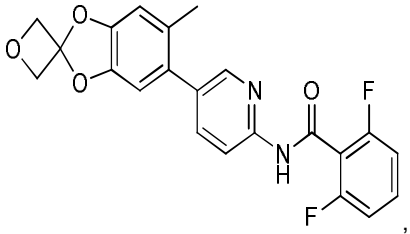
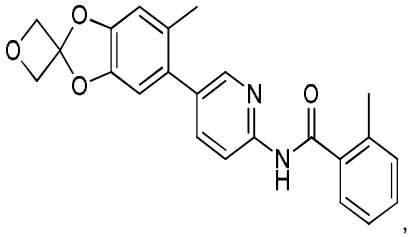
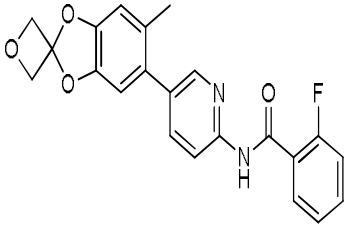
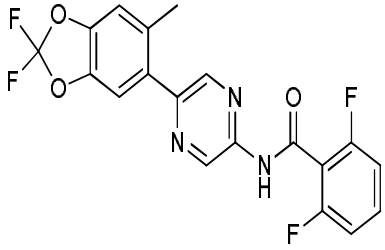
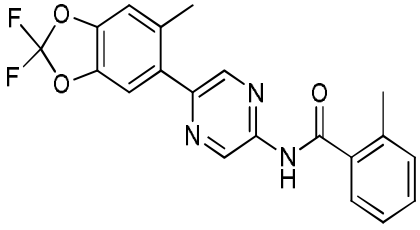

,

,

,

,

,

,

,

,

,

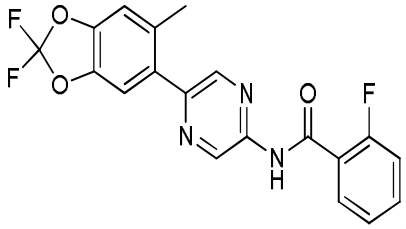
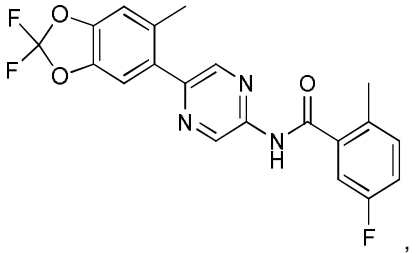
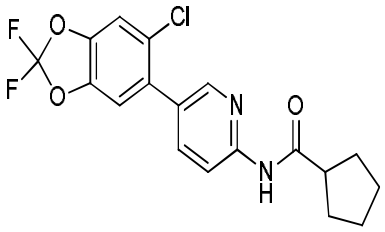
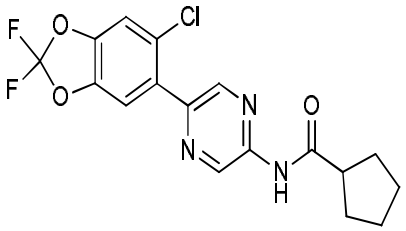
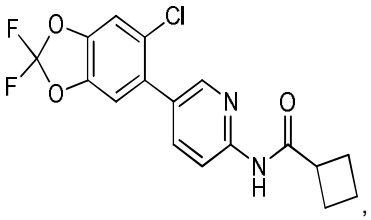
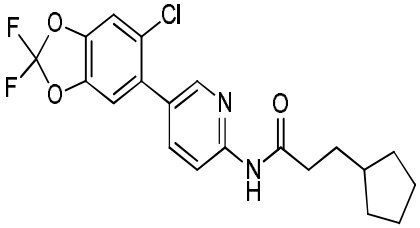
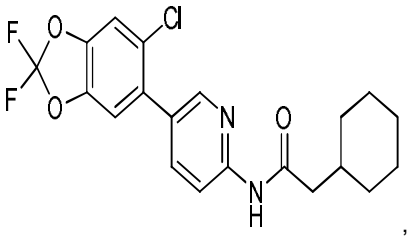
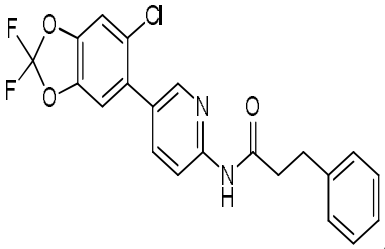
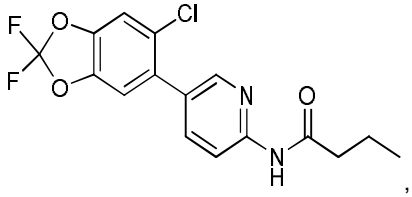

,

,

,

,

,

,

,

,

,

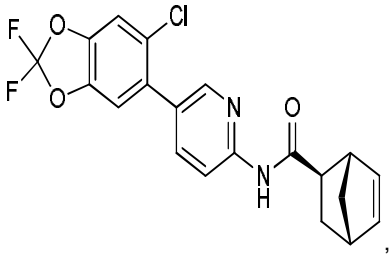
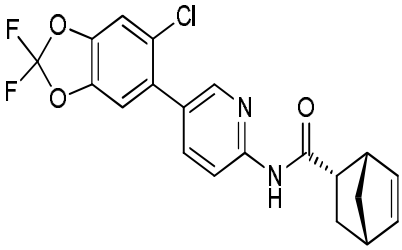
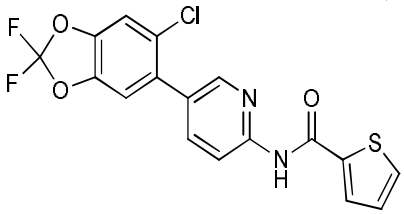
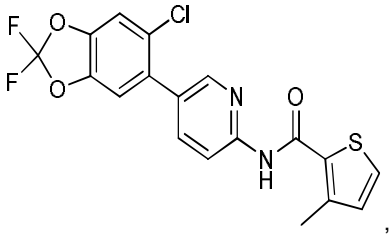
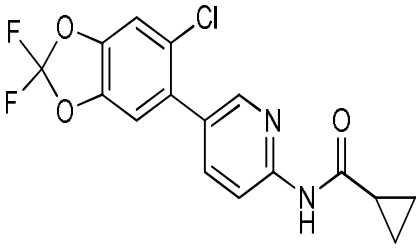
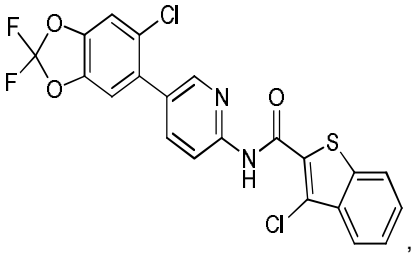
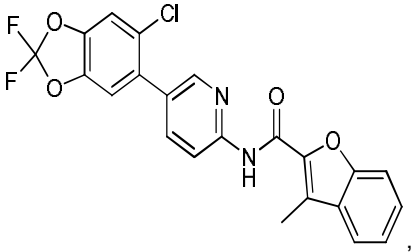
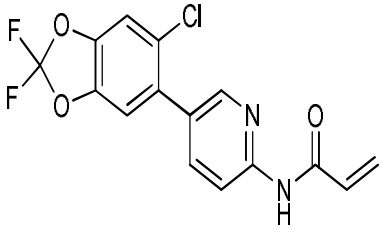
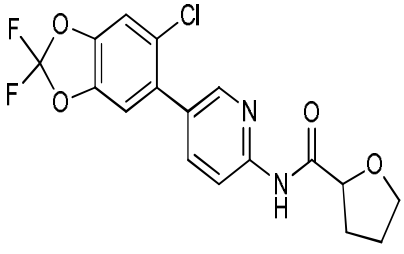

,

,

,

,

,

,

,

,

,

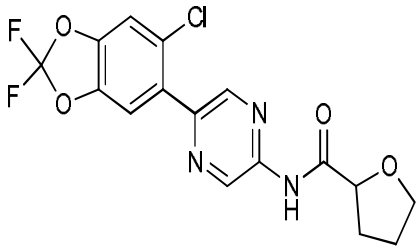

,

,

,

,

,

,

,

,

,

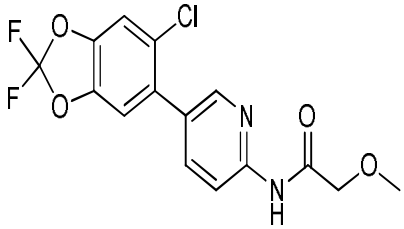

,

,

,

,

,

,

,

,

,

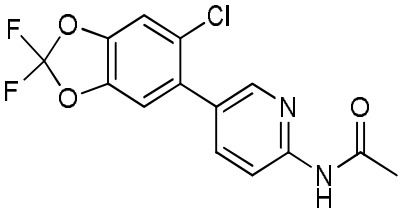

,

,

,

,

,

,

,

,

,

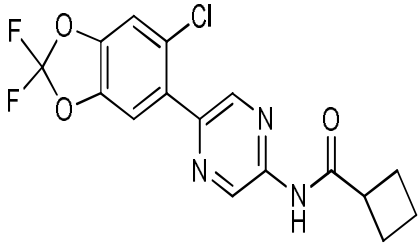

,

,

,

,

,

,

,

,

,

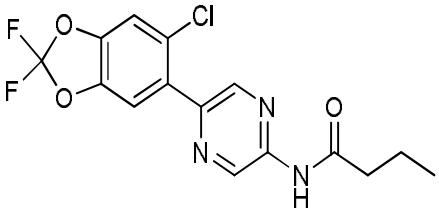

,

,

,

,

,

,

,

,

,

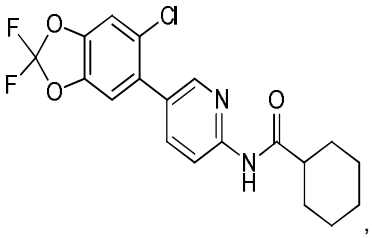


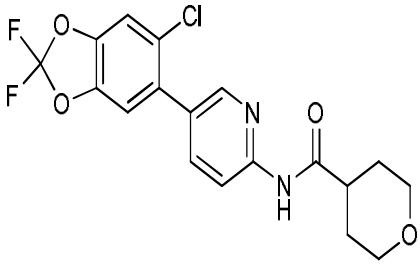


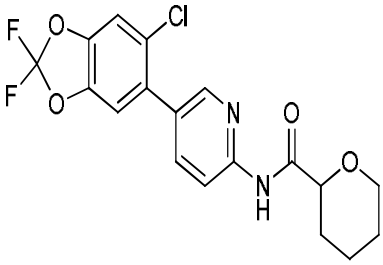


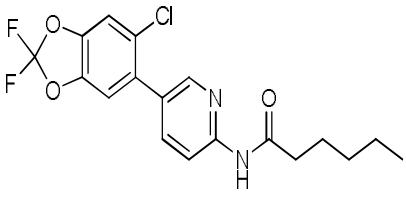


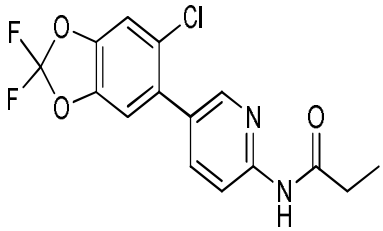
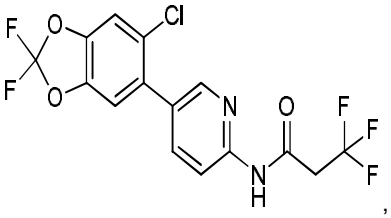
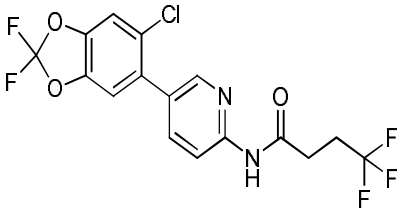
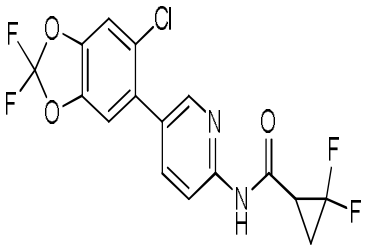
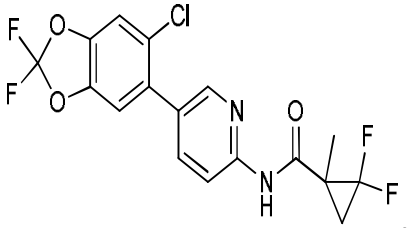
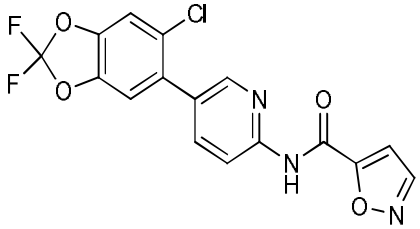
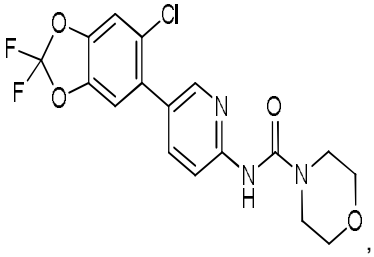
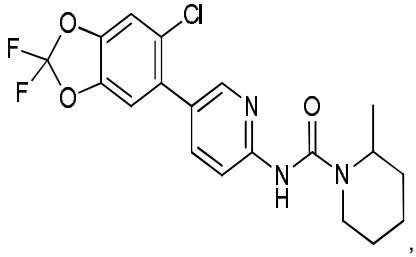
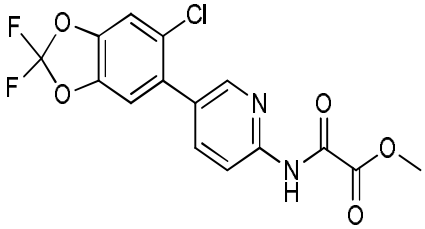


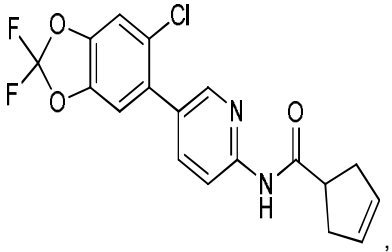
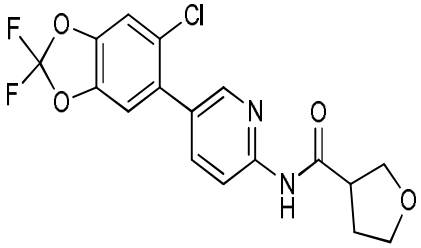
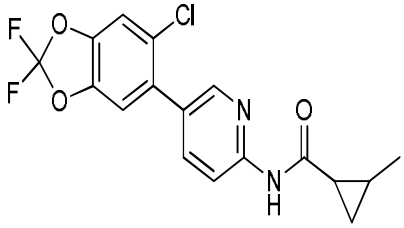
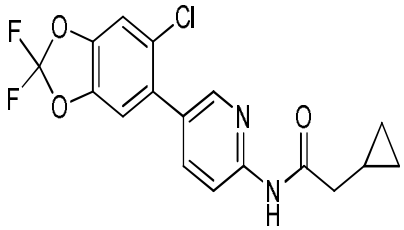
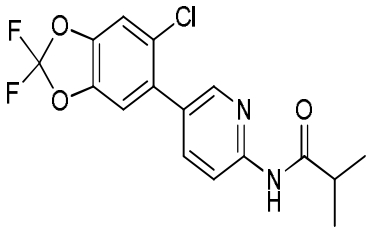
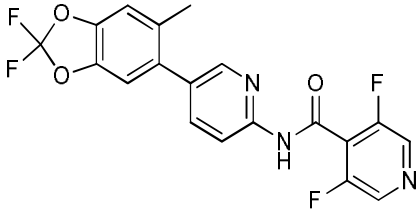
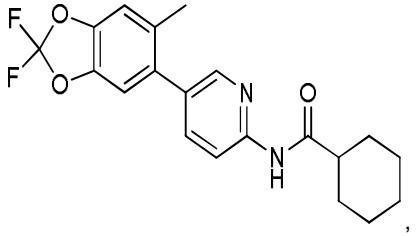
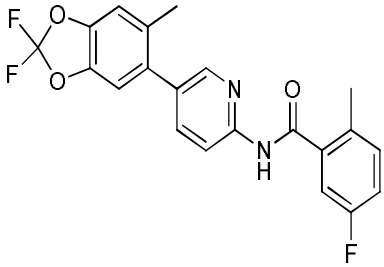
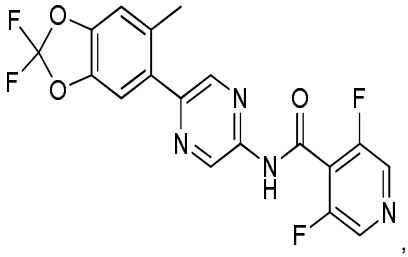


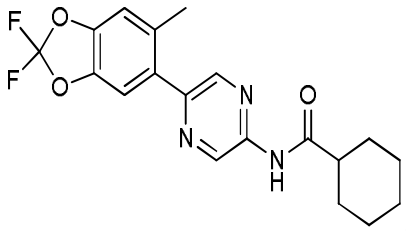
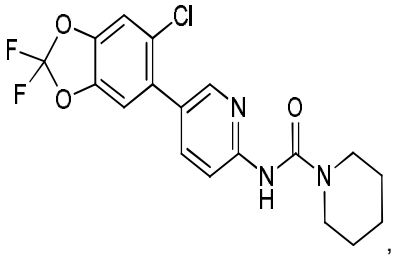
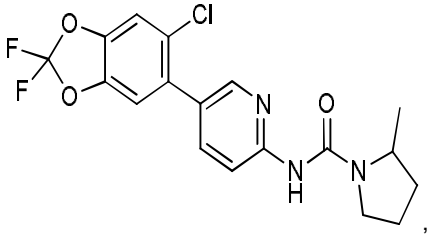
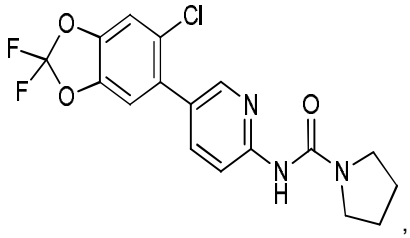
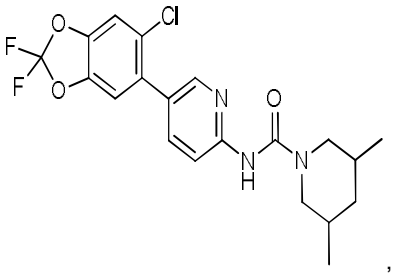
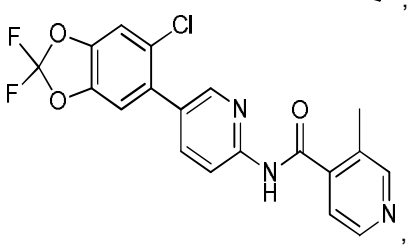
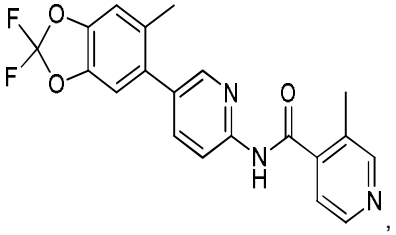
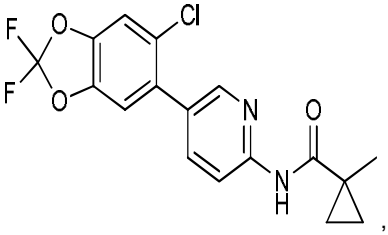
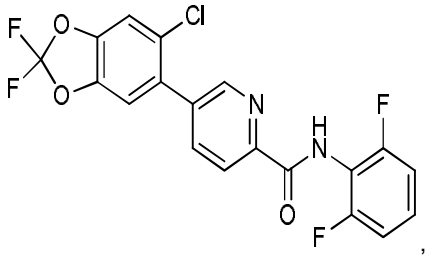


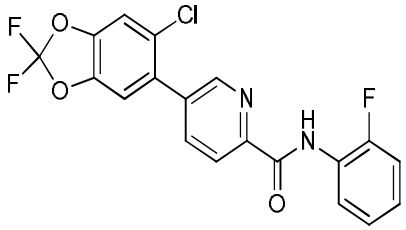
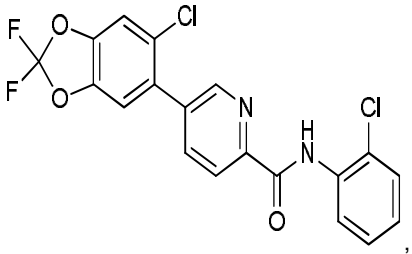
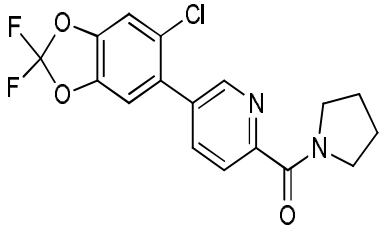
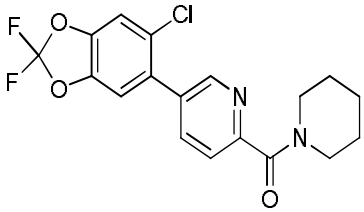
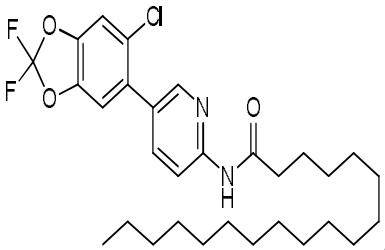
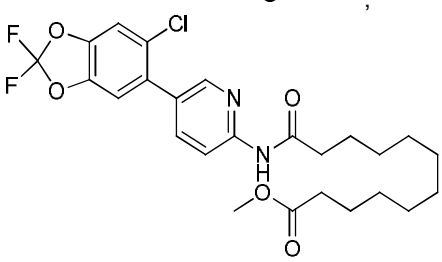
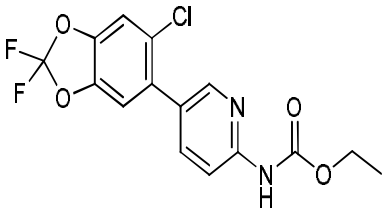
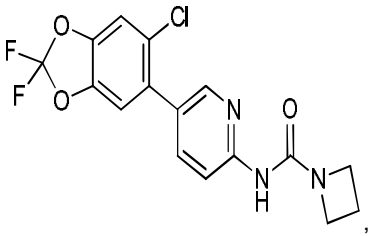
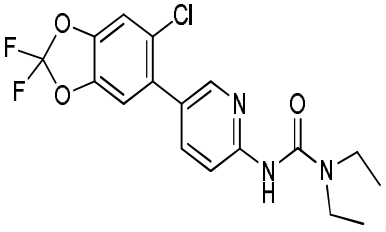
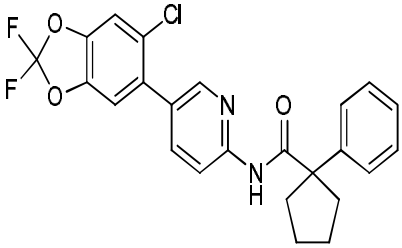
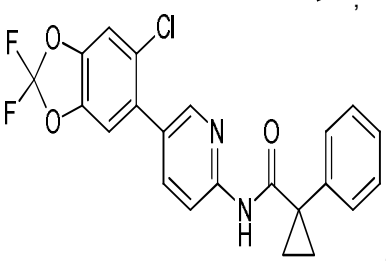
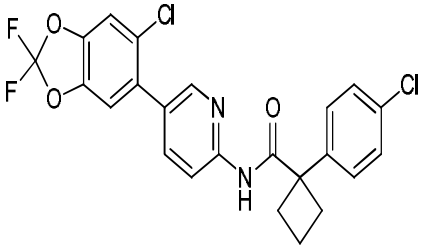
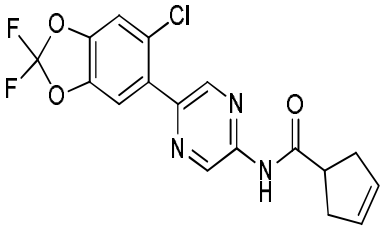


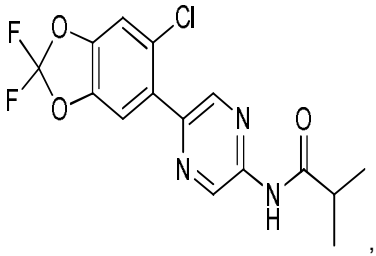
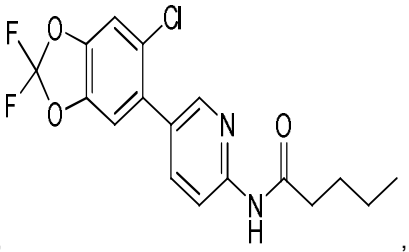
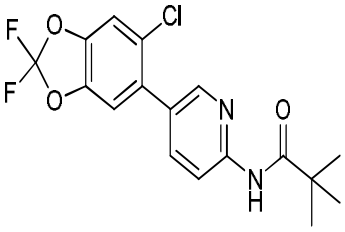
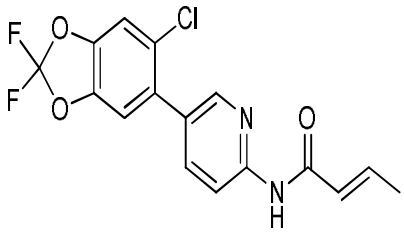
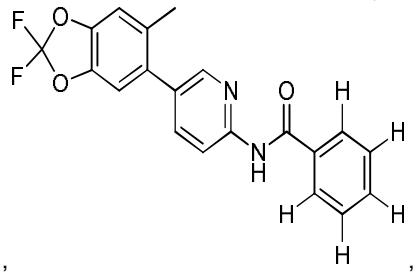
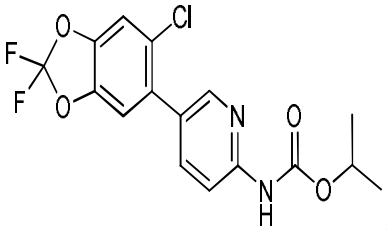
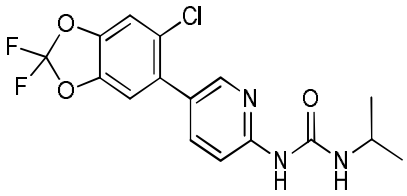
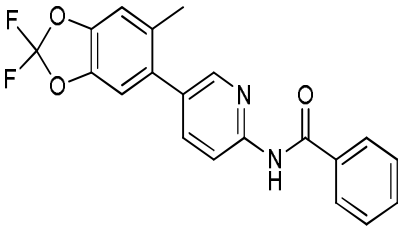
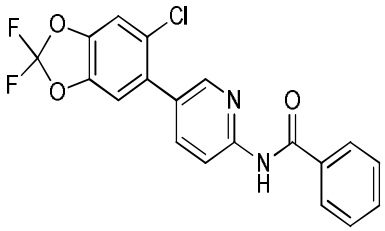
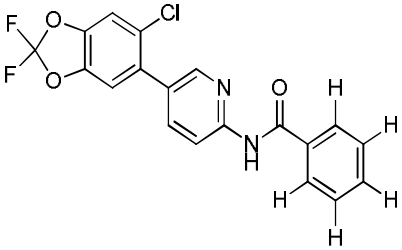
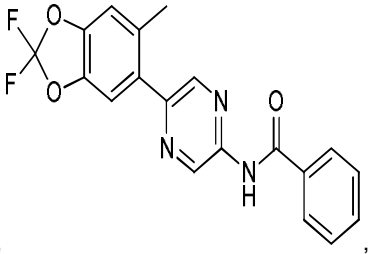
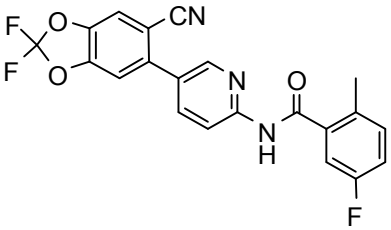
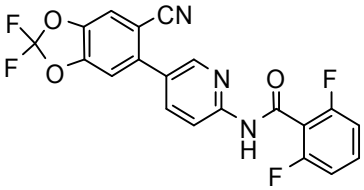
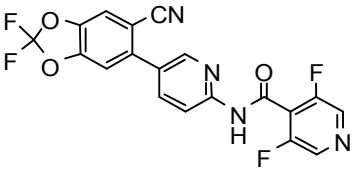
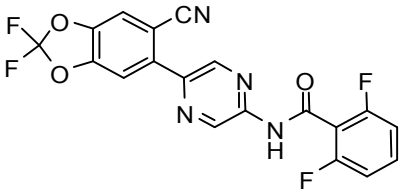


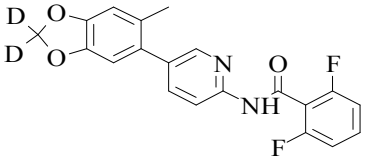
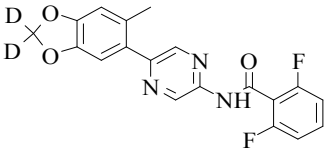
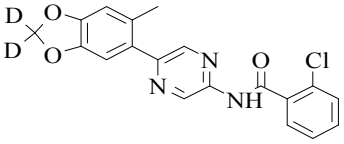

,

,

,

,

,

,

,

,

,

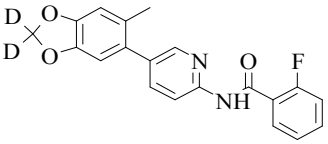
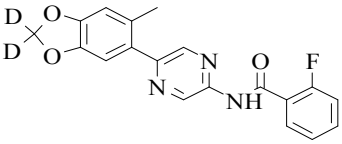
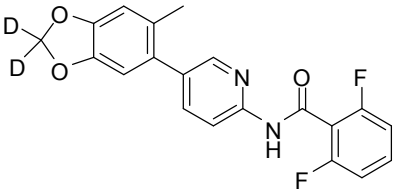

,

,

,

,

,

,

,

,

,

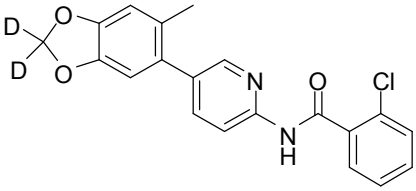
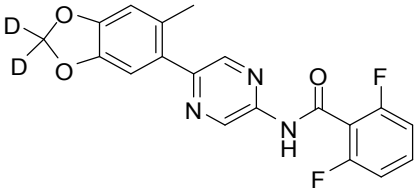
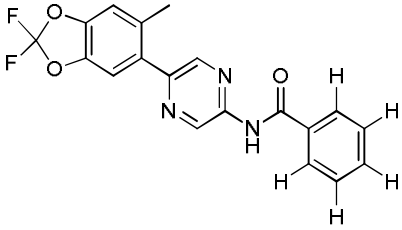

,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

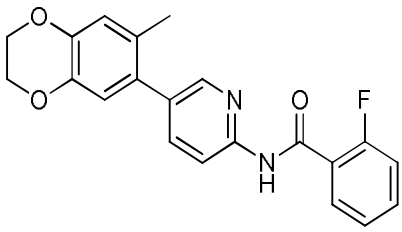
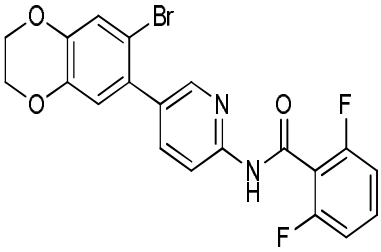
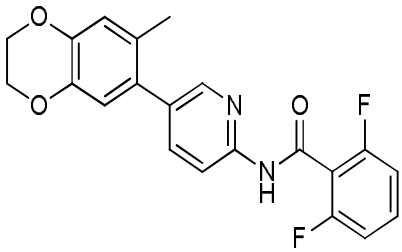
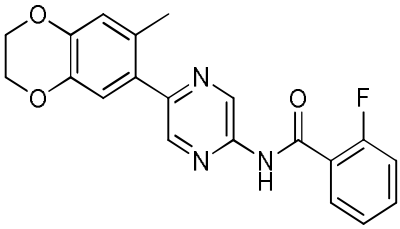
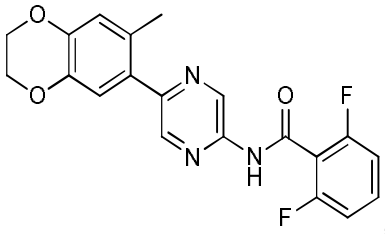
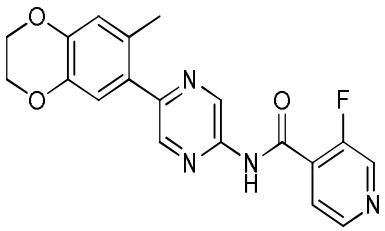
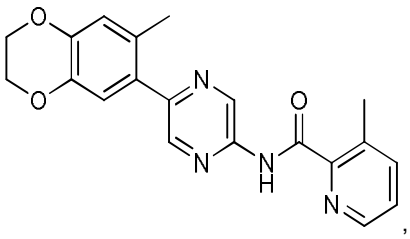
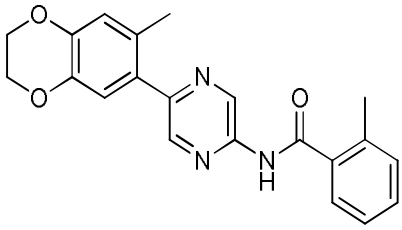
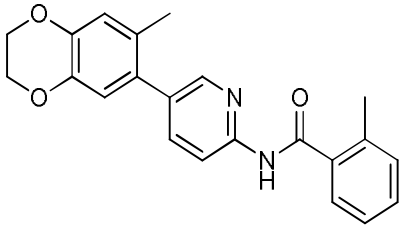
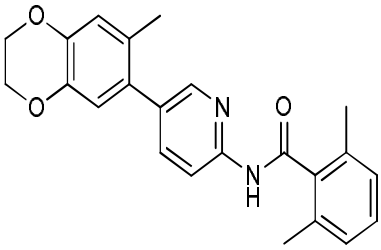
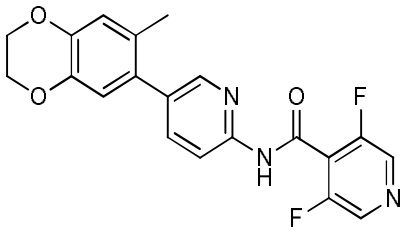

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

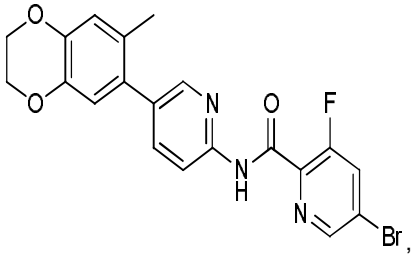

,

,

,

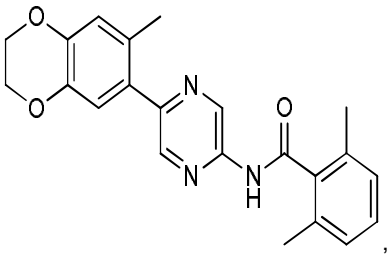

,

,

,

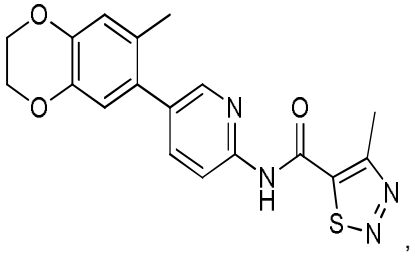

,

, y

; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

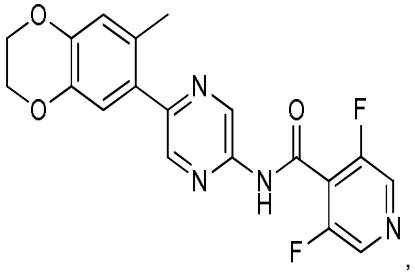
Otra instancia es un compuesto que tiene la estructura:

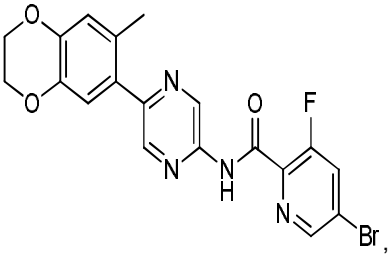

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

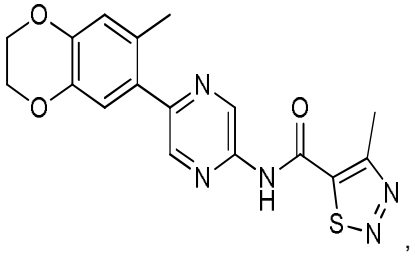


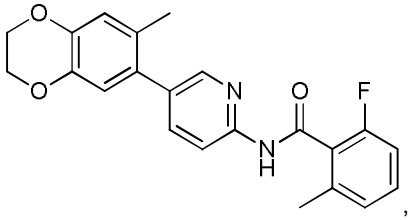


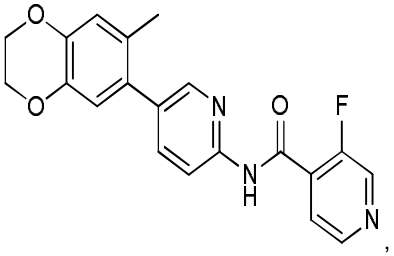


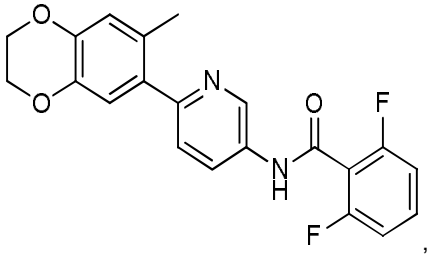


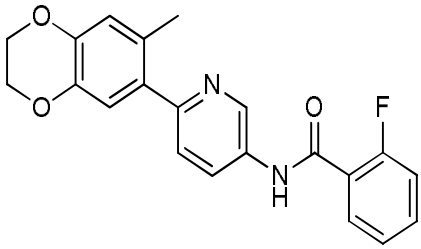
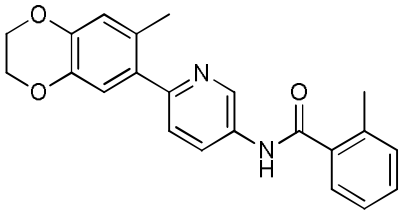
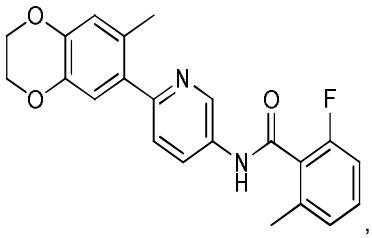
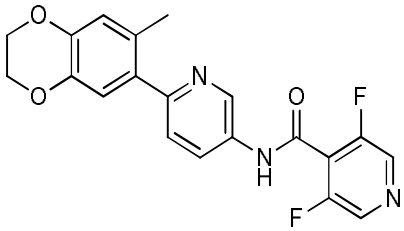
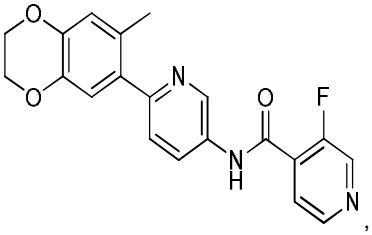
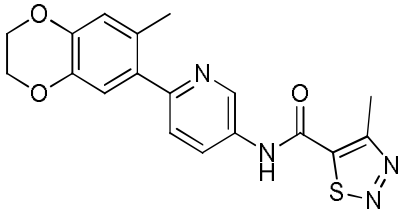
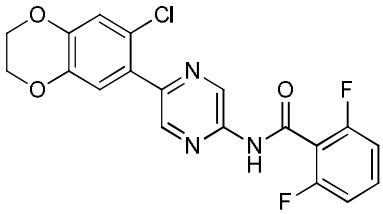
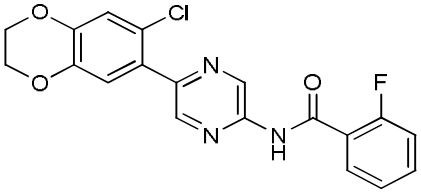
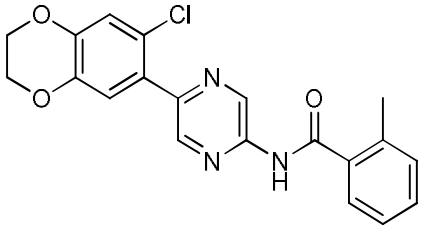
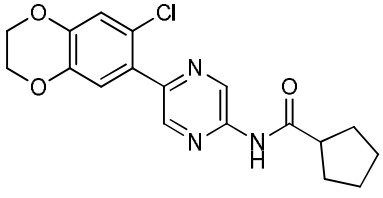
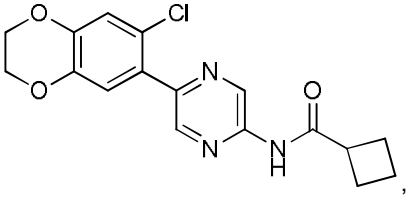


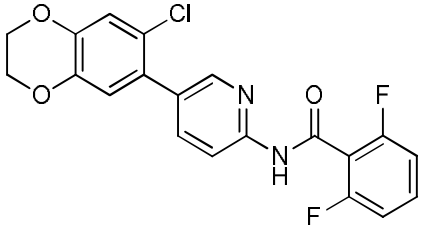


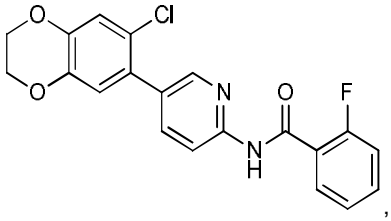


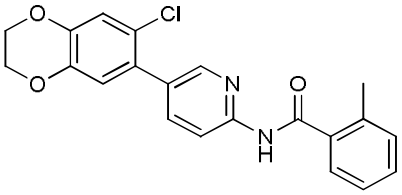


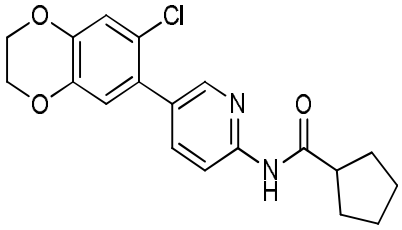


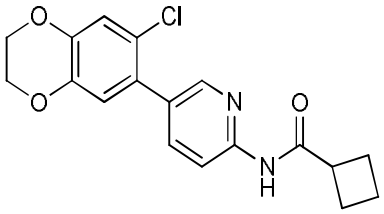

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

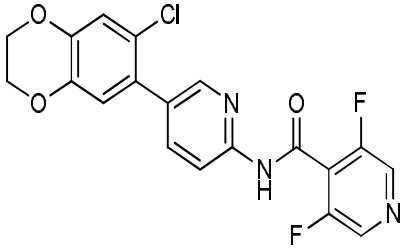

,

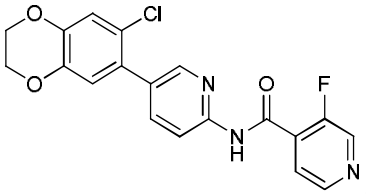

,

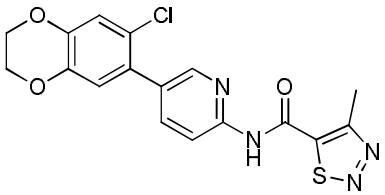

,

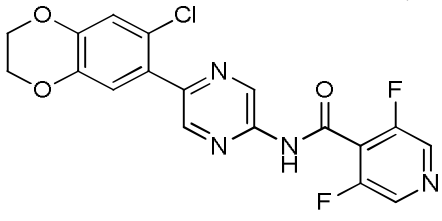


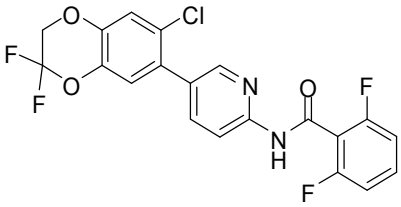
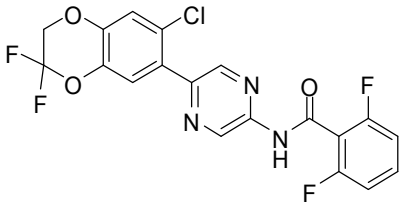
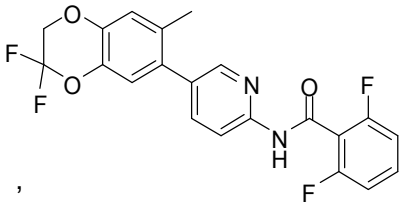
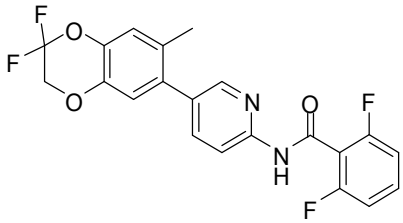
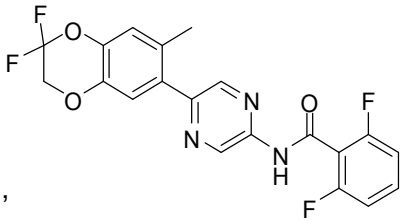
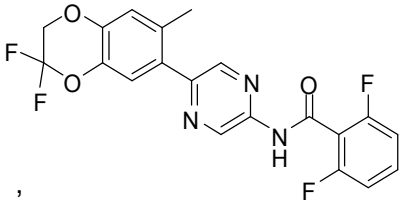
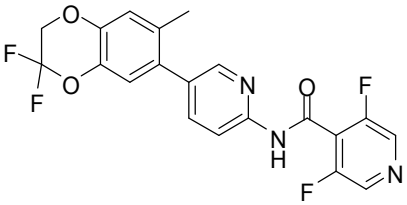
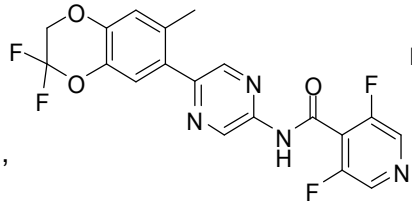
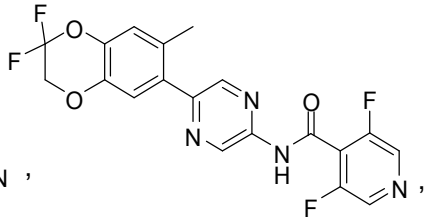
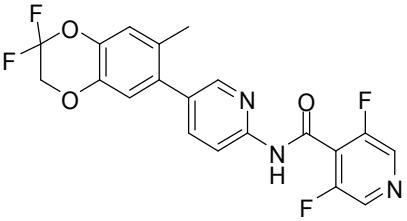
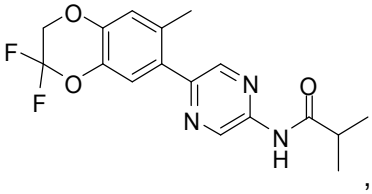
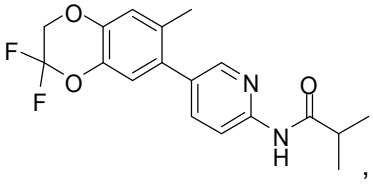
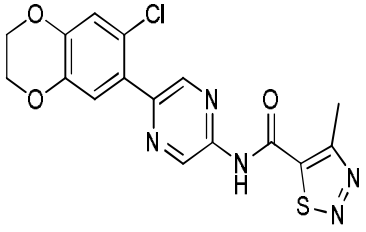
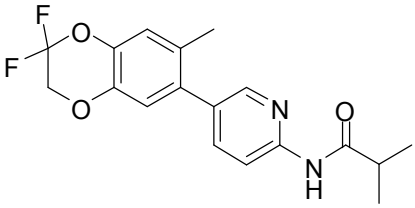
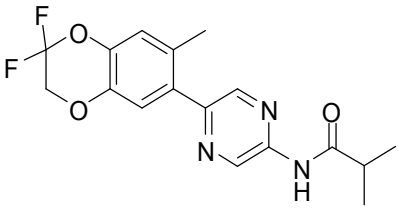
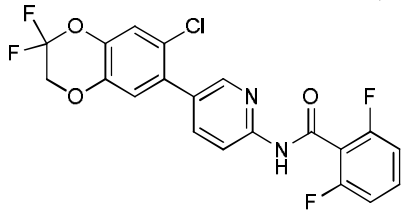

,


,


,


,


,

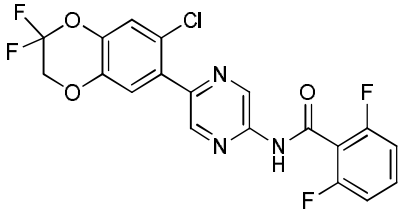

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

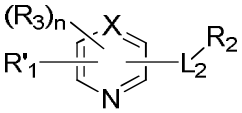
,

,

, y

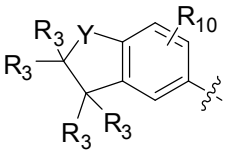
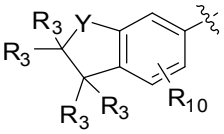
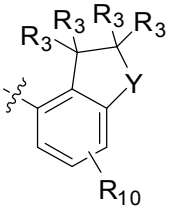
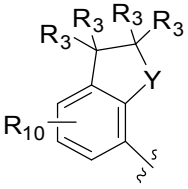

, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

También se describe en esta invención, en un caso, un compuesto de Fórmula (VII) que tiene la estructura:



Fórmula (VII);

donde:

R'_1 es  ,  ,  , o  ;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es CR_3 o N;

Y es CR_3, O, NR_5, o S;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC1–C4heterocicloalquiloC2–C8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC1–C4heterocicloalquiloC2–C8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

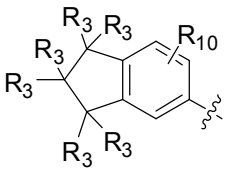
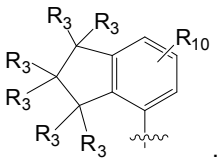
R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, carbonilalquilo C_1–C_6, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido,

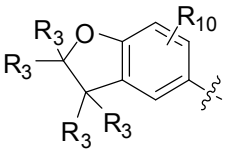
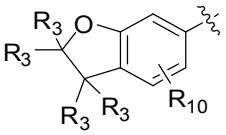
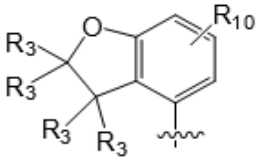
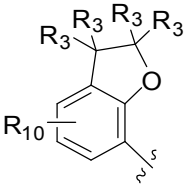
n es un número entero seleccionado entre 0–2;

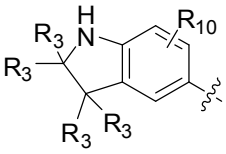
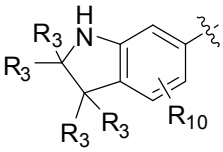
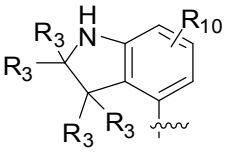
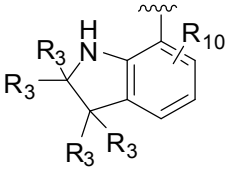
R_{10} se selecciona entre halógeno, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, $–OR_5$, $–OCF_3$, carbonilalquilo C_1–C_6, o $–CF_3$;

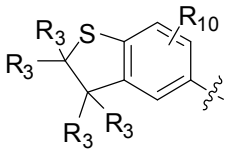
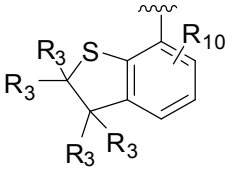
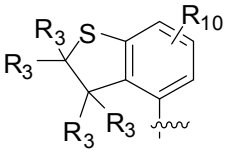
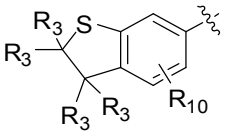
R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

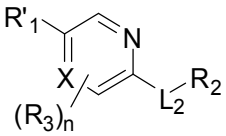
Una instancia es un compuesto de Fórmula (VII) donde R'_1 es  , o  .

Otra instancia es un compuesto de Fórmula (VII) donde R'_1 es  ,  ,  , o  .

En aun otra instancia es un compuesto de Fórmula (VII) donde R'_1 es  ,  ,  , o  .

Una instancia adicional es un compuesto de Fórmula (VII) donde R'_1 es  ,  ,  , o  .

En aun otra instancia es un compuesto de Fórmula (VII) que tiene la estructura de Fórmula (VIIA):

 ;

Fórmula (VIIA).

Una instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde cada R_3 es H. Una instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde R_{10} es halógeno. Otra instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde halógeno es Br. En aun otra instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde halógeno es Cl. Una instancia adicional es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde R_{10} es alquilo C_1–C_6. Una instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde alquilo C_1–C_6 es metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo o tercbutilo. Una instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde alquilo C_1–C_6 es metilo. Otra instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde X es CR_3. En aun otra instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde R_3 es H. Una instancia adicional es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde X es N. En aun otra instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde L_2 es –NH–C(C=O). Una instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde L_2 es –C(=O)NH–. Una instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde R_2 es arilo. Otra instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde arilo es fenilo. En aun otra instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde fenilo es sustituido con por lo menos un R_3. Una instancia adicional es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde fenilo es sustituido con al menos dos R_3.

Aun otra instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde R_2 es heteroarilo.

Una instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde heteroarilo se selecciona entre piridilo, pirimidilo, piridazinilo, pirazinilo, tienilo, furilo, piranilo, tiadiazolilo, pirazolilo, imidazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, indolilo, indazolilo, benzoxazolilo, benzoisoxazolilo, benzotiazolilo, benzoisotiazolilo, benzimidazolilo, quinolilo, pteridinilo, pirazolopiridinilo, pirazolopirimidinilo, imidazolotiazolilo, quinoxazinilo, y indolizinilo. En aun otra instancia heteroarilo es piridina. En una instancia adicional heteroarilo es oxazol.

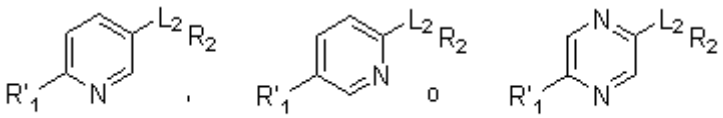
Una instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde heteroarilo es sustituido con por lo menos un R_3. Otra instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde heteroarilo es sustituido con al menos dos R_3. En aun otra instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde cada R_3 se selecciona independientemente entre F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, o $–OR_5$. Una instancia adicional es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde cada R_3 se selecciona independientemente entre alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido.

Aun otra instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde cada R_3 se selecciona independientemente entre F, Cl, Br o I.

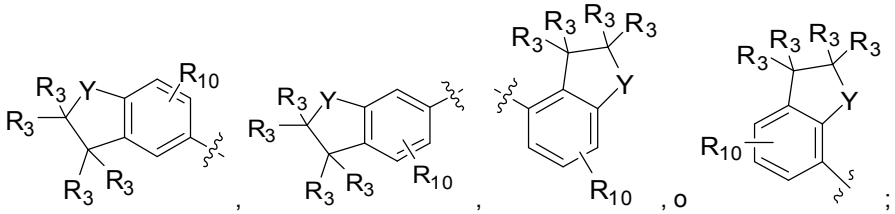
Una instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde cada R_3 es independientemente alquilo C_1–C_6. Otra instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde alquilo C_1–C_6 es metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo o tercbutilo.

Aun otra instancia es un compuesto de Fórmula (VII) o (VIIA) donde alquilo C_1–C_6 es metilo.

Una instancia es un compuesto que tiene la estructura:



donde:

R'$_1$ es  ;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

Y es CR_3, O, NR_5, o S;

R_2 es arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

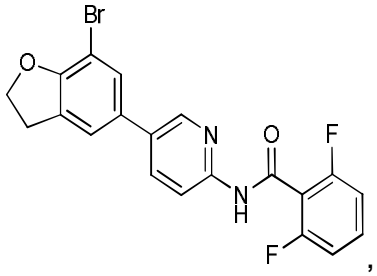
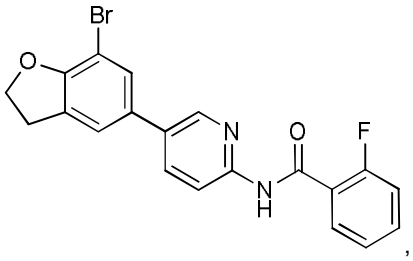
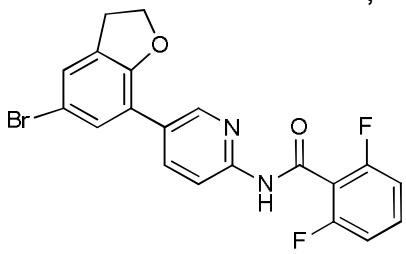
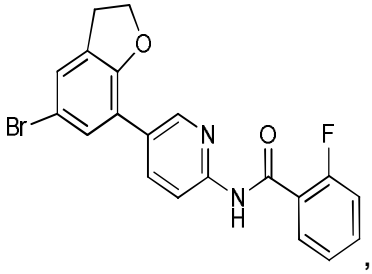
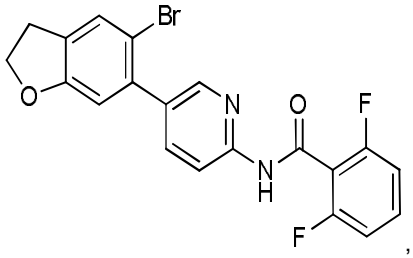
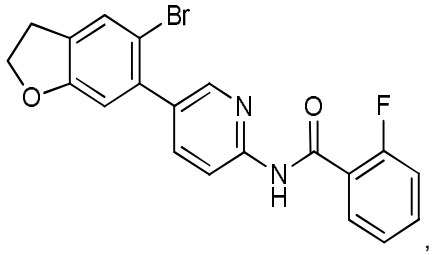
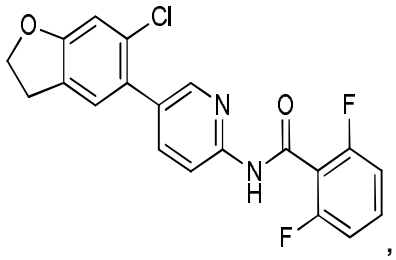
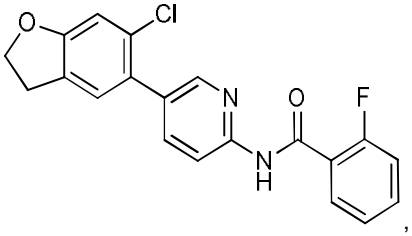
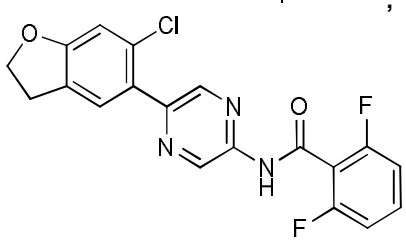
R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, carbonilalquilo C_1–C_6, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido,

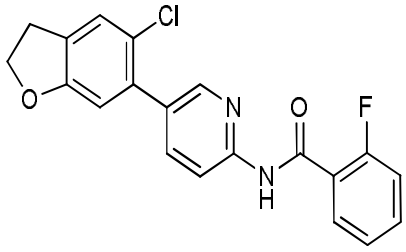
R_{10} se selecciona entre halógeno, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, $–OR_5$, $–OCF_3$, carbonilalquilo C_1–C_6, o $–CF_3$;

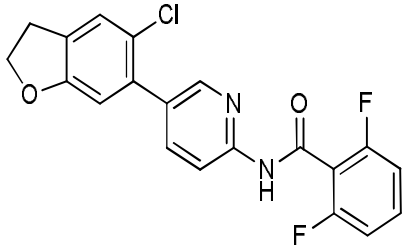
R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

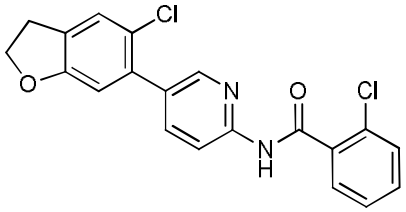
o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

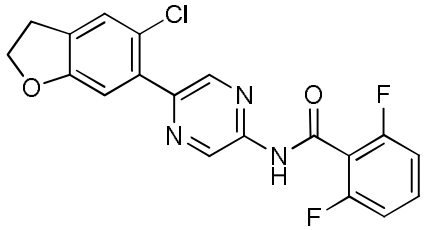
Una instancia es un compuesto seleccionado entre:

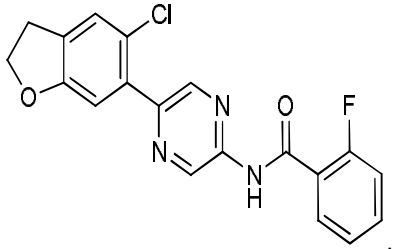

,

,

,

,

,

,

,

,

,

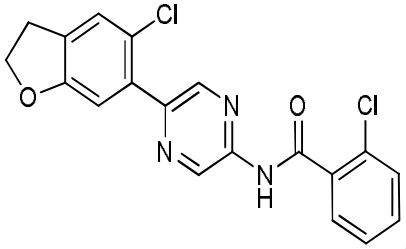

,

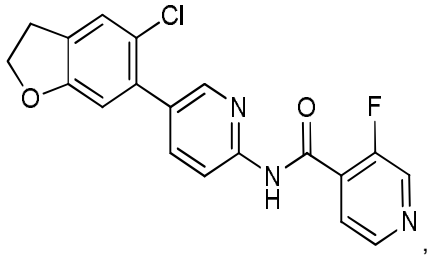

,

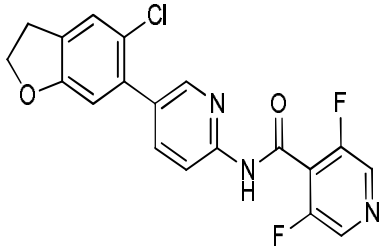

,

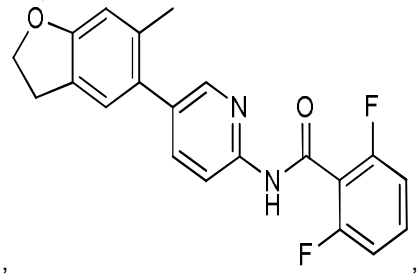

,

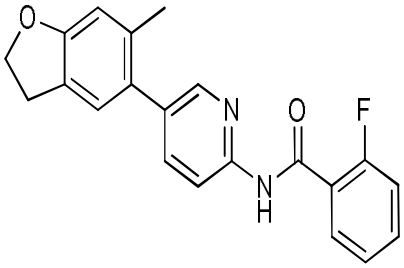
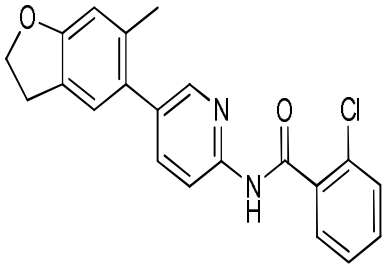
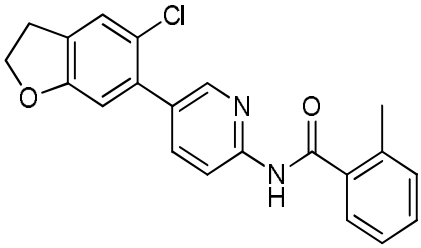
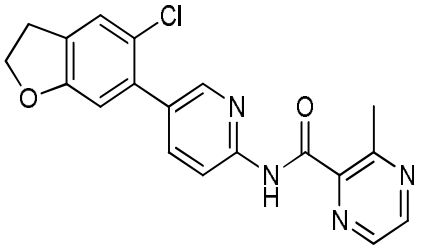
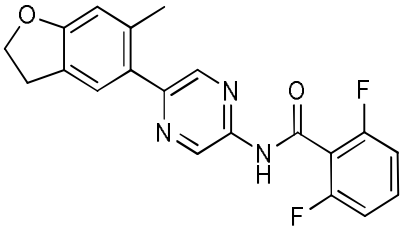
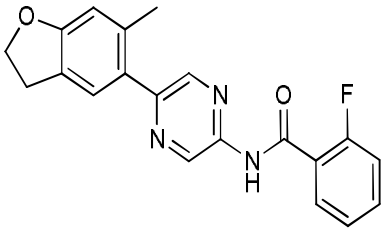
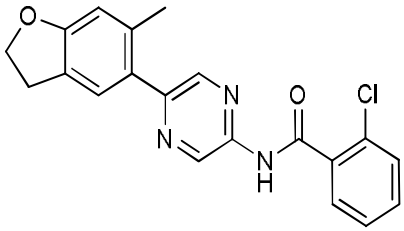
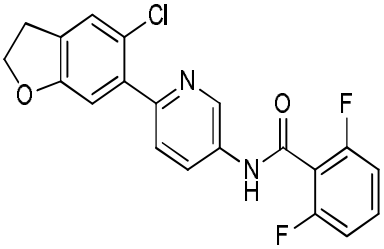
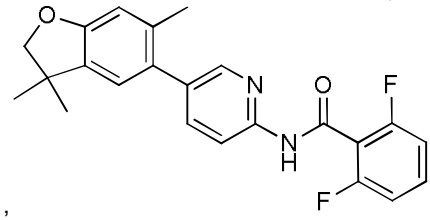
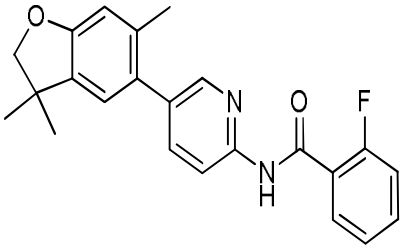
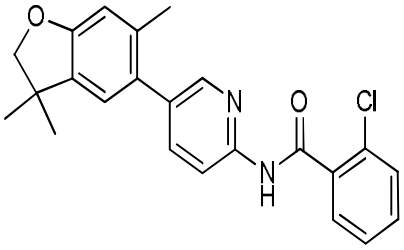
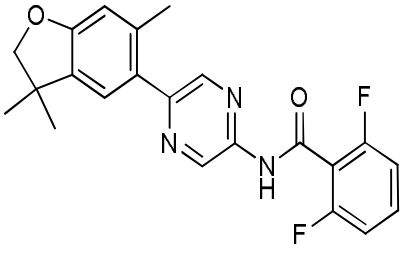

,

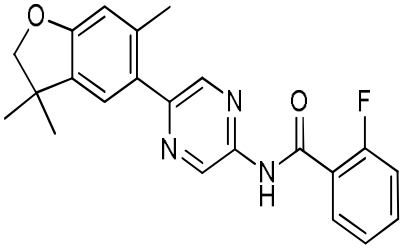
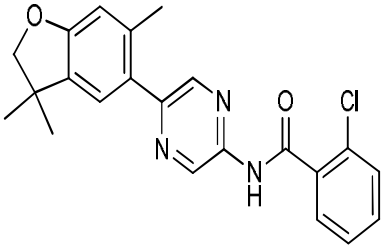
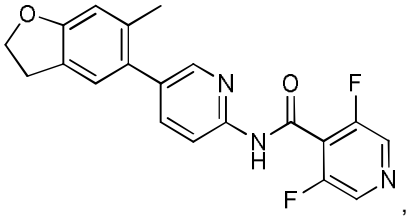
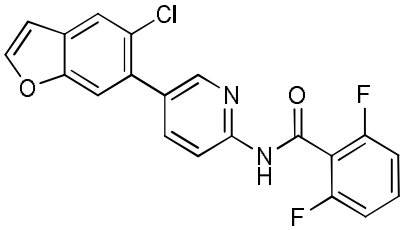
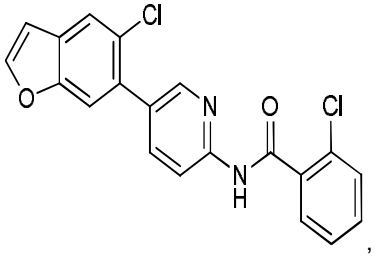
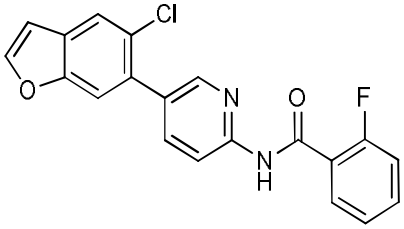
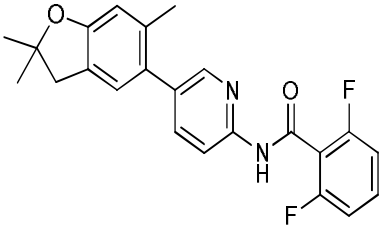
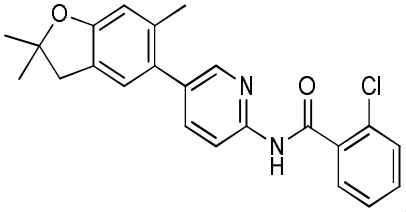
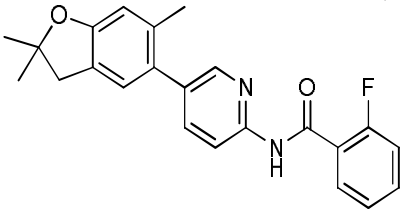

,

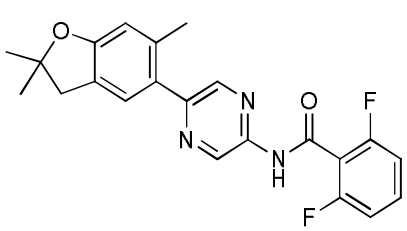
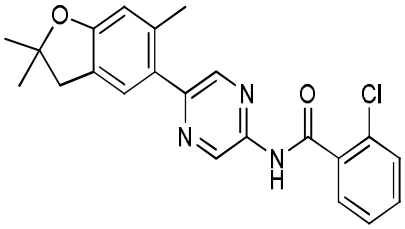
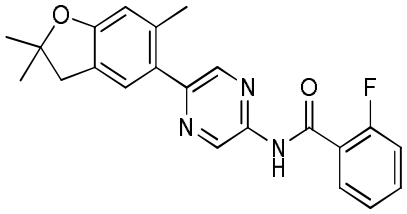
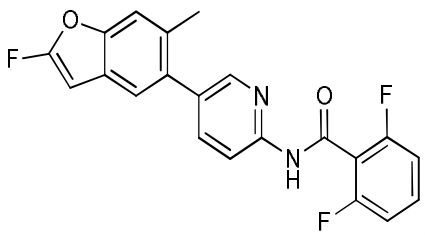
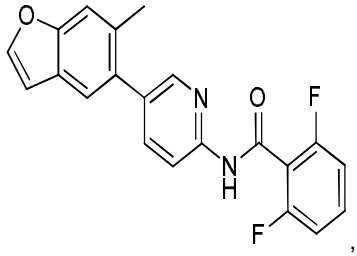
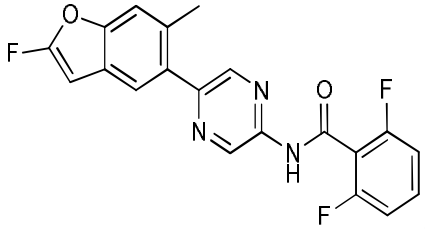
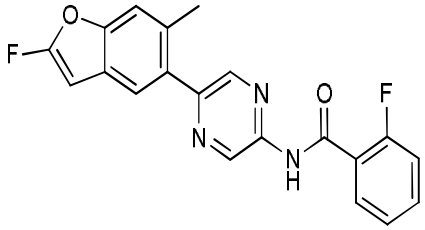
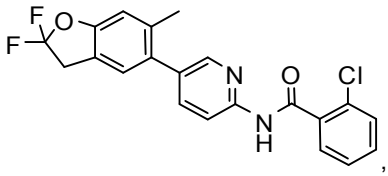
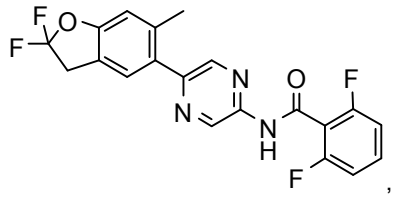
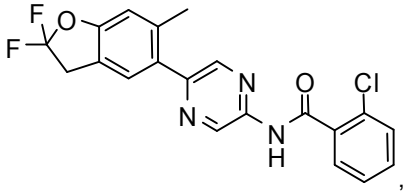
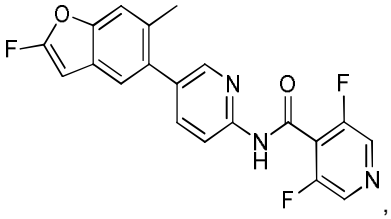
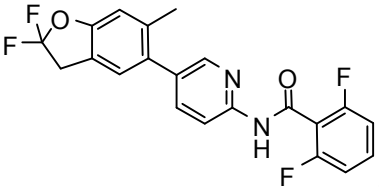
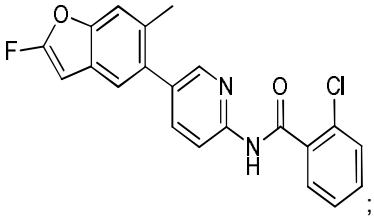

,


,


,

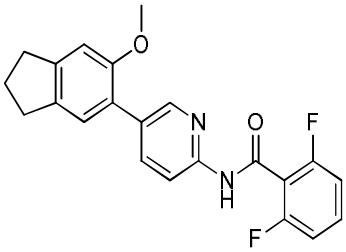
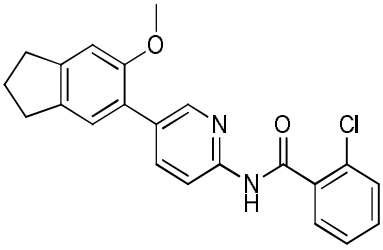
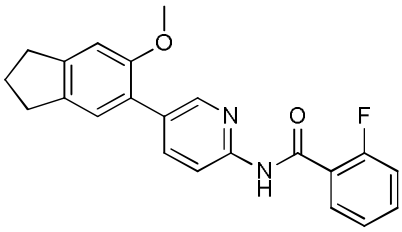
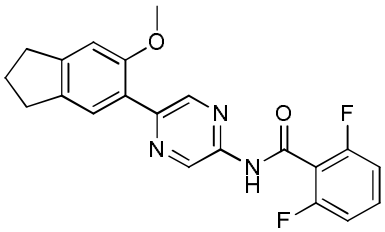
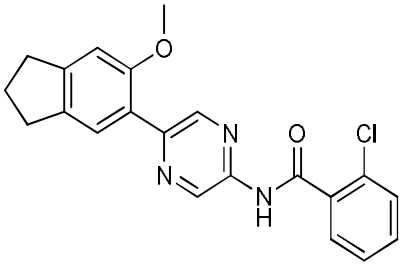
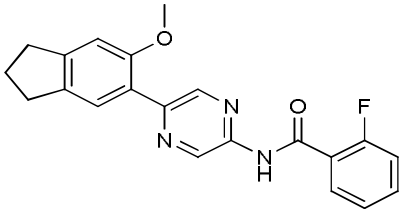
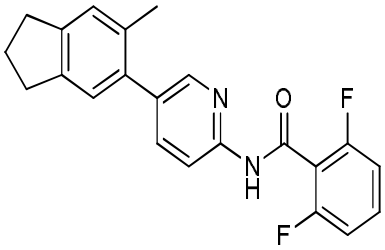
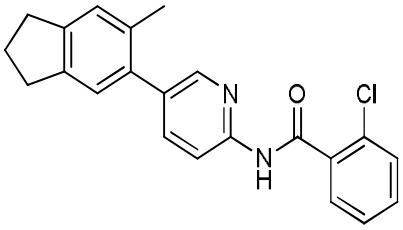
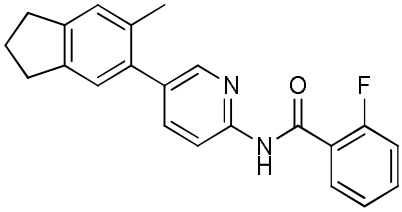
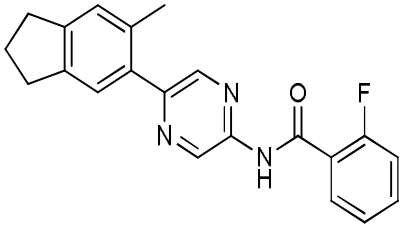
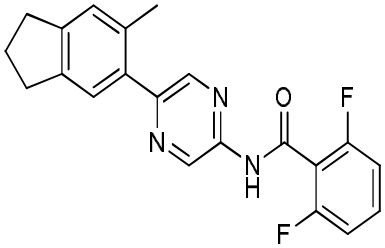
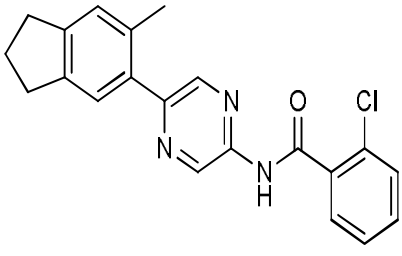

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

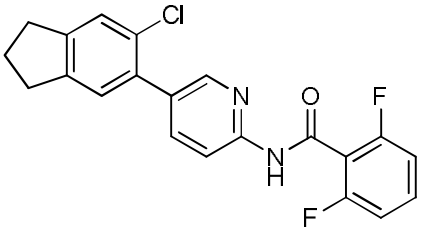
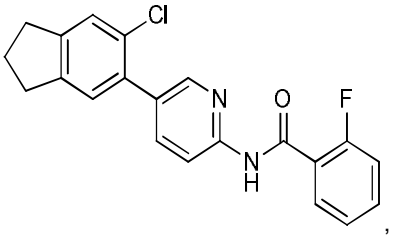
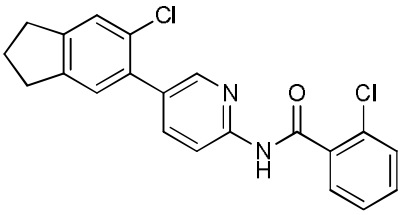
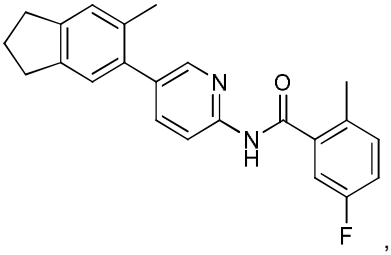
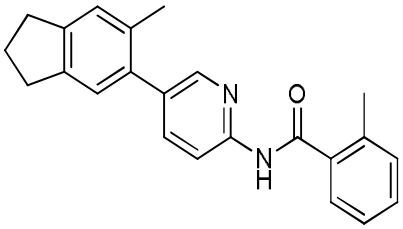
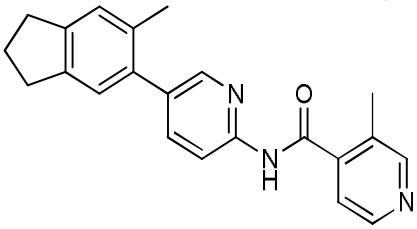
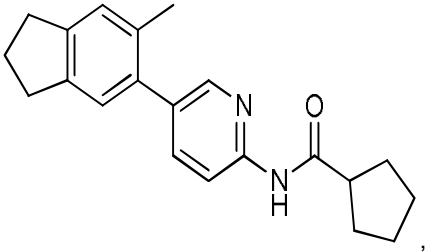
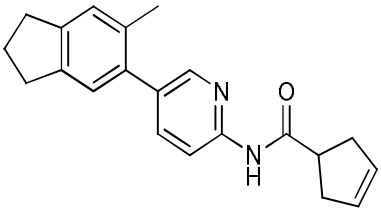
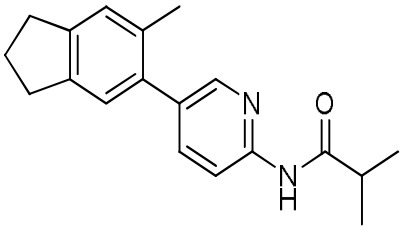

,

,

,

,

,

,

,

,

,

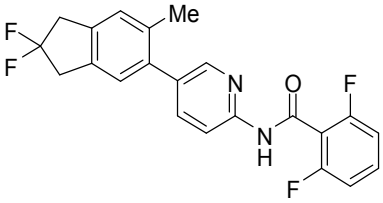
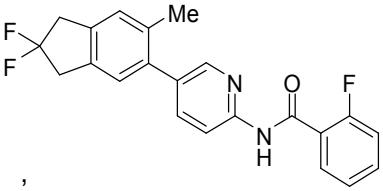
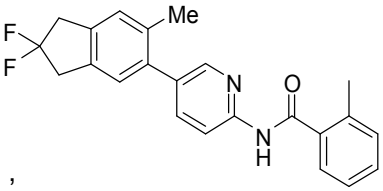
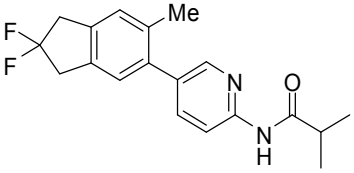
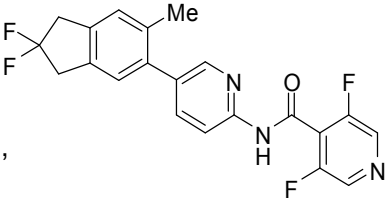
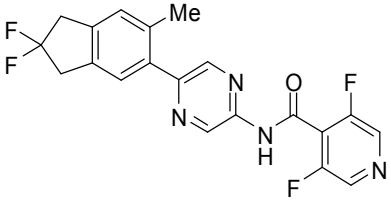
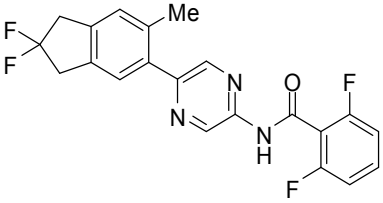
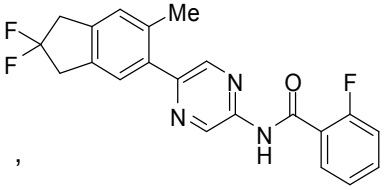
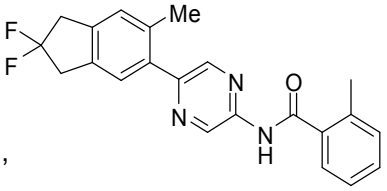
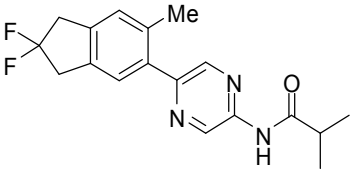
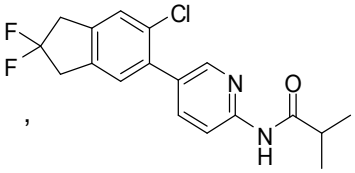
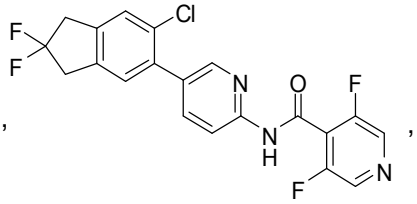
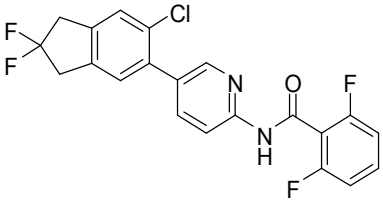
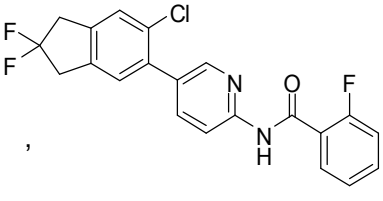
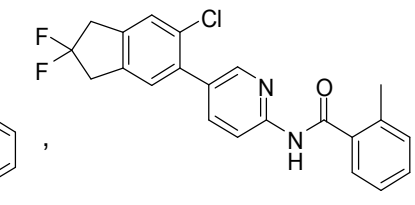

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

, y

;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otra instancia es un compuesto que tiene la estructura:

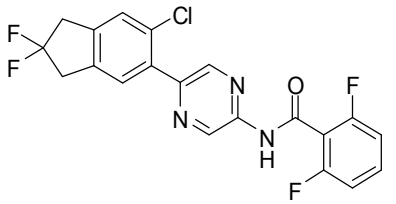
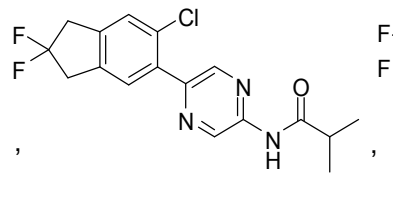
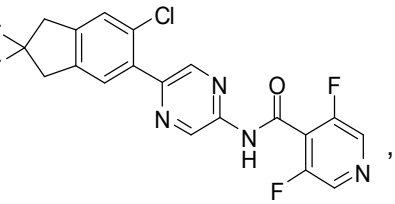

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

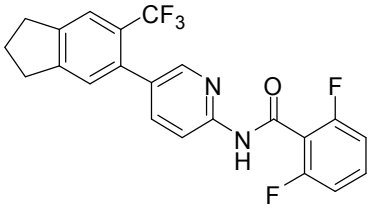
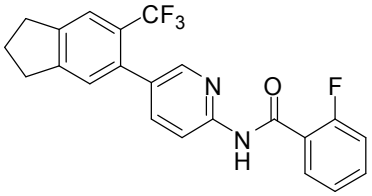
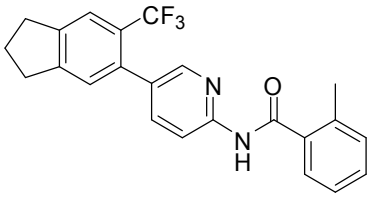
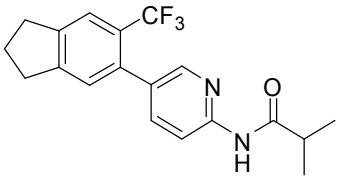
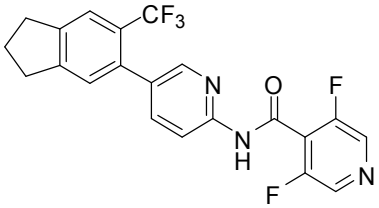
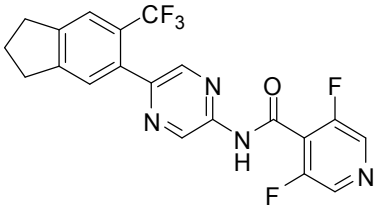
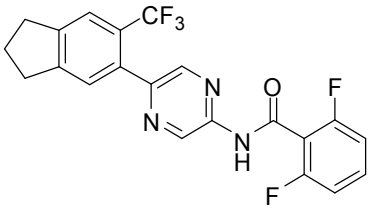
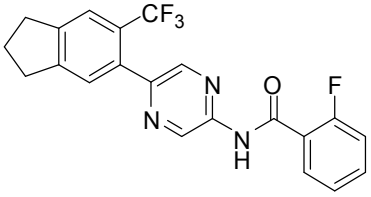
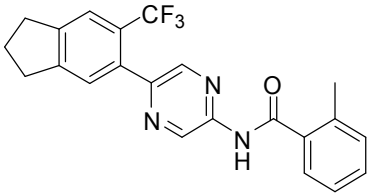
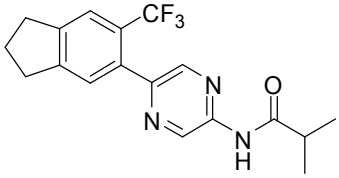
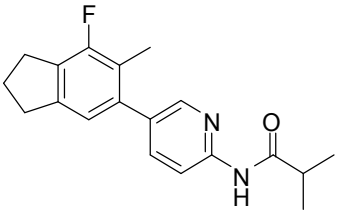
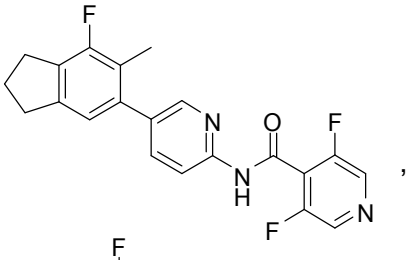
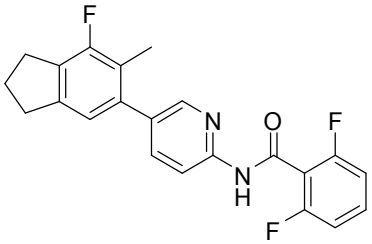
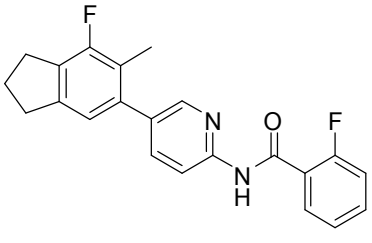
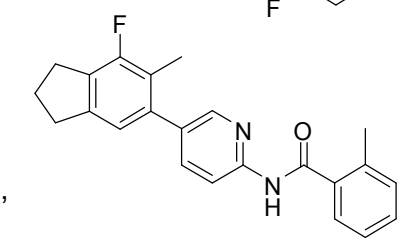
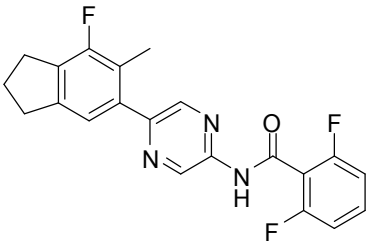
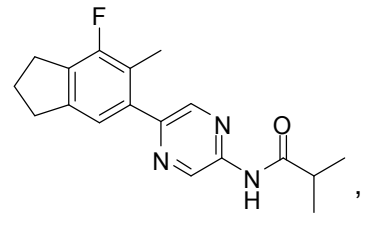
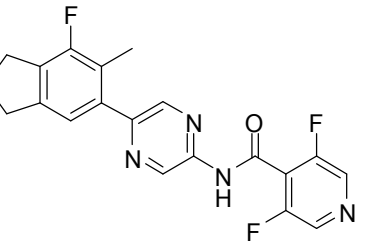
,

,

,

,

,

,

,

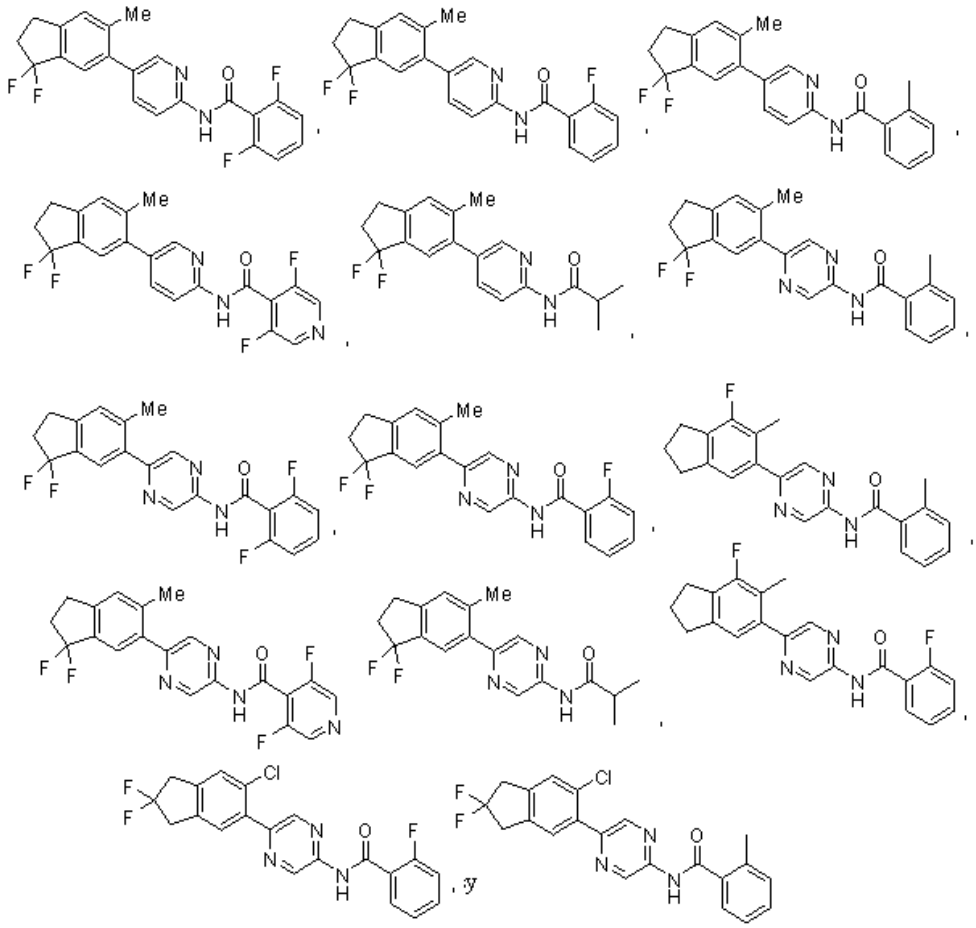
,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

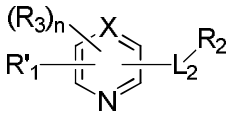
,



;

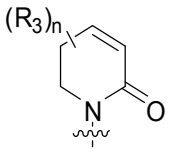
o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En aun otra instancia es un compuesto que tiene la estructura:



Fórmula (V);

donde:

R'_1 es  ;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es CR_3 o N;

Y se selecciona independientemente entre C o N;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC1–C4heterocicloalquiloC2–C8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC_1–C_4heterocicloalquiloC_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

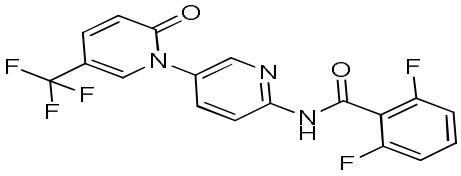
R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo $C_1–C_6$, cicloalquilo $C_3–C_8$, heteroalquilo $C_1–C_6$, haloalquilo $C_1–C_6$, heterocicloalquilo $C_2–C_8$, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido,

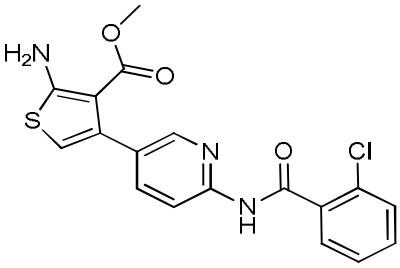
n es un número entero seleccionado entre 0–2;

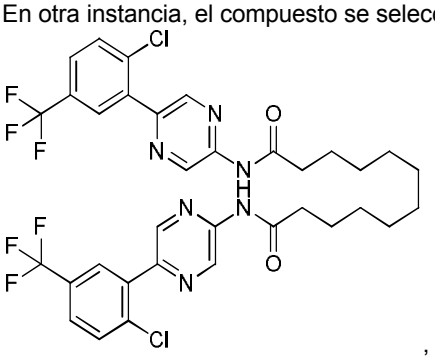
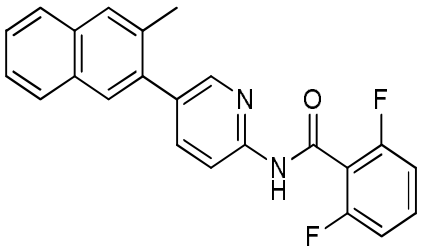
R_9 y R_{10} cada uno se selecciona independientemente entre H, D, alquilo $C_1–C_6$, halógeno, haloalquilo $C_1–C_6$, $–OR_5$, $–OCF_3$, carbonilalquilo $C_1–C_6$, o $–CF_3$;

R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo $C_1–C_6$, haloalquilo $C_1–C_6$, cicloalquilo $C_3–C_8$, fenilo y bencilo; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

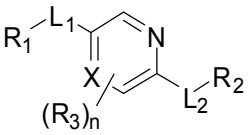
En una instancia, R_2 es arilo. En otra instancia, R_2 es fenilo. En una instancia adicional, fenilo es sustituido con por lo menos un halógeno. En aun otra instancia, R_3 se selecciona entre OCF_3, CF_3, y OH.

En una instancia, el compuesto es  .



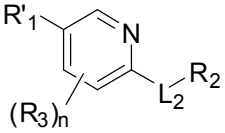
En otra instancia, el compuesto se selecciona entre ,  ,  ; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Una instancia adicional es un compuesto de Fórmula (I) que tiene la estructura de Fórmula (IA):

 ;

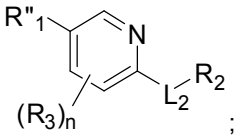
Fórmula (IA).

En aun otra instancia es un compuesto de Fórmula (II) que tiene la estructura de Fórmula (IIA):

 ;

Fórmula (IIA).

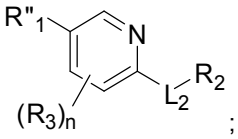
Una instancia es un compuesto de Fórmula (III) que tiene la estructura de Fórmula (IIIA):



;

Fórmula (IIIA).

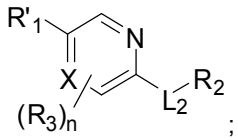
Otra instancia es un compuesto de Fórmula (IV) que tiene la estructura de Fórmula (IVA):



;

Fórmula (IVA).

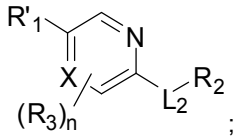
En aun otra instancia es un compuesto de Fórmula (V) que tiene la estructura de Fórmula (VA):



;

Fórmula (VA).

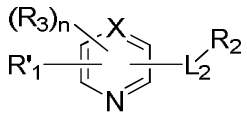
Una instancia adicional es un compuesto de Fórmula (VI) que tiene la estructura de Fórmula (VIA):



;

Fórmula (VIA).

En ciertas instancias, el compuesto de Fórmula (VII) tiene una fórmula:



Fórmula (VII);

donde, R'_1 es un indano, un dihidrobenzofurano, un benzodioxalano o un derivado del mismo; donde el indano, dihidrobenzofurano, benzodioxalano o un derivado del mismo es opcionalmente sustituido con por lo menos un grupo seleccionado entre F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es CR_3 o N;

R_2 es alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC1–C4heterocicloalquiloC2–C8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC1–C4heterocicloalquiloC2–C8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, $–NO_2$, –OH, $–CF_3$, $–OCF_3$, $–OR_5$, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, carbonilalquilo C_1–C_6, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido,

n es un número entero seleccionado entre 0–2;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otro caso es una composición farmacéutica que comprende un diluyente, excipiente o aglutinante farmacéuticamente aceptable, y un compuesto que tiene la estructura de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) o su sal farmacéuticamente aceptable, su profármaco farmacéuticamente aceptable, o su solvato farmacéuticamente aceptable.

Otro caso es un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección en un mamífero el cual se beneficiaría de la inhibición de la actividad del canal del calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares que comprende administrar al mamífero un compuesto que tiene la estructura de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que lo comprende con un diluyente, excipiente o aglutinante farmacéuticamente aceptable.

En ciertas instancias, la enfermedad, trastorno o afección en un mamífero se selecciona entre enfermedades/ trastornos que involucran inflamación, glomerulonefritis, uveítis, enfermedades o trastornos hepáticos, enfermedades o trastornos renales, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, artritis reumatoidea, enfermedad intestinal inflamatoria, vasculitis, dermatitis, osteoartritis, enfermedad muscular inflamatoria, rinitis alérgica, vaginitis, cistitis intersticial, esclerodermia, osteoporosis, eccema, rechazo de trasplante de órganos, trasplante alogeneico o xenogeneico, rechazo de injerto, enfermedad de injerto versus huésped, lupus eritematoso, diabetes tipo I, fibrosis pulmonar, dermatomiositis, tiroiditis, miastenia grave, anemia hemolítica autoinmune, fibrosis quística, hepatitis recurrente crónica, cirrosis biliar primaria, conjuntivitis alérgica, hepatitis y dermatitis atópica, asma, soriasis, esclerosis múltiple, síndrome de Sjogren, y enfermedades o trastornos autoinmunes.

Otro caso es un método para modular la actividad de los canales del calcio activados por el vaciado de los depósitos intracelulares (SOC) que comprende contactar el complejo de canales de SOC, o una porción del mismo, con un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que lo comprende con un diluyente, excipiente o aglutinante farmacéuticamente aceptable.

También se presenta en esta invención un método para modular la actividad de los canales de calcio activados por la liberación de calcio (CRAC, por sus siglas en inglés) en un mamífero que comprende administrar un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una instancia se presenta un método para modular la actividad de los canales de calcio activados por la liberación de calcio (CRAC, por sus siglas en inglés) en un mamífero que comprende administrar un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo donde el compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) modula una actividad de, modula una interacción de, o modula el nivel de, o se une a, o interactúa con por lo menos un componente del complejo del canal activado por la liberación de calcio (CRAC) seleccionado entre la familia de proteínas de moléculas de interacción estromal (STIM, por sus siglas en inglés).

Otra instancia es un método para modular la actividad de los canales de calcio activados por la liberación de calcio (CRAC, por sus siglas en inglés) en un mamífero que comprende administrar un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo donde el compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) modula una actividad de, modula una interacción de, o modula el nivel de, o se une a, o interactúa con STIM1 o STIM2.

Aun otra instancia es un método para modular la actividad de los canales de calcio activados por la liberación de calcio (CRAC, por sus siglas en inglés) en un mamífero que comprende administrar un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo donde la modulación de la actividad de los canales de calcio activados por la liberación de calcio (CRAC) con un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) inhibe la entrada del calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares (SOCE, por sus siglas en inglés).

En una instancia adicional se presenta un método para modular la actividad de los canales de calcio activados por la liberación de calcio (CRAC, por sus siglas en inglés) en un mamífero que comprende administrar un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo donde la modulación de la actividad de los canales de calcio activada por la liberación de calcio (CRAC) con un compuesto de Fórmula

(I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) inhibe la corriente electrofisiológica (I_{CRAC}) directamente asociada con los canales CRAC activados.

En aun otra instancia se presenta un método para modular la actividad de los canales de calcio activados por la liberación de calcio (CRAC, por sus siglas en inglés) en un mamífero que comprende administrar un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo donde el compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) inhibe la SOCE con una IC_{50} por debajo de 10 μM.

En otra instancia se describe un método para modular la actividad de los canales de calcio activados por la liberación de calcio (CRAC, por sus siglas en inglés) en un mamífero que comprende administrar un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo donde el compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) inhibe la corriente electrofisiológica (I_{CRAC}) directamente asociada con los canales CRAC activados a una concentración por debajo de 10 μM.

Un caso es un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección en un mamífero el cual se beneficiaría de la inhibición de la actividad de los canales de calcio activado por los depósitos intracelulares que comprende administrar al mamífero un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Una instancia es un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección en un mamífero el cual se beneficiaría de la inhibición de la actividad de los canales de calcio activado por los depósitos intracelulares que comprende administrar al mamífero un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo donde el compuesto de v modula la actividad de, modula una interacción de, o se une a, o interactúa con una proteína STIM1 de mamífero, o una proteína STIM2 de mamífero.

En aun otra instancia se presenta un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección en un mamífero el cual se beneficiaría de la inhibición de la actividad de los canales de calcio activado por los depósitos intracelulares que comprende administrar al mamífero un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo donde la enfermedad, trastorno o afección es artritis reumatoidea.

En una instancia adicional se presenta un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección en un mamífero el cual se beneficiaría de la inhibición de la actividad de los canales de calcio activado por los depósitos intracelulares que comprende administrar al mamífero un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo donde la enfermedad, trastorno o afección es soriasis.

Una instancia es un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección en un mamífero el cual se beneficiaría de la inhibición de la actividad de los canales de calcio activado por los depósitos intracelulares que comprende administrar al mamífero un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo donde la enfermedad, trastorno o afección es enfermedad intestinal inflamatoria.

En una instancia adicional la enfermedad intestinal inflamatoria es colitis ulcerativa.

Una instancia adicional es un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección en un mamífero el cual se beneficiaría de la inhibición de la actividad de los canales de calcio activado por los depósitos intracelulares que comprende administrar al mamífero un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo donde la enfermedad, trastorno o afección es rechazo de trasplante de órgano.

Una instancia adicional es un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección en un mamífero el cual se beneficiaría de la inhibición de la actividad de los canales de calcio activado por los depósitos intracelulares que comprende administrar al mamífero un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo donde la enfermedad, trastorno o afección es esclerosis múltiple.

Aun otra instancia es un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección en un mamífero el cual se beneficiaría de la inhibición de la actividad de los canales de calcio activado por los depósitos intracelulares que comprende administrar al mamífero un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo que comprende además administrar al mamífero un segundo agente terapéutico.

Otra instancia se trata de un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección en un mamífero el cual se beneficiaría de la inhibición de la actividad de los canales de calcio activado por los depósitos intracelulares que comprende administrar al mamífero un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, donde el segundo agente terapéutico se selecciona entre inmunosupresores, glucocorticoides, fármacos antiinflamatorios no esteroides, inhibidores específicos de Cox–2, leflunomida, tioglucosa de oro, tiomalato de oro, aurofin, sulfasalazina, hidroxicloroquinina, minociclina, agentes anti–TNF–α, abatacept, anakinra, interferón–β, interferón–γ, interleuquina–2, vacunas para la alergia, antihistaminas, antileucotrienos, beta–agonistas, teofilina, y anticolinérgicos.

Aun otra instancia es un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección en un mamífero el cual se beneficiaría de la inhibición de la actividad de los canales de calcio activado por los depósitos intracelulares que comprende administrar al mamífero un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, donde el segundo agente terapéutico se selecciona entre tacrolimus, ciclosporina, rapamicina, metotrexato, ciclofosfamida, azatioprina, mercaptopurina, micofenolato, o FTY720, prednisona, acetato de cortisona, prednisolona, metilprednisolona, dexametasona, betametasona, triamcinolona, beclometasona, acetato de fludrocortisona, acetato de desoxicorticosterona, aldosterona, aspirina, ácido salicílico, ácido gentísico, salicilato de magnesio colina, salicilato de colina, salicilato de colina magnesio, salicilato de colina, salicilato de magnesio, salicilato sódico, diflunisal, carprofeno, fenoprofeno, fenoprofeno cálcico, fluorobiprofeno, ibuprofeno, ketoprofeno, nabutone, ketolorac, ketorolac trometamina, naproxeno, oxaprozina, diclofenac, etodolac, indometacina, sulindac, tolmetina, meclofenamato, meclofenamato sódico, ácido mefenámico, piroxicam, meloxicam, celecoxib, rofecoxib, valdecoxib, parecoxib, etoricoxib, lumiracoxib, CS–502, JTE–522, L–745,337 y NS398, leflunomida, tioglucosa de oro, tiomalato de oro, aurofin, sulfasalazina, hidroxicloroquinina, minociclina, infliximab, etanercept, adalimumab, abatacept, anakinra, interferón–β, interferón–γ, interleuquina–2, vacunas antialérgicas, antihistaminas, antileucotrienos, beta–agonistas, teofilina, y anticolinérgicos.

En la presente se describe un método para inhibir la activación de la entrada del calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares (SOCE) de factor nuclear de células T activadas (NFAT) en un mamífero que comprende administrar un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Una instancia es un método para inhibir la activación de la entrada del calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares (SOCE) de factor nuclear de células T activadas (NFAT) en un mamífero que comprende administrar un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, donde el compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) modula una interacción de, o modula el nivel de, o se une a, o interactúa con una proteína STIM1 de mamífero, o una proteína STIM2 de mamífero.

Otro caso es un método para disminuir la expresión de citoquina inhibiendo la activación de la entrada del calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares de NFAT en un mamífero que comprende administrar un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otra instancia se trata de un método para disminuir la expresión de citoquina inhibiendo la activación de la entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares de NFAT en un mamífero que comprende administrar un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo donde el compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) modula una interacción de, o modula el nivel de, o se une a, o interactúa con una proteína STIM1 de mamífero o una proteína STIM2 de mamífero.

Aun otra instancia se trata de un método para disminuir la expresión de citoquinas inhibiendo la activación de la entrada del calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares de NFAT en un mamífero que comprende administrar un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), o su sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo donde la citoquina se selecciona entre IL–2, IL–3, IL–4, IL–5, IL–6, IL–7, IL–8, IL–9, IL–10, IL–11, IL–12, IL–13, IL–15, IL–16, IL–17, IL–18, IL–1α, IL–1β, IL–1 RA, factor estimulador de colonias de granulocitos (G–CSF), factor estimulador de colonias de granulocitos– macrófagos (GM–CSF), oncostatina M, eritropoyetina, factor inhibidor de leucemia (LIF, por sus siglas en inglés), interferones, gamma–interferón (γ–IFN), B7.1 (CD80), B7.2 (B70, CD86), TNF–α, TNF–β, LT–β, ligando CD40, ligando Fas, ligando CD27, ligando CD30, 4–1BBL, Trail, y factor inhibidor de la migración (MIF, por sus siglas en inglés).

Otras Formas de compuestos

Los compuestos descritos en esta invención pueden existir, en algunos casos, como diastereómeros, enantiómeros, u otras formas estereoisoméricas. Los compuestos presentados en esta invención incluyen a todas las formas diastereoméricas, enantioméricas, y epiméricas así como también sus mezclas apropiadas. La separación de estereoisómeros puede realizarse por cromatografía o mediante la formación de formas diastereoméricas y separación por recristalización, o cromatografía, o cualquier combinación de los mismos. (Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates y Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981). Los estereoisómeros también pueden ser obtenidos por síntesis estereoselectiva.

En algunas situaciones, los compuestos pueden existir como tautómeros. Todos los tautómeros están incluidos dentro de las fórmulas descritas en esta invención.

Los métodos y composiciones descritos en esta invención incluyen el uso de formas amorfas así como también formas cristalinas (también conocidas como polimorfos). Los compuestos descritos en esta invención pueden estar en la forma de sales farmacéuticamente aceptables. También, los metabolitos activos de estos compuestos que tienen el mismo tipo de actividad son incluidos en el alcance de la presente descripción. Adicionalmente, los compuestos descritos en esta invención pueden existir en formas no solvatadas así como también en formas solvatadas con solventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol, y similares. Las formas solvatadas de los compuestos presentados en esta invención son también consideradas como descritas en esta invención.

En algunas instancias, los compuestos descritos en esta invención pueden ser preparados como profármacos. Un "profármaco" se refiere a un agente que es convertido en el fármaco parental *in vivo*. Los profármacos son a menudo útiles debido a que, en algunas situaciones, pueden ser más fáciles de administrar que el fármaco parental. Por ejemplo, pueden ser biodisponibles mediante administración oral mientras que el parental no lo es. El profármaco también puede tener solubilidad mejorada en composiciones farmacéuticas con respecto al fármaco parental. Un ejemplo, sin limitación, de un profármaco sería un compuesto descrito en esta invención, el cual es administrado como un éster (el "profármaco") para facilitar la transmisión a través de una membrana celular donde la solubilidad acuosa es perjudicial para la movilidad pero que luego se hidroliza metabólicamente al ácido carboxílico, la entidad activa, una vez adentro de la célula donde la solubilidad en agua es beneficiosa. Un ejemplo adicional de un profármaco podría ser un péptido corto (poliaminoácido) unido a un grupo ácido donde el péptido es metabolizado para revelar la porción activa. En ciertas instancias, luego de la administración *in vivo*, un profármaco es químicamente convertido a la forma biológica, farmacéutica o terapéuticamente activa del compuesto. En ciertas instancias, un profármaco es enzimáticamente metabolizado por uno o más pasos o proceso a la forma biológica, farmacéutica o terapéuticamente activa del compuesto.

Para producir un profármaco, un compuesto farmacéuticamente activo es modificado de modo que el compuesto activo será regenerado luego de la administración *in vivo*. El profármaco puede ser diseñado para alterar la estabilidad metabólica o las características de transporte de un fármaco, para enmascarar efectos secundarios o toxicidad, para mejorar el sabor de un fármaco o para alterar otras características o propiedades de un fármaco. En algunas instancias, en virtud del conocimiento de los procesos farmacodinámicos y metabolismo farmacológico *in vivo*, una vez que un compuesto farmacéuticamente activo es determinado, los profármacos del compuesto son diseñados. (ver, por ejemplo, Nogrady (1985) *Medicinal Chemistry A Biochemical Approach*, Oxford University Press, Nueva York, páginas 388–392; Silverman (1992), The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action, Academic Press, Inc., San Diego, páginas 352–401, Saulnier *et al.*, (1994), *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, Tomo 4, p. 1985; Rooseboom *et al.*, *Pharmacological Reviews*, 56:53–102, 2004; Miller *et al.*, *J. Med. Chem.* Vol.46, no. 24, 5097–5116, 2003; Aesop Cho, "Recent Advances in Oral Prodrug Discovery", *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, Vol. 41, 395–407, 2006).

Las formas de los profármacos de los compuestos descritos en esta invención, donde el profármaco es metabolizado *in vivo* para producir un compuesto que tiene la estructura de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) según lo expuesto en esta invención son incluidos dentro del alcance de las reivindicaciones. En algunos casos, algunos de los compuestos descritos en esta invención pueden ser un profármaco para otro derivado o compuesto activo.

Los profármacos son a menudo útiles debido a que, en algunas situaciones, pueden ser más fáciles de administrar que el fármaco parental. Por ejemplo, pueden ser biodisponibles por administración oral mientras que el fármaco parental no lo es. El profármaco también puede tener solubilidad mejorada en composiciones farmacéuticas con respecto al fármaco parental. Los profármacos pueden estar diseñados como derivados de fármacos reversibles, para utilizar como modificadores para aumentar el transporte de fármaco a tejidos sitio–específicos. En algunas instancias, el diseño de un profármaco aumenta la solubilidad en agua eficaz. Ver, por ej., Fedorak *et al.*, *Am. J. Physiol.*, 269:G210–218 (1995); McLoed *et al.*, *Gastroenterol*, 106:405–413 (1994); Hochhaus *et al.*, *Biomed. Crom.,* 6:283–286 (1992); J. Larsen y H. Bundgaard, *Int. J. Pharmaceutics,* 37, 87 (1987); J. Larsen et al., *Int. J. Pharmaceutics*, 47, 103 (1988); Sinkula *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, 64:181–210 (1975); T. Higuchi y V. Stella, *Pro–drugs as Novel Delivery Systems*, Vol. 14 of the A.C.S. Symposium Series; y Edward B. Roche, *Bioreversible Carriers in Drug Design*, American Pharmaceutical Association y Pergamon Press, 1987).

Los sitios en la porción de anillo aromático de los compuestos descritos en esta invención pueden ser susceptibles a diversas reacciones metabólicas, por lo tanto, la incorporación de sustituyentes apropiados en las estructuras de anillos aromáticos, tales como, a modo de ejemplo solamente, halógenos pueden reducir, minimizar o eliminar esta trayectoria metabólica.

Los compuestos descritos en esta invención pueden ser etiquetados isotópicamente (por ej. con un radioisótopo) o por otros medios, incluyendo, aunque sin limitarse a, el uso de cromóforos o porciones fluorescentes, etiquetas bioluminiscentes, etiquetas fotoactivables o quimioluminiscentes.

Los compuestos descritos en esta invención incluyen compuestos isotópicamente etiquetados, los cuales son idénticos a aquellos mencionados en las diversas fórmulas y estructuras presentadas en esta invención, con diferencia del hecho de que uno o más átomos son reemplazados por un átomo que tiene masa atómica o número de masa diferente de la masa atómica o número de masa generalmente encontrado en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden ser incorporados en los presentes compuestos incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, flúor y cloro, tales como, por ejemplo, ^{2}H, ^{3}H, ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{18}O, ^{17}O, ^{35}S, ^{18}F, ^{36}Cl, respectivamente. Ciertos compuestos isotópicamente etiquetados descritos en esta invención, por ejemplo aquellos en los cuales los isótopos radiactivos tales como ^{3}H y ^{14}C son incorporados, son útiles en ensayos de distribución tisular de fármaco y/o sustrato. Adicionalmente, la sustitución con isótopos tal como deuterio, es decir, ^{2}H, puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que son el resultado de la mayor estabilidad metabólica, tal como, por ejemplo, aumento de la vida útil *in vivo* o requerimientos reducidos de dosificación.

En instancias adicionales o en otras instancias, los compuestos descritos en esta invención son metabolizados luego de la administración a un organismo que necesita producir un metabolito que es luego empleado para producir un efecto deseado, incluyendo un efecto terapéutico deseado.

Los compuestos descritos en esta invención pueden ser formados como, y/o empleados como, sales farmacéuticamente aceptables. El tipo de sales farmacéuticamente aceptables, incluyen, aunque sin limitarse a: (1) sales de adición de ácido, formadas haciendo reaccionar la forma de base libre del compuesto con un ácido inorgánico, tal como, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metafosfórico, farmacéuticamente aceptable, y similares; o con un ácido orgánico, tal como, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido trifluoracético, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido 3–(4–hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metansulfónico, ácido etansulfónico, ácido 1,2–etandisulfónico, ácido 2–hidroxietansulfónico, ácido bencensulfónico, ácido toluensulfónico, ácido 2–naftalensulfónico, ácido 4–metilbiciclo–[2.2.2]oct–2–en–1–carboxílico, ácido glucoheptónico, ácido 4,4'–metilenbis–(3–hidroxi–2–en–1–carboxílico), ácido 3–fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido butilacético terciario, ácido laurilsulfúrico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucónico, ácido butírico, ácido fenilacético, ácido fenilbutírico, ácido valproico, y similares; (2) sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto original es reemplazado por un ión metálico, por ej., un ión de metal alcalino (por ej., litio, sodio, potasio), un ion de metal alcalinotérreo (por ej., magnesio o calcio) o un ion aluminio. En algunos casos, los compuestos descritos en esta invención pueden coordinar con una base orgánica, tal como, aunque sin limitarse a, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N–metilglucamina, diciclohexilamina, tris(hidroximetil)metilamina. En otros casos, los compuestos descritos en esta invención pueden formar sales con aminoácidos tales como, aunque sin limitarse a, arginina, lisina, y similares. Las bases inorgánicas aceptables empleadas para formar sales con compuestos que incluyen un protón ácido, incluyen, aunque sin limitarse a, hidróxido de aluminio, hidróxido de calcio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio, hidróxido de sodio, y similares.

Debería entenderse que una referencia a una sal farmacéuticamente aceptable incluye las formas de adición de solvente o sus formas cristalinas, preferentemente solvatos o polimorfos. Los solvatos contienen cantidades estequiométricas o no estequiométricas de un solvente, y pueden ser formados durante el proceso de cristalización con solventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol, y similares. Los hidratos son formados cuando el solvente es agua, o alcoholatos son formados cuando el solvente es alcohol. Los solvatos de los compuestos descritos en esta invención pueden ser convenientemente preparados o formados durante los procesos descritos en esta invención. Adicionalmente, los compuestos proporcionados en esta invención pueden existir en formas no solvatadas así como también en formas solvatadas. En general, las formas solvatadas son consideradas equivalentes a las formas no solvatadas para los propósitos de los compuestos y métodos proporcionados en esta invención.

En algunas instancias, los compuestos descritos en esta invención, tales como los compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), están en diversas formas, incluyendo aunque sin limitarse a, formas amorfas, formas trituradas y formas de nanopartículas. Adicionalmente, los compuestos descritos en esta invención incluyen formas cristalinas, también conocidas como polimorfos. Los polimorfos incluyen las diferentes disposiciones de empaquetado de cristales de la misma composición elemental de un compuesto. Los polimorfos generalmente tienen diferentes patrones de difracción de rayos X,

puntos de fusión, densidad, dureza, forma cristalina, propiedades ópticas, estabilidad y solubilidad. Diversos factores tales como el solvente de recristalización, índice de cristalización, y temperatura de almacenamiento pueden hacer que predomine una sola forma cristalina.

El screening y la caracterización de las sales, polimorfos y/o solvatos farmacéuticamente aceptables pueden lograrse empleando una variedad de técnicas que incluyen, aunque sin limitarse a, análisis térmico, difracción de rayos X, espectroscopía, absorción de vapor y microscopía. Los métodos de análisis térmico se dirigen a la degradación termoquímica o procesos termofísicos que incluyen, aunque sin limitarse a, transiciones polimórficas y dichos métodos son empleados para analizar las relaciones entre las formas polimórficas, determinar la pérdida de peso, encontrar la temperatura de transición vítrea o para estudios de compatibilidad de excipiente. Dichos métodos incluyen, aunque sin limitarse a, Calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés), Calorimetría Diferencial de Barrido Modulada (MDCS, por sus siglas en inglés), Análisis termogravimétrico (TGA, por sus siglas en inglés), y análisis termogravimétrico y de infrarrojos (TG/IR, por sus siglas en inglés). Los métodos de difracción de rayos X incluyen, aunque sin limitarse a, difractómetros de cristal único y polvo y fuentes de sincrotrón. Las diversas técnicas espectroscópicas empleadas incluyen, aunque sin limitarse a, Raman, FTIR, UV–VIS, y RMN (estado líquido y sólido). Las diversas técnicas de microscopia incluyen, aunque sin limitarse a, microscopia de luz polarizada, Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) con Análisis de Rayos X De Dispersión de Energía (EDX), Microscopía Electrónica de Barrido Medioambiental con EDX (en atmósfera gaseosa o de vapor de agua), microscopía de IR, y microscopía Raman.

A lo largo de la memoria descriptiva, los grupos y sustituyentes de los mismos pueden ser seleccionados para proporcionar porciones y compuestos estables.

Síntesis de los Compuestos

En algunas instancias, la síntesis de los compuestos descritos en esta invención se logra empleando medios descritos en la bibliografía química, empleando los métodos descritos en esta invención, o mediante una combinación de los mismos. Adicionalmente, los solventes, temperaturas y otras condiciones de reacción presentadas en esta invención pueden variar.

En otras instancias, los materiales de partida y reactivos empleados para la síntesis de los compuestos descritos en esta invención son sintetizados o son obtenidos de fuentes comerciales, tales como, aunque sin limitarse a, Sigma–Aldrich, FischerScientific (Fischer Chemicals), y AcrosOrganics.

En instancias adicionales, los compuestos descritos en esta invención, y otros compuestos relacionados que tienen diferentes sustituyentes son sintetizados empleando técnicas y materiales descritos en esta invención así como también aquellos que son reconocidos en el campo, tal como lo descrito, por ejemplo, en Fieser y Fieser's Reagents for Organic Synthesis, Tomos 1–17 (John Wiley y Sons, 1991); Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Tomos 1–5 y Supplementals (Elsevier Science Publishers, 1989); Organic Reactions, Tomos 1–40 (John Wiley y Sons, 1991), Larock's Comprehensive Organic Transformations (VCH Publishers Inc., 1989), Marzo, ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY 4th Ed., (Wiley 1992); Carey y Sundberg, ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY 4th Ed., Tomos A y B (Plenum 2000, 2001), y Green y Wuts, PROTECTIVE GROUPS IN ORGANIC SYNTHESIS 3rd Ed., (Wiley 1999). Los métodos generales para la preparación de compuesto según lo descrito en esta invención pueden ser derivados de reacciones y las reacciones pueden ser modificadas mediante el uso de reactivos y condiciones apropiados, para la introducción de las diversas porciones encontradas en las fórmulas según lo provisto en esta invención. Como una guía se pueden emplear los siguientes métodos sintéticos.

Formación de Enlaces Covalentes mediante Reacción de un Electrófilo con un Nucleófilo

Los compuestos descritos en esta invención pueden ser modificados empleando diversos electrófilos y/o nucleófilos para formar nuevos grupos funcionales o sustituyentes. La Tabla 1 titulada "Ejemplos de Enlaces Covalentes y Sus Precursores" enlista ejemplos no limitativos seleccionados de enlaces covalentes y grupos funcionales precursores que producen los enlaces covalentes. La Tabla 1 puede ser empleada como una guía hacia la variedad de combinaciones de electrófilos y nucleófilos disponibles que proporcionan enlaces covalentes. Los grupos funcionales precursores son mostrados como grupos electrófilos y grupos nucleófilos.

Tabla 1: Ejemplos de Enlaces Covalentes y Sus Precursores

Producto de Enlaces Covalentes	Electrófilo	Nucleófilo
Carboxamidas	Ésteres activados	aminas/anilinas
Carboxamidas	azidas de acilo	aminas/anilinas
Carboxamidas	haluros de acilo	aminas/anilinas

Ésteres	haluros de acilo	alcoholes/fenoles
Ésteres	nitrilos de acilo	alcoholes/fenoles
Carboxamidas	nitrilos de acilo	aminas/anilinas
Iminas	Aldehídos	aminas/anilinas
Alquilaminas	haluros de aquilo	aminas/anilinas
Ésteres	haluros de aquilo	ácidos carboxílicos
Tioéteres	haluros de aquilo	Tioles
Éteres	haluros de aquilo	alcoholes/fenoles
Tioéteres	alquil sulfonatos	Tioles
Ésteres	Anhídridos	alcoholes/fenoles
Carboxamidas	Anhídridos	aminas/anilinas
Tiofenoles	haluros de arilo	Tioles
Arilaminas	haluros de arilo	Amines
Tioéteres	Azindinas	Tioles
Carboxamidas	ácidos carboxílicos	aminas/anilinas
Ésteres	ácidos carboxílicos	Alcoholes
hidrazinas	Hidrazidas	ácidos carboxílicos
N–acilureas o Anhídridos	carbodiimidas	ácidos carboxílicos
Ésteres	diazoalcanos	ácidos carboxílicos
Tioéteres	Epóxidos	Tioles
Tioéteres	haloacetamidas	Tioles
Ureas	Isocianatos	aminas/anilinas
Uretanos	Isocianatos	alcoholes/fenoles
Tioureas	isotiocianatos	aminas/anilinas
Tioéteres	Maleimidas	Tioles
Alquilaminas	ésteres de sulfonato	aminas/anilinas
Tioéteres	ésteres de sulfonato	Tioles
Sulfonamidas	haluros de sulfonilo	aminas/anilinas
ésteres de sulfonato	haluros de sulfonilo	fenoles/alcoholes

Uso de Grupos Protectores

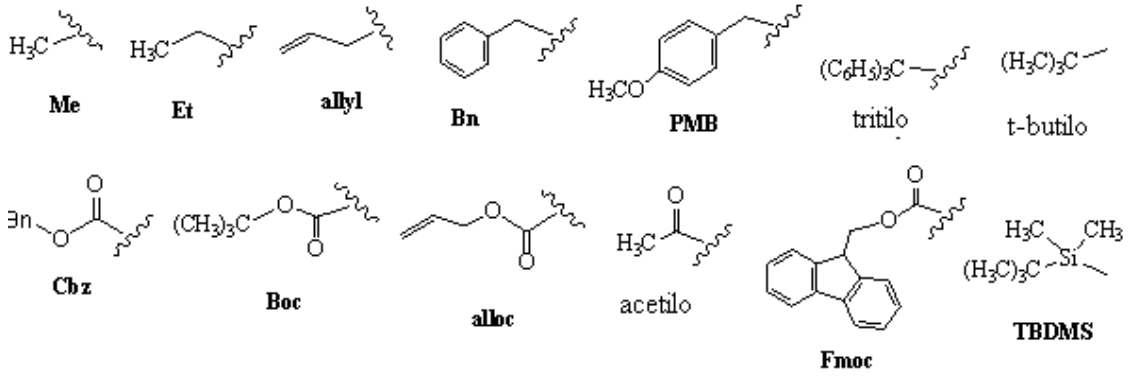
En las reacciones descritas, puede ser necesario proteger grupos funcionales reactivos, por ejemplo grupos hidroxi, amino, imino, tio o carboxi, donde estos son deseados en el producto final, a fin de evitar su participación no deseada en las reacciones. Los grupos protectores son empleados para bloquear algunas o la totalidad de las porciones reactivas y evitar que dichos grupos participen en reacciones químicas hasta que se elimina el grupo protector. Se prefiere que cada grupo protector sea removible por un medio diferente. Los grupos protectores que son disociados bajo condiciones de reacción totalmente dispares cumplen con el requerimiento de remoción diferencial.

Los grupos protectores pueden ser eliminados por ácido, base, condiciones reductoras (tales como, por ejemplo, hidrogenólisis), y/o condiciones oxidativas. Los grupos tales como tritilo, dimetoxitritilo, acetal y t–butildimetilsililo son lábiles al ácido y se pueden emplear para proteger porciones reactivas carboxi e hidroxi en presencia de grupos amino protegidos con grupos Cbz, que son removibles por hidrogenólisis, y grupos Fmoc, que son lábiles a la base. Las porciones reactivas de ácido carboxílico e hidroxi pueden ser bloqueadas con grupos lábiles a la base tales como, aunque sin limitarse a, metilo, etilo, y acetilo en presencia de aminas bloqueadas con grupos lábiles al ácido tales como t–butil carbamato o con carbamatos que son tanto estables al ácido como a la base pero hidrolíticamente removibles.

Las porciones reactivas ácido carboxílico e hidroxi también pueden ser bloqueadas con grupos protectores hidrolíticamente removibles tales como el grupo bencilo, mientras que los grupos amina capaces de enlace de hidrógeno con ácidos pueden ser bloqueados con grupos lábiles a la base tales como Fmoc. Las porciones reactivas de ácido carboxílico pueden ser protegidas mediante conversión a compuestos éster simples según lo ejemplificado en esta invención, que incluyen conversión a ésteres de alquilo, o se pueden bloquear con grupos protectores oxidativamente eliminables tales como 2,4–dimetoxibencilo, si bien los grupos amino co–existentes pueden ser bloqueados con sililcarbamatos lábiles al fluoruro.

Los grupos bloqueadores alilo son útiles en presencia de grupos protectores de ácido y base puesto que los anteriores son estables y pueden ser posteriormente eliminados por catálisis de metal o ácido pi. Por ejemplo, un ácido carboxílico bloqueado con alilo puede ser desprotegido con una reacción catalizada por Pd^0 en presencia de grupos protectores t–butilcarbamato lábil al ácido o amina de acetato lábiles a base. Aun otra forma de grupo protector es una resina a la cual se puede unir un compuesto o intermediario. Siempre y cuando el residuo esté unido a la resina, ese grupo funcional está bloqueado y no puede reaccionar. Una vez liberado de la resina, el grupo funcional está disponible para reaccionar.

Los grupos bloqueadores/ protectores típicos pueden ser seleccionados entre:



Otros grupos protectores, más una descripción detallada de las técnicas aplicables a la creación de grupos protectores y su remoción se describen en Greene y Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Ed., John Wiley & Sons, Nueva York, NY, 1999, y Kocienski, Protective Groups, Thieme Verlag, Nueva York, NY, 1994).

Cierta Terminología

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos empleados en esta invención tienen el mismo significado al comúnmente comprendido a la cual pertenece el objeto reivindicado. En el caso en que exista una pluralidad de definiciones para los términos de esta invención, prevalecen aquellas en esta sección. Todas las patentes, solicitudes de patentes, publicaciones y secuencias nucleotídicas y de aminoácidos publicadas (*por ej.,* las secuencias disponibles en GenBank o en otras bases de datos). Donde se hace referencia a un URL o a otro identificador o dirección, se entiende que dichos identificadores pueden cambiar e información particular en la Internet puede ir y venir, pero puede encontrarse información equivalente buscando en la Internet. La referencia a la misma evidencia la disponibilidad y diseminación pública de dicha información.

Debe entenderse que la descripción general que antecede y la siguiente descripción detallada son ejemplares y explicativas solamente y no son restrictivas de cualquier objeto reivindicado. En esta solicitud, el uso del singular incluye el plural a menos que se indique específicamente lo contrario. Debe señalarse que, como se emplea en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un”, “una” y “el” “la” incluyen los referentes plurales a menos que el contexto claramente indique lo contrario. En esta solicitud, el uso de “o” significa “y/o” a menos que se indique lo contrario. Por añadidura, el uso del término “incluyendo” así como de otras formas, tales como “incluyen”, “incluye” e “incluido” no es limitativo.

Los encabezamientos de secciones empleados en esta invención son para propósitos de organización solamente y no deben interpretarse como una limitación del objeto descrito.

La definición de los términos químicos convencionales puede encontrarse en trabajos de referencia, incluyendo, aunque sin limitarse a, Carey y Sundberg "ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY 4TH ED." Vols. A (2000) y B (2001), Plenum Press, Nueva York. A menos que se indique lo contrario, métodos convencionales de espectroscopía de masas, RMN, HPLC, química proteica, bioquímica, técnicas de ADN recombinante y farmacología.

A menos que se proporcionen definiciones específicas, la nomenclatura empleada en relación con, y los procedimientos y técnicas de laboratorio de, química analítica, química sintética orgánica, y química medicinal y farmacéutica descritos en esta invención son aquellos reconocidos en el campo. Pueden emplearse técnicas convencionales para síntesis químicas, análisis químicos, preparación farmacéutica, formulación, y administración, y tratamiento de pacientes. Se pueden emplear técnicas convencionales para ADN recombinante, síntesis de oligonucleótidos, y cultivo y transformación tisular (por ej., electroporación, lipofección). Las reacciones y técnicas de purificación pueden realizarse por ej., empleando kits de instrucciones del fabricante o según lo conseguido comúnmente en la técnica o según lo descrito en esta invención. Las técnicas y procedimientos que antecede pueden llevarse a cabo generalmente de métodos convencionales y según lo descrito en diversas referencias generales y más específicas que se mencionan y describen a lo largo de la presente memoria descriptiva.

Debe entenderse que los métodos y composiciones descritos en esta invención no se encuentran limitados a la metodología en particular, protocolos, líneas celulares, constructos y reactivos descritos en esta invención y como tales pueden variar. También debe entenderse que la terminología empleada en esta invención es para el propósito de describir instancias particulares solamente y no tiene el propósito de limitar el alcance de los métodos, compuestos, composiciones descritos en esta invención.

Como se emplea en esta invención, C_1–C_x incluye C_1–C_2, C_1–C_3 . . . C_1–C_x. C_1–C_x se refiere a la cantidad de átomos de carbono que forma la porción a la cual designa (excluyendo los sustituyentes opcionales).

Un grupo "alquilo" se refiere a un grupo hidrocarburo alifático. Los grupos alquilo pueden incluir o no unidades de insaturación. La porción alquilo puede ser un grupo "alquilo saturado", lo cual significa que no contiene ninguna unidad de insaturación (es decir, un enlace doble carbono– carbono o un enlace triple carbono–carbono). El grupo alquilo también puede ser una porción "alquilo insaturado", lo cual significa que contiene por lo menos una unidad de insaturación. La porción alquilo, ya sea saturada o insaturada, puede ser ramificada, de cadena recta o cíclica.

El grupo "alquilo" puede tener de 1 a 6 átomos de carbono (siempre que aparece en esta invención, un rango numérico tal como "1 a 6" se refiere a cada número entero en el rango determinado; *por ej.,* "1 a 6 átomos de carbono" significa que el grupo alquilo puede consistir en 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, *etc.*, hasta e incluyendo 6 átomos de carbono, si bien la presente definición también cubre la aparición del término "alquilo" donde no se designa rango numérico alguno). El grupo alquilo de los compuestos descritos en esta invención puede ser designado "alquilo C_1–C_6" o designaciones similares. A modo de ejemplo solamente, "alquilo C_1–C_6" indica que hay de uno a seis átomos de carbono en la cadena alquilo, es decir, la cadena alquilo se selecciona del grupo formado por metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, sec–butilo, t–butilo, n–pentilo, iso–pentilo, neo–pentilo, hexilo, propen–3–ilo (alilo), ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo. Los grupos alquilo pueden ser sustituidos o no sustituidos. Dependiendo de la estructura, un grupo alquilo puede ser un monoradical o un diradical (es decir, un grupo alquileno).

Un "alcoxi" se refiere a un grupo "–O–alquil", donde alquilo es según lo definido en esta invención.

El término "alquenilo" se refiere a un tipo de grupo alquilo en el cual los primeros dos átomos del grupo alquilo forman un enlace doble que no es parte de un grupo aromático. Es decir, un grupo alquenilo comienza con los átomos $–C(R)=CR_2$, donde R se refiere a las porciones remanentes del grupo alquenilo, que pueden ser iguales o diferentes. Los ejemplos no limitativos de un grupo alquenilo incluyen $–CH=CH_2$, $–C(CH_3)=CH_2$, $–CH=CHCH_3$, $–CH=C(CH_3)_2$ y $–C(CH_3)=CHCH_3$. La porción alquenilo puede ser ramificada, de cadena recta, o cíclica (en cuyo caso, también sería conocido como un grupo "cicloalquenilo"). Los grupos alquenilo pueden tener de 2 a 6 carbonos. Los grupos alquenilo pueden ser sustituidos o no sustituidos. Dependiendo de la estructura, un grupo alquenilo puede ser un monoradical o un diradical (es decir, un grupo alquenileno).

El término "alquinilo" se refiere a un tipo de grupo alquilo en el cual los primeros dos átomos del grupo alquilo forman un enlace triple. Es decir, un grupo alquinilo comienza con los átomos –C≡C–R, donde R se refiere a las porciones remanentes del grupo alquinilo. Los ejemplos no limitativos de un grupo alquinilo incluyen $–C≡CH$, $–C≡CCH_3$, $–C≡CCH_2CH_3$ y $–C≡CCH_2CH_2CH_3$. La porción "R" de la porción alquinilo puede ser ramificada, de cadena recta o cíclica. Un grupo alquinilo puede tener de 2 a 6 carbonos. Los grupos alquinilo

pueden ser sustituidos o no sustituidos. Dependiendo de la estructura, un grupo alquinilo puede ser un monoradical o un diradical (es decir, un grupo alquinileno).

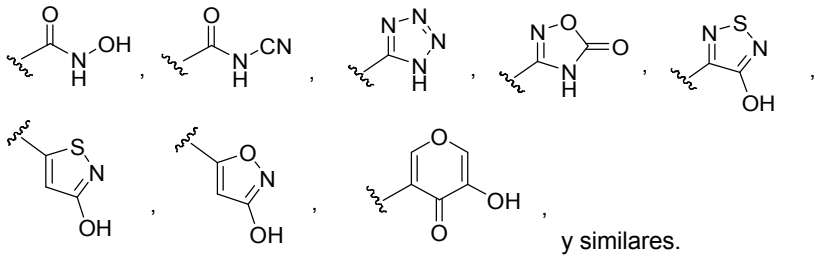
“Amino” se refiere a un grupo $–NH_2$.

El término “alquilamina” o “alquilamino” se refiere al grupo $–N(alquil)_xH_y$, donde alquilo es según lo definido en esta invención y x e y se seleccionan del grupo x=1, y=1 y x=2, y=0. Cuando x=2, los grupos alquilo, tomados en forma conjunta con el nitrógeno al cual están unidos, pueden formar opcionalmente un sistema de anillos cíclicos. “Dialquilamino” se refiere a un grupo $–N(alquilo)_2$, donde alquilo es según lo definido en esta invención.

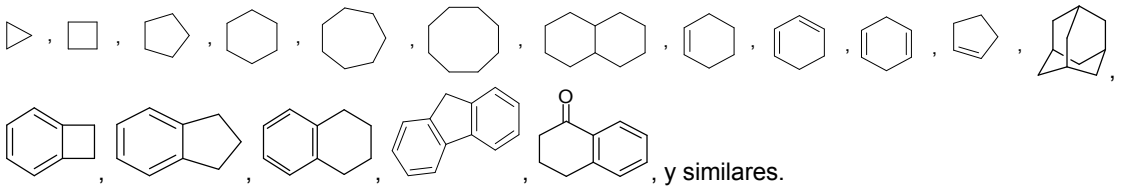
El término “aromático” se refiere a un anillo plano que tiene un sistema de π–electrones deslocalizados que contiene 4n+2 π electrones, donde n es un número entero. Los anillos aromáticos pueden ser formados a partir de cinco, seis, siete, ocho, nueve o más de nueve átomos. Los aromáticos pueden ser opcionalmente sustituidos. El término “aromático” incluye tanto grupos arilo (*por ej.,* fenilo, naftalenilo) como grupos heteroarilo (*por ej.,* piridinilo, quinolinilo).

Como se emplea en esta invención, el término “arilo” se refiere a un anillo aromático donde cada uno de los átomos que forman el anillo es un átomo de carbono. Los anillos arilo pueden ser formados por cinco, seis, siete, ocho, nueve, o más de nueve átomos de carbono. Los grupos arilo pueden estar opcionalmente sustituidos. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, aunque sin limitarse a fenilo, y naftalenilo. Dependiendo de la estructura, un grupo arilo puede ser un monoradical o un diradical (es decir, un grupo arileno).

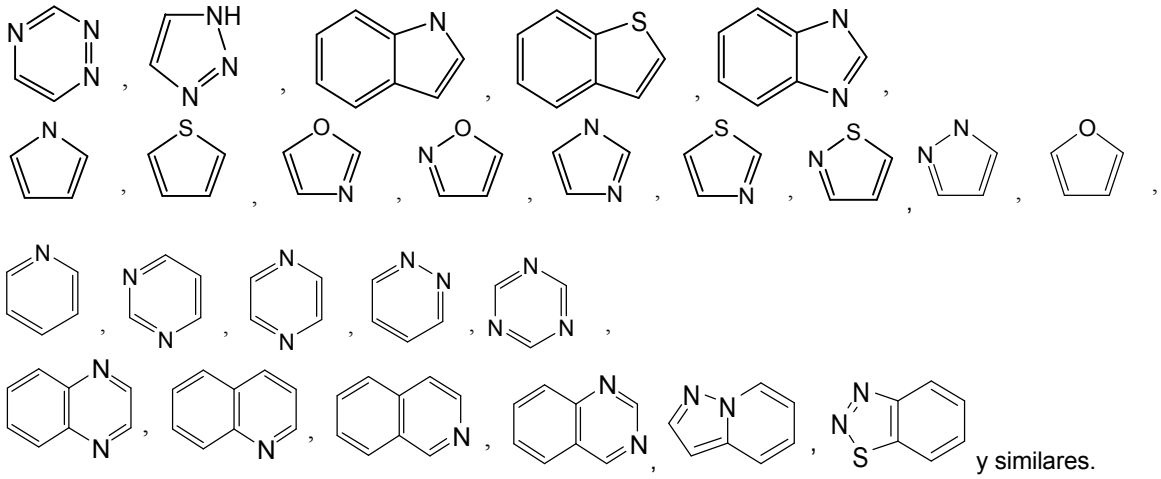
“Carboxi” se refiere a $–CO_2H$. En algunas instancias, las porciones carboxi pueden ser reemplazadas con un “bioisóstero de ácido carboxílico”, el cual se refiere a un grupo funcional o porción que exhibe propiedades físicas y/o químicas similares a una porción ácido carboxílico. Un bioisóstero ácido carboxílico tiene propiedades biológicas similares a aquella de un grupo ácido carboxílico. Un compuesto con una porción ácido carboxílico puede tener la porción ácido carboxílico intercambiada con un bioisóstero de ácido carboxílico y puede tener propiedades físicas y/o biológicas similares cuando se compara con el compuesto que contiene ácido carboxílico. Por ejemplo, en una instancia, un bioisóstero de ácido carboxílico se ionizaría a pH fisiológico hasta aproximadamente el mismo grado que un grupo ácido carboxílico. Los ejemplos de bioisósteros de un ácido carboxílico incluyen, aunque sin limitarse a,


y similares.

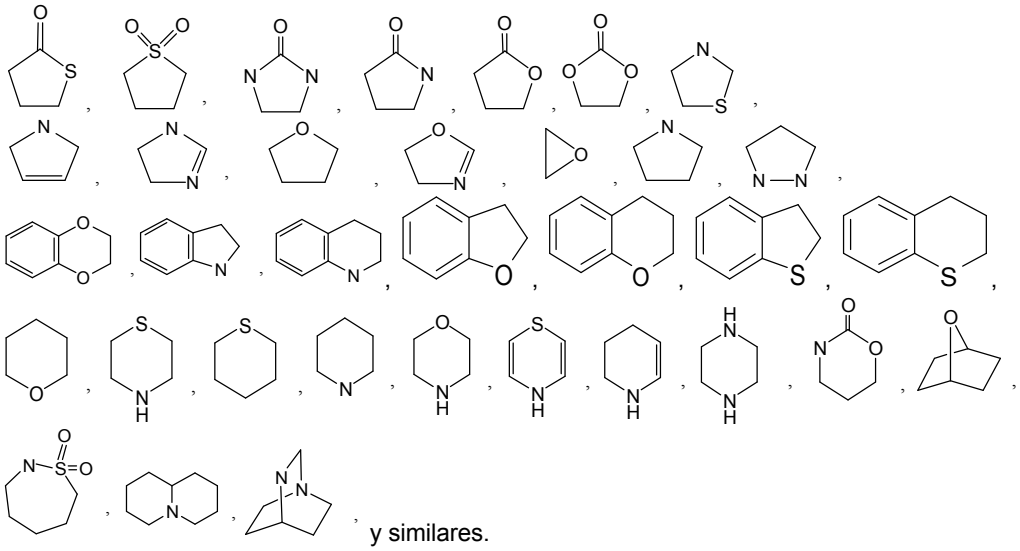
El término “cicloalquilo” se refiere a un radical monocíclico o policíclico no aromático, donde cada uno de los átomos que forma el anillo (es decir, átomos esqueléticos) es un átomo de carbono. Cicloalquilos pueden ser saturados, o parcialmente insaturados. Los cicloalquilos pueden ser fusionados con un anillo aromático (en cuyo caso el cicloalquilo está unido a través de un átomo de carbono del anillo no aromático). Los grupos cicloalquilo incluyen grupos que tienen entre 3 y 10 átomos en el anillo. Los ejemplos ilustrativos de grupos cicloalquilo incluyen, aunque sin limitarse a, las siguientes porciones:


, y similares.

Los términos “heteroarilo” o, alternativamente, “heteroaromático” se refiere a un grupo arilo que incluye uno o más heteroátomos del anillo seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre. Una porción “heteroaromática” o “heteroarilo” que contiene N se refiere a un grupo aromático en el cual por lo menos uno de los átomos esqueléticos del anillo es un átomo de nitrógeno. Los grupos heteroarilo policíclicos pueden estar fusionados o no fusionados. Los ejemplos ilustrativos de grupos heteroarilo incluyen las siguientes porciones:


y similares.

Un grupo “heterocicloalquilo” o grupo “heteroalicíclico” se refiere a un grupo cicloalquilo, donde por lo menos un átomo del anillo esquelético es un heteroátomo seleccionado entre nitrógeno, oxígeno y azufre. Los radicales pueden ser fusionados con un arilo o heteroarilo. Los ejemplos ilustrativos de grupos heterocicloalquilo, también son denominados heterociclos no aromáticos, incluyen:


y similares.

El término heteroalicíclico incluye además todas las formas de anillo de los carbohidratos, incluyendo aunque sin limitarse a los monosacáridos, los disacáridos y los oligosacáridos. A menos que se indique lo contrario, los heterocicloalquilos tienen entre 2 y 10 carbonos en el anillo. Se entiende que cuando se hace referencia a la cantidad de átomos de carbono en un heterocicloalquilo, la cantidad de átomos de carbono en el heterocicloalquilo no es la misma que la cantidad total de átomos (incluyendo los heteroátomos) que forman el heterocicloalquilo (es decir los átomos del esqueleto del anillo heterocicloalquilo).

El término “halo” o, alternativamente, “halógeno” significa flúor, cloro, bromo y yodo.

El término “haloalquilo” se refiere a un grupo alquilo que es sustituido con uno o más halógenos. Los halógenos pueden ser iguales o pueden ser diferentes. Los ejemplos no limitativos de haloalquilos incluyen –CH_2Cl, –CF_3, –CHF_2, –CH_2CF_3, –CF_2CF_3, –$CF(CH_3)_3$, y similares.

Los términos “fluoralquilo” y “fluoralcoxi” incluyen grupos alquilo y alcoxi, respectivamente, que están sustituidos con uno o más átomos de flúor. Los ejemplos no limitativos de fluoralquilos incluyen –CF_3, –CHF_2, –CH_2F, –CH_2CF_3, –CF_2CF_3, –$CF_2CF_2CF_3$, –$CF(CH_3)_3$, y similares. Los ejemplos no limitativos de grupos fluoralcoxi, incluyen –OCF_3, –$OCHF_2$, –OCH_2F, –OCH_2CF_3, –OCF_2CF_3, –$OCF_2CF_2CF_3$, –$OCF(CH_3)_2$, y similares.

El término “heteroalquilo” se refiere a un radical de alquilo donde uno o más átomos de la cadena esqueléticos se seleccionan entre un átomo que no es carbono, *por ej.,* oxígeno, nitrógeno, azufre, fósforo, silicio o combinaciones de los mismos. los heteroátomo(s) pueden ser colocados en cualquier posición interior del grupo heteroalquilo. Los ejemplos incluyen, aunque sin limitarse a, –CH_2–O–CH_3, –CH_2–CH_2–O–CH_3, –CH_2–

$NH–CH_3$, $–CH_2–CH_2–NH–CH_3$, $–CH_2–N(CH_3)–CH_3$, $–CH_2–CH_2–NH–CH_3$, $–CH_2–CH_2–N(CH_3)–CH_3$, $–CH_2–S–CH_2–CH_3$, $–CH_2–CH_2,–S(O)–CH_3$, $–CH_2–CH_2–S(O)_2–CH_3$, $–CH_2–NH–OCH_3$, $–CH_2–O–Si(CH_3)_3$, $–CH_2–CH=N–OCH_3$, y $–CH=CH–N(CH_3)–CH_3$. Adicionalmente, hasta dos heteroátomos pueden ser consecutivos, tales como, a modo de ejemplo, $–CH_2–NH–OCH_3$ y $–CH_2–O–Si(CH_3)_3$. Excluyendo la cantidad de heteroátomos, un "heteroalquilo" puede tener entre 1 y 6 átomos de carbono.

El término "enlace" o "enlace único" se refiere a un enlace químico entre dos átomos, o dos porciones cuando los átomos unidos por el enlace son considerados como parte de una subestructura más grande.

El término "porción" se refiere a un segmento específico o grupo funcional de una molécula. Las porciones químicas son a menudo entidades químicas reconocidas incrustadas en o unidas a una molécula.

Como se emplea en esta invención, el sustituyente "R" que aparece por sí mismo y sin una designación numérica se refiere a un sustituyente seleccionado entre alquilo, haloalquilo, heteroalquilo, alquenilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo (unido a través de un carbono del anillo), y heterocicloalquilo.

El término "opcionalmente sustituido" o "sustituido" significa que el grupo referenciado puede ser sustituido con uno o más grupos adicionales individual e independientemente seleccionados entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, –OH, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, alquilsulfóxido, arilsulfóxido, alquilsulfona, arilsulfona, –CN, alquino, alquilalquino $C_1–C_6$, halo, acilo, aciloxi, $–CO_2H$, $–CO_2–$alquilo, nitro, haloalquilo, fluoralquilo, y amino, incluyendo grupos amino mono– y di–sustituidos (por ej. $–NH_2$, –NHR, $–N(R)_2$), y sus derivados protegidos. A modo de ejemplo, un sustituyente opcional puede ser L^sR^s, donde cada L^s se selecciona independientemente entre un enlace, –O–, –C(=O)–, –S–, –S(=O)–, $–S(=O)_2–$, –NH–, –NHC(O)–, –C(O)NH–, $S(=O)_2NH–$, $–NHS(=O)_2$, –OC(O)NH–, –NHC(O)O–, –(alquil $C_1–C_6$)–, o –(alquenil $C_2–C_6$)–; y cada R^s se selecciona independientemente entre H, (alquilo $C_1–C_6$), (cicloalquilo $C_3–C_8$), arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, y heteroalquilo $C_1–C_6$. Los grupos protectores que pueden formar los derivados protectores de los sustituyentes antes mencionados son encontrados en fuentes tales como Greene y Wuts, mencionadas anteriormente.

Los métodos y formulaciones descritos en esta invención incluyen el uso de formas cristalinas (también conocidas como polimorfos), o sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos que tienen la estructura de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), así como también los metabolitos activos de estos compuestos que tienen el mismo tipo de actividad. En algunas situaciones, los compuestos pueden existir como tautómeros. Todos los tautómeros están incluidos dentro del alcance de los compuestos presentados en esta invención. Adicionalmente, los compuestos descritos en esta invención pueden existir en formas no solvatadas así como también en formas solvatadas con solventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol, y similares. Las formas solvatadas de los compuestos presentados en esta invención son también consideradas como descritas en esta invención.

Los términos "kit" y "artículo de manufactura" se emplean como sinónimos.

El término "sujeto" o "paciente" abarca mamíferos y no mamíferos. Ejemplos de mamíferos incluyen, aunque sin limitarse a, cualquier cantidad de la clase de mamíferos: humanos, primates no humanos tales como chimpancés, y otros simios y especies de monos; animales de granja tales como ganado vacuno, caballos, ovejas, cabras, cerdos; animales domésticos tales como conejos, perros y gatos; animales de laboratorio incluyendo roedores, tales como ratas, ratones y conejillos de India, y similares. Los ejemplos de no mamíferos incluyen, aunque sin limitarse a, aves, peces y similares. En una instancia de los métodos y composiciones proporcionados en esta invención, el mamífero es un ser humano.

Los términos "tratar", "que trata" o "tratamiento", como se emplean en esta invención, incluyen aliviar, disminuir o mejorar los síntomas de una enfermedad o afección, evitar síntomas adicionales, mejorar o prevenir las causas subyacentes de los síntomas, inhibir la enfermedad o afección, por ej., detener el desarrollo de la enfermedad o afección, aliviar la enfermedad o afección, causar la regresión de la enfermedad o afección, aliviar una condición causada por la enfermedad o afección, o detener los síntomas de la enfermedad o afección ya sea en forma profiláctica y/o terapéutica.

Como se emplea en esta invención, el término "proteína objetivo" se refiere a una proteína o una porción de una proteína capaz de ser unida por, o de interactuar con un compuesto descrito en esta invención, tal como un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA). En ciertas instancias, una proteína objetivo es una proteína STIM. En ciertas instancias, una proteína objetivo es una proteína Orai.

Como se emplea en esta invención, "proteína STIM" incluye, aunque no se limita a, STIM–1 de mamífero, tan como STIM–1 humana y de roedor (por ej., ratón), Drosophila melanogaster D–STIM, C. elegans C–STIM, Anopheles gambiae STIM y STIM–2 de mamífero, tal como STIM–2 humana y de roedor (por ej., ratón). (Ver los párrafos [0211] al [0270] de US 2007/0031814, así como también la Tabla 3 de US 2007/0031814). Como se describen en esta invención, dichas proteínas han sido identificadas como estando involucradas en, que

participan en y/o que proporcionan la entrada del calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares o su modulación, tamponación de calcio citoplásmico y/o modulación de niveles de calcio en o movimiento de calcio, en, dentro o fuera de los depósitos de calcio intracelulares (por ej., retículo endoplásmico).

Como se emplea en esta invención, una “proteína Orai” incluye Orai1 (SEC ID NO: 1 según lo descrito en WO 07/081804), Orai2 (SEC ID NO: 2 según lo descrito en WO 07/081804), o Orai3 (SEC ID NO: 3 según lo descrito en WO 07/081804). La secuencia de ácido nucleico de Orai1 corresponde al número de acceso del GenBank NM_032790, la secuencia de ácido nucleico de Orai2 corresponde al número de acceso del GenBank BC069270 y la secuencia de ácido nucleico de Orai3 corresponde a número de acceso de GenBank NM_152288. Como se emplea en esta invención, Orai se refiere a cualquiera de los genes Orai, por ej., Orai1, Orai2, Orai3 (ver Tabla I de WO 07/081804). Según lo descrito en esta invención, dichas proteínas han sido identificadas como estando involucradas en, que participan en y/o que proporcionan su entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares o su modulación, tamponación de calcio citoplásmico y/o modulación de los niveles de calcio en, o movimiento de calcio en, dentro o fuera de los depósitos de calcio intracelulares (por ej., calcio endoplásmico).

El término "fragmento" o "derivado" cuando se hace referencia a una proteína (por ej. STIM, Orai) significa proteínas o polipéptidos los cuales retienen esencialmente la misma función o actividad biológica en por lo menos un ensayo que la o las proteínas nativas. Por ejemplo, los fragmentos o derivados de la proteína referenciada mantienen al menos aproximadamente 50% de la actividad de las proteínas nativas, al menos 75%, al menos aproximadamente 95% de la actividad de las proteínas nativas, según lo determinado por ej. por un ensayo de influjo de calcio.

Como se emplea en esta invención, alivio de los síntomas de una enfermedad, trastorno o afección en particular mediante la administración de un compuesto o composición farmacéutica en particular se refiere a cualquier disminución de la severidad, retardo del comienzo, ralentización del progreso, o acortamiento de la duración, ya sea permanente o temporaria, duradera o transitoria que pueda ser atribuida a, o asociada con, la administración del compuesto o composición.

El término “modular,” como se emplea en esta invención, significa interactuar con una proteína objetivo ya sea en forma directa o indirecta de modo de alterar la actividad de la proteína objetivo, incluyendo, a modo de ejemplo solamente, inhibir la actividad del objetivo, o limitar o reducir la actividad del objetivo.

Como se emplea en esta invención, el término “modulador” se refiere a un compuesto que altera una actividad de un objetivo. Por ejemplo, un modulador puede causar un aumento o disminución en la magnitud de una cierta actividad de un objetivo en comparación con la magnitud de la actividad en ausencia del modulador. En ciertas instancias, un modulador es un inhibidor, el cual disminuye la magnitud de una o más actividades de un objetivo. En ciertas instancias, un inhibidor previene completamente una o más actividades de un objetivo.

Como se emplea en esta invención, "modulación" con referencia a calcio intracelular se refiere a cualquier alteración o ajuste en calcio intracelular incluyendo aunque sin limitarse a alteración de la concentración de calcio en el citoplasma y/o organelos de almacenamiento de calcio intracelular, *por ej.,* retículo endoplásmico, y alteración de la cinética de flujos de calcio en, fuera de y dentro de las células. En un caso, modulación se refiere a una reducción.

Como se emplea en esta invención, el término “actividad objetivo” se refiere a una actividad biológica capaz de ser modulada por un modulador. Ciertas actividades objetivo ejemplares incluyen, aunque sin limitarse a, afinidad de unión, transducción de señales, actividad enzimática, crecimiento tumoral, inflamación o procesos relacionados con inflamación, y mejora de uno o más síntomas asociados con una enfermedad o afección.

Los términos “inhibe”, “que inhibe”, o “inhibidor” de la actividad del canal SOC o actividad del canal CRAC, como se emplean en esta invención, se refieren a la inhibición de la actividad de los canales de calcio activado por los depósitos intracelulares o la actividad de los canales de calcio activada por liberación de calcio.

El término “aceptable” con respecto a una formulación, composición o ingrediente, como se emplea en esta invención, significa que no tiene efecto perjudicial persistente alguno sobre la salud general del sujeto tratado.

Por “farmacéuticamente aceptable,” como se emplea en esta invención, se refiere a un material, tal como un portador o diluyente, el cual no anula la actividad biológica o propiedades del compuesto, y es relativamente no tóxico, es decir, el material puede ser administrado a un individuo sin causar efectos biológicos indeseables o sin interactuar en forma perjudicial con cualquiera de los componentes de la composición en la cual está contenido.

El término “combinación farmacéutica” como se emplea en esta invención, significa un producto que es el resultado del mezclado o combinación de más de un ingrediente activo e incluye tanto combinaciones fijas como no fijas de los ingredientes activos. El término “combinación fija” significa que un ingrediente activo, por ej. un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), y un co–agente, son ambos administrados a un paciente en forma simultánea en la forma de una entidad o

dosificación única. El término “combinación no fija” significa que un ingrediente activo, por ej. un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), y un co–agente, son administrados a un paciente como entidades separadas ya sea en forma simultánea, concurrente o consecutiva sin límites de tiempo de intervención específicos, donde tal administración provee niveles eficaces de los dos compuestos en el cuerpo del paciente. Esto último también es aplicable para terapia de cóctel, por ej. la administración de tres o más ingredientes activos.

El término “composición farmacéutica” se refiere a una mezcla de un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) descrito en esta invención con otros componentes químicos, tales como portadores, estabilizantes, diluyentes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes y/o excipientes. La composición farmacéutica facilita la administración del compuesto a un organismo. Existen en el arte múltiples técnicas para administrar un compuesto incluyendo, aunque sin limitarse a: administración intravenosa, oral, aerosol, parenteral, oftálmica, pulmonar y tópica.

Los términos “cantidad eficaz” o “cantidad terapéuticamente eficaz” como se emplean en esta invención, se refieren a una cantidad suficiente de un agente o de un compuesto que está siendo administrado que aliviará en cierta medida uno o más de los síntomas de la enfermedad o afección que se está tratando. El resultado puede ser la reducción y/o alivio de los signos, síntomas o causas de una enfermedad, o cualquier otra alteración deseada de un sistema biológico. Por ejemplo, una “cantidad eficaz” para usos terapéuticos es la cantidad de la composición que incluye un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) descrito en esta invención requerida para proporcionar una disminución clínicamente significativa en los síntomas de la enfermedad. Una cantidad “eficaz” apropiada en cualquier caso individual puede ser determinada empleando técnicas, tales como un estudio de aumento progresivo de la dosis.

Los términos “aumenta” o “que aumenta”, como se emplean en esta invención, significan aumentar o prolongar y sea en potencia o duración un efecto deseado. Por lo tanto, con respecto a aumentar el efecto de agentes terapéuticos, el término “aumentar” se refiere a la capacidad de aumentar o prolongar, ya sea en potencia o duración, el efecto de otros agentes terapéuticos en un sistema. Una “cantidad eficaz de aumento” como se emplea en esta invención, se refiere a una cantidad adecuada para aumentar el efecto de otro agente terapéutico en un sistema deseado.

Los términos “co–administración” o similar, como se emplea en esta invención, tiene el propósito de abarcar la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un único paciente, y tienen el propósito de incluir regímenes de tratamiento en los cuales los agentes son administrados por la misma ruta o por ruta diferente de administración o al mismo tiempo o en tiempos diferentes.

El término “portador,” como se emplea en esta invención, se refiere a compuestos o agentes químicos relativamente no tóxicos que facilitan la incorporación de un compuesto en células o tejidos.

El término “diluyente” se refiere a compuestos químicos que son empleados para diluir el compuesto de interés con anterioridad a la administración. Los diluyentes también pueden ser empleados para estabilizar compuestos ya que pueden proporcionar un medio ambiente más estable. Las sales disueltas en soluciones tamponadas (que también pueden proporcionar un control o mantenimiento del pH) se emplean como diluyentes en la técnica, incluyendo, aunque sin limitarse a una solución salina tamponada con fosfato.

Un “metabolito” de un compuesto descrito en esta invención es un derivado de ese compuesto que es formado cuando el compuesto es metabolizado. El término “metabolito activo” se refiere a un derivado biológicamente activo de un compuesto que es formado cuando el compuesto es metabolizado. El término “metabolizado,” como se emplea en esta invención, se refiere a la suma de los procesos (incluyendo, aunque sin limitarse a, reacciones de hidrolisis y reacciones catalizadas por enzimas) mediante los cuales una sustancia en particular es cambiada por un organismo. Por lo tanto, las enzimas pueden producir alteraciones estructurales específicas a un compuesto. Por ejemplo, el citocromo P450 cataliza una variedad de reacciones oxidativas y reductivas mientras que uridina difosfato glucuroniltransferasas catalizan la transferencia de una molécula de ácido glucurónico activada a alcoholes aromáticos, alcoholes alifáticos, ácidos carboxílicos, aminas y grupos sulfidrilos libres. Más información sobre metabolismo puede ser obtenida de The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th Edition, McGraw–Hill (1996). Los metabolitos de los compuestos descritos en esta invención pueden ser identificados ya sea por administración de compuestos a un huésped y análisis de muestras de tejido del huésped, o por incubación de compuestos con células hepáticas in vitro y análisis de los compuestos resultantes.

"Biodisponibilidad" se refiere a el porcentaje del peso del compuesto descrito en esta invención (por ej. compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA)), que es administrado en la circulación general del animal o ser humano estudiado. La exposición total (AUC(0–∞)) de un fármaco cuando se administra por vía intravenosa es generalmente definida como 100% biodisponible (F%). “Biodisponibilidad oral” se refiere al grado hasta el cual un compuesto descrito en esta invención, es

absorbido en la circulación general cuando la composición farmacéutica es tomada oralmente en comparación con inyección intravenosa.

“Concentración plasmática sanguínea” se refiere a la concentración de un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) descrito en esta invención, en el componente plasmático de sangre de un sujeto. Se entiende que la concentración plasmática de los compuestos descritos en esta invención puede variar significativamente entre los sujetos, debido a la variabilidad con respecto al metabolismo y/o posibles interacciones con otros agentes terapéuticos. De acuerdo con una instancia descrita en esta invención, la concentración plasmática en sangre de los compuestos descritos en esta invención puede variar de sujeto en sujeto. Asimismo, los valores tales como la concentración plasmática máxima (Cmax) o tiempo hasta alcanzar la concentración plasmática máxima (Tmax), o área total bajo la curva de tiempo y concentración plasmática (AUC(0–∞)) pueden variar de sujeto en sujeto. Debido a esta variabilidad, la cantidad necesaria para constituir “una cantidad terapéuticamente eficaz” de un compuesto puede variar de sujeto en sujeto.

Como se emplea en esta invención, " homeostasis de calcio" se refiere al mantenimiento de un equilibrio general en los niveles de calcio intracelular y movimientos, incluyendo señalización de calcio, dentro de una célula.

Como se emplea en esta invención, "calcio intracelular" se refiere a calcio situado en una célula sin especificación de una ubicación celular en particular. En contraste, "citosólico" o "citoplásmico" con referencia al calcio se refiere a calcio situado en el citoplasma de la célula.

Como se emplea en esta invención, un efecto sobre calcio intracelular es cualquier alteración de cualquier caso de calcio intracelular, incluyendo aunque sin limitarse a, una alteración en los niveles de calcio intracelular y ubicación y movimiento de calcio en, fuera de o dentro de una célula o depósito de calcio intracelular u organelo. Por ejemplo, un efecto sobre calcio intracelular puede ser una alteración de las propiedades, tales como, por ejemplo, la cinética, sensibilidades, índice, amplitud, y características electrofisiológicas, de flujo de calcio o movimiento que se produce en una célula o porción de la misma. Un efecto sobre el calcio intracelular puede ser una alteración en cualquier proceso modulador de calcio intracelular, incluyendo, entrada de calcio activado por depósitos intracelulares, tamponación de calcio citosólico y niveles de calcio en o movimiento de calcio en, fuera de o dentro de un depósito de calcio intracelular. Cualquiera de estos casos puede ser evaluado en una variedad de formas incluyendo, aunque sin limitarse a, evaluación de niveles de calcio o de otro ion (particularmente catión), movimiento de calcio o de otro ion (particularmente catión), fluctuaciones en los niveles de calcio u otro ion (particularmente catión), cinética de flujos de calcio o de otro ion (particularmente catión) y/o transporte de calcio o de otro ión (particularmente catión) a través de una membrana. Una alteración puede ser cualquier cambio de ese tipo que es estadísticamente significativo. Por ende, por ejemplo si el calcio intracelular en una célula de ensayo y una célula control se dice que difiere, dicha diferencia puede ser una diferencia estadísticamente significativa.

Como se emplea en esta invención, "involucrado en" con respecto a la relación entre una proteína y un caso de calcio intracelular o regulación de calcio intracelular significa que cuando la expresión o actividad de la proteína en una célula es reducida, alterada o eliminada, existe una reducción, alteración o eliminación concomitante o asociada de uno o más casos de calcio intracelular o regulación de calcio intracelular. Ese tipo de alteración o reducción en la expresión o actividad puede ocurrir en virtud de una alteración de expresión de un gen que codifica la proteína o alterando los niveles de la proteína. Una proteína involucrada en un caso de calcio intracelular, tal como, por ejemplo, Entrada de calcio activado por depósitos intracelulares, por ende, puede ser una que proporciona o participa en un caso de calcio intracelular o regulación de calcio intracelular. Por ejemplo, una proteína que proporciona Entrada de calcio activado por depósitos intracelulares puede ser una proteína STIM y/o una proteína Orai.

Como se emplea en esta invención, una proteína que es un componente de un canal de calcio es una proteína que participa en complejo multi–proteico que forma el canal.

Como se emplea en esta invención, "basal" o "en reposo" con referencia a los niveles de calcio citosólico se refiere a la concentración de calcio en el citoplasma de una célula, tal como, por ejemplo, una célula no estimulada, que no ha sido sometida a una condición que da como resultado el movimiento de calcio en o fuera de la célula o dentro de la célula. El nivel de calcio citosólico basal o en reposo puede ser la concentración de calcio libre (es decir, calcio que no está unido a una sustancia de unión a calcio celular) en el citoplasma de una célula, tal como, por ejemplo, una célula no estimulada, que no ha sido sometida a una condición que da como resultado el movimiento de calcio en o fuera de la célula.

Como se emplea en esta invención, "movimiento" con respecto a los iones, incluyendo cationes, *por ej.,* calcio, se refiere al movimiento o reubicación, tal como por ejemplo flujo de iones en, fuera de, o dentro de una célula. Por lo tanto, el movimiento de iones puede ser, por ejemplo, movimiento de iones del medio extracelular en una célula, desde dentro de una célula hasta el medio extracelular, desde dentro de un organelo intracelular o sitio de almacenamiento al citosol, desde el citosol en un organelo intracelular o sitio de almacenamiento,

desde un organelo intracelular o sitio de almacenamiento hasta otro organelo intracelular o sitio de almacenamiento, desde el medio extracelular en un organelo intracelular o sitio de almacenamiento, desde un organelo intracelular o sitio de almacenamiento hasta el medio extracelular y desde una ubicación hasta otra dentro del citoplasma celular.

Como se emplea en esta invención, "entrada de cationes" o "entrada de calcio" en una célula se refiere a la entrada de cationes, tal como calcio, en una ubicación intracelular, tal como el citoplasma de una célula o en el lumen de un organelo intracelular o sitio de almacenamiento. Por lo tanto, la entrada de cationes puede ser, por ejemplo, el movimiento de cationes en el citoplasma celular desde el medio extracelular o desde un organelo intracelular o sitio de almacenamiento, o el movimiento de cationes en un organelo intracelular o sitio de almacenamiento desde el citoplasma o medio extracelular. El movimiento de calcio en el citoplasma desde un organelo intracelular o sitio de almacenamiento es también denominado “liberación de calcio" desde el organelo o sitio de almacenamiento.

Como se emplea en esta invención, "proteína que modula calcio intracelular" se refiere a cualquier proteína celular que está involucrada en regular, controlar y/o alterar calcio intracelular. Por ejemplo, ese tipo de proteína puede estar involucrada en la alteración o ajuste del calcio intracelular en una cantidad de maneras, que incluyen, aunque sin limitarse a, a través del mantenimiento de los niveles de calcio citoplásmico basales o en reposo, o a través del involucramiento en una respuesta celular a una señal que es transmitida en una célula a través de un mecanismo que incluye una desviación en calcio intracelular de estados en reposo o basales. En el contexto de una “proteína que modula calcio intracelular”, una proteína “celular” es una que está asociada con una célula, tal como, por ejemplo, una proteína citoplásmica, una proteína asociada a la membrana plasmática o una proteína de membrana intracelular. Las proteínas que modulan calcio intracelular incluyen, aunque sin limitarse a, proteínas de transporte de iones, proteínas de unión al calcio y proteínas reguladoras que regulan las proteínas de transporte de iones.

Como se emplea en esta invención, "alivio" se refiere a una mejora en una enfermedad o afección o al menos un alivio parcial de los síntomas asociados con una enfermedad o afección.

Como se emplea en esta invención, "respuesta celular" se refiere a cualquier respuesta celular que es el resultado del movimiento iónico hacia adentro o hacia afuera de una célula o dentro de una célula. La respuesta celular puede estar asociada con cualquier actividad celular que depende, al menos en parte, de iones tales como, por ejemplo, calcio. Dichas actividades pueden incluir, por ejemplo, activación celular, expresión genética, endocitosis, exocitosis, tráfico celular y muerte celular apoptótica.

Como se emplea en esta invención, "células inmunes" incluyen células del sistema inmune y células que llevan a cabo una función o actividad en una respuesta inmune, tales como, aunque sin limitarse a, células T, células B, linfocitos, macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, células cebadas, células plasmáticas, glóbulos blancos, células presentadoras de antígenos y células asesinas naturales.

Como se emplea en esta invención, "citoquina" se refiere a proteínas solubles pequeñas secretadas por células que pueden alterar el comportamiento o las propiedades de la célula secretora u otra célula. Las citoquinas se unen a receptores de citoquina y activan un comportamiento o propiedad dentro de la célula, por ejemplo, proliferación, muerte o diferenciación celular. Los ejemplos de citoquinas incluyen, aunque sin limitarse a, interleuquinas (por ej., IL–2, IL–3, IL–4, IL–5, IL–6, IL–7, IL–8, IL–9, IL–10, IL–11, IL–12, IL–13, IL–15, IL–16, IL–17, IL–18, IL–1α, IL–1β, y IL–1 RA), factor estimulador de colonias de granulocitos (G–CSF, por sus siglas en inglés), factor estimulador de colonias de macrófagos – granulocitos (GM–CSF, por sus siglas en inglés), oncostatina M, eritropoyetina, factor inhibidor de leucemia (LIF, por sus siglas en inglés), interferones, B7.1 (también conocido como CD80), B7.2 (también conocido como B70, CD86), miembros de la familia de TNF (TNF–α, TNF–β, LT–β, ligando CD40, ligando Fas, ligando CD27, ligando CD30, 4–1BBL, Trail), y MIF.

“Entrada de calcio activado por depósitos intracelulares” o “SOCE” se refiere al mecanismo mediante el cual se coordina la liberación de iones calcio de depósitos intracelulares con el influjo de iones a través de la membrana plasmática.

“Inhibidor selectivo de la actividad de canales de SOC” significa que el inhibidor es selectivo para canales de SOC no afecta sustancialmente la actividad de otros tipos de canales iónicos.

“Inhibidor selectivo de actividad de canales de CRAC” significa que el inhibidor es selectivo para canales de CRAC y no afecta sustancialmente la actividad de otros tipos de canales iónicos y/u otros canales de SOC.

Supervisión o Evaluación de Efectos sobre Calcio Intracelular

En la supervisión o evaluación del efecto de un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) sobre calcio intracelular en cualquiera de los métodos de screening/identificación descritos en esta invención o reconocidos en el campo, puede llevarse a cabo una evaluación directa o indirecta o medición de calcio celular (incluyendo organelo citosólico e intracelular o compartimiento) y/o movimiento de iones hacia adentro o afuera de una célula, organelo, depósito de calcio o

sus porciones (por ej., una membrana). Se describen en esta invención una variedad de métodos y/o son reconocidos en el campo para evaluar niveles de calcio y movimientos o flujo de iones. El método en particular empleado y las condiciones empleadas pueden depender de si un caso en particular de calcio intracelular está siendo monitoreado o evaluado. Por ejemplo, según lo descrito en esta invención en algunas instancias, se emplean reactivos y condiciones, para evaluar específicamente la Entrada de calcio activado por depósitos intracelulares, niveles de calcio citosólico en reposo, tamponación de calcio y niveles y absorción de calcio por o liberación de organelos intracelulares y depósitos de calcio. El efecto de un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) sobre calcio intracelular puede ser controlado o evaluado empleando, por ejemplo, una célula, un organelo intracelular o compartimiento de almacenamiento de calcio, una membrana (incluyendo, por ej., un parche de membrana desprendido o una bicapa lipídica) o un sistema de ensayo libre de célula (por ej., vesícula de membrana afuera–afuera ("outside–out"). En general, algún caso de calcio intracelular es controlado o evaluado en presencia de agente de ensayo y comparado con un control, por ej., calcio intracelular en ausencia del agente de ensayo.

Métodos de Modulación del Calcio Intracelular

La modulación del calcio intracelular puede ser cualquier alteración o ajuste en calcio intracelular incluyendo aunque sin limitarse a la alteración de la concentración de calcio o nivel en el citoplasma y/o en los organelos de almacenamiento de calcio intracelular, por ej., retículo endoplásmico, alteración en el movimiento de calcio hacia adentro y hacia afuera de una célula o depósito u organelo de calcio intracelular, alteración en la ubicación de calcio dentro de una célula y alteración de la cinética, o de otras propiedades, de flujos de calcio hacia adentro y hacia afuera de las células. En instancias particulares, la modulación del calcio intracelular puede involucrar la alteración o ajuste, por ej., la reducción o inhibición, de la entrada de calcio activado por depósitos intracelulares, tamponación de calcio citosólico, niveles de calcio en, o movimiento de calcio hacia adentro o hacia afuera de, un depósito u organelo de calcio intracelular, y/o niveles de calcio citosólico en reposo o basales. En algunas instancias, la modulación del calcio intracelular puede involucrar una alteración o ajuste en el movimiento de iones mediado por receptor (por ej., calcio), movimiento de iones activado por segundo mensajero (por ej., calcio), influjo de calcio hacia adentro o flujo saliente hacia afuera de una célula, y/o absorción de iones (por ej., calcio) hacia dentro o liberación desde compartimientos intracelulares, incluyendo, por ejemplo, endosomas y lisosomas.

En un caso, los compuestos descritos en esta invención modulan calcio intracelular, tal como aunque sin limitarse a, modulación (por ej. reducción o inhibición) de la actividad de los canales SOC, tal como inhibición de la actividad de canales de CRAC (por ej. inhibición de I_{CRAC}, inhibición de SOCE) en una célula del sistema inmune (por ej., un linfocito, glóbulo blanco, célula T, célula B), un fibroblasto (o una célula derivada de un fibroblasto), o una célula epidérmica, dérmica o cutánea (por ej., un queratinocito). El paso de modulación de una o más proteínas involucradas en modular calcio intracelular (por ej. una proteína STIM y/o proteína Orai) puede involucrar, por ejemplo, reducir el nivel, expresión de, una actividad de, función de y/o interacciones moleculares de una proteína. Por ejemplo, si una célula exhibe un aumento en los niveles de calcio o falta de regulación de un caso de modulación de calcio intracelular, por ej., la Entrada de calcio activado por depósitos intracelulares, entonces la modulación puede involucrar reducir el nivel de, expresión de, una actividad o función de, o una interacción molecular de una proteína, por ej. una proteína STIM y/o una proteína Orai.

Ejemplos de Composiciones Farmacéuticas y Métodos de Administración

Las composiciones farmacéuticas pueden ser formuladas en forma convencional empleando uno o más portadores fisiológicamente aceptables incluyendo excipientes y auxiliares los cuales facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones las cuales pueden ser empleadas farmacéuticamente. La formulación apropiada depende de la ruta de administración seleccionada. Se pueden encontrar detalles adicionales sobre excipientes adecuados para composiciones farmacéuticas descritas en esta invención, por ejemplo, en Remington: The Science y Practice of Pharmacy, Nineteenth Ed (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975; Liberman, H.A. y Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, Nueva York, N.Y., 1980; y Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Séptima Ed. (Lippincott Williams & Wilkins1999.

Una composición farmacéutica, como se emplea en esta invención, se refiere a una mezcla de un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) descritas en esta invención, con otros componentes químicos, tales como portadores, estabilizantes, diluyentes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, y/o excipientes. La composición farmacéutica facilita la administración del compuesto a un organismo. En la práctica de los métodos de tratamiento o de uso proporcionados en esta invención, las cantidades terapéuticamente eficaces de los compuestos descritos en esta invención son administradas en una composición farmacéutica a un mamífero que tiene una enfermedad, trastorno o afección que se está tratando. En algunas instancias, el mamífero es un ser humano. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede variar ampliamente dependiendo de la severidad de la enfermedad, la edad y salud relativa del sujeto, la potencia del compuesto empleado y de otros factores. Los compuestos de fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) pueden emplearse por sí solos o en

combinación con uno o más agentes terapéuticos como componentes de mezclas (como en terapia combinada).

Las formulaciones farmacéuticas descritas en esta invención pueden ser administradas a un sujeto por múltiples rutas de administración, incluyendo aunque sin limitarse a, las rutas de administración oral, parenteral (por ej., intravenosa, subcutánea, intramuscular), intranasal, bucal, tópica, rectal, o transdérmica. Asimismo, las composiciones farmacéuticas descritas en esta invención, las cuales incluyen un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) descritas en esta invención, pueden ser formuladas en cualquier forma de dosificación adecuada, incluyendo aunque sin limitarse a, dispersiones orales acuosas, líquidos, geles, jarabes, elíxires, suspensiones, pastas, aerosoles, formulaciones de liberación controlada, formulaciones de derretido rápido, formulaciones efervescentes, formulaciones liofilizadas, tabletas, polvos, píldoras, grageas, cápsulas, formulaciones de liberación retardada, formulaciones de liberación prolongada, formulaciones de liberación pulsátil, formulaciones multiparticuladas y formulaciones de liberación inmediata y formulaciones de liberación controlada mixtas.

Se pueden administrar los compuestos y/o composiciones en forma local más que sistémica, por ejemplo, por medio de una inyección del compuesto directamente en un órgano o tejido, a menudo en una preparación de depósito o formulaciones de liberación sostenida. Dichas formulaciones de acción prolongada pueden ser administradas por implante (por ejemplo subcutáneamente o intramuscularmente) o por inyección intramuscular. Adicionalmente, se puede administrar el fármaco en un sistema de administración de fármaco direccionada, por ejemplo, en un liposoma recubierto con anticuerpo órgano– específico. Los liposomas serán direccionados hacia y absorbidos selectivamente por el órgano. Adicionalmente, el fármaco puede ser proporcionado en la forma de una formulación de liberación rápida, en la forma de una formulación de liberación prolongada, o en la forma de una formulación de liberación intermedia.

Las composiciones farmacéuticas que incluyen un compuesto descritas en esta invención pueden ser manufacturadas en forma convencional, tal como, a modo de ejemplo solamente, por medio de procesos convencionales de mezclado, disolución, granulación, preparado de grageas, levigación, emulsionamiento, encapsulación, atrapado o compresión.

Las composiciones farmacéuticas incluyen por lo menos un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) descritas en esta invención, como un ingrediente activo en forma de ácido libre o base libre, o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable. Adicionalmente, los métodos y composiciones farmacéuticas descritos en esta invención incluyen el uso de formas cristalinas (también conocidas como polimorfos) así como también metabolitos activos de estos compuestos que tienen el mismo tipo de actividad. En algunas situaciones, los compuestos pueden existir como tautómeros. Todos los tautómeros son incluidos dentro del alcance de los compuestos presentados en esta invención. Adicionalmente, los compuestos descritos en esta invención pueden existir en formas no solvatadas así como también en formas solvatadas con solventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol, y similares. Las formas solvatadas de los compuestos presentados en esta invención también son consideradas como descritas en esta invención.

En ciertas instancias, las composiciones proporcionadas en esta invención también pueden incluir uno o más conservantes para inhibir la actividad microbiana. Los conservantes adecuados incluyen compuestos de amonio cuaternario tales como cloruro de benzalconio, bromuro de cetiltrimetilamonio y cloruro de cetilpiridinio.

Las preparaciones farmacéuticas para uso oral pueden ser obtenidas mezclando uno o más excipientes sólidos con uno o más de los compuestos descritos en esta invención (por ej. los compuestos de fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA)), opcionalmente triturando la mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, luego de agregar auxiliares adecuados, si se desea, para obtener tabletas, píldoras o cápsulas. Los excipientes adecuados incluyen, por ejemplo, agentes de relleno tales como azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de papa, gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa, celulosa microcristalina, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica; u otros tales como: polivinilpirrolidona (PVP o povidona) o fosfato cálcico. En caso deseado, se pueden agregar agentes desintegrantes, tales como croscarmelosa sódica entrecruzada, polivinilpirrolidona, agar, o ácido algínico o una sal de los mismos tales como alginato sódico.

Se proporcionan núcleos de grageas con recubrimientos adecuados. Para este propósito, se pueden emplear soluciones azucaradas concentradas, las cuales pueden contener opcionalmente goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, carbopol en gel, polietilenglicol, y/o dióxido de titanio, soluciones de laca, y solventes orgánicos adecuados o mezclas de solventes. Se pueden agregar colorantes o pigmentos a las tabletas o recubrimientos de grageas para identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuestos activos.

Las preparaciones farmacéuticas que se pueden emplear por vía oral incluyen cápsulas de empuje para ajuste (push–fit) preparadas de gelatina, así como también cápsulas blandas, selladas, preparadas de gelatina y un

plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas “push–fit” pueden contener los ingredientes activos en mezcla con agente de relleno tal como lactosa, aglutinantes tales como almidones, y/o lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes. En cápsulas blandas, los compuestos activos pueden ser disueltos o suspendidos en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida, o polietilenglicoles líquidos. Adicionalmente, pueden agregarse estabilizantes.

En algunas instancias, las formas sólidas de dosificación descritas en esta invención pueden estar en la forma de una tableta, (incluyendo una tableta de suspensión, tableta de derretimiento rápido, una tableta de desintegración por mordida, una tableta de desintegración rápida, una tableta efervescente o un caramelo de disolución rápida), una píldora, un polvo (incluyendo un polvo empaquetado estéril, un polvo dispensable, o un polvo efervescente), una cápsula (incluyendo tanto cápsulas blandas como duras, por ej., cápsulas preparadas de gelatina derivada de animal o HPMC derivada de planta, o “cápsulas de rociado” (“sprinkle capsules”), dispersión sólida, solución sólida, forma de dosificación biocorroible, formulaciones de liberación controlada, formas de dosificación de liberación pulsátil, formas de dosificación multiparticuladas, pellets, gránulos, o un aerosol. En otras instancias, la formulación farmacéutica está en la forma de un polvo. En aun otras instancias, la formulación farmacéutica está en la forma de una tableta, incluyendo, aunque sin limitarse a, una tableta de derretimiento rápido. Adicionalmente, las formulaciones farmacéuticas de los compuestos descritos en esta invención pueden ser administradas como una única cápsula o en múltiples formas de dosificación en cápsula. En algunas instancias, la formulación farmacéutica es administrada en dos, o tres, o cuatro, cápsulas o tabletas.

En algunas instancias, las formas de dosificación sólidas, por ej., tabletas, tabletas efervescentes, y cápsulas, se preparan mezclando partículas de un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) descritas en esta invención, con uno o más excipientes farmacéuticos para formar una composición de mezcla en masa. Cuando se hace referencia a estas composiciones de mezcla en masa como homogéneas, se quiere decir que las partículas del compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) descritas en esta invención, están dispersadas en forma pareja a lo largo de la composición de modo que la composición puede ser subdividida en formas de dosificación unitarias igualmente eficaces, tales como tabletas, píldoras y cápsulas. Las dosificaciones unitarias individuales también pueden incluir recubrimientos de película, los cuales se desintegran luego de la ingestión oral o luego del contacto con diluyente. Estas formulaciones pueden ser manufacturadas mediante técnicas farmacológicas convencionales.

Las formas de dosificación sólidas farmacéuticas descritas en esta invención pueden incluir un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) descritas en esta invención, y uno o más aditivos farmacéuticamente aceptables tales como un portador compatible, aglutinante, agente de relleno, agente de suspensión, agente saborizante, agente edulcorante, agente desintegrante, agente dispersante, surfactante, lubricante, colorante, diluyente, solubilizante, agente de humectación, plastificante, estabilizante, aumentador de la penetración, agente humectante, agente antiespumante, antioxidante, conservante o una o más combinaciones de los mismos. En aun otros casos, se provee el empleo de procedimientos de recubrimiento estándares, tales como aquellos descritos en Remington's Pharmaceutical Sciences, 20va Edición (2000), un recubrimiento de película es proporcionado alrededor de la formulación del compuesto descrito en esta invención. En una instancia, algunas o todas las partículas del compuesto descrito en esta invención son recubiertas. En otra instancia, algunas o todas las partículas del compuesto descrito en esta invención están microencapsuladas. En aun otra instancia, las partículas del compuesto descrito en esta invención no están microencapsuladas y están sin recubrir.

Los portadores adecuados para emplear en las formas de dosificación sólidas descritas en esta invención incluyen, aunque sin limitarse a, acacia, gelatina, dióxido de silicio coloidal, glicerofosfato cálcico, lactato de calcio, maltodextrina, glicerina, silicato de magnesio, caseinato de sodio, lecitina de soja, cloruro de sodio, fosfato tricálcico, fosfato dipotásico, estearoíl– lactilato sódico, carageenina, monoglicérido, diglicérido, almidón pregelatinizado, hidroxipropilmetilcelulosa, estearato acetato de hidroxipropilmetilcelulosa, sacarosa, celulosa microcristalina, lactosa, manitol y similares.

Los agentes de relleno adecuados para emplear en las formas de dosificación sólidas descritas en esta invención incluyen, aunque sin limitarse a, lactosa, carbonato de calcio, fosfato de calcio, fosfato de calcio dibásico, sulfato de calcio, celulosa microcristalina, celulosa en polvo, dextrosa, dextratos, dextrano, almidones, almidón pregelatinizado, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), hidroxipropilmetilcelulosa ftalato, hidroxipropilmetilcelulosa acetato estearato (HPMCAS), sucrosa, xilitol, lactitol, manitol, sorbitol, cloruro sódico, polietilenglicol, y similares.

A fin de liberar el compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) de una matriz de forma de dosificación sólida lo más eficazmente posible, a menudo se emplean desintegrantes en la formulación, especialmente cuando las formas de dosificación están comprimidas con aglutinante. Los desintegrantes ayudan a romper la matriz de la forma de dosificación dilatando o por acción capilar cuando la humedad es absorbida en la forma de dosificación. Los desintegrantes adecuados para emplear en las formas de dosificación sólidas descritas en esta invención incluyen, aunque sin limitarse a,

almidón natural tal como almidón de maíz o almidón de papa, un almidón pregelatinizado tal como National 1551 o Amijel®, o glicolato de almidón sódico tal como Promogel® o Explotab®, una celulosa tal como un producto de madera, metilcelulosa cristalina, por ej., Avicel®, Avicel® PH101, Avicel® PH102, Avicel® PH105, Elcema® P100, Emcocel®, Vivacel®, Ming Tia®, y Solka–Floc®, metilcelulosa, croscarmelosa, o una celulosa entrecruzada, tal como carboximetilcelulosa sódica entrecruzada (Ac–Di–Sol®), carboximetilcelulosa entrecruzada o croscarmelosa entrecruzada, un almidón entrecruzado tal como glicolato de almidón sódico, un polímero entrecruzado tal como crospovidona, una polivinilpirrolidona entrecruzada, alginato tal como ácido algínico o una sal de ácido algínico tal como alginato sódico, una arcilla tal como Veegum® HV (silicato de magnesio y aluminio), una goma tal como agar, guar, algarrobilla, Karaya, pectina, o tragacanto, glicolato de almidón sódico, bentonita, una esponja natural, un surfactante, una resina tal como una resina de intercambio catiónico, pulpa cítrica, laurilsulfato sódico, laurilsulfato sódico en combinación con almidón, y similares.

Los aglutinantes imparten cohesividad a las formulaciones de forma de dosificación oral sólida: para formulación de cápsulas rellenas en polvo, ayudan en la formación de tapones que pueden ser cargados en cápsulas de vaina dura o blanda y para formulación de tabletas, aseguran que la tableta permanezca intacta luego de la compresión y ayudan a asegurar la uniformidad de la mezcla con anterioridad a un paso de compresión o rellenado. Los materiales adecuados para emplear como aglutinantes en las formas sólidas de dosificación descritas en esta invención incluyen, aunque sin limitarse a, carboximetilcelulosa, metilcelulosa (por ej., Methocel®), hidroxipropilmetilcelulosa (por ej. Hypromellose USP Pharmacoat–603, hidroxipropilmetilcelulosa acetato estearato (Aqoate HS–LF y HS), hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa (por ej., Klucel®), etilcelulosa (por ej., Ethocel®), y celulosa microcristalina (por ej., Avicel®), dextrosa microcristalina, amilosa, silicato de magnesio aluminio, ácidos polisacáridos, bentonitas, gelatina, copolímero de polivinilpirrolidona/ acetato de vinilo, crospovidona, povidona, almidón, almidón pregelatinizado, tragacanto, dextrina, un azúcar, tal como sacarosa (por ej., Dipac®), glucosa, dextrosa, molasas, manitol, sorbitol, xilitol (por ej., Xylitab®), lactosa, una goma sintética o natural tal como acacia, tragacanto, goma ghatti, mucilago de cáscaras de isapol, almidón, polivinilpirrolidona (por ej., Povidone® CL, Kollidon® CL, Polyplasdone® XL–10, y Povidone® K–12), arabogalactano de alerce, Veegum®, polietilenglicol, ceras, alginato sódico y similares.

En general, se emplean niveles de aglutinante de 20–70% en formulaciones de cápsulas de gelatina rellenas de polvo. El nivel de uso de aglutinante en las formulaciones de tabletas varía dependiendo de si es compresión directa, granulación en húmedo, compactación a rodillo, o uso de otros excipientes tales como agentes de relleno los cuales por sí mismos actúan como aglutinante moderado. En algunas instancias, los formuladores determinan el nivel de aglutinante para las formulaciones, pero el nivel de uso de aglutinante de hasta 70% en formulaciones de tabletas es común.

Los lubricantes o agentes deslizantes adecuados para emplear en las formas de dosificación sólidas descritas en esta invención incluyen, aunque sin limitarse a, ácido esteárico, hidróxido de calcio, talco, almidón de maíz, estearil–fumarato sódico, sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, tales como aluminio, calcio, magnesio, zinc, ácido esteárico, estearatos sódicos, estearato de magnesio, estearato de zinc, ceras, Stearowet®, ácido bórico, benzoato sódico, acetato sódico, cloruro sódico, leucina, un polietilenglicol o un metoxipolietilenglicol tal como Carbowax™, PEG 4000, PEG 5000, PEG 6000, propilenglicol, oleato sódico, behenato de glicerilo, palmitoestearato de glicerilo, benzoato de glicerilo, laurilsulfato de magnesio o sodio, y similares.

Los diluyentes adecuados para utilizar en las formas de dosificación sólidas descritas en esta invención incluyen, aunque sin limitarse a, azúcares (incluyendo lactosa, sucrosa, y dextrosa), polisacáridos (incluyendo dextratos y maltodextrina), polioles (incluyendo manitol, xilitol, y sorbitol), ciclodextrinas y similares.

Los agentes humectantes adecuados para emplear en las formas de dosificación sólidas descritas en esta invención incluyen, por ejemplo, ácido oleico, monoestearato de glicerilo, monooleato de sorbitán, monolaurato de sorbitán, oleato de trietanolamina, monooleato de polioxietileno sorbitán, monolaurato de polioxietileno sorbitán, compuestos de amonio cuaternario (por ej., Polyquat 10®), oleato sódico, laurilsulfato sódico, estearato magnésico, docusato sódico, triacetina, vitamina E TPGS y similares.

Los surfactantes adecuados para emplear en las formas de dosificación sólidas descritas en esta invención incluyen, por ejemplo, laurilsulfato sódico, monooleato de sorbitán, monooleato de polioxietileno sorbitán, polisorbatos, poloxámeros, sales biliares, monoestearato de glicerilo, copolímeros de óxido de etileno y óxido de propileno, por ej., Pluronic® (BASF), y similares.

Los agentes de suspensión adecuados para emplear en las formas de dosificación sólidas descritas aquí incluyen, aunque sin limitarse a, polivinilpirrolidona, por ej., polivinilpirrolidona K12, polivinilpirrolidona K17, polivinilpirrolidona K25, o polivinilpirrolidona K30, polietilenglicol, por ej., el polietilenglicol puede tener un peso molecular de aproximadamente 300 a aproximadamente 6000, o aproximadamente 3350 a aproximadamente 4000, o aproximadamente 5400 a aproximadamente 7000, copolímero de vinil pirrolidona/acetato de vinilo (S630), carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxi–propilmetilcelulosa, polisorbato–80, hidroxietilcelulosa, alginato sódico, gomas, tales como, por ej., goma tragacanto y goma acacia, goma de guar, xantanos, incluyendo goma de xantano, azúcares, celulósicos, tales como, por ej., carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, polisorbato–80,

alginato sódico, monolaurato de sorbitán polietoxilado, monolaurato de sorbitán polietoxilado, povidona y similares.

Los antioxidantes adecuados para emplear en las formas de dosificación sólidas descritas en esta invención incluyen, por ejemplo, por ej., hidroxitolueno butilado (BHT), ascorbato sódico, y tocoferol.

Existe superposición considerable entre los aditivos empleados en las formas de dosificación sólidas descritas en esta invención. Por lo tanto, los aditivos antes mencionados deberían tomarse como meros ejemplos, y no como una limitación, de los tipos de aditivos que pueden ser incluidos en las formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas descritas en esta invención.

En otras instancias, una o más capas de la formulación farmacéutica están plastificadas. Ilustrativamente, un plastificante es generalmente un sólido o líquido de elevado punto de ebullición. Los plastificantes adecuados pueden ser agregados entre aproximadamente 0.01% y aproximadamente 50% en peso (p/p) de la composición de recubrimiento. Los plastificantes incluyen, aunque sin limitarse a, ftalato de dietilo, ésteres de citrato, polietilenglicol, glicerol, glicéridos acetilados, triacetina, polipropilenglicol, polietilenglicol, citrato de trietilo, dibutil sebacato, ácido esteárico, estearol, estearato, y aceite de ricino.

Las tabletas comprimidas son formas sólidas de dosificación preparadas compactando la mezcla en masa de las formulaciones descritas anteriormente. En diversas instancias, las tabletas comprimidas las cuales están diseñadas para disolverse en la boca incluirán uno o más agentes saborizantes. En otras instancias, las tabletas comprimidas incluyen una película que rodea la tableta comprimida final. En algunas instancias, el recubrimiento de película puede proporcionar una liberación retardada de los compuestos de fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) descritos en esta invención de la formulación. En otras instancias, el recubrimiento de película ayudar en el cumplimiento por parte del paciente (por ej., los recubrimientos Opadry® o recubrimiento azucarado). Los recubrimientos de película incluyendo Opadry® típicamente oscilan entre aproximadamente 1% y aproximadamente 3% del peso de la tableta. En otras instancias, las tabletas comprimidas incluyen uno o más excipientes.

Una cápsula se puede preparar, por ejemplo, colocando la mezcla en masa de la formulación del compuesto descrito anteriormente, dentro de una cápsula. En algunas instancias, las formulaciones (suspensiones y soluciones no acuosas) se colocan en una cápsula de gelatina blanda. En otras instancias, las formulaciones se colocan en cápsulas de gelatina convencionales o cápsulas no de gelatina tales como cápsulas que comprenden HPMC. En otras instancias, la formulación es colocada en una cápsula de rociado, donde la cápsula puede ser tragada entera o la cápsula puede ser abierta y el contenido rociado sobre el alimento con anterioridad a la comida. En algunas instancias, la dosis terapéutica es dividida en múltiples (por ej., dos, tres o cuatro) cápsulas. En algunas instancias, la dosis entera de la formulación es administrada en una forma de cápsula.

En diversas instancias, las partículas del compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) descrito en esta invención y uno o más excipientes se mezclan en seco y se comprimen en una masa, tal como una tableta, que tiene una dureza suficiente para proporcionar una composición farmacéutica que se desintegra sustancialmente dentro de menos de aproximadamente 30 minutos, menos de aproximadamente 35 minutos, menos de aproximadamente 40 minutos, menos de aproximadamente 45 minutos, menos de aproximadamente 50 minutos, menos de aproximadamente 55 minutos, o menos de aproximadamente 60 minutos, después de la administración oral, liberando de ese modo la formulación en el fluido gastrointestinal.

En otro caso, las formas de dosificación pueden incluir formulaciones microencapsuladas. En algunas instancias, uno o más materiales compatibles diferentes están presentes en el material de microencapsulación. Los materiales ejemplares incluyen, aunque sin limitarse a, modificadores del pH, facilitadores de la erosión, agentes antiespumantes, antioxidantes, agentes saborizantes y materiales portadores tales como aglutinantes, agentes de suspensión, agentes de desintegración, agentes de relleno, surfactantes, solubilizantes, estabilizantes, lubricantes, agentes humectantes y diluyentes.

Los materiales útiles para la microencapsulación descritos en esta invención incluyen materiales compatibles con los compuestos descritos en esta invención, los cuales aíslan suficientemente el compuesto de otros excipientes no compatibles. Los materiales compatibles con los compuestos descritos en esta invención son aquellos que retardan la liberación de los compuestos de fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) *in vivo*.

Los materiales ejemplares de microencapsulación útiles para retardar la liberación de las formulaciones que incluyen los compuestos descritos en esta invención, incluyen, aunque sin limitarse a, éteres de hidroxipropilcelulosa (HPC) tales como Klucel® o Nisso HPC, éteres de hidroxipropilcelulosa de baja sustitución (L–HPC), éteres de hidroxipropil metil celulosa (HPMC) tales como Seppifilm–LC, Pharmacoat®, Metolose SR, Methocel®–E, Opadry YS, PrimaFlo, Benecel MP824, y Benecel MP843, polímeros de metilcelulosa tales como Methocel®–A, estearato acetato de hidroxipropilmetilcelulosa Aqoat (HF–LS, HF–LG,HF–MS) y Metolose®,

Etilcelulosas (EC) y sus mezclas tales como E461, Ethocel®, Aqualon®–EC, Surelease®, Polivinil alcohol (PVA) tales como Opadry AMB, hidroxietilcelulosas tales como Natrosol®, carboximetilcelulosas y sales de carboximetilcelulosas (CMC) tales como Aqualon®–CMC, copolímeros de polivinil alcohol y polietilenglicol tales como Kollicoat IR®, monoglicéridos (Myverol), triglicéridos (KLX), polietilenglicoles, almidón para alimento modificado, polímeros acrílicos y mezclas de polímeros acrílicos con éteres de celulosa tales como Eudragit® EPO, Eudragit® L30D–55, Eudragit® FS 30D Eudragit® L100–55, Eudragit® L100, Eudragit® S100, Eudragit® RD100, Eudragit® E100, Eudragit® L12.5, Eudragit® S12.5, Eudragit® NE30D, y Eudragit® NE 40D, ftalato acetato de celulosa, sepifilms tales como mezclas de HPMC y ácido esteárico, ciclodextrinas, y mezclas de estos materiales.

En aun otras instancias, plastificantes tales como polietilenglicoles, por ej., PEG 300, PEG 400, PEG 600, PEG 1450, PEG 3350, y PEG 800, ácido esteárico, propilenglicol, ácido oleico, y triacetina son incorporados en el material de microencapsulación. En otras instancias, el material microencapsulante útil para retardar la liberación de las composiciones farmacéuticas es de USP o the National Formulary (NF) (Formulario Nacional). En aun otras instancias, el material de microencapsulación es Klucel. En aun otras instancias, el material de microencapsulación es methocel.

Los compuestos microencapsulados descritos en esta invención pueden ser formulados mediante métodos que incluyen, por ej., procesos de secado por pulverización, procesos de solvente en disco giratorio, procesos de fusión en caliente, métodos de enfriado por pulverización, lecho fluidizado, deposición electrostática, extrusión centrífuga, separación de suspensión rotacional, polimerización en interfaz de líquido – gas o sólido– gas, extrusión por presión, o baño de extracción por solvente pulverización. Además, también se podrían emplear diversas técnicas químicas, por ej., coacervación compleja, evaporación por solvente, incompatibilidad de polímero– polímero, polimerización interfacial en medio líquido, polimerización in situ, secado en líquido, y desolvatación en medio líquido. Adicionalmente, también se podrían emplear otros métodos tales como compactación a rodillo, extrusión/esferonización, coacervación, o recubrimiento de nanopartículas.

En aun otras instancias, también se preparan polvos efervescentes de acuerdo con la presente descripción. Las sales efervescentes han sido empleadas para dispersar medicamentos en agua para la administración oral. Las sales efervescentes son gránulos o polvos gruesos que contiene un agente medicinal en una mezcla seca, generalmente compuesta por bicarbonato sódico, ácido cítrico y/o ácido tartárico. Cuando dichas sales son agregadas al agua, los ácidos y la base reaccionan para liberar gas de dióxido de carbono, causando así “efervescencia.” Los ejemplos de sales efervescentes incluyen, por ej., los siguientes ingredientes: bicarbonato sódico o una mezcla de bicarbonato sódico y carbonato sódico, ácido cítrico y/o ácido tartárico. Se pueden emplear cualquier combinación de ácido– base que dé como resultado la liberación de dióxido de carbono en lugar de la combinación de bicarbonato sódico y ácidos cítricos y tartáricos, siempre y cuando los ingredientes fuesen adecuados para uso farmacéutico y den como resultado un pH de aproximadamente 6,0 o superior.

En otras instancias, las formulaciones descritas en esta invención, las cuales incluyen un compuesto descrito en esta invención, son dispersiones sólidas. Los métodos para producir ese tipo de dispersiones sólidas incluyen, aunque sin limitarse a, por ejemplo, Pat. Estadounidenses Nos. 4,343,789, 5,340,591, 5,456,923, 5,700,485, 5,723,269, y publicación de patente estadounidense no. 2004/0013734. En aun otras instancias, las formulaciones descritas en esta invención son soluciones sólidas. Las soluciones sólidas incorporan una sustancia junto con el agente activo y otros excipientes de modo que calentando la mezcla se obtiene la disolución del fármaco y la composición resultante es luego enfriada para proporcionar una mezcla sólida la cual puede ser adicionalmente formulada o directamente agregada a una cápsula o comprimida en una tableta. Los métodos para producir ese tipo de soluciones sólidas incluyen, aunque sin limitarse a, por ejemplo, Pat. Estadounidenses Nos. 4.151.273, 5.281.420, y 6.083.518.

Las formas de dosificación oral sólidas farmacéuticas que incluyen formulaciones descritas en esta invención, las cuales incluyen compuestos descritos en esta invención, pueden ser adicionalmente formuladas para proporcionar una liberación controlada del compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA). La liberación controlada se refiere a la liberación de los compuestos descritos en esta invención de una forma de dosificación en la cual están incorporados de acuerdo con un perfil deseado durante un período de tiempo prolongado. Los perfiles de liberación controlada incluyen, por ejemplo, perfiles de liberación sostenida, liberación prolongada, liberación pulsátil y liberación retardada. En contraste con composiciones de liberación inmediata, las composiciones de liberación controlada permiten la administración de un agente a un sujeto durante un período prolongado de tiempo de acuerdo con un perfil predeterminado. Dichas velocidades de liberación pueden proporcionar niveles terapéuticamente eficaces de agente durante un período prolongado de tiempo y de ese modo proporcionan un período más largo de respuesta farmacológica minimizando al mismo tiempo los efectos colaterales en comparación con las formas de dosificación de liberación rápida convencionales. Dichos períodos más largos de respuesta proporcionan muchos beneficios inherentes que no son logrados con las correspondientes preparaciones de liberación inmediata, de acción corta.

En algunas instancias, las formas de dosificación sólidas descritas en esta invención pueden ser formuladas como formas de dosificación oral de liberación retardada con recubrimiento entérico, es decir, como una forma

de dosificación oral de una composición farmacéutica según lo descrito en esta invención la cual utiliza un recubrimiento entérico para efectuar la liberación en el intestino delgado del tracto gastrointestinal. La forma de dosificación con recubrimiento entérico puede ser una tableta extruida o comprimida o moldeada/ molde (recubierta o no recubierta) que contiene gránulos, polvo, pellets, perlas o partículas del ingrediente activo y/u otros componentes de la composición, los cuales son ellos mismos recubiertos o no recubiertos. La forma de dosificación oral con recubrimiento entérico puede también ser una cápsula (recubierta o no recubierta) que contiene pellets, perlas o gránulos del portador sólido o la composición, los cuales están ellos mismos recubiertos o no recubiertos.

El término “liberación retardada” como se emplea en esta invención se refiere a la administración de modo que la liberación pueda ser lograda en cierta ubicación generalmente predecible en el tracto intestinal más distal a aquella que hubiese sido lograda si no hubiese habido alteración alguna de liberación retardada. En algunas instancias el método para el retraso de la liberación es recubrimiento. Debería aplicarse cualquier recubrimiento a un espesor suficiente de modo que el recubrimiento entero no se disuelva en los fluidos gastrointestinales a pH por debajo de aproximadamente 5, pero si se disuelve a pH de aproximadamente 5 y superior. Los recubrimientos pueden estar hechos de: polímeros acrílicos. El rendimiento de los polímeros acrílicos (principalmente su solubilidad en fluidos biológicos) puede variar en base al grado y tipo de sustitución. Los ejemplos de polímeros acrílicos adecuados incluyen copolímeros de ácido metacrílico y copolímeros de metacrilato de amonio. Las series Eudragit E, L, S, RL, RS y NE (Rohm Pharma) están disponibles solubilizadas en solvente orgánico, dispersión acuosa, o polvos secos. Las series Eudragit RL, NE, y RS son insolubles en el tracto gastrointestinal pero son permeables y son empleados principalmente para direccionamiento colónico. Las series de Eudragit E se disuelven en el estómago. Las series de Eudragit L, L–30D y S son insolubles en el estómago y se disuelven en el intestino;

Derivados de Celulosa. Los ejemplos de derivados de celulosa adecuados son: etil celulosa; mezclas de reacción de ésteres de acetato parciales de celulosa con anhídrido ftálico. El rendimiento puede variar en base al grado y tipo de sustitución. El ftalato acetato de celulosa (CAP) se disuelve en pH >6. Aquateric (FMC) es un sistema con base acuosa y es un pseudolátex de CAP secado por pulverización con partículas <1 µm. Otros componentes en Aquateric pueden incluir pluronics, Tweens, y monoglicéridos acetilados. Otros derivados de celulosa adecuados incluyen: trimelitato de acetato de celulosa (Eastman); metilcelulosa (Pharmacoat, Methocel); ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCP); succinato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCS); y succinato de acetato de hidroxipropilmetilcelulosa (por ej., AQOAT (Shin Etsu)). El rendimiento puede variar en base al grado y tipo de sustitución. Por ejemplo, HPMCP tales como, los grados HP–50, HP–55, HP–55S, HP–55F son adecuados. El rendimiento puede variar en base al grado y tipo de sustitución. Por ejemplo, los grados adecuados de succinato de acetato de hidroxipropilmetilcelulosa incluyen, aunque sin limitarse a, AS–LG (LF), que se disuelve a pH 5, AS–MG (MF), que se disuelve a pH 5.5, y AS–HG (HF), que se disuelve a pH superior. Estos polímeros son ofrecidos como gránulos, o como polvos finos para dispersiones acuosas;

Poli Vinil Acetato Ftalato (PVAP). PVAP se disuelve en pH >5, y es mucho menos permeable al vapor de agua y a los fluidos gástricos.

En algunas instancias, el recubrimiento puede contener, y generalmente lo hace, un plastificante y posiblemente otros excipientes de recubrimiento tales como colorantes, talco, y/o estearato magnésico. Los plastificantes adecuados incluyen citrato de trietilo (Citroflex 2), triacetina (triacetato de glicerilo), citrato de acetil trietilo (Citroflec A2), Carbowax 400 (polietilenglicol 400), ftalato de dietilo, citrato de tributilo, monoglicéridos acetilados, glicerol, ésteres de ácido graso, propilenglicol y ftalato de dibutilo. En particular, los polímeros acrílicos carboxílicos aniónicos generalmente contienen 10–25% en peso de un plastificante, especialmente ftalato de dibutilo, polietilenglicol, citrato de trietilo y triacetina. Se emplean técnicas de recubrimiento convencionales tales como recubrimiento por pulverización o en recipiente para aplicar recubrimientos. El espesor del recubrimiento debe ser suficiente para asegurar que la forma de dosificación oral permanezca intacta hasta que se alcanza el sitio deseado de administración tópica en el tracto intestinal.

Se pueden agregar colorantes, agentes contra la pegajosidad, surfactantes, agentes antiespumantes, lubricantes (por ej., cera de carnauba o PEG) a los recubrimientos además de plastificantes para solubilizar o dispersar el material de recubrimiento y para mejorar el rendimiento de recubrimiento y el producto recubierto.

En otras instancias, las formulaciones descritas en esta invención, las cuales incluyen un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) descrito en esta invención, son administradas empleando una forma de dosificación pulsátil. Una forma de dosificación pulsátil es capaz de proporcionar uno o más pulsos de liberación inmediata en puntos de tiempo predeterminados luego de un tiempo de descanso controlado o en sitios específicos. Las formas de dosificación pulsátil pueden ser administradas empleando una variedad de formulaciones pulsátiles incluyendo, aunque sin limitarse a, aquellas descritas en Pat. Estadounidenses Nos. 5,011,692; 5,017,381; 5,229,135; 5,840,329; 4,871,549; 5,260,068; 5,260,069; 5,508,040; 5,567,441 y 5,837,284.

Muchos otros tipos de sistemas de liberación controlada son adecuados para emplear con las formulaciones descritas en esta invención. Los ejemplos de dichos sistemas de administración incluyen, por ej., sistemas

basados en polímeros, tales como ácido poliláctico y poliglicólico, polianhídridos y policaprolactona; matrices porosas, sistemas no basados en polímeros que son lípidos, incluyendo esteroles, tales como colesterol, ésteres de colesterol y ácidos grasos, o grasas neutras, tales como mono–, di– y triglicéridos; sistemas de liberación de hidrogeles; sistemas silásticos; sistemas basados en péptidos; recubrimientos de cera, formas de dosificación biocorroibles, tabletas comprimidas empleando aglutinantes convencionales y similares. Ver, por ej., Liberman *et al.*, Pharmaceutical Dosage Forms, 2 Ed., Vol. 1, pp. 209–214 (1990); Singh *et al.*, Enciclopedia of Pharmaceutical Technology, 2da Ed., pp. 751–753 (2002); Pat. EEUU Nos. 4,327,725; 4,624,848; 4,968,509; 5,461,140; 5,456,923; 5,516,527; 5,622,721; 5,686,105; 5,700,410; 5,977,175; 6,465,014; y 6,932,983.

En algunas instancias, se proporcionan formulaciones farmacéuticas que incluyen partículas de los compuestos descritos en esta invención, por ej. compuestos de fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), y por lo menos un agente dispersante o agente de suspensión para la administración oral a un sujeto. Las formulaciones pueden ser un polvo y/o gránulos para suspensión y luego de mezcla con agua, se obtiene una suspensión sustancialmente uniforme.

Las formas de dosificación de formulación líquidas para administración oral pueden ser suspensiones acuosas seleccionadas del grupo que incluye, aunque sin limitarse a, dispersiones orales acuosas farmacéuticamente aceptables, emulsiones, soluciones, elíxires, geles y jarabes. Ver, por ej., Singh *et al.*, Enciclopedia of Pharmaceutical Technology, 2da Ed., pp. 754–757 (2002).

Las suspensiones y dispersiones acuosas descritas en esta invención pueden permanecer en un estado homogéneo, según lo definido en The USP Pharmacists' Pharmacopeia (2005 edición, capítulo 905), durante al menos 4 horas. La homogeneidad debería ser determinada mediante un método de muestreo consistente con respecto a determinar la homogeneidad de la composición entera. En una instancia, una suspensión acuosa puede ser resuspendida en una suspensión homogénea mediante agitación física que dura menos de 1 minuto. En otra instancia, una suspensión acuosa puede ser resuspendida en una suspensión homogénea mediante agitación física que dura meno de 45 segundos. En aun otra instancia, una suspensión acuosa puede ser resuspendida en una suspensión homogénea mediante agitación física que dura menos de 30 segundos. En aun otra instancia, no es necesaria agitación alguna para mantener una dispersión acuosa homogénea.

Las composiciones farmacéuticas descritas en esta invención pueden incluir agentes edulcorantes tales como, aunque sin limitarse a, jarabe acacia, acesulfame K, alitame, anís, manzana, aspartamo, banana, crema Bavaria, baya, grosella negra, dulce de azúcar terciado con mantequilla dulce, citrato de calcio, alcanfor, caramelo, cereza, crema de cereza, chocolate, canela, chicle, citrus, ponche de cítricos, crema cítrica, caramelo de algodón, cacao, cola, cereza fría, citrus frío, ciclamato, cilamato, dextrosa, eucaliptus, eugenol, fructosa, ponche frutal, jengibre, glicirretinato, jarabe de glicirriza (licor), uva, pomelo, miel, isomalta, limón, lima, crema de limón, glirrizinato de monoamonio (MagnaSweet®), maltol, manitol, arce, malvavisco, mentol, crema de menta, baya mixta, neohesperidina DC, neotame, naranja, pera, durazno, menta peperina, crema de menta, Polvo Prosweet®, frambuesa, cerveza de raíz, sacarina, safrol, sorbitol, menta verde, crema de menta verde, frutilla, crema de frutilla, stevia, sucralosa, sucrosa, sacarina sódica, sacarina, aspartamo, acesulfame potásico, manitol, talina, sucralosa, sorbitol, crema suiza, tagatosa, tangerina, taumatina, tuti fruti, vainilla, nuez, melón, cereza salvaje, gaulteria, xilitol, o cualquier combinación de estos ingredientes saborizantes, por ej., anís–mentol, cereza–anís, canela– naranja, cereza– canela, chocolate– menta, miel– limón, limón– lima, menta y limón, mentol y eucalipto, naranja y crema, vainilla– menta, y mezclas de los mismos.

En algunas instancias, las formulaciones farmacéuticas descritas en esta invención pueden ser sistemas de administración de fármaco autoemulsionables (SEDDS, por sus siglas en inglés). Las emulsiones son dispersiones de una fase inmiscible en otra, generalmente en la forma de gotas. En general, las emulsiones son creadas mediante dispersión mecánica vigorosa. SEDDS, en oposición a emulsiones o microemulsiones, forman espontáneamente emulsiones cuando se agregan a un exceso de agua sin ninguna dispersión o agitación mecánica externa. Una ventaja de los SEDDS es que solo es necesario un mezclado suave para distribuir las gotas a lo largo de la solución. Adicionalmente, se puede agregar agua o la fase acuosa justo antes de la administración, lo cual asegura la estabilidad de un ingrediente activo inestable o hidrófobo. Por lo tanto, el SEDDS provee un sistema de administración eficaz para la administración oral y parenteral de ingredientes activos hidrófobos. SEDDS puede proporcionar mejoras en la biodisponibilidad de ingredientes activos hidrófobos. Los métodos para producir formas de dosificación autoemulsionantes incluyen, aunque sin limitarse a, por ejemplo, Pat. E.E.U.U. Nos. 5.858.401, 6.667.048, y 6.960.563.

Existe una superposición entre los aditivos mencionados anteriormente empleados en las dispersiones o suspensiones acuosas descritas en esta invención, puesto que un aditivo determinado es a menudo clasificado en forma diferente por diferentes profesionales en el campo, o es empleado comúnmente para cualquiera de las diversas funciones diferentes. Por ende, los aditivos antes mencionados deberían ser tomados como meros ejemplos y no limitaciones, de los tipos de aditivos que pueden ser incluidos en las formulaciones descritas en esta invención.

Los potenciales excipientes para las formulaciones intranasales incluyen, por ejemplo, Pat. estadounidenses N° 4.476.116, 5.116.817 y 6.391.452. Formulaciones soluciones en salina, empleando alcohol bencílico y otro conservante adecuado, fluorocarbonos, y/u otros agentes solubilizantes o dispersantes. Ver, por ejemplo, Ansel, H. C. *et al.*, Pharmaceutical Dosage Forms y Drug Delivery Systems, Sexta Ed. (1995). Preferentemente, estas composiciones y formulaciones son preparadas con ingredientes farmacéuticamente aceptables, no tóxicos, adecuados. La elección de los portadores adecuados depende en gran parte de la naturaleza exacta de la forma de dosificación nasal deseada, por ej., soluciones, suspensiones, ungüentos o geles. Las formas de dosificación nasales generalmente contienen grandes cantidades de agua además del ingrediente activo. Cantidades menores de otros ingredientes tales como reguladores de pH, emulsionantes o agentes dispersantes, conservantes, surfactantes, agentes gelificantes o agentes de tamponación y otros agentes estabilizantes y solubilizantes también pueden estar presentes. Preferentemente, la forma de dosificación nasal debería ser isotónica con las secreciones nasales.

Para la administración por inhalación, los compuestos descritos en esta invención pueden estar en una forma como un aerosol, una neblina o un polvo. Las composiciones farmacéuticas descritas en esta invención son convenientemente administradas en la forma de una presentación de pulverización en aerosol de paquetes presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor adecuado, por ej., diclorodifluormetano, triclorofluormetano, diclorotetrafluoretano, dióxido de carbono y otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede ser determinada proporcionando una válvula para administrar una cantidad medida. Las cápsulas, y cartuchos de, tales como, a modo de ejemplo solamente, gelatina para utilizar en un inhalador o insuflador pueden ser formuladas conteniendo una mezcla de polvos del compuesto descrito en esta invención y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

Las formulaciones bucales que incluyen compuestos descritos en esta invención pueden ser administradas empleando una variedad de formulaciones las cuales incluyen, aunque sin limitarse a, Pat. estadounidenses N° 4.229.447, 4.596.795, 4.755.386, y 5.739.136. Adicionalmente, las formas de dosificación bucales descritas en esta invención pueden incluir además un portador polimérico (hidrolizable) biocorroible que también sirve para adherir la forma de dosificación a la mucosa bucal. La forma de dosificación bucal es fabricada de modo de corroerse gradualmente en un período de tiempo predeterminado, donde la administración del compuesto es proporcionada esencialmente todo el tiempo. La administración de fármaco bucal evita las desventajas encontradas con la administración de fármaco oral, por ej., absorción lenta, degradación del agente activo por fluidos presentes en el tracto gastrointestinal y/o inactivación de primera pasada en el hígado. Con respecto al portador polimérico biocorroible (hidrolizable), puede emplearse virtualmente cualquier portador de ese tipo, siempre y cuando el perfil de liberación del fármaco deseado no se vea comprometido, y el portador sea compatible con los compuestos descritos en esta invención, y cualquier otro componente que pueda estar presente en la unidad de dosificación bucal. En general, el portador polimérico comprende polímeros hidrófilos (solubles en agua y dilatables en agua) que se adhieren a la superficie húmeda de la mucosa bucal. Los ejemplos de portadores poliméricos útiles en esta invención incluyen polímeros y copolímeros de ácido acrílico, por ej., aquellos conocidos como "carbómeros" (Carbopol®, que pueden obtenerse de B.F. Goodrich, es un polímero de ese tipo). Otros componentes también pueden ser incorporados en las formas de dosificación bucales descritas en esta invención incluyen, aunque sin limitarse a, desintegrantes, diluyentes, aglutinantes, lubricantes, saborizantes, colorantes, conservantes, y similares. Para la administración bucal o sublingual, las composiciones pueden adoptar la forma de tabletas, pastillas o geles formulados en forma convencional.

Las formulaciones transdérmicas descritas en esta invención pueden ser administradas empleando una variedad de dispositivos que incluyen aunque sin limitarse a, Pat. estadounidenses N° 3,598,122, 3,598,123, 3,710,795, 3,731,683, 3,742,951, 3,814,097, 3,921,636, 3,972,995, 3,993,072, 3,993,073, 3,996,934, 4,031,894, 4,060,084, 4,069,307, 4,077,407, 4,201,211, 4,230,105, 4,292,299, 4,292,303, 5,336,168, 5,665,378, 5,837,280, 5,869,090, 6,923,983, 6,929,801 y 6,946,144.

Las formas de dosificación transdérmicas descritas en esta invención pueden incorporar ciertos excipientes farmacéuticamente aceptables los cuales son convencionales en la técnica. En una instancia, las formulaciones transdérmicas descritas en esta invención incluyen al menos tres componentes: (1) una formulación de un compuesto de Formulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA); (2) un potenciador de la penetración; y (3) un adyuvante acuoso. Adicionalmente, las formulaciones transdérmicas pueden incluir componentes adicionales tales como, aunque sin limitarse a, agentes gelificantes, cremas y bases de ungüentos, y similares. En algunas instancias, la formulación transdérmica puede incluir además un material de respaldo tejido o no tejido para aumentar la absorción y evitar la remoción de la formulación transdérmica de la piel. En otras instancias, las formulaciones transdérmicas descritas en esta invención pueden mantener un estado saturado o supersaturado para promover la difusión en la piel.

Las formulaciones adecuadas para la administración transdérmica de los compuestos descritos en esta invención pueden emplear dispositivos de administración transdérmica y parches de administración transdérmica y pueden ser emulsiones lipófilas o tamponadas, soluciones acuosas, disueltas y/o dispersadas en un polímero o un adhesivo. Dichos parches pueden ser construidos para la administración continua, pulsátil o a demanda de agentes farmacéuticos. Aún más, la administración transdérmica de los compuestos descritos

en esta invención puede lograrse por medio de parches iontoforéticos y similares. Adicionalmente, los parches transdérmicos pueden proporcionar la administración controlada de los compuestos descritos en esta invención. La velocidad de absorción puede ser ralentizada utilizado membranas controladoras de la velocidad o por atrapamiento del compuesto dentro de una matriz polimérica o gel. A la inversa, pueden emplearse potenciadores de la absorción para aumentar la absorción. Un potenciador de la absorción o portador pueden incluir solventes absorbibles farmacéuticamente aceptables para ayudar al pasaje a través de la piel. Por ejemplo, los dispositivos transdérmicos están en la forma de un vendaje que comprende un miembro de respaldo, un depósito que contiene el compuesto opcionalmente con portadores, opcionalmente una barrera de control de la velocidad para administrar el compuesto a la piel del huésped a una velocidad controlada y predeterminada durante un período prolongado de tiempo y medio para asegurar el dispositivo a la piel.

Las formulaciones adecuadas para la inyección intramuscular, subcutánea o intravenosa pueden incluir soluciones acuosas o no acuosas estériles fisiológicamente aceptables, dispersiones, suspensiones o emulsiones y polvos estériles para reconstitución en soluciones o dispersiones inyectables estériles. Los ejemplos de ´portadores, diluyentes, solventes o vehículos acuosas y no acuosas adecuados que incluyen agua, etanol, polioles (propilenglicol, polietilenglicol, glicerol, cremophor y similares), sus mezclas adecuadas, aceites vegetales (tales como aceite de oliva) y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. La fluidez apropiada puede ser mantenida, por ejemplo, por el uso de un recubrimiento tal como lecitina, por el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones, y mediante el uso de surfactantes. Las formulaciones adecuadas para inyección subcutánea también pueden contener aditivos tales como agentes conservantes, humectantes, emulsionantes y de dispensación. La prevención del crecimiento de microorganismos puede ser asegurada por diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, tales como parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, y similares. Puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares. La absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede obtenerse mediante el uso de agentes que retardan la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

Para las inyecciones intravenosas, los compuestos descritos en esta invención pueden ser formulados en soluciones acuosas, preferentemente en buffers fisiológicamente compatibles tales como solución de Hank, solución de Ringer, o buffer de solución salina fisiológica. Para la administración transmucosal los agentes de la penetración apropiados para la barrera que será permeada son empleados en la formulación. Dichos agentes de penetración son generalmente reconocidos en el campo. Para otras inyecciones parenterales, las formulaciones apropiadas pueden incluir soluciones acuosas o no acuosas, preferentemente con buffers o excipientes fisiológicamente compatibles. Dichos excipientes son generalmente reconocidos en el campo.

Las inyecciones parenterales pueden involucrar inyección por bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden ser presentadas en forma de dosificación unitaria, por ej., en ampollas o en contenedores de múltiples dosis, con un conservante agregado. La composición farmacéutica descrita en esta invención puede estar en una forma adecuada para inyección parenteral como suspensiones, soluciones o emulsiones estériles en vehículos oleosos o acuosos, y puede contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o de dispersión. Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de los compuestos activos en forma soluble en agua. Adicionalmente, se pueden preparar suspensiones de los compuestos activos como suspensiones para inyección oleosas apropiadas. Los solventes lipófilos adecuados o vehículos incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo o ésteres de ácido graso sintéticos, tales como oleato de etilo o triglicéridos o liposomas. Las suspensiones para inyección acuosas pueden contener sustancias las cuales aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa sódica, sorbitol, o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes o agentes adecuados los cuales aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de soluciones altamente concentradas. Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para constitución con un vehículo adecuado, por ej., agua libre de pirógeno estéril, antes del uso.

En ciertas instancias, se pueden emplear sistemas de administración para compuestos farmacéuticos, tales como, por ejemplo, liposomas y emulsiones. En ciertas instancias, las composiciones provistas en esta invención también incluyen un polímero mucoadhesivo, seleccionado entre, por ejemplo, carboximetilcelulosa, carbómero (polímero de ácido acrílico), poli(metilmetacrilato), poliacrilamida, policarbófilo, copolímero de ácido acrílico/ acrilato de butilo, alginato sódico y dextrano.

En algunas instancias, los compuestos descritos en esta invención pueden ser administrados tópicamente y son formulados en una variedad de composiciones tópicamente administrables, tales como soluciones, suspensiones, lociones, geles, pastas, barras medicadas, bálsamos, cremas o ungüentos. Dichos compuestos farmacéuticos pueden contener solubilizantes, estabilizantes, agentes potenciadores de la tonicidad, buffers y conservantes.

Los compuestos descritos en esta invención también pueden ser formulados en composiciones rectales tales como enemas, geles rectales, espumas rectales, aerosoles rectales, supositorios, supositorios de jaleas, o enemas de retención, que contienen bases para supositorios convencionales tales como manteca de cacao u

otro glicéridos, así como también polímeros sintéticos tales como polivinilpirrolidona, PEG, y similares. En las formas de supositorio de las composiciones, una cera de bajo punto de fusión tal como, aunque sin limitarse a, una mezcla de glicéridos de ácido graso, opcionalmente en combinación con manteca de cacao es primero derretida.

En general, un agente, tal como un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) es administrado en una cantidad eficaz para una mejora de, o prevención del desarrollo de los síntomas de, la enfermedad o trastorno (es decir, una cantidad terapéuticamente eficaz). Por lo tanto, una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser una cantidad que es capaz de al menos parcialmente evitar o revertir una enfermedad o trastorno. La dosis requerida para obtener una cantidad eficaz puede variar dependiendo del agente, formulación, enfermedad o trastorno y del individuo a quien se le administración el agente.

La determinación de las cantidades eficaces también puede involucrar ensayos *in vitro* en los cuales las dosis variables de agente se administran a células en cultivo y la concentración de agente eficaz para mejorar algunos o todos los síntomas es determinada a fin de calcular la concentración requerida *in vivo*. Las cantidades eficaces también pueden estar basadas en estudios animales *in vivo*.

Un agente puede ser administrado con anterioridad a, concurrentemente con y con posterioridad a la aparición de los síntomas de una enfermedad o trastorno. En algunas instancias, un agente es administrado a un sujeto con una historia familiar de la enfermedad o trastorno, o quien tiene un fenotipo que puede indicar una predisposición a una enfermedad o trastorno, o quien tiene un genotipo el cual predispone al sujeto a la enfermedad o trastorno.

El sistema de administración en particular empleado puede depender de una cantidad de factores, que incluyen, por ejemplo, el objetivo pretendido y la ruta de administración, por ej., local o sistémica. Los objetivos para la administración pueden ser células específicas las cuales están causando o que contribuyen con una enfermedad o trastorno, incluyendo, por ejemplo, células que tienen calcio intracelular alterado o desregulación de calcio o dishomeostasis, y células que no tienen calcio intracelular alterado pero que pueden tener cierta alteración, defecto o deficiencia que puede ser, al menos en parte, compensada, contrarrestada, revertida o aliviada o eliminada alterando calcio intracelular de la célula. Las células particulares incluyen, por ejemplo, células inmunes (por ej., linfocitos, células T, células B, glóbulos blancos), fibroblastos (o células derivadas de un fibroblasto), células epidérmicas, dérmicas o cutáneas (por ej., queratinocitos), células sanguíneas, células del riñón o renales (por ej., células mesangiales), células musculares (por ej., una célula de la musculatura lisa tal como una célula de la musculatura lisa de las vías respiratorias (traqueal o bronquial) y células exocrinas o secretoras (por ej., salivares, incluyendo de la glándula acinar y submandibular parótida). Por ejemplo, una célula objetivo puede ser células residentes o infiltrantes en los pulmones o en las vías respiratorias que contribuyen con una enfermedad asmática, células residentes o infiltrantes en el sistema nervioso que contribuyen con una enfermedad o trastorno neurológico, neurodegenerativo o desmielinizante, células residentes o infiltrantes involucradas en rechazo de un injerto de riñón, células injertadas que cuando se activan conducen a la enfermedad de injerto versus huésped, células residentes o infiltrantes involucradas en el rechazo de un injerto renal, células residentes o infiltrantes, cuya activación contribuye a la inflamación, por ej., en artritis, células residentes o infiltrantes en el sistema de los riñones o renal (por ej., células mesangiales) involucradas en neuropatía y glomerulonefritis y células residentes o infiltrantes en glándulas exocrinas (por ej., glándulas salivares y lagrimales) involucradas en trastornos autoinmunes (por ej., enfermedad de Sjogren). La administración de un agente puede estar dirigida a uno o más tipos o subconjuntos celulares de un tipo celular mediante métodos reconocidos en el campo. Por ejemplo, un agente puede ser acoplado a un anticuerpo, ligando a un receptor de superficie celular o una toxina, o puede estar contenido en una partícula que es selectivamente internalizada en células, por ej., liposomas o un virus en el cual el receptor viral se une específicamente a un cierto tipo de célula, o una partícula viral que carece del ácido nucleico viral, o se puede administrar localmente.

Ejemplos de Métodos de Dosificación y Regímenes de Tratamiento

Los compuestos descritos en esta invención pueden ser empleados en la preparación de medicamentos para la modulación de calcio intracelular, o para el tratamiento de enfermedades o afecciones que se beneficiarían, al menos en parte, de la modulación del calcio intracelular. Adicionalmente, un método para tratar cualquiera de las enfermedades o afecciones descritas en esta invención en un sujeto que necesita de dicho tratamiento, involucra la administración de composiciones farmacéuticas que contienen por lo menos un compuesto descrito en esta invención, o una sal farmacéuticamente aceptable, su profármaco farmacéuticamente aceptable, o su solvato farmacéuticamente aceptable, en cantidades terapéuticamente eficaces a dicho sujeto.

Las composiciones que contienen el o los compuestos descritos en esta invención pueden ser administradas para tratamientos profilácticos y/o terapéuticos. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones son administradas a un paciente que ya está sufriendo de una enfermedad o afección, en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente los síntomas de la enfermedad o afección. Las cantidades

eficaces para este uso dependerán de la severidad y en curso de la enfermedad o afección, terapia previa, estado de salud del paciente, peso y respuesta a los fármacos, y del criterios del médico tratante.

En aplicaciones profilácticas, las composiciones que contienen los compuestos descritos en esta invención son administradas a un paciente susceptible de, o de otro modo en riesgo de contraer una enfermedad, trastorno o afección en particular. Dicha cantidad es definida como “una cantidad o dosis profilácticamente eficaz”. En este uso, las cantidades precisas también dependen del estado de salud del paciente, del peso, y similares. Cuando se emplean en un paciente, las cantidades eficaces para este uso dependerán de la severidad y curso de la enfermedad, trastorno o afección, terapia previa, estado de salud del paciente y respuesta a los fármacos, y del criterio del médico tratante.

En el caso en el cual la condición del paciente no mejora, luego de la discreción del médico la administración de los compuestos puede ser administración crónica, es decir, durante un período prolongado de tiempo, incluyendo durante toda la vida del paciente a fin de mejorar o de otro modo controlar o limitar los síntomas de la enfermedad o afección del paciente.

En el caso en donde el estado del paciente mejora, previa discreción del médico, la administración de los compuestos puede ser en forma continua; alternativamente, la dosis de fármaco que se está administrando puede ser temporalmente reducida o temporalmente suspendida durante un cierto período de tiempo (es decir, un “feriado del fármaco”). La duración del feriado del fármaco puede variar entre 2 días y 1 año, incluyendo a modo de ejemplo solamente, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 10 días, 12 días, 15 días, 20 días, 28 días, 35 días, 50 días, 70 días, 100 días, 120 días, 150 días, 180 días, 200 días, 250 días, 280 días, 300 días, 320 días, 350 días, o 365 días. La reducción de la dosis durante un feriado del fármaco puede ser de aproximadamente 10% a aproximadamente 100%, incluyendo, a modo de ejemplo solamente, aproximadamente 10%, aproximadamente 15%, aproximadamente 20%, aproximadamente 25%, aproximadamente 30%, aproximadamente 35%, aproximadamente 40%, aproximadamente 45%, aproximadamente 50%, aproximadamente 55%, aproximadamente 60%, aproximadamente 65%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, o aproximadamente 100%.

Una vez que se ha producido la mejora de las condiciones del paciente, se administra, en caso necesario, una dosis de mantenimiento. Posteriormente, la dosis o la frecuencia de administración, o ambos, puede reducirse, en función de los síntomas, a un nivel en el cual se retiene la enfermedad, trastorno o afección mejorado. Sin embargo, los pacientes pueden requerir tratamiento intermitente a largo plazo luego de cualquier recurrencia de los síntomas.

La cantidad de un agente determinado que corresponderá a dicha cantidad variará dependiendo de factores tales como el compuesto en particular, enfermedad o afección y su severidad, la identidad (por ej., peso) del sujeto o huésped que necesita de tratamiento, pero no obstante puede determinarse en forma reconocida en el campo de acuerdo con las circunstancias particulares alrededor del caso, incluyendo, por ej., el agente específico que se está administrando, la ruta de administración, la afección que se está tratando, y el sujeto o huésped que se está tratando. En general, sin embargo, las dosis empleadas para el tratamiento de un ser humano adulto típicamente estarán en el rango de aproximadamente 0,02 – aproximadamente 5000 mg por día, en algunas instancias, aproximadamente 1 – aproximadamente 1500 mg por día. La dosis deseada puede presentarse convenientemente en una sola dosis o como dosis divididas administradas en forma simultánea (o durante un período corto de tiempo) o en intervalos apropiados, por ejemplo como dos, tres, cuatro o más subdosis por día.

La composición farmacéutica descrita en esta invención puede estar en formas de dosificación unitarias adecuadas para la administración única de dosificaciones precisas. En forma unitaria de dosificación, la formulación es dividida en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas de uno o más compuestos. La dosificación unitaria puede estar en la forma de un paquete que contiene cantidades discretas de la formulación. Los ejemplos no limitativos son tabletas o cápsulas empaquetadas, y polvos en frascos o ampollas. Las composiciones en suspensiones acuosas pueden estar envasadas en contenedores de una sola dosis que no se pueden volver a cerrar. Alternativamente, se pueden emplear contenedores que se pueden volver a cerrar de múltiples dosis, en cuyo caso, es típico incluir un conservante en la composición. A modo de ejemplo solamente, las formulaciones para inyección parenteral pueden ser presentadas en forma unitaria de dosificación, las cuales incluyen, aunque sin limitarse a ampollas, o en contenedores de múltiples dosis, con un conservante agregado.

La dosis diarias apropiadas para los compuestos descritos en esta invención descritos en esta invención son entre aproximadamente 0.01 mg/kg y aproximadamente 20 mg/kg. En una instancia, las dosis diarias son entre aproximadamente 0.1 mg/kg y aproximadamente 10 mg/kg. Una dosis diaria indicada en el mamífero más grande, incluyendo, aunque sin limitarse a, humanos, está dentro del rango entre aproximadamente 0.5 mg y aproximadamente 1000 mg, administrada convenientemente en una sola dosis o en dosis divididas, incluyendo, aunque sin limitarse a, hasta cuatro veces al día o en forma de liberación prolongada. Las formas de dosificación unitarias adecuadas para la administración oral incluyen entre aproximadamente 1 y

aproximadamente 500 mg de ingrediente activo. En una instancia, la dosificación unitaria es aproximadamente 1 mg, aproximadamente 5 mg, aproximadamente, 10 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 400 mg, o aproximadamente 500 mg. Los rangos antes mencionados son meras sugerencias, ya que la cantidad de variables con respecto al régimen de tratamiento individual es grande, y excursiones considerables de estos valores recomendados no son infrecuentes. Dichas dosificaciones pueden ser alteradas dependiendo de una cantidad de variables, no limitadas a la actividad del compuesto empleado, la enfermedad o afección que se va a tratar, el modo de administración, los requerimientos del sujeto individual, la severidad de la enfermedad o afección que se está tratando, y el criterio del profesional.

La toxicidad y eficacia terapéutica de dichos regímenes terapéuticos pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándares en cultivos celulares o animales experimentales, incluyendo, aunque sin limitarse a, la determinación de la LD_{50} (la dosis letal para 50% de la población) y la ED_{50} (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población). La relación de la dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede ser expresado como la relación entre LD_{50} y ED_{50}. Los compuestos que exhiben altos índices terapéuticos son preferidos. Los datos obtenidos a partir de ensayos de cultivos celulares y estudios en animales pueden ser empleados en la formulación de un rango de dosificación para uso en seres humanos. La dosificación de ese tipo de compuesto yace preferentemente dentro de un rango de concentraciones circulantes que incluyen la ED_{50} con toxicidad mínima. La dosificación puede variar dentro de este rango dependiendo de la forma de dosificación empleada y de la ruta de administración utilizada.

Tratamientos Combinados

Los compuestos de fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), y las composiciones de los mismos, también pueden utilizarse en combinación con otros agentes terapéuticos que son seleccionados por su valor terapéutico para la afección que se va a tratar. En general, las composiciones descritas en esta invención y, en instancias donde se emplea terapia combinada, no tienen que administrarse otros agentes en la misma composición farmacéutica, y, debido a diferentes características físicas y químicas, pueden tener que administrarse mediante diferentes rutas. La determinación del modo de administración y la administración aconsejable, donde fuese posible, en la misma composición farmacéutica, se encuentra dentro del conocimiento del médico clínico. La administración inicial puede realizarse de acuerdo con protocolos establecidos reconocidos en el campo, y luego, en base a los efectos observados, la dosis, modos de administración y tiempos de administración pueden ser modificados por el médico clínico.

En ciertos casos, puede resultar apropiado administrar por lo menos un compuesto descrito en esta invención en combinación con otro agente terapéutico. A modo de ejemplo solamente, si uno de los efectos colaterales experimentado por un paciente luego de recibir uno de los compuestos en esta invención, tal como un compuesto de Formulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), es nauseas, entonces puede resultar adecuado administrar un agente contra las náuseas en combinación con el agente terapéutico inicial. O, a modo de ejemplo solamente, la eficacia terapéutica de uno de los compuestos descritos en esta invención puede ser aumentada mediante la administración de un adyuvante (es decir, por sí mismo el adyuvante puede tener beneficio terapéutico mínimo, pero en combinación con otro agente terapéutico, el beneficio terapéutico total para el paciente es aumentado). O, a modo de ejemplo únicamente, el beneficio experimentado por un paciente puede ser aumentado administrando uno de los compuestos descritos en esta invención con otro agente terapéutico (el cual también incluye un régimen terapéutico) que también tiene beneficio terapéutico. En cualquier caso, sin importar la enfermedad, trastorno o afección que se está tratando, el beneficio general experimentado por el paciente puede ser simplemente aditivo de los dos agentes terapéuticos o el paciente puede experimentar un beneficio sinérgico.

La elección en particular de los compuestos empleados dependerá del diagnóstico del médico interviniente y del criterio de la condición del paciente y del protocolo de tratamiento apropiado. Los compuestos pueden ser administrados concurrentemente (por ej., simultáneamente, esencialmente en forma simultánea o dentro del mismo protocolo de tratamiento) o consecutivamente, dependiendo de la naturaleza de la enfermedad, trastorno, o afección, la condición del paciente, y la elección real de compuestos empleados. La determinación del orden de administración, y la cantidad de repeticiones de la administración de cada agente terapéutico durante un protocolo de tratamiento es bien conocido por el médico después de la evaluación de la enfermedad que se está tratando y de la condición del paciente.

Las dosis terapéuticamente eficaces pueden variar cuando los fármacos son empleados en combinaciones de tratamientos. Los métodos para determinar experimentalmente las dosis terapéuticamente eficaces de los fármacos y otros agentes para emplear en regímenes de tratamientos combinados se describen en la bibliografía técnica. Por ejemplo, el uso de dosificación metronómica, es decir, proporcionar dosis inferiores, más frecuentes, a fin de reducir al mínimo los efectos colaterales tóxicos, ha sido descrito extensamente en la bibliografía técnica. El tratamiento de combinación incluye además tratamientos periódicos que comienzan y se detienen en diversos tiempos para ayudar con el manejo clínico del paciente.

Para terapias de combinación descritas en esta invención, las dosificaciones de los compuestos coadministrados variarán, naturalmente, dependiendo del tipo de co–fármaco empleado, del fármaco específico empleado, de la enfermedad o afección que se está tratando y demás. Adicionalmente, cuando es co–administrado con uno o más agentes biológicamente activos, el compuesto proporcionado en esta invención puede ser administrado en forma simultánea con el o los agentes biológicamente activos o en forma consecutiva. Si se administra en forma consecutiva, el médico interviniente decidirá sobre la secuencia apropiada de administración de la proteína en combinación con el o los agentes biológicamente activos.

En cualquier caso, los múltiples agentes terapéuticos (uno de los cuales es un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) descritas en esta invención) pueden ser administrados en cualquier orden o incluso simultáneamente. Si se administran en forma simultánea, los múltiples agentes terapéuticos pueden ser proporcionados en una forma única, unificada, o en múltiples formas (a modo de ejemplo únicamente, ya sea como una píldora única o como dos píldoras separadas). Uno de los agentes terapéuticos puede ser administrado en múltiples dosis, o ambos pueden ser administrados como dosis múltiples. En caso de no ser administrados en forma simultánea, el tiempo entre las múltiples dosis puede variar entre más de cero semanas hasta menos de cuatro semanas. Adicionalmente, los métodos de combinación, composiciones y formulaciones no deben ser limitados al uso de solamente dos agentes; el uso de múltiples combinaciones terapéuticas es también contemplado.

Se entiende que el régimen de dosificación para tratar, prevenir o aliviar la o las condiciones para las cuales se busca un alivio, puede ser modificado de acuerdo con una variedad de factores. Estos factores incluyen el trastorno o afección del cual sufre el sujeto, así como también la edad, peso, sexo, dieta y condición médica del sujeto. Por consiguiente, el régimen de dosificación realmente empleado puede variar ampliamente y, por lo tanto, puede desviarse de los regímenes de dosificación expuestos en esta invención.

Los agentes farmacéuticos los cuales forman la terapia de combinación descritos en esta invención puede ser una forma de dosificación combinada o en formas separadas de dosificación destinadas a la administración sustancialmente simultánea. Los agentes farmacéuticos que forman la terapia combinada también pueden ser administrados secuencialmente, con cualquiera de los dos compuestos terapéuticos que se están administrando por un régimen que requiere la administración en dos pasos. El régimen de administración en dos pasos puede requerir la administración consecutiva de los agentes activos o la administración espaciada de los agentes activos separados. El período de tiempo entre los múltiples pasos de administración puede oscilar entre, unos pocos minutos y varias horas, dependiendo de las propiedades de cada agente farmacéutico, tales como potencia, solubilidad, biodisponibilidad, vida media plasmática y perfil cinético del agente farmacéutico. La variación circadiana de la concentración molecular objetivo también puede determinar el intervalo óptimo de las dosis.

Adicionalmente, los compuestos descritos en esta invención también pueden ser empleados en combinación con procedimientos que pueden proporcionar un beneficio adicional o sinérgico al paciente. A modo de ejemplo únicamente, se espera que los pacientes encuentren un beneficio terapéutico y/o profiláctico en los métodos descritos en esta invención, donde la composición farmacéutica de un compuesto descrito en esta invención y /o combinaciones con otros agentes terapéuticos se combinan con ensayos genéticos para determinar si el individuo es un portador de un gen mutante que es conocido que está correlacionado con ciertas enfermedades o afecciones.

Los compuestos descritos en esta invención y terapias combinadas pueden ser administrados antes, durante o después de la aparición de una enfermedad o afección, y el tiempo de administración de la composición que contiene un compuesto puede variar. Por consiguiente, por ejemplo, los compuestos pueden ser empleados como un agente profiláctico y pueden ser administrados en forma continua a sujetos que son propensos a desarrollar afecciones o enfermedades a fin de evitar la aparición de la enfermedad o afección. Los compuestos y composiciones pueden ser administrados a un sujeto durante o tan pronto como resulte posible luego del comienzo de los síntomas. La administración de los compuestos puede ser iniciada dentro de las primeras 48 horas del inicio de los síntomas, preferentemente dentro de las primeras 48 horas del inicio de los síntomas, más preferentemente dentro de las primeras 6 horas del inicio de los síntomas y con máxima preferencia dentro de las 3 horas del inicio de los síntomas. La administración inicial puede ser por medio de cualquier ruta práctica, tal como, por ejemplo, una inyección intravenosa, una inyección por bolo, infusión durante aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 5 horas, una píldora, una cápsula, parche transdérmico, administración bucal y similares, o combinaciones de los mismos. Un compuesto es preferentemente administrado tan pronto como sea practicable luego de que el inicio de una enfermedad o afección sea detectado o sospechado, y durante un tiempo necesario para el tratamiento de la enfermedad, tal como, por ejemplo, entre 1 día y aproximadamente 3 meses. La longitud del tratamiento puede variar para cada sujeto, y la longitud puede ser determinada empleando los criterios conocidos. Por ejemplo, el compuesto o una formulación que contiene el compuesto puede ser administrado durante al menos 2 semanas, con preferencia aproximadamente 1 mes a aproximadamente 5 años.

Inhibidores de SOCE

En un caso, los compuestos de las fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) son administrados o empleados en conjunto con otros inhibidores de SOCE. En un caso, los inhibidores de SOCE son inhibidores no selectivos.

Se han descrito una variedad de inhibidores de SOCE. Los inhibidores de SOCE incluyen:

Cationes, los cuales incluyen cationes de lantánidos, tales como por ejemplo, Gd^{3+}, La^{3+};

Inhibidores de P–450, los cuales incluyen econazol, miconazol, clotrimazol, cetoconazol;

Inhibidores de ciclooxigenasa, los cuales incluyen ácido niflúmico, ácido flufenámico, tenidap;

Inhibidores de lipoxigenasa los cuales incluyen ácido nordihidroguaiarético, ácido eicosatetrainoico;

Los compuestos que son bloqueadores de canales, los cuales incluyen SK&F 96365, SC38249, LU52396, L–651,582, tetrandrina, 2–APB;

Compuestos que inhiben SOCE no por acción sobre los canales SOC mismos, los cuales incluyen U73122 (inhibidor de fosfolipasa C), wortmanina (inhibidor de fosfatidilinositol quinasa).

Algunos de estos inhibidores de SOCE tienen acciones no específicas y/o múltiples modos de acción que contribuyen con la inhibición de SOCE, los cuales incluyen bloqueo del poro del canal SOC (bloqueadores de canal), inhibición de la síntesis de ATP mitocondrial que parece respaldar SOCE (Gamberucci *et al.*, *J Biol. Chem.*, 269, 23597–23602, 1994; Marriott *et al.*, *Am. J. Physiol.*, 269, C766–C774, 1995), alteraciones de pH citoplásmico (Muallem *et al.*, *Am. J. Physiol.*, 257, G917–G924, 1989), así como también inhibición de la activación de canales SOC.

Inmunosupresores

En una instancia, los compuestos descritos en esta invención son administrados como agentes únicos en terapia inmunosupresiva para reducir, inhibir, o evitar la actividad del sistema inmune. La terapia inmunosupresiva es clínicamente empleada para: prevenir el rechazo de órganos y tejidos trasplantados (por ej. médula ósea, corazón, riñón, hígado); tratamiento de enfermedades autoinmunes o enfermedades que son más probablemente de origen autoinmune (por ej. artritis reumatoidea, miastenia grave, lupus sistémico eritematoso, enfermedad de Crohn, y colitis ulcerativa); y tratamiento de algunas otras enfermedades inflamatorias no autoinmunes (por ej. control de asma alérgico a largo plazo).

En algunas instancias, los compuestos descritos en esta invención son administrados con otros inmunosupresores seleccionados entre: inhibidores de calcineurina (tales como, aunque sin limitarse a, ciclosporina, tacrolimus); inhibidores de mTOR (tales como, aunque sin limitarse a, sirolimus, everolimus); anti–proliferativos (tales como, aunque sin limitarse a, azatioprina, ácido micofenólico); corticosteroides (tales como, aunque sin limitarse a, prednisona, acetato de cortisona, prednisolona, metilprednisolona, dexametasona, betametasona, triamcinolona, beclometasona, acetato de fludrocortisona, acetato de desoxicorticosterona, aldosterona, hidrocortisona); anticuerpos (tales como, aunque sin limitarse a, anticuerpos monoclonales anti receptor IL–2Rα (basiliximab, daclizumab), anticuerpo policlonales anti células T (anti–timocito globulina (ATG), globulina anti–linfocitos (ALG))).

Otros inmunosupresores incluyen, aunque sin limitarse a: glucocorticoides (alclometasona, aldosterona, amcinonida, beclometasona, betametasona, budesonide, ciclesonide, clobetasol, clobetasona, clocortolona, cloprednol, cortisona, cortivazol, deflazacort, desoxicorticosterona, desonide, desoximetasona, desoxicortona, dexametasona, diflorasona, diflucortolona, difluprednato, fluclorolona, Fludrocortisona, fludroxicortide, flumetasona, flunisolida, acetonida de fluocinolona, fluocinonida, fluocortin, fluocortolona, fluorometolona, fluperolona, fluprednideno, fluticasona, formocortal, halcinonide, halometasona, hidrocortisona/cortisol, aceponato de hidrocortisona, buteprato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, loteprednol, medrisona, meprednisona, metilprednisolona, aceponato de metilprednisolona, furoato de mometasona, parametasona, prednicarbato, prednisona, prednisolona, prednilideno, rimexolona, tixocortol, triamcinolona, ulobetasol), ciclofosfamida, nitrosoureas, cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, metotrexato, azatioprina, mercaptopurina, análogos de pirimidina, inhibidores de la síntesis proteica, metotrexato, azatioprina, mercaptopurina, dactinomicina, antraciclinas, mitomicina C, bleomicina, mitramicina, Atgam(R), Thymoglobuline®, OKT3®, basiliximab, daclizumab, ciclosporina, tacrolimus, sirolimus, Interferones (IFN–β, IFN–γ), opioides, proteínas de unión a TNF (infliximab, etanercept, adalimumab, golimumab), ácido micofenólico, micofenolato mofetilo, FTY720, así como también aquellos enlistados en US 7,060,697.

Agentes para Tratar Enfermedades Autoinmunes, Enfermedades Inflamatorias

Cuando el sujeto está sufriendo de, o corre riesgo de sufrir de, una enfermedad autoinmune, trastorno o afección, o de una enfermedad, trastorno o afección inflamatoria, un compuesto descrito en esta invención es administrado en cualquier combinación con uno o más de los siguientes agentes terapéuticos: agentes

inmunosupresores (por ej., tacrolimus, ciclosporina, rapamicina, metotrexato , ciclofosfamida, azatioprina, mercaptopurina, micofenolato, o FTY720), glucocorticoides (por ej., prednisona, acetato de cortisona, prednisolona, metilprednisolona, dexametasona, betametasona, triamcinolona, beclometasona, acetato de fludrocortisona, acetato de desoxicorticosterona, aldosterona), fármacos antiinflamatorios no esteroides (por ej., salicilatos, ácidos arilalcanoicos, ácidos 2–arilpropiónicos, ácidos N–arilantranílicos, oxicamas, coxibs, o sulfonanilidas), inhibidores específicos de Cox–2– (por ej., valdecoxib, etoricoxib, lumiracoxib, celecoxib, o rofecoxib), leflunomida, tioglucosa de oro, tiomalato de oro, aurofina, sulfasalazina, hidroxicloroquinina, minociclina, proteínas de unión a TNF–α (por ej., infliximab, etanercept, o adalimumab), abatacept, anakinra, interferón–β, interferón–γ, interleuquina–2, antileucotrienos, teofilina, o anticolinérgicos.

En una instancia, los compuestos descritos en esta invención, son administrados en combinación con inhibidores del trayecto de NFAT–calcineurina. En una instancia, los inhibidores del trayecto de NFAT–calcineurina incluyen, aunque sin limitarse a, Ciclosporina A (CsA) y tacrolimus (FK506).

En una instancia, un compuesto descrito en esta invención, o composiciones y medicamentos que incluyen un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), son administrados a un paciente en combinación con un agente antiinflamatorio incluyendo, aunque sin limitarse a, drogas antiinflamatorias no esteroides (AINES) y corticosteroides (glucocorticoides).

Los AINES incluyen, aunque sin limitarse a: aspirina, ácido salicílico, ácido gentísico, salicilato de colina magnesio, salicilato de colina, salicilato de colina y magnesio, salicilato de colina, salicilato de magnesio, salicilato de sodio, diflunisal, carprofeno, fenoprofeno, fenoprofeno cálcico, fluorobiprofeno, ibuprofeno, ketoprofeno, nabutona, ketolorac, ketorolac trometamina, naproxeno, oxaprozina, diclofenac, etodolac, indometacina, sulindac, tolmetina, meclofenamato, meclofenamato sódico, ácido mefenámico, piroxicam, meloxicam, inhibidores específicos de COX–2 (tales como, aunque sin limitarse a, celecoxib, rofecoxib, valdecoxib, parecoxib, etoricoxib, lumiracoxib, CS–502, JTE–522, L–745,337 y NS398).

Las combinaciones con AINES, los cuales son inhibidores selectivos de COX–2, son contemplados en esta invención. Dichos compuestos incluyen, aunque sin limitarse a aquellos descritos en Patente estadounidense N° 5.474.995; Patente estadounidense N° 5.861.419; Patente estadounidense N° 6.001.843; Patente estadounidense N° 6.020.343. Patente estadounidense N° 5.409.944; Patente estadounidense N° 5.436.265; Patente estadounidense N° 5.536.752; Patente estadounidense N° 5.550.142; Patente estadounidense N° 5.604.260; Patente estadounidense N° 5.698.584; Patente estadounidense N° 5.710.140; WO 94/15932; Patente estadounidense N° 5.344.991; Patente estadounidense N° 5.134.142; Patente estadounidense N° 5.380.738; Patente estadounidense N° 5.393.790; Patente estadounidense N° 5.466.823; Patente estadounidense N° 5.633.272; Patente estadounidense N° 5.932.598 y 6.313.138.

Los compuestos que han sido descritos como inhibidores selectivos de COX–2 y son por ende útiles en los métodos o composiciones farmacéuticas descritos en esta invención incluyen, aunque sin limitarse a, celecoxib, rofecoxib, lumiracoxib, etoricoxib, valdecoxib, y parecoxib, o una sal de los mismos farmacéuticamente aceptable.

Los corticosteroides, incluyen, aunque sin limitarse a: betametasona, prednisona, alclometasona, aldosterona, amcinonida, beclometasona, betametasona, budesonide, ciclesonide, clobetasol, clobetasona, clocortolona, cloprednol, cortisona, cortivazol, deflazacort, desoxicorticosterona, desonide, desoximetasona, desoxicortona, dexametasona, diflorasona, diflucortolona, difluprednato, fluclorolona, fludrocortisona, fludroxicortide, flumetasona, flunisolida, acetonida de fluocinolona, fluocinonida, fluocortina, fluocortolona, fluorometolona, fluperolona, fluprednideno, fluticasona, formocortal, halcinonida, halometasona, hidrocortisona/cortisol, aceponato de hidrocortisona, buteprato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, loteprednol, medrisona, meprednisona, metilprednisolona, aceponato de metilprednisolona, furoato de mometasona, parametasona, prednicarbato, prednisona/prednisolona, rimexolona, tixocortol, triamcinolona, y ulobetasol.

Otros agentes empleados como antiinflamatorios incluyen aquellos descritos en la publicación de patente estadounidense 2005/0227929, incorporada a esta invención como referencia.

Algunos antiinflamatorios disponibles en el mercado incluyen, aunque sin limitarse a: Arthrotec® (diclofenac y misoprostol), Asacol®(ácido 5–aminosalicíclico), Salofalk® (ácido 5–aminosalicíclico), Auralgan® (antipirina y benzocaína), Azulfidine® (sulfasalazina), Daypro® (oxaprozina), Lodine®(etodolac), Ponstan® (ácido mefenámico), Solumedrol® (metilprednisolona), Bayer®(aspirina), Bufferin® (aspirina), Indocin® (indometacina), Vioxx® (rofecoxib), Celebrex® (celecoxib), Bextra® (valdecoxib), Arcoxia® (etoricoxib), Prexige® (lumiracoxib), Advil®, Motrin® (ibuprofeno), Voltaren®(diclofenac), Orudis®(ketoprofeno), Mobic®(meloxicam), Relafen® (nabumetona), Aleve®, Naprosyn® (naproxeno), Feldene® (piroxicam).

En una instancia, los compuestos descritos en esta invención son administrados en combinación con antagonistas del receptor de leucotrienos incluyendo, aunque sin limitarse a, BAY u9773 (ver EP 00791576; publicado el 27 de agosto, 1997), DUO–LT (Tsuji *et al*, *Org. Biomol. Chem*., 1, 3139–3141, 2003), zafirlukast (Accolate®), montelukast (Singulair®), prankulast (Onon®), y los derivados o análogos de los mismos.

Kits/Artículos de Manufactura

Para usar en las aplicaciones terapéuticas descritas en esta invención, los kits y artículos de manufactura son también descritos en esta invención. Dichos kits pueden incluir un portador, un paquete o contenedor que está dividido en compartimientos para recibir uno o más contenedores tales como frascos, tubos, y similares, cada uno de los contenedores incluye uno de los elementos por separado a ser empleado en un método descrito en esta invención. Los contenedores adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, frascos, jeringas y tubos de ensayo. Los contenedores pueden ser formados a partir de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico.

Los artículos de manufactura proporcionados en esta invención contienen materiales de empaquetamiento. Los materiales de empaquetamiento para utilizar en el empaquetamiento de productos farmacéuticos incluyen, por ej., Patentes Estadounidenses Nos. 5.323.907, 5.052.558 y 5.033.252. Los ejemplos de materiales de empaquetamiento farmacéuticos incluyen, aunque sin limitarse a, paquetes de blísteres, botellas, tubos, inhaladores, bombas, bolsas, frascos, contenedores, jeringas, botellas y cualquier material de empaquetamiento adecuado para una formulación seleccionada y modo pretendido de administración y tratamiento. Un amplio grupo de formulaciones de los compuestos y composiciones proporcionados en esta invención son contemplados al igual que una variedad de tratamientos para cualquier enfermedad, trastorno o afección que se beneficiaría por la inhibición de la actividad del canal de CRAC.

Por ejemplo, el o los contenedores pueden incluir uno o más compuestos descritos en esta invención, opcionalmente en una composición o en combinación con otro agente según lo descrito en esta invención. El o los contenedores opcionalmente tienen una boca de acceso estéril (por ejemplo el contenedor puede ser una bolsa de solución intravenosa o un frasco que tiene un tapón perforable por mediante una aguja de inyección hipodérmica). Dichos kits opcionalmente comprenden un compuesto con una descripción o etiqueta de identificación o instrucciones relacionadas con su uso en los métodos descritos en esta invención.

Un kit típicamente puede incluir uno o más contenedores adicionales, cada uno con uno o más de diversos materiales (tales como reactivos, opcionalmente en forma concentrada, y/o dispositivos) deseables desde el punto de vista comercial y del usuario para empleo de un compuesto descrito en esta invención. Los ejemplos no limitativos de dichos materiales incluyen, aunque sin limitarse a, buffers, diluyentes, filtros, agujas, jeringas; etiquetas de portador, paquete, contenedor, frasco y/o tubos que enlistan contenidos y/o instrucciones de uso, e insertos de paquete con instrucciones de uso. También se incluirá típicamente un conjunto de instrucciones.

Una etiqueta puede estar en, o asociada con, el contenedor. Una etiqueta puede estar en un contenedor cuando las letras, números u otros caracteres que forman la etiqueta son adheridos, moldeados o grabados en el contenedor mismo; una etiqueta puede estar asociada con un contenedor cuando está presente dentro de un receptáculo o portador que también sostiene el contenedor, por ej., como un inserto de paquete. Se puede utilizar una etiqueta para indicar que los contenidos deben utilizarse para una aplicación terapéutica específica. La etiqueta también puede indicar instrucciones para el uso de los contenidos, tal como en los métodos descritos en esta invención.

En ciertas instancias, las composiciones farmacéuticas pueden ser presentadas en un paquete o dispositivo dispensador el cual puede contener una o más formas unitarias de dosificación que contienen un compuesto proporcionado en esta invención. El paquete puede contener, por ejemplo una hoja de metal o plástico, tal como un paquete de blísteres. El paquete o dispositivo dispensador puede estar acompañado por instrucciones para la administración. El paquete o dispensador también puede estar acompañado por un aviso asociado con el contenedor en forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la manufactura, uso, o venta de productos farmacéuticos, dicho aviso refleja la aprobación por la agencia de la forma del fármaco para la administración en humanos o veterinaria. Dicho aviso, por ejemplo, puede ser la etiqueta aprobada por la Administración Estadounidense de Alimentos y Drogas (“U.S. Food y Drug Administration”) para drogas recetadas, o el inserto de producto aprobado. Las composiciones que contienen un compuesto proporcionado en esta invención formuladas en un portador farmacéutico compatible también pueden ser preparadas, colocadas en un contenedor apropiado y etiquetadas para el tratamiento de una afección indicada.

Ensayos

Se pueden emplear diversas técnicas para evaluar la entrada del calcio activada por vaciado de depósitos intracelulares y señalización de calcio en células. Dichas técnicas incluyen, aunque sin limitarse a, electrofisiología de “patch clamp” (medición de iones calcio o de otros iones a través de membranas celulares, tales como membranas plasmáticas), mediciones de capacitancia (permiten el seguimiento de exocitosis en el nivel de células únicas), formación de imágenes de calcio utilizando tintes fluorescentes permite el rastreo de patrones de movimiento de calcio dentro del citoplasma, la transferencia de energía por resonancia con fluorescencia (FRET, por sus siglas en inglés) permite la evaluación de las interacciones proteína– proteína, y los métodos de biología molecular permite la manipulación de los niveles de expresión de proteínas de interés.

Se pueden emplear una amplia variedad de métodos de ensayo para examinar la modulación de calcio intracelular por compuestos de fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA). Tales ensayos incluyen ensayos basados en células *in vitro* así como también modelos animales *in vivo*. Se puede emplear cualquier ensayo que detecte, controle o mida un efecto sobre el calcio intracelular, incluyendo eventos mediados por la entrada del calcio. Tales ensayos incluyen, aunque sin limitarse a, ensayos que monitorean, miden y/o detectan los niveles de calcio intracelular, modulación de los niveles de calcio, y movimiento de calcio hacia adentro, hacia afuera o dentro de las células y organelos intracelulares. Los ensayos también incluyen monitorear, medir y/o detectar los eventos mediados por la entrada de calcio y moléculas involucradas en eventos mediados por la entrada de calcio tales como, aunque sin limitarse a, moléculas de transducción de señal, factores de transcripción, moléculas secretadas y otras moléculas que son afectadas por cambios en la homeostasis de calcio. Los ensayos incluyen, aunque sin limitarse a, aquellos descritos en esta invención y aquellos descritos en la publicación de patente estadounidense no. 2007/0031814 y WO 07/081804.

Células y Modelos Celulares

Para los ensayos *in vitro* de la modulación de calcio intracelular por los compuestos de fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), una amplia variedad de tipo celulares para dichos ensayos está disponible. En una instancia en particular, la célula es aquella en la cual se produce la entrada de calcio activada por el vaciado de los depósitos intracelulares o aquella que se puede manipular de modo que se produzca la entrada de calcio activada por el vaciado de depósitos intracelulares en la célula. En instancias particulares, la célula contiene una o más proteínas involucradas en modular el calcio intracelular (y, en particular, está involucrada en, participa en y/o proporciona la entrada de calcio activada por el vaciado de depósitos intracelulares, movimiento de calcio hacia adentro, hacia afuera o dentro de un organelo intracelular o depósito de calcio, modulación de los niveles de calcio en un organelo intracelular o depósito de calcio (por ej., retículo endoplásmico) y/o tamponación de calcio), tales como aquellos proporcionados en esta invención. En instancias particulares, la o las proteínas incluyen proteínas STIM (incluyendo proteína STIM1, STIM2, DSTIM y CSTIM) y/o proteínas Orai (Orai1, Orai2, Orai3). La célula puede expresar endógenamente la o las proteínas o expresa recombinantemente la o las proteínas.

Las células para utilizar en los métodos pueden ser de cualquier especie. En una instancia, las células pueden ser células eucarióticas. En una instancia, las células pueden ser células de levadura, insecto (por ej., Drosophila o Anopheles), o de mamífero. Las células de mamífero incluyen, aunque sin limitarse a, células de roedor (por ej., ratón, rata y hámster), primate, mono, perro, bovino, conejo y humano. Se puede emplear una variedad de tipos celulares en los métodos, incluyendo, por ejemplo, células neuronales, del sistema nervioso, cerebrales, del sistema inmune, por ej., linfocitos T y células B, células primarias, células sanguíneas y hematopoyéticas, células estromales, células mieloides, células linfoides y una variedad de células tumorales y cancerígenas. Las células particulares incluyen células Drosophila Schneider 2 o S2, células de riñón embriónicas humanas (HEK293), células de leucemia basófilas de rata (RBL–2H3), células Jurkat, células epiteliales, células de rabdomiosarcoma, células rabdoides, células de retinoblastoma, células de neuroepitelioma, células de neuroblastoma, células de osteosarcoma, fibroblastos, células estromales de médula ósea, células de eritroleucemia y células linfoblásticas. Otras líneas celulares incluyen HEK 293 y 293T, CHO (incluyendo CHO–K1), LTK–, N2A, H6, y HGB. Muchas células de ese tipo y líneas celulares están disponibles a través de depositarios de células tales como, por ejemplo, the American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, Va.). Se pueden obtener células primarias mediante aislación de fuentes tisulares.

Se pueden emplear células de una línea celular conocida, tales como células de neuroblastoma SH–SY5Y, células de feocromocitoma PC12, células de neuroblastoma SK–N–BE(2)C o SK–N–SH, células de neuroepitelioma SK–N–MC humano, células SMS–KCNR, células de neuroblastoma LAN–5 humano, células de neuroblastoma GI–CA–N humano, células de neuroblastoma GOTO humano, células de neuroblastoma Neuro 2a (N2A) de ratón y/o células de neuroblastoma IMR 32 humanas, células de leucemia mieloide crónica (por ej., células K562 humanas), células de leucemia promielocítica (por ej., células HL60) y células de linfoma histiocítico (por ej., células U937), células de linfoma de Burkitt (por ej., células CA46), células B (por ej., NALM6), células de leucemia linfoblástica aguda (por ej., células MOLT4), células T (por ej. células Jurkat) y células de T–ALL temprano (por ej., DU528).

En una instancia, la elección de una célula para utilizar en un ensayo *in vitro* para evaluar la modulación de calcio intracelular por los compuestos descritos en esta invención involucra diversas consideraciones, incluyendo, por ejemplo, una proteína en particular que está siendo empleada en el método y un caso en particular o actividad de la modulación de calcio intracelular que está siendo controlado o evaluado en el método.

En una instancia, la modulación de calcio intracelular por un compuesto descrito en esta invención, o (XIIIA) es examinada controlando o evaluando el efecto sobre la entrada de calcio activada por el vaciado de depósitos intracelulares. Las células típicamente empleadas en dichos métodos exhiben Entrada de calcio activado por depósitos intracelulares ya sea naturalmente o a través de la manipulación de las células. Las células que exhiben endógenamente Entrada de calcio activado por depósitos intracelulares incluyen algunas células

excitables y la mayoría de las células no excitables y pueden ser identificadas empleando método descritos en esta invención y/o reconocidos en el campo.

En una instancia, puede ser deseable utilizar una célula que contiene componentes de señalización y sistemas mensajeros que pueden efectuar la liberación de calcio desde depósitos intracelulares. Por ejemplo, células que contienen componentes de sistemas de activación de fosfolipasa C (PLC) mediada por el receptor se pueden emplear para activación fisiológica (por medio de generación de IP_3) de depleción de depósitos para facilitar la supervisión de la Entrada de calcio activado por depósitos intracelulares. La activación de PLC mediada por receptor se produce a través de distintos mecanismos de acoplamiento: activación de PLC–β por receptores acoplados a proteína G (GPCRs) y activación de PLC–γ por receptores de tirosina quinasa y tirosina quinasas no receptoras. Por lo tanto, las células que contienen un sistema de activación de PLC mediado por el receptor pueden ser monitoreadas o evaluadas para la Entrada de calcio activado por depósitos intracelulares luego de la activación agonista de uno o más receptores que se sabe que participan en el sistema. (Ver por ej. Bouron (2000) FEBS Lett 470:269–272; Millar *et al*. (1995) *J. Exp. Biol*. 198:1843–1850; Yagodin *et al*. (1998) *Cell Calcium* 23:219–228; Yagodin *et al*. (1999) *Cell Calcium* 25:429–438; y Patterson *et al*. (2002) *Cell* 111:1–20).

Una evaluación de calcio intracelular después del tratamiento con un compuesto descrito en esta invención puede realizarse bajo una variedad de condiciones. Las condiciones pueden ser seleccionadas para evaluar el efecto de agente de ensayo sobre un caso específico de calcio intracelular. Por ejemplo, se emplean reactivos y condiciones, para evaluar específicamente la Entrada de calcio activado por depósitos intracelulares, los niveles de calcio citosólico en reposo, tamponación de calcio y los niveles de calcio y absorción de calcio por o liberación desde organelos intracelulares. Los niveles de calcio citosólico en reposo, los niveles de calcio de organelos intracelulares y el movimiento catiónico pueden evaluarse empleando cualquiera de los métodos descritos en esta invención o reconocidos en el campo. Dichos métodos para evaluar la modulación en calcio intracelular incluyen, aunque sin limitarse a, mediciones basadas en indicadores sensibles al calcio, tales como fluo–3, mag–fura 2 y aequorina RE–direccionada, mediciones basadas en calcio (tales como $^{45}Ca^{2+}$) etiquetado, y mediciones electrofisiológicas. Los casos particulares de flujo de iones que pueden evaluarse incluyen, aunque sin limitarse a, una reducción (incluyendo eliminación) en la cantidad de flujo de iones, propiedades biofísicas alteradas de la corriente iónica y sensibilidades alteradas del flujo a activadores o inhibidores de los procesos de flujo de calcio, tales como, por ejemplo, la Entrada de calcio activado por depósitos intracelulares. Los reactivos y condiciones para usar en la evaluación específicamente del movimiento de calcio mediado por receptor y movimiento de calcio activado por segundo mensajero están también disponibles.

Evaluación de la Entrada de calcio activado por depósitos intracelulares

En un caso, los compuestos descritos en esta invención son agregados a células bajo condiciones que permiten que se produzca la Entrada de calcio activado por depósitos intracelulares a fin de evaluar los efectos de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) sobre la Entrada de calcio activado por depósitos intracelulares. Dichas condiciones son descritas en esta invención y son reconocidas en el campo.

Por ejemplo, en un método, las células pueden ser tratadas para reducir los niveles de calcio de los depósitos de calcio intracelular y luego analizadas para evidencia de influjo de iones (por ej., calcio) en respuesta a dicho método en presencia de un compuesto descrito en esta invención. Las técnicas para reducir los niveles de calcio de depósitos intracelulares y para analizar células para evidencia de influjo de iones (por ej., calcio) son reconocidas en el campo y descritas en esta invención.

En otros métodos, se puede emplear análisis electrofisiológico de corrientes a través de un parche de membrana plasmática desprendido de una célula o una vesícula de membrana hacia afuera– fuera ("outside–out") para detectar o monitorear las corrientes de canales activadas por depósitos intracelulares (por ej., I_{SOC}, I_{CRAC}) en presencia de un compuesto descrito en esta invención.

Evaluación de Eventos Mediados por Entrada de Calcio

Se conoce una cantidad de moléculas involucradas en las trayectorias reguladas por calcio. La evaluación de moléculas involucradas en los eventos mediados por la entrada de calcio puede emplearse para monitorear calcio intracelular, y se puede emplear, por ejemplo en ensayos de screening descritos en esta invención para monitorear los efectos de los compuestos presentados en esta invención. Los ejemplos de ensayos incluyen aunque sin limitarse a ensayos los cuales detectan, o determinan la presencia, los niveles, alteración de niveles, producción, modificación (tales como fosforilación y desfosforilación), translocación, degradación y actividad de moléculas involucradas en los eventos mediados por la entrada de calcio (ver por ejemplo, Trevillyan *et al*. (2001) *J. Biol. Chem*. 276:48118–26). Los ensayos descritos en esta invención pueden utilizarse con células que han sido tratadas con o contactadas con un compuesto presentado en esta invención, o que expresan una cantidad alterada de una molécula de ensayo (tal como una proteína involucrada en la regulación de calcio, incluyendo una proteína STIM, proteína Orai), o con células de control.

Los ensayos también pueden ser conducidos en células que han sido estimuladas con un activador fisiológico o no fisiológico o en células no estimuladas. Lo siguiente son ensayos representativos para moléculas involucradas en los eventos mediados por la entrada de calcio y tienen el propósito de ser ejemplificativos solamente. Otros ensayos para estas moléculas y ensayos para otras moléculas involucradas en los eventos mediados por entrada de calcio también pueden ser empleados en cualquiera de los métodos de screening y/o modulación descritos en esta invención.

Liberación de β–hexosaminidasa

En células cebadas, el influjo de Ca^{2+} da como resultado la desgranulación y liberación de mediadores inflamatorios tales como heparina, histamina y enzimas tales como β–hexosaminidasa. La detección y/o medición de la liberación de dichas moléculas puede así emplearse para monitorear el calcio intracelular. Por ejemplo, puede recolectarse medio de células cebadas. Un sustrato adecuado para β–hexosaminidasa (por ej. p–nitrofenil–acetil–glucosamida) puede ser luego agregado y se puede evaluar la absorbancia de la mezcla resultante para medir la cantidad relativa de actividad de β–hexosaminidasa en las muestras (Funaba *et al.* (2003) *Cell Biol. International* 27:879–85).

Actividad de Fosfatasa CaN Dependiente de Calcio/ Calmodulina

La fosfatasa calcineurina (CaN) desfosforila diversas proteínas, afectando su actividad y localización. La actividad de CaN puede evaluarse incubando CaN purificada y un sustrato de CaN, por ejemplo un péptido radioetiquetado correspondiente a una secuencia en la subunidad RII de quinasa dependiente de cAMP, ya sea con o sin un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) (ver, Trevillyan *et al.* (2001) *J. Biol. Chem* 276:48118–26). El nivel de péptido radioetiquetado y/o la cantidad de fosfato inorgánico libre liberado se pueden medir para evaluar la actividad de desfosforilación de CaN.

Actividad Transcripcional de NFAT

El factor de transcripción NFAT (factor nuclear de células T activadas) regula una cantidad de genes en respuesta a los niveles de calcio intracelular. Por ejemplo, las proteínas NFAT regulan la transcripción de genes de citoquina involucrados en la respuesta inmune. Los promotores de genes regulados por NFAT, y/o regiones y elementos reguladores de estos genes, pueden emplearse para monitorear la expresión regulada por NFAT y de ese modo monitorear el calcio intracelular. Las fusiones de genes reporteros pueden ser construidas con promotores regulados por NFAT o elementos regulados por NFAT ligados operativamente a un gen reportero tal como luciferasa, β–galactosidasa, proteína fluorescente verde (GFP, por sus siglas en inglés) o cualquier otro reportero conocido en la técnica (ver por ejemplo, Solicitud estadounidense publicada no. 2002–0034728). La cantidad de proteína reportera o actividad es una medida de la actividad de NFAT.

Fosforilación de NFAT

La activación de NFAT es regulada principalmente a través de su fosforilación, la cual, a su vez, regula su localización subcelular. En células no estimuladas, NFAT es una proteína citosólica hiperfosforilada. Una elevación en Ca^{2+} intracelular, inducida por una variedad de mecanismos, aumenta la actividad de la fosfatasa dependiente de Ca^{2+}–calmodulina, calcineurina. La calcineurina activada desfosforila múltiples residuos de serina dentro de la región reguladora de la molécula de NFAT. NFAT es refosforilada como respuesta a disminuciones en los niveles de Ca^{2+} o inhibición de CaN.

El estado de fosforilación de NFAT puede ser monitoreado por ejemplo, expresando una proteína NFAT detectablemente marcada en células, tales como una NFAT marcada con His6. NFAT marcada puede ser purificada a partir de células utilizando cromatografía de Ni^{2+} y puede ser sometida a electroforesis en gel y tinción o western blotting. Las formas más altamente fosforiladas de NFAT pueden ser distinguidas por su migración más lenta. El estado de NFAT fosforilada puede emplearse como una medida de activación de NFAT (ver, Trevillyan *et al.* (2001) *J. Biol. Chem* 276:48118–26).

Localización Nuclear de NFAT

La localización de NFAT entre el citoplasma y el núcleo es regulada por el estado de fosforilación de NFAT. La fosforilación de NFAT evita la localización nuclear enmascarando la secuencia de localización nuclear. La localización nuclear de NFAT puede ser monitoreada, por ejemplo, mediante la expresión de NFAT fluorescentemente etiquetada, por ejemplo, GFP–NFAT, en células. Se puede emplear microscopia confocal para monitorear la localización nuclear de la NFAT marcada (ver, Trevillyan *et al.* (2001) *J. Biol. Chem* 276:48118–26).

Secreción de Citoquinas

La secreción de citoquinas, tal como secreción de IL–2, puede ser monitoreada empleando ensayos de detección de proteínas. Por ejemplo, el sobrenadante puede ser recolectado de células inmunes. Un ensayo

ELISA u otro formato adecuado con anticuerpos contra IL–2 puede utilizarse para detectar y/o medir la cantidad de IL–2 secretada en comparación con las células control. La secreción de otras citoquinas, por ejemplo, TNF–α, también puede ser detectada en ensayos similares.

Expresión de Citoquinas

La expresión de citoquinas, tales como, aunque sin limitarse a IL–2, puede ser evaluada ya sea directa o indirectamente en células. Por ejemplo, en métodos indirectos, un promotor de IL–2 puede ser ligado operativamente a un gen reportero tal como luciferasa o β–galactosidasa, y el constructo reportero introducido en células. La expresión del gen reportero puede ser monitoreada y comparada con la expresión genética en células control (ver, Trevillyan *et al.* (2001) *J. Biol. Chem* 276:48118–26). Alternativamente, la expresión de ARNm o proteína de IL–2 endógeno o recombinante puede ser evaluada.

Proliferación de Células T

Las citoquinas tales como IL–2 son necesarias para la proliferación de células T como respuesta a estimulación con mitógenos o aloantígenos, y así la proliferación de células T es alterada por cambios en la expresión o secreción de citoquinas. Las células T pueden ser inducidas, tal como con concanavalina A o linfocitos alorreactivos y puede medirse la proliferación de células T, por ejemplo, sometiendo a las células a un pulso de ^{3}H–timidina y midiendo la incorporación de ^{3}H–timidina (ver, Trevillyan et al. (2001) *J. Biol. Chem* 276:48118–26).

En algunas instancias, la modulación (por ej. inhibición o reducción) de SOCE por los compuestos presentados en esta invención se determina mediante evaluación de cualquiera de los siguientes criterios:

a. existe inhibición directa de $[Ca^{2+}]i$ en aumento según lo medido por un indicador de calcio;

b. existe inhibición directa de I_{SOC} o I_{CRAC} según lo medido por “patch clamp”;

c. existe inhibición de funciones de señalización corriente abajo tales como actividad de calcineurina, localización subcelular de NFAT, fosforilación de NFAT, y/o citoquina, por ej., IL–2, producción; o

d. existen modificaciones en la proliferación celular inducida por activación, diferenciación y/o trayectorias de señalización apoptótica.

Modelos Animales

Los modelos animales que pueden utilizarse en las instancias de los métodos incluyen además animales, tales como, aunque sin limitarse a, animales no humanos, los cuales tienen, en al menos algunas de sus células, una alteración o defecto en, o funcionamiento aberrante de, un proceso celular el cual se basa en o es regulado por calcio intracelular. Los procesos celulares que se basan en, o son regulados por calcio intracelular incluyen, por ejemplo, activación celular, expresión genética, tráfico celular, y apoptosis. Las enfermedades / trastornos que involucran defectos que pueden ser al menos parcialmente compensados por la modulación de calcio intracelular incluyen, aunque sin limitarse a: trastornos autoinmunes, incluyendo artritis reumatoidea, enfermedad intestinal inflamatoria, síndrome de Sjogren (citoquinas asociadas con invasión de linfocitos de células epiteliales salivares pueden reducir la movilización de calcio en células parótidas; también, activación de células T, incluyendo la activación de factores de transcripción, expresión genética de citoquinas, y proliferación celular, depende de la elevación sostenida de nivel de calcio intracelular proporcionado por el influjo de calcio activado por el vaciado de depósitos intracelulares), asma (entrada de calcio activada por vaciado de depósitos intracelular puede jugar un rol importante en la mediación de la constricción bronquial y la proliferación de células de la musculatura lisa bronquial), glomerulonefritis e inflamación glomerular (cambios en calcio intracelular, tales como por Entrada de calcio activado por depósitos intracelulares, adhesión de monocitos de señal en un modelo de cocultivo de inflamación glomerular).

Los tipos de modelos animales incluyen, aunque sin limitarse a, animales no humanos, tales como invertebrados y vertebrados no humanos y mamíferos no humanos, roedores (por ej., ratones, rata y hámster), vacas, gallinas, cerdos, cabras, perros, ovejas, insectos, Drosophila, nemátodos, gusanos, C. elegans, monos, gorilas y otros primates.

Los modelos animales incluyen animales transgénicos y no transgénicos. Un ejemplo de ese tipo de modelo animal que puede utilizarse en instancias particulares de los métodos es un modelo de roedor de hiperactividad de las vías respiratorias (AHR, por sus siglas en inglés), una característica del asma. Este modelo puede ser generado, por ejemplo, mediante sensibilización a través de inmunización con ovalbúmina seguido por exposición a ovalbúmina aerosolizada y desafío mediante estimulación colinérgica (por ej., por medio de la administración de metacolina o acetilcolina) (ver, por ej., Xu e*t al.* (2002) *J. Appl. Physiol.* 93:1833–1840; Humbles *et al* (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99:1479–1484). La hiperactividad de las vías respiratorias (la cual puede ser evaluada empleando métodos, tales como por ej., utilizando pletismografía barométrica para registrar curvas de presión respiratoria y a través de la medición de parámetros pulmonares tales como

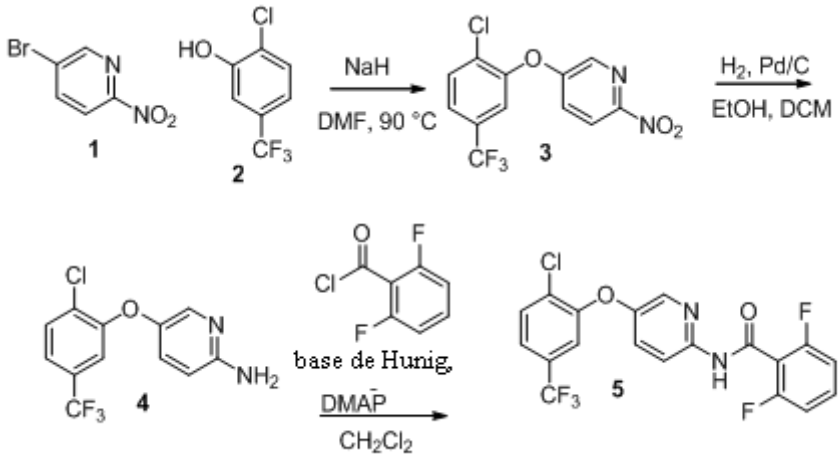
conductancia pulmonar y compromiso pulmonar) puede evaluarse y compararse en animales tratados y no tratados con un compuesto presentado en esta invención. Un ejemplo adicional de un modelo animal que puede ser empleado en instancias particulares de los métodos es un modelo de roedor de glomerulonefritis proliferativa mesangial, la cual puede ser generada, por ejemplo, mediante administración de anticuerpo anti–Thy1.1 (ver, por ej., Jefferson y Johnson (1999) *J. Nephrol.* 12:297–307). Cualquier cantidad de parámetros indicativos de glomerulonefritis o disfunción renal (por ej., proliferación de células mesangiales, presión sanguínea, excreción de proteína urinaria, evacuación de creatinina, índice de glomeruloesclerosis y otros parámetros) puede evaluarse y compararse en animales tratados con y no tratados con agente de ensayo. El ratón diabético no obeso (NOD, por sus siglas en inglés), y cepa de ratón consanguínea que desarrolla espontáneamente diabetes autoinmune, que comparte muchas características inmunogenéticas con la diabetes mellitus Tipo 1, es otro ejemplo de un modelo animal que puede ser empleado en una instancia particular de los métodos. Estos ratones también manifiestan muchas características de exocrinopatía autoinmune (tal como síndrome de Sjorgen) incluyendo disminución de la función secretora de tejido exocrino (ver, por ej., Humphreys–Beher y Peck (1999) *Arch. Oral Biol.* 44 Suppl 1:S21–25 y Brayer *et al.* (2000) *J Rheumatol.* 27:1896–1904). Las características relevantes para el síndrome de Sjorgen (por ej., infiltrados linfocíticos en glándulas exocrinas (por ej., glándulas salivares y lagrimales), presencia de células dendríticas y macrófagos en glándulas submandibulares, integridad de la glándula lagrimal por medición de secreción lagrimal basal y estimulada, índices de flujo de saliva y actividad de amilasa) puede evaluarse y compararse en animales tratados con y no tratados con un compuesto descrito en esta invención. Un modelo animal (por ej., de roedor) de enfermedad autoinmune también puede ser empleado en instancias particulares de los métodos. Dichos animales incluyen modelos de rata disponibles a través de National Institutes of Health (NIH) Autoimmune Rat Model Repository y Development Center (Bethesda, Md.; puede accederse en www.ors.od.nih.gov/dirs/vrp/ratcenter). Un modelo de rata de artritis reumatoidea (AR) y enfermedades autoinmunes crónicas/ inflamatorias relacionadas es el modelo de artritis inducida por colágeno (CIA, por sus siglas en inglés) (ver, por ej., Griffiths y Remmers (2001) *Immunol. Rev.* 184:172–183). Los fenotipos característicos de enfermedad autoinmune (por ej. niveles alterados de reactividad inmune a auto–antígenos, inflamación crónica de órganos objetivo que expresan autoantígenos, y activación y participación de células mononucleares invasoras y fibroblastos tisulares en daño de órganos) pueden ser evaluados y comparados en animales tratados con y no tratados con un compuesto presentado en esta invención. Un modelo de animal (por ej., roedor) de dolor neuropático o inflamatorio también puede ser empleado en una instancia particular de los métodos. Por ejemplo, un modelo de rata de dolor neuropático involucra el desarrollo de alodinia táctil (respuesta exagerada a estímulos de otro modo inocuos) luego de ligación de nervios espinales lumbares (ver, por ej., Chaplan *et al.* (1994) *J. Neurosci. Methods* 53:55–63 y Luo *et al.* (2001) *J. Neurosci.* 21:1868–1875). La alodinia táctil, un rasgo característico del dolor neuropático, puede ser evaluada (por ej., evaluando el umbral de retiro de la pata como respuesta a la aplicación de presión) y comparado en animales tratados y no tratados con un compuesto descrito en esta invención.

EJEMPLOS

Estos ejemplos son proporcionados por cuestiones ilustrativas solamente y no tienen el propósito de limitar el alcance de las reivindicaciones proporcionadas en esta invención. Los materiales de partida y reactivos empleados para la síntesis de los compuestos descritos en esta invención pueden ser sintetizados o pueden ser obtenidos de fuentes comerciales, tales como, aunque sin limitarse a, Sigma–Aldrich, Acros Organics, Fluka, y Fischer Scientific.

Ejemplos Sintéticos

Ejemplo 1: Síntesis de N–(5–(2–cloro–5–(trifluormetil)fenoxi)piridin–2–il)–2,6–difluorbenzamida (5)



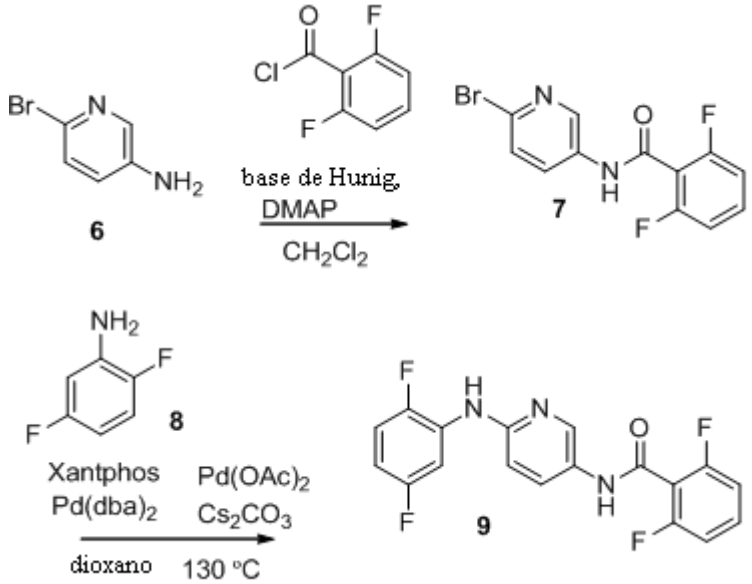
Preparación de 5–(2–cloro–5–(trifluormetil)fenoxi)–2–nitropiridina (3).

Bajo una atmósfera de argón, se agregó hidruro sódico (23,7 mg, 0,99 mmol, 60% dispersión en aceite mineral) a una solución de fenol **2** (194 mg, 0,99 mmol) en DMF (2.5 ml) y se agitó durante 10 minutos. A esta solución se le agregó bromuro **1** (100 mg, 0,49 mmol). La mezcla resultante se calentó bajo argón a 90 ºC con agitación durante 4 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se templó con agua (10 mL), se extrajo con acetato de etilo (3 × 5 mL) y los extractos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y concentraron bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–50% acetato de etilo en hexano) proporcionó **3** (113 mg, 72%) en forma de sólido.

Preparación de 5–(2–cloro–5–(trifluormetil)fenoxi)piridin–2–amina (4). 10% Pd/C (38 mg, 35 µmol, 10 mol % Pd) se agregó a cloruro **3** (113 mg, 353 µmol) en etanol: diclorometano (3:1, 4.0 mL). La mezcla se desgasificó y se colocó bajo H_2 (1 atm) y se secó durante 1 h. La mezcla, filtrada a través de un filtro de jeringa de 0.45 µm se concentró bajo presión reducida para proporcionar **4** (98.1 mg, 96%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 289,4 $[M+H]^+$, calc. para $C_{12}H_9Cl_1F_3N_2O_1$ 289,0.

Preparación de N–(5–(2–cloro–5–(trifluormetil)fenoxi)piridin–2–il)–2,6–difluorbenzamida (5). Bajo una atmósfera de argón, se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (15,3 mg, 87 µmol) a una solución agitada de **4** (25 mg, 87 µmol), base de Hünig (45 µL, 34 mg, 260 µmol), y DMAP (1,1 mg, 8,8 µmol) en diclorometano (500 µL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 16 h. La mezcla se concentró bajo presión reducida. La purificación por cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–50% acetato de etilo en hexano) luego HPLC (columna C18, 30 × 250 mm, 40–100% acetonitrilo en agua: 0,035% CF_3COOH: 50 mL/min) proporcionó **5** (14,6 mg, 39%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 429.3 $[M+H]^+$, calc. para $C_{19}H_{11}Cl_1F_5N_2O_2$ 429,0.

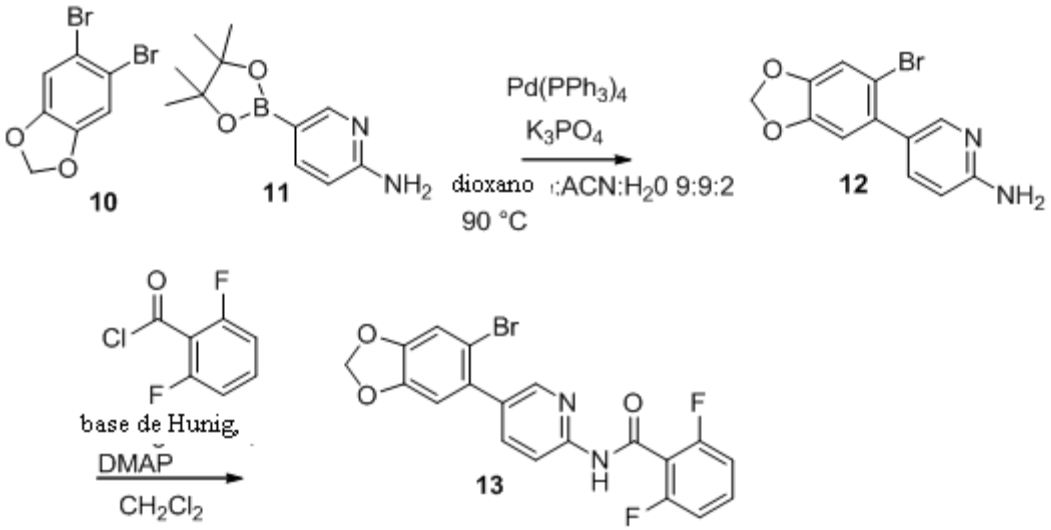
Ejemplo 2: Síntesis de N–(6–((2,5–difluorfenil)amino)piridin–3–il)–2,6–difluorbenzamida (9)



Preparación de N–(6–bromopiridin–3–il)–2,6–difluorbenzamida (7). Bajo una atmósfera de argón, se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (1,12 g, 6,4 mmol) a una solución agitada de **6** (1,0 g, 5,8 mmol), base de Hünig (4,0 mL, 3,0 g, 23 mmol), y DMAP (71 mg, 0,6 mmol) en diclorometano (26 mL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 20 minutos luego se apagó mediante la adición de una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL). La mezcla se extrajo con diclorometano (2 × 30 mL) y los extractos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y concentraron bajo presión reducida. La cromatografía flash (Sistema ISCO, sílice, 0–50% acetato de etilo en hexano) proporcionó **7** (1,4 g, 77%) en forma de un sólido cristalino: LRESIMS *m/z* 313,4 $[M+H]^+$, calc. para $C_{12}H_8Br_1F_2N_2O_1$ 313,0.

Preparación de N–(6–((2,5–difluorfenil)amino)piridin–3–il)–2,6–difluorbenzamida (9). Se agregó acetato de paladio (5,1 mg, 22 µmol) y $Pd(dba)_2$ (9,9 mg, 9 µmol) a una solución desgasificada de bromuro **7** (60 mg, 192 µmol), anilina **8** (62 mg, 479 µmol), Xantphos (11,1 mg, 19 µmol) y Cs_2CO_3 (187 mg, 575 µmol) en dioxano. La mezcla resultante se calentó bajo argón a 130 ºC con agitación durante 1 h. La mezcla se enfrió, se filtró a través de célite, y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–50% acetato de etilo en hexano) proporcionó **9** (38,4 mg, 55%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 362,3 $[M+H]^+$, calc. para $C_{18}H_{12}F_4N_3O_1$ 362.1.

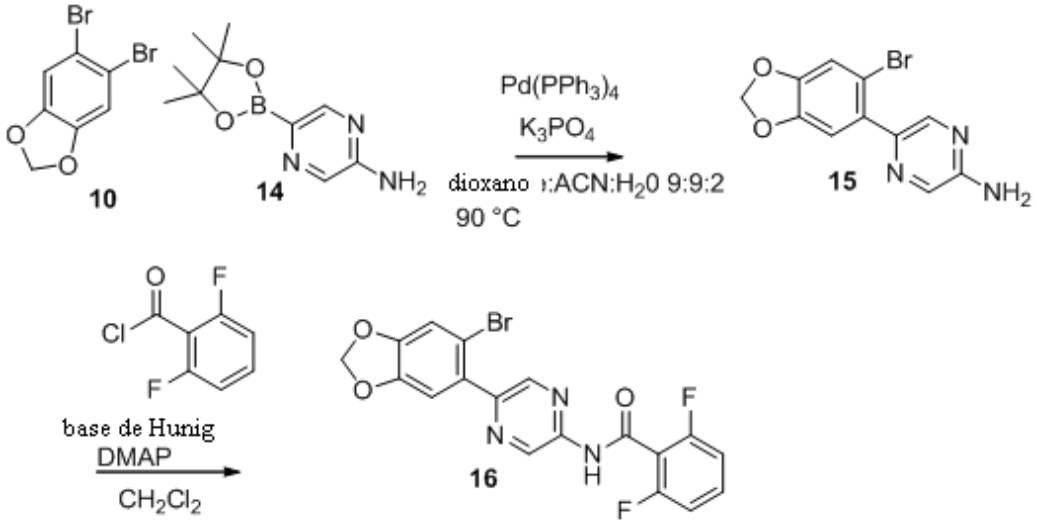
Ejemplo 3: Síntesis de N–(5–(6–bromobenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–il)–2,6–difluorbenzamida (13)



Preparación de 5–(6–bromobenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–amina (12). Se agregó tetrakis–trifenilfosfina de paladio (74 mg, 60 µmol) a una solución desgasificada de dibromuro **10** (360 mg, 1,3 mmol) y boronato **11** (311 mg, 1,4 mmol) en dioxano : acetonitrilo : agua (9:9:2, 6,4 mL) y carbonato potásico (409 mg, 1,9 mmol). La mezcla resultante se calentó bajo argón a 90 ºC con agitación durante 1 h. La mezcla luego se enfrió, se diluyó con diclorometano (10 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (Sistema ISCO, sílice, 0–10% metanol en diclorometano) proporcionó **12** (223 mg, 59%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 293,1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{12}H_{10}Br_1N_2O_2$ 293,0.

Preparación de N–(5–(6–bromobenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–il)–2,6–difluorbenzamida (13). Bajo una atmósfera de argón, se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (1,7 g, 9,4 mmol) a una solución agitada de **12** (1,5 g, 5,2 mmol), base de Hünig (2,7 mL, 2,0 g, 15,7 mmol), y DMAP (64 mg, 0,5 mmol) en diclorometano (23 mL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 0,5 h. La solución se diluyó con tetrahidrofurano (20 mL), metanol (10 mL) y solución de hidróxido de litio 1,2 M (12 mL). La mezcla se agitó y calentó hasta 65 ºC durante 30 min luego se enfrió hasta temperatura ambiente, se templó con salmuera (50 mL), y se extrajo con diclorometano (3 × 100 mL). Los extractos combinados se secaron con sulfato sódico y se concentraron bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–20% acetato de etilo en hexano) proporcionó **13** (1.64 g, 73%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 433.0 $[M+H]^+$, calc. para $C_{19}H_{12}Br_1F_2N_2O_3$ 433,0.

Ejemplo 4: Síntesis de N–(5–(6–bromobenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–il)–2,6–difluorbenzamida (16)

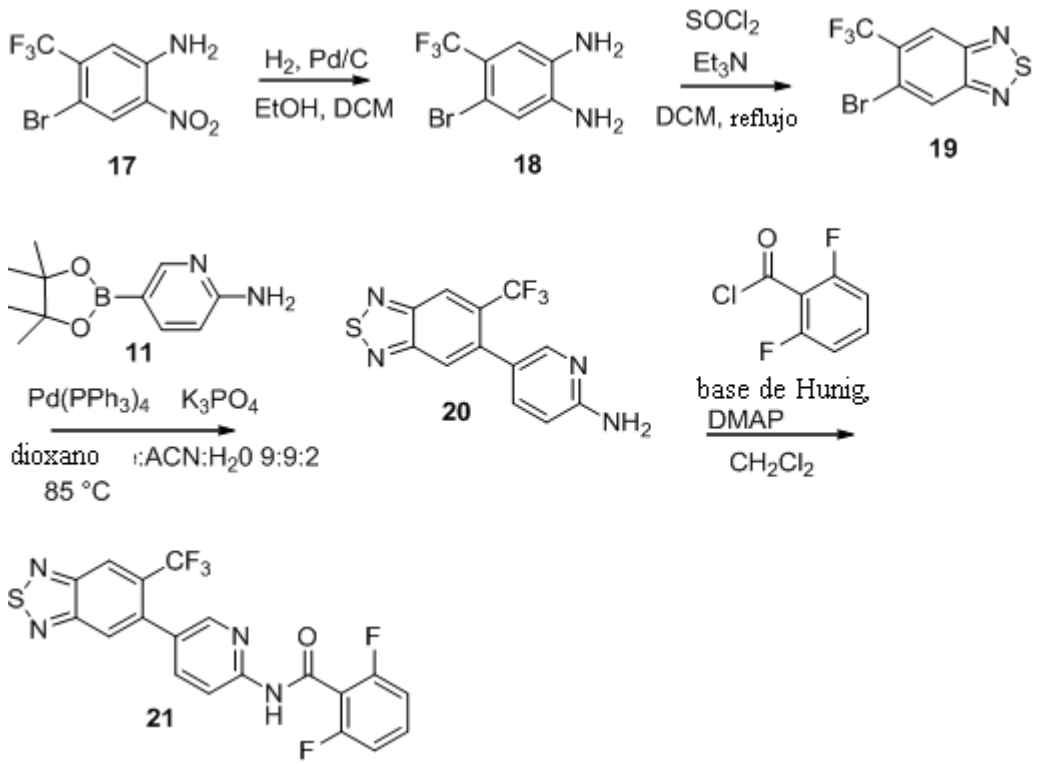


Preparación de 5–(6–bromobenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–amina (15). Se agregó tetrakis-trifenilfosfina de paladio (31 mg, 30 µmol) a una solución desgasificada de dibromuro **10** (150 mg, 54 µmol) y boronato **14** (130 mg, 59 µmol) en dioxano : acetonitrilo : agua (9:9:2, 2,7 mL) y carbonato potásico (171 mg, 800 µmol). La mezcla resultante se calentó bajo argón a 90 ºC con agitación durante 2 h. La mezcla luego se enfrió, se diluyó

con diclorometano (10 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (Sistema ISCO, sílice, 0–50% acetato de etilo en hexano) proporcionó **15** (19.6 mg, 12%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 294.1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{11}H_9Br_1N_3O_2$ 294,0.

Preparación de N–(5–(6–bromobenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–il)–2,6–difluorbenzamida (16). Bajo una atmósfera de argón, se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoílo (8,6 mg, 48 µmol) a una solución agitada de **15** (9,5 mg, 32 µmol), base de Hünig (17 µL, 13 mg, 97 µmol), y DMAP (1 mg, 8 µmol) en diclorometano (200 µL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 25 min. La solución se diluyó con tetrahidrofurano (750 µL), metanol (500 µL) y solución de hidróxido de litio 1,2 M (250 µL). La mezcla se agitó y calentó hasta 60 ºC durante 10 min luego se enfrió hasta temperatura ambiente y se diluyó con diclorometano (5 mL) y se secó con sulfato sódico. La mezcla se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–50% acetato de etilo en hexano) proporcionó **16** (9,3 mg, 66%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 434.0 $[M+H]^+$, calc. para $C_{18}H_{11}Br_1F_2N_3O_3$ 434,0.

Ejemplo 5: Síntesis de 2,6–difluor–N–(5–(6–(trifluormetil)benzo[c][1,2,5]tiadiazol–5–il)piridin–2–il)benzamida (21)



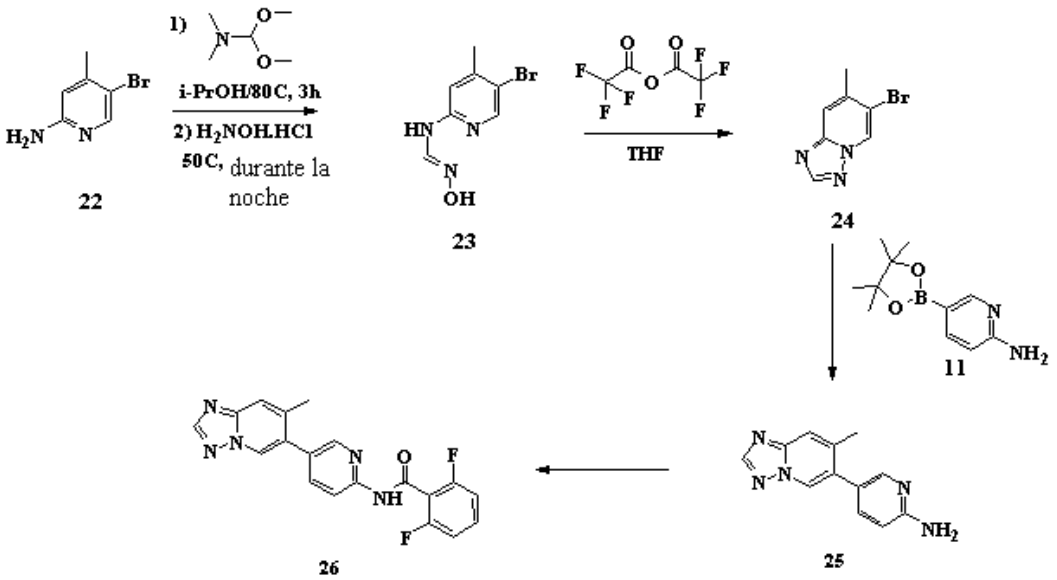
Preparación de 4–bromo–5–(trifluormetil)bencen–1,2–diamina (18). 10% Pd/C (373 mg, 0,4 mmol, 10 mol % Pd) se agregó al compuesto **17** (1,0 g, 3,5 mmol) en etanol : diclorometano (8:1, 140 mL). La mezcla se desgasificó y se colocó bajo H_2 (1 atm) y se agitó durante 30 min. La mezcla se filtró a través de un filtro de jeringa de 0,45 y se concentró bajo presión reducida para proporcionar **18** (865 mg, 97%) como un aceite: LRESIMS *m/z* 255,0 $[M+H]^+$, calc. para $C_7H_7Br_1F_3N_2$ 255,0.

Preparación de 5–bromo–6–(trifluormetil)benzo[c][1,2,5]tiadiazol (19). Se agregó por goteo cloruro de tionilo (373 mg, 3,1 mmol) en diclorometano (0,8 mL) a una solución reflujante de diamina **18** (500 mg, 2,0 mmol) y trietilamina (794 mg, 7,8 mmol) en diclorometano (8,0 mL). La mezcla se reflujó con agitación durante 4 h. La mezcla luego se enfrió hasta temperatura ambiente, se templó con agua (20 mL), y se extrajo con diclorometano (3 × 75 mL). Los extractos combinados se secaron con sulfato sódico y se concentraron bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–25% acetato de etilo en hexano) proporcionó **19** (377 mg, 68%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 294.1.

Preparación de 5–(6–(trifluormetil)benzo[c][1,2,5]tiadiazol–5–il)piridin–2–amina (20). Se agregó tetrakis-trifenilfosfina de paladio (41 mg, 40 µmol) a una solución desgasificada de bromuro **19** (200 mg, 710 µmol) y boronato **11** (280 mg, 1,3 mmol) en dioxano : acetonitrilo : agua (9:9:2, 3,5 mL) y carbonato potásico (225 mg, 1,1 mmol). La mezcla resultante se calentó bajo argón a 85 ºC con agitación durante 1 h. La mezcla luego se enfrió, se diluyó con diclorometano (15 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–4% metanol en diclorometano) proporcionó **20** (151 mg, 72%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 297,2 $[M+H]^+$, calc. para $C_{12}H_8F_3N_4S_1$ 297.0.

Preparación de 2,6–difluor–N–(5–(6–(trifluormetil)benzo[c][1,2,5]tiadiazol–5–il)piridin–2–il)benzamida (21). Bajo una atmósfera de argón, se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (27 mg, 152 µmol) a una solución agitada de **20** (30 mg, 101 µmol), base de Hünig (53 µL, 39 mg, 304 µmol), y DMAP (1 mg, 8 µmol) en diclorometano (500 µL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 10 min. La solución se diluyó con tetrahidrofurano (1.5 mL), metanol (1 mL) y solución de hidróxido de litio 1,2 M (500 µL). La mezcla se agitó y calentó hasta 60 ºC durante 10 min luego se enfrió hasta temperatura ambiente y se diluyó con diclorometano (5 mL) y se secó con sulfato sódico. La mezcla se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (Sistema ISCO, sílice, 0–30% acetato de etilo en hexano) proporcionó **21** (33.6 mg, 76%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 437.1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{19}H_{10}F_5N_4O_1S_1$ 437,1.

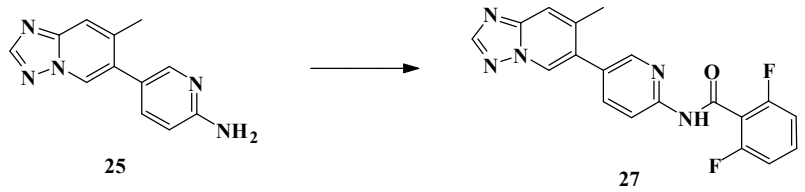
Ejemplo 6: Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(7–metil(4–hidro–1,2,4–triazolo[1,5–a]piridin–6–il))(2–piridil)]carboxamida (26)



Preparación de 6–bromo–7–metil–4–hidro–1,2,4–triazolo[1,5–a]piridina (24). Una mezcla de 5–bromo–4–metil–2–piridilamina (1g, 5,35 mmol) y DMF–DMA (924µl, 1,3 eq.) en 3 ml de isopropil alcohol se agitó a 80°C durante 3 h. Después de enfriamiento hasta t.a., se agregó clorhidrato de hidroxilamina (483 mg, 1,3 eq) y la mezcla se calentó durante toda la noche a 50ºC. Luego del enfriamiento, la mezcla de reacción se evaporó hasta sequedad. El residuo sólido se sonicó en ca. 10 ml DCM. Se aislaron 1,353 g de compuesto intermedio **23** en forma de sólido blancuzco luego de filtración y lavado con DCM. El compuesto intermedio **23** (1,353g) se suspendió en 15 ml THF y la mezcla se enrió hasta 0°C. Se agregó anhídrido trifluoracético (899 µl, 1,1 eq.) y la mezcla de reacción se agitó a 0C durante 15min luego 3h a t.a. antes de templado con solución de $NaHCO_3$ ac. La mezcla de reacción se extrajo dos veces con acetato de etilo. La fase org. se secó sobre sulfato sódico, se concentró y luego fue sometida a cromatografía en columna sobre gel de sílice empleando 0–100%B (A: hexano; B: 50% EA en hexano) como eluyente. Se aislaron 749,9 mg de compuesto **24** como sólido blanco. Rendimiento total: 66%.

Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(7–metil(4–hidro–1,2,4–triazolo[1,5–a]piridin–6–il))(2–piridil)]carboxamida (26) Una mezcla de 6–bromo–7–metil–4–hidro–1,2,4–triazolo[1,5–a]piridina (**24**) (212mg, 1 mmol),éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (**11**) (220 mg, 1 mmol), bis(ditercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (71 mg, 0,1 mmol) y K_3PO_4 (212 mg, 1 mmol) en 2ml ACN, 2ml dioxano, 0,5 ml H_2O se burbujeó con argón antes de calentarse a 85ºC durante 2,5h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción se absorbió en acetato de etilo, se lavó con $NaHCO_3$ ac. y salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se concentró hasta sequedad. El compuesto intermedio sólido de color rojo anaranjado crudo resultante **25** se empleó directamente para el acoplamiento de amida del paso siguiente.

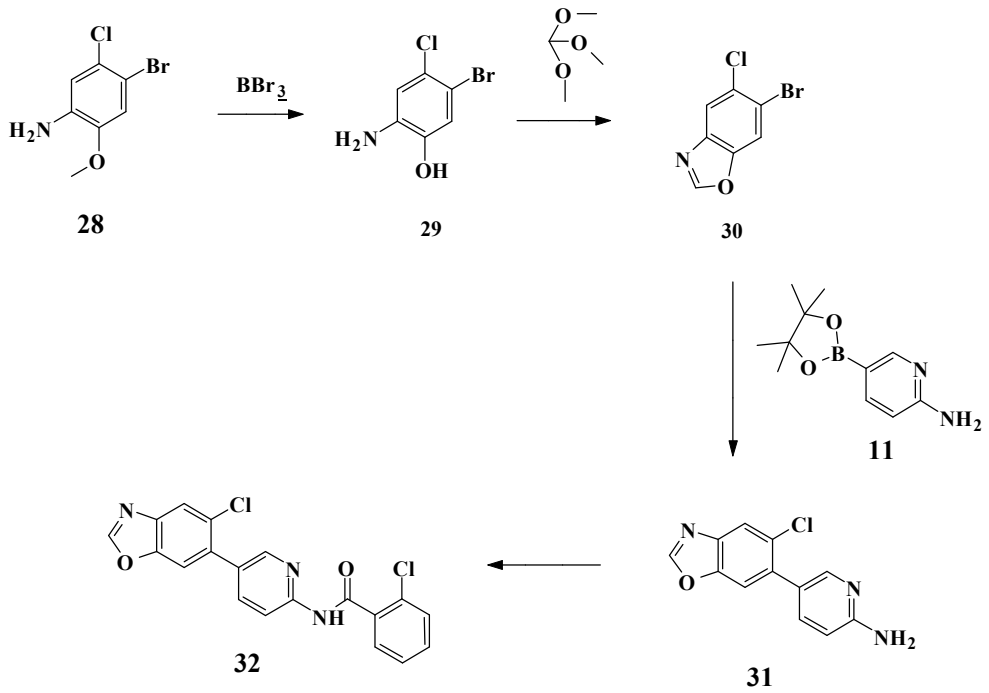
A una solución de compuesto intermedio en bruto **25** (ca. 0,3 mmol) en 2 ml de DCM se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoílo (75µl, 0,6 mmol) seguido por la adición de DIEA (313 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante toda la noche. La mezcla de reacción se elaboró con $NaHCO_3$/DCM ac.. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 2ml THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con 1N NaOH (600 µl) a t.a. durante 1h antes de la elaboración con EA/ $NaHCO_3$ ac. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó 62,3 mg (2,6–difluorfenil)–N–[5–(7–metil(4–hidro–1,2,4–triazolo[1,5–a]piridin–6–il))(2–piridil)]carboxamida (**26**) como un sólido blanco. (rendimiento total: 57%).



Ejemplo 7: Preparación de (2–Clorofenil)–N–[5–(7–metil(4–hidro–1,2,4–triazolo[1,5–a]piridin–6–il))(2–piridil)]carboxamida (27)

En un procedimiento similar al descrito anteriormente, se preparó (2–clorofenil)–N–[5–(7–metil(4–hidro–1,2,4–triazolo[1,5–a]piridin–6–il))(2–piridil)]carboxamida (**27**) (rendimiento: 68,7%) como sólido blanco a partir del compuesto intermedio en bruto **25** mediante reacción con cloruro de 2–clorobenzoílo.

Ejemplo 8: Síntesis de 2–cloro–N–(5–(5–clorobenzo[d]oxazol–6–il)piridin–2–il)benzamida (32)



Preparación de 2–amino–5–bromo–4–clorofenol (29): A una suspensión de 4–bromo–3–cloro–6–metoxianilina (**28**) (944 mg, 4 mmol) en 10 ml DCM se agregó 1 M BBr_3 en DCM (8 ml, 8 mmol). La mezcla de reacción se agitó a t.a. durante 2h, lo cual se convirtió en una solución marrón y nuevamente en una suspensión marrón. Después del templado con solución de bicarbonato sódico ac., la mezcla se extrajo con EA (acetato de etilo). La fase org. se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se concentró hasta sequedad para dar 865 mg de **29** como un sólido marrón. Rendimiento: 97,2%, pureza > 95%.

Preparación de 6–bromo–5–clorobenzoxazol (30): Una mezcla de 2–amino–5–bromo–4–clorofenol (**29**) (865mg, 3,89 mmol), sal Iterbio (III) del ácido trifluormetansulfónico (24mg, 1%mol) y trimetil ortoformiato (511µl, 1,2 eq.) en 2 ml EtOH se calentó a 90°C durante 2h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en acetato de etilo (EA), se lavó con $NaHCO_3$ ac. y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se concentró hasta sequedad. El sólido marrón resultante se disolvió en DCM y se sometió a purificación en columna de gel de sílice empleando 0–100%B (A: hexano; B: 50% EA en hexano) para proporcionar 590 mg **30** como un sólido amarillo (rendimiento: 65,2%).

Preparación de 5–(5–clorobenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (31): Una mezcla de 6–bromo–5–clorobenzoxazol (**30**) (232mg, 1 mmol), éster de pinacol de ácido 2–aminopiridin–5–borónico (**11**) (220 mg, 1 mmol), Bis(di–terc–butil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (A–Phos) (70 mg, 0,1 mmol) y K_3PO_4 (212 mg, 1 mmol) en 2ml ACN, 2ml dioxano, 0,5 ml H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 2h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción se absorbió en acetato de etilo, se lavó con $NaHCO_3$ ac. y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se concentró hasta sequedad. El sólido rojo resultante se

disolvió en DCM y se sometió a purificación en columna de gel de sílice empleando 0–100%B (A: hexano; B: EA) para proporcionar 165,6 mg **31** como un sólido naranja (rendimiento: 67,4%)

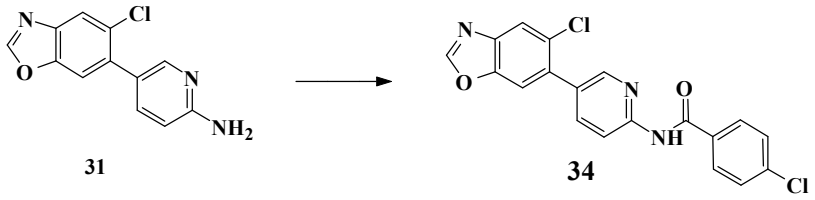
Preparación de N–[5–(5–clorobenzoxazol–6–il)(2–piridil)](2–clorofenil)carboxamida (32):

A una solución de 5–(5–clorobenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (**31**) (23 mg, 0,09 mmol) y 2 mg de DMAP en 2 ml de DCM se agregó cloruro de 2–clorobenzoílo (23µl, 0,18 mmol) seguido por la adición de DIEA (94 µl). La solución marrón resultante se agitó a t.a. durante toda la noche. La mezcla de reacción se trabajó con $NaHCO_3$ ac./ DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 2 ml THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (135 µl) a t.a. durante 30min antes de trabajarse con EA/ $NaHCO_3$ ac. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó 17mg **32** en forma de sólido amarillo pálido. (rendimiento: 49%).

Ejemplo 9: Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–clorobenzoxazol–6–il)(2–piridil)]carboxamida (33)

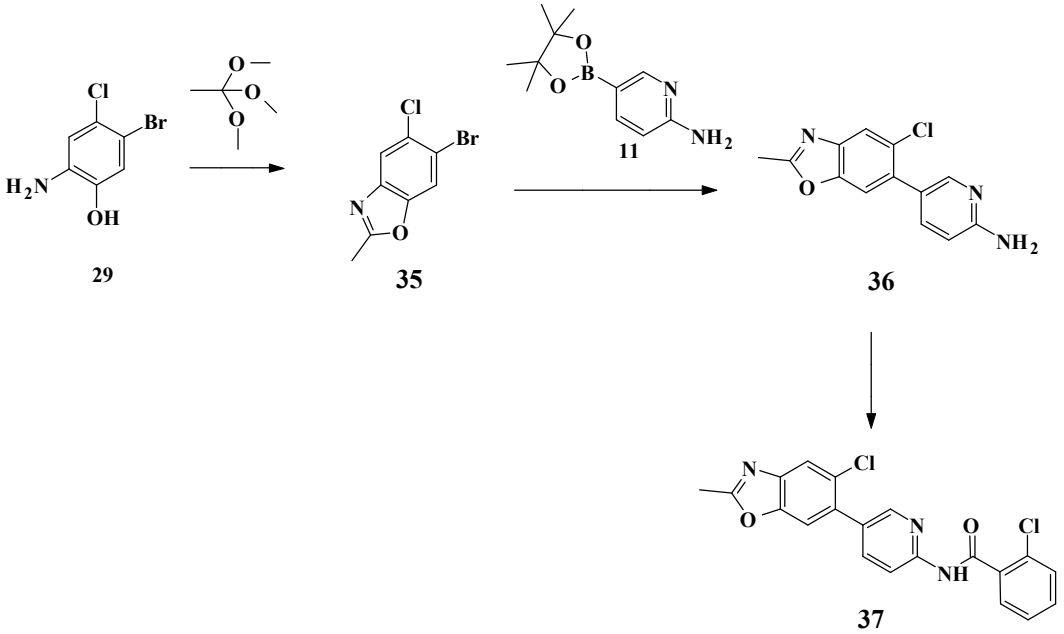
En un procedimiento similar al descrito anteriormente, se preparó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–clorobenzoxazol–6–il)(2–piridil)]carboxamida (**33**) (rendimiento: 18%) como un sólido amarillo a partir de 5–(5–clorobenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (**31**) mediante reacción con cloruro de 2,6–difluorbenzoílo.

Ejemplo 10: Preparación de N–[5–(5–clorobenzoxazol–6–il)(2–piridil)](4–clorofenil)carboxamida (34).



En un procedimiento similar al descrito anteriormente, N–[5–(5–clorobenzoxazol–6–il)(2–piridil)](4–clorofenil)carboxamida (**34**) (rendimiento: 17%) como un sólido amarillo fue preparada a partir de 5–(5–clorobenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (**31**) mediante reacción con cloruro de 4–clorobenzoílo.

Ejemplo 11: Preparación de N–[5–(5–cloro–2–metilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)](2–clorofenil)carboxamida (37)

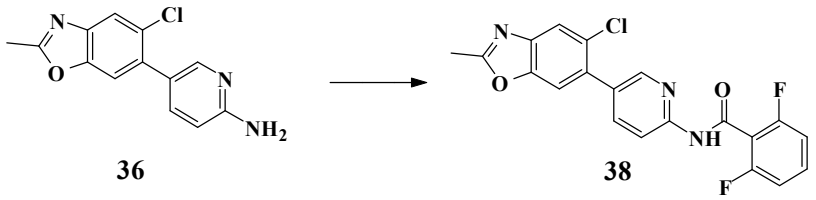


Preparación de 6–bromo–5–cloro–2–metilbenzoxazol (35): Una mezcla de 2–amino–5–bromo–4–clorofenol (**29**) (865mg, 3,89 mmol), sal de Iterbio (III) del ácido trifluormetansulfónico (24mg, 1%mol) y trimetil ortoacetato (610µl, 1,2 eq.) en 3 ml EtOH se calentó a 90°C durante 1h. Luego de enfriamiento hasta t.a., se cayeron agujas de color blanco mate, las cuales se filtraron, se lavaron con MeOH, agua y se secaron para dar 791 mg del compuesto del título como un sólido cristalino blanco mate. Rendimiento: 80,2%; pureza >95%.

Preparación de 5–(5–cloro–2–metilbenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (36): Una mezcla de 6–bromo–5–cloro–2–metilbenzoxazol (**35**) (123mg, 0,5 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (**11**) (130 mg, 0,6 mmol), Bis(diciclohexil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (35 mg) y K_3PO_4 (106 mg, 0,5 mmol) en 1ml ACN, 1ml dioxano, 0,25 ml H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 6h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, lavada con $NaHCO_3$ ac. y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se concentró hasta sequedad. El sólido rojo resultante se disolvió en DCM y se sometió a purificación en columna de gel de sílice empleando 0–100%B (A: hexano; B: EA) para proporcionar 78 mg **36** como un sólido blancuzco (rendimiento: 60%)

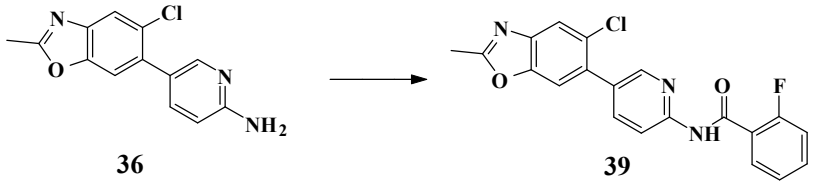
Preparación de N–[5–(5–cloro–2–metilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)](2–clorofenil)carboxamida (37): A una solución de 5–(5–cloro–2–metilenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (**36**) (19 mg, 0,073 mmol) y 2 mg de DMAP en 2 ml DCM se le agregó cloruro de 2–clorobenzoílo (19µl, 0,14 mmol) seguido por la adición de DIEA (64 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante toda la noche. La mezcla de reacción se trabajó con $NaHCO_3$ ac. /DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 2ml THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (140 µl) a t.a. durante 1h antes de trabajarse con EA/ $NaHCO_3$ ac. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó 20,6 mg de **37** en forma de sólido amarillo pálido. (rendimiento: 71%).

Ejemplo 12: Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–cloro–2–metilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)]carboxamida (38):



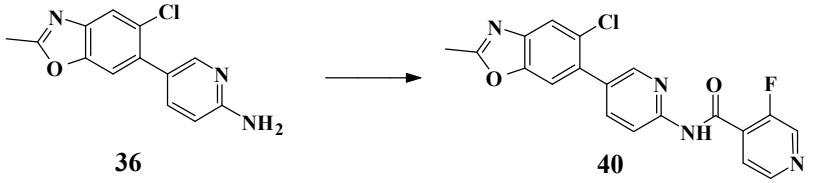
En un procedimiento similar al descrito anteriormente, (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–cloro–2–metilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)]carboxamida (**38**) (rendimiento: 67%) como sólido blanco fue preparada a partir de 5–(5–cloro–2–metilbenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (**36**) mediante reacción con cloruro de 2,6–difluorbenzoílo.

Ejemplo 13: Preparación de (2–fluorofenil)–N–[5–(5–cloro–2–metilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)]carboxamida (39):



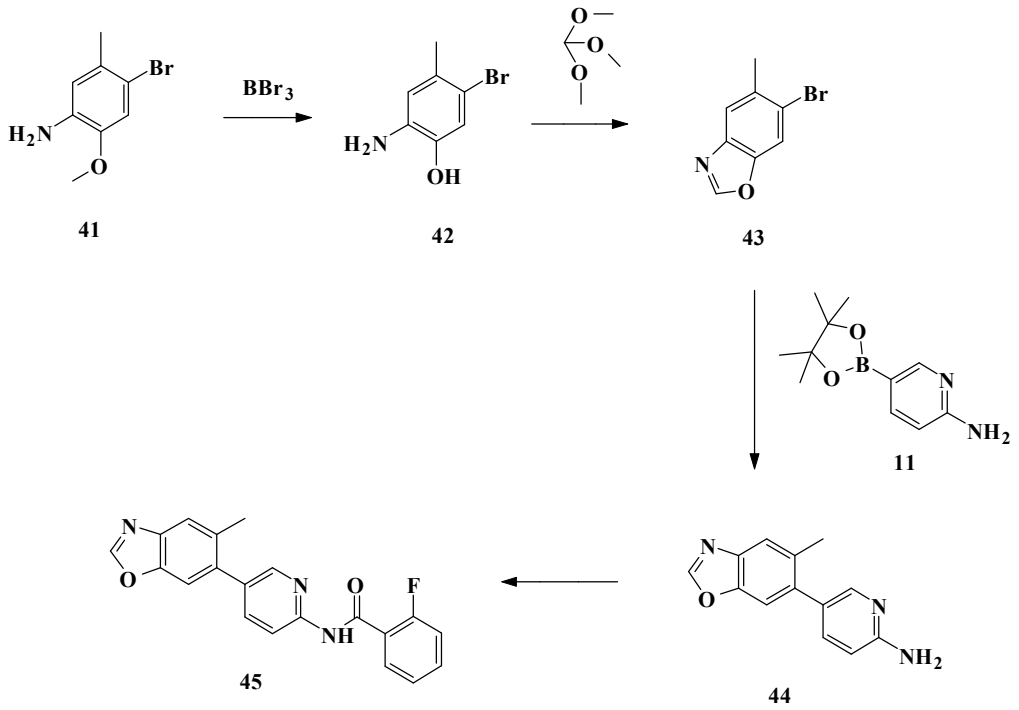
En un procedimiento similar al descrito anteriormente, se preparó (2–fluorfenil)–N–[5–(5–cloro–2–metilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)]carboxamida (**39**) (rendimiento: 66%) como sólido amarillo claro a partir de 5–(5–cloro–2–metilbenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (**36**) mediante reacción con cloruro de 2–fluorobenzoílo.

Ejemplo 14: Preparación de N–[5–(5–cloro–2–metilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)](3–fluor(4–piridil))(2–fluorfenil)carboxamida (40):



Una suspensión de ácido 3–fluorisonicotínico (20 mg, 0,14 mmol), 2–cloro–4,6–dimetoxi–1,3,5–triazina (CDMT) (28 mg, 0,16 mmol) y 38 µl de N–metil morfolina en 2 ml de DCM se agitó a t.a. durante 1h antes de la adición de **36** (19 mg, 0,073 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a t.a. durante toda la noche. La mezcla de reacción se trabajó con $NaHCO_3$ ac./EA. La fase org. se lavó con salmuera, se concentró, se sometió a cromatografía en columna flash sobre sílice para proporcionar 6,7 mg de compuesto **40** como sólido blanco. (Rendimiento: 24%).

Ejemplo 15: Preparación de N–[5–(5–metilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (45)



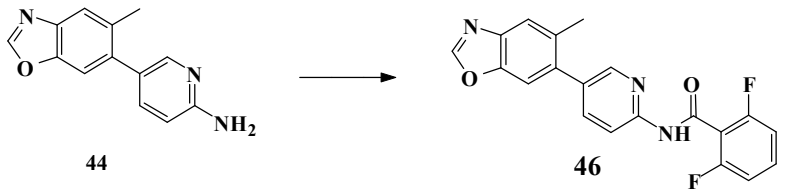
Preparación de 6–bromo–5–metilbenzoxazol (43): A una suspensión de 4–bromo–6–metoxi–3–metilanilina (**41**) (500 mg, 2,3 mmol) en 6 ml de DCM se le agregó BBr_3 1 M en DCM (4,6 ml, 4,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó a t.a. durante 2h, la cual se convirtió en una solución marrón y nuevamente en una suspensión marrón. Después de templado con solución de bicarbonato sódico ac., la mezcla se extrajo con EA. La fase org. se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se concentró hasta sequedad para dar 581 mg de 2–amino–5–bromo–4–metilfenol como un aceite oscuro.

Una mezcla de 2–amino–5–bromo–4–metilfenol (**42**) (290mg), sal de Iterbio (III) del ácido trifluormetansulfónico (20mg) y ortoformiato de trimetilo (185µl, 1.5eq.) en 2 ml EtOH se calentó a 90°C durante 2h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con $NaHCO_3$ ac. y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se concentró hasta sequedad. El sólido marrón resultante se disolvió en DCM y se sometió a purificación en columna de gel de sílice empleando 0–60%B (A: hexano; B: 50% EA en hexano) para proporcionar 91,9 mg 6–bromo–5–metilbenzoxazol (**43**) como un sólido amarillo (rendimiento: 38%)

Preparación de 5–(5–metilbenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (44): Una mezcla de 6–bromo–5–metilbenzoxazol (**43**) (91mg, 0,43 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (**11**) (220 mg, 1 mmol), Bis(di–tercbutilo(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (A–Phos) (30 mg) y K_3PO_4 (127 mg, 0,6 mmol) en 1,5 ml de ACN, 1,5 ml de dioxano, 0,5 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 2h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con $NaHCO_3$ ac. y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se concentró hasta sequedad. El sólido rojo resultante se disolvió en DCM y se sometió a purificación en columna de gel de sílice empleando 0–100%B (A: hexano; B: EA) para proporcionar 79,9 mg de 5–(5–metilbenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (**44**) como sólido naranja (rendimiento: 82,5%, pureza >90%)

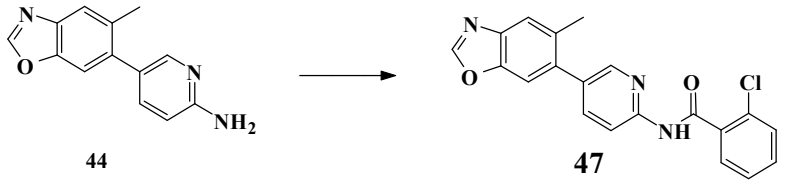
Preparación de N–[5–(5–metilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (45): A una solución de 5–(5–metilbenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (**44**) (26,6 mg, 0,12 mmol) en 2 ml DCM se le agregó cloruro de 2–fluorbenzoílo (29µl, 0,24 mmol) seguido por la adición de DIEA (105 µl). La solución marrón resultante se agitó a t.a. durante 3h. La mezcla de reacción se trabajó con $NaHCO_3$ ac. /DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 2ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (180 µl) a t.a. durante 40min antes de trabajarse con EA/ $NaHCO_3$ ac. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó 24,1 mg N–[5–(5–metilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (**45**) como un sólido blancuzco. (rendimiento: 57,8%, pureza >95%).

Ejemplo 16: Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–metilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)]carboxamida(46):



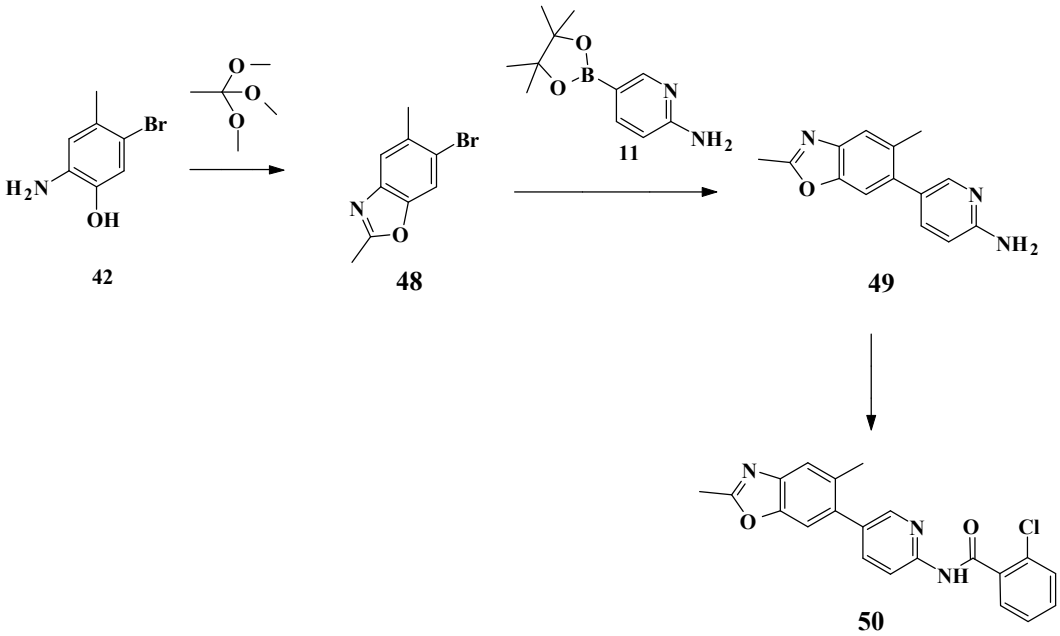
En un procedimiento similar al descrito anteriormente, se prepararon 29,4 mg de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–metilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)]carboxamida (**46**) como sólido blanco (rendimiento: 67%, pureza >95%) como sólido blanco a partir de 5–(5–metilbenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (**44**) (0,12 mmol) mediante reacción con cloruro de 2,6–difluorbenzoílo (0,24 mmol).

Ejemplo 17: Preparación de N–[5–(5–metilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)](2–clorofenil)carboxamida (47)



En un procedimiento similar al descrito anteriormente, se prepararon 24,5 mg de N–[5–(5–metilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)](2–clorofenil)carboxamida (**47**) como sólido blanco (rendimiento: 55%) a partir de 5–(5–metilbenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (**44**) (0.12 mmol) mediante reacción con cloruro de 2–clorobenzoílo (0,24 mmol).

Ejemplo 18: Preparación de N–[5–(2,5–dimetilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)](2–clorofenil)carboxamida (50)



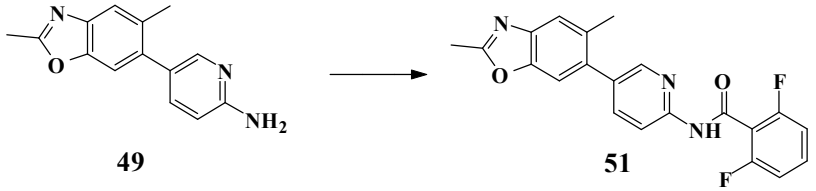
Preparación de 5–(2,5–dimetilbenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (49): Una mezcla de 2–amino–5–bromo–4–metilfenol (**42**) (290mg), sal de Iterbio (III) del ácido trifluormetansulfónico (20mg, 1%mol) y ortoacetato de trimetilo (216µl, 1,5 eq.) en 2 ml de EtOH se calentó a 90°C durante 2h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con $NaHCO_3$ ac. y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se concentró hasta sequedad. El sólido marrón resultante se disolvió en DCM y se sometió a purificación en columna de gel de sílice empleando 0–60%B (A: hexano; B: 50% EA en hexano) para proporcionar 148 mg 6–bromo–2,5–dimetilbenzoxazol (**48**) en forma de sólido marrón pálido.

Una mezcla de 6–bromo–2,5–dimetilbenzoxazol (**48**) (148mg, 0,65 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (**11**) (171 mg, 1,2 eq), bis(di–tercbutilo(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II)

(A–Phos) (55 mg) y K_3PO_4 (137 mg, 0,6 mmol) en 1,5 ml de ACN, 1,5 ml de dioxano, 0,5 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 2h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con $NaHCO_3$ ac. y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se concentró hasta sequedad. El sólido rojo resultante se disolvió en DCM y se sometió a purificación en columna de gel de sílice empleando 0–100%B (A: hexano; B: EA) para proporcionar 126 mg de 5–(2,5–dimetilbenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (**49**) como un sólido amarillo (rendimiento: 81%, pureza >95%)

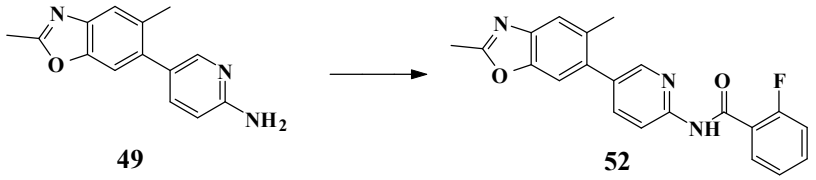
Preparación de N–[5–(2,5–dimetilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)](2–clorofenil)carboxamida (50): A una solución de 5–(2,5–dimetilbenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (**49**) (42 mg, 0,175 mmol) en 2 ml de DCM se agregó cloruro de 2–clorobenzoílo (44µl, 2 eq) seguido por la adición de DIEA (153 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante 3h. La mezcla de reacción se trabajó con $NaHCO_3$ ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 2 ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (350 µl) a t.a. durante 4h antes de trabajarse con EA/ $NaHCO_3$ ac. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó 47,7 mg de N–[5–(2,5–dimetilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)](2–clorofenil)carboxamida (**50**) como sólido blanco. (rendimiento: 72,1%).

Ejemplo 19: Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(2,5–dimetilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)]carboxamida(51):



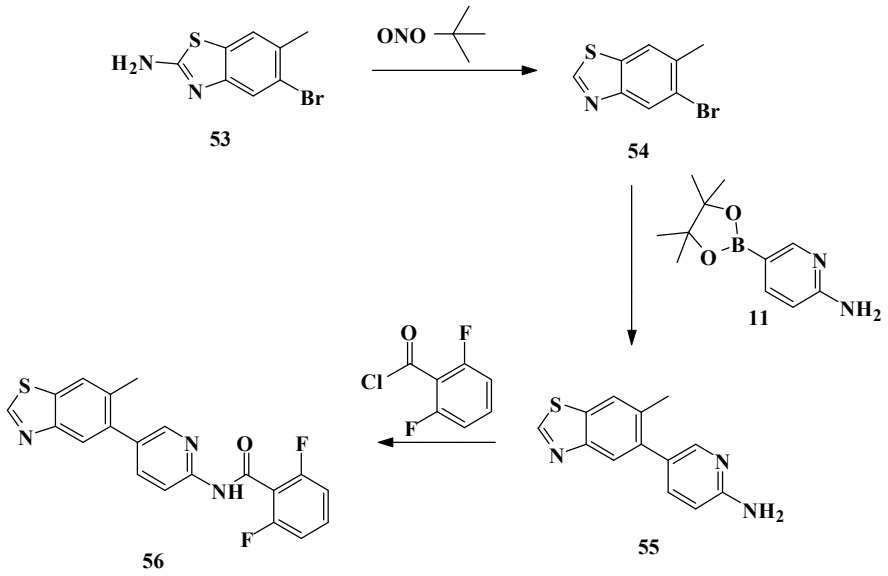
En un procedimiento similar al descrito anteriormente, se prepararon 34,2 mg de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(2,5–dimetilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)]carboxamida (**51**) (rendimiento: 51,5%) como sólido blanco a partir de 5–(2,5–dimetilbenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (**49**) (42 mg, 0,175 mmol) mediante reacción con cloruro de 2,6–difluorbenzoílo (44µl, 2eq).

Ejemplo 20: Preparación de (2–fluorfenil)–N–[5–(2,5–dimetilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)]carboxamida(52)



En un procedimiento similar al descrito anteriormente, se prepararon 33,9 mg de (2–fluorfenil)–N–[5–(2,5–dimetilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)]carboxamida (**52**) (rendimiento: 53,6%) como sólido blanco a partir de 5–(2,5–dimetilbenzoxazol–6–il)–2–piridilamina (**49**) (42 mg, 0,175 mmol) mediante reacción con cloruro de 2–fluorbenzoílo (42µl, 2eq).

Ejemplo 21: Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(6–metilbenzotiazol–5–il)(2–piridil)]carboxamida (56)

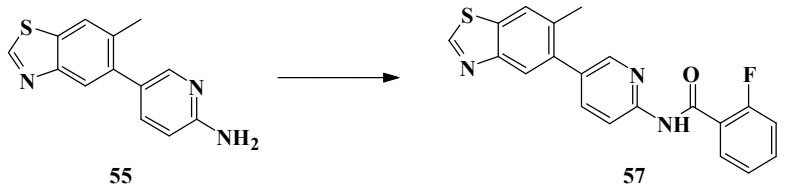


Preparación de 5–bromo–6–metilbenzotiazol (54): Una solución de 2–amino–5–bromo–6–metiltiazol (**53**) (460 mg, 1,89 mmol) y tercbutilonitrito (336µl, 1,5 eq) en aoml DMF se calentó a 50°C durante 4h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción se diluyó con EA, se lavó con NaOH 1N, salmuera. La fase org. se secó sobre sulfato sódico , se concentró y se sometió a cromatografía en columna flash sobre gel de sílice (0–30%B, A: hexano; B: 50% EA en hexano) para dar 5–bromo–6–metilbenzotiazol (**54**) (197 mg, rendimiento: 45,7%, pureza >95%) como un sólido naranja.

Preparación de 5–(6–metilbenzotiazol–5–il)–2–piridilamina (55): Una mezcla de 5–bromo–6–metilbenzotiazol (**54**) (91mg, 0,4 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (**11**) (132 mg, 1,5 eq), bis(ditercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (42 mg, 10%mol) y K_3PO_4 (128 mg, 0.6 mmol) en 1ml de ACN, 1ml de dioxano, 0,5 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 1h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, lavada con $NaHCO_3$ ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y luego se sometió a cromatografía en columna flash sobre gel de sílice (0–100%B, A: hexano; B: EA) para dar 5–(6–metilbenzotiazol–5–il)–2–piridilamina (**55**) (95,8 mg, rendimiento: 99%, pureza >90%) como un sólido amarillo.

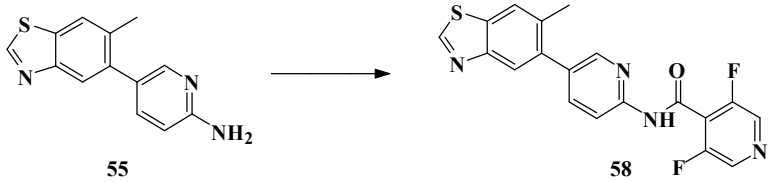
Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(6–metilbenzotiazol–5–il)(2–piridil)]carboxamida (56): A una solución de 5–(6–metilbenzotiazol–5–il)–2–piridilamina (**55**) (24 mg, 0,1 mmol) en 2 ml de DCM se le agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoílo (25µl, 0,2 mmol) seguido por la adición de DIEA (105 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante 2h. La mezcla de reacción se trabajó con $NaHCO_3$ ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 2ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (200 µl) a t.a. durante 1h y luego a 50°C durante 2h antes de trabajarse con EA/ $NaHCO_3$ ac. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(6–metilbenzotiazol–5–il)(2–piridil)]carboxamida (**56**) (29,6 mg, rendimiento: 77,6%, pureza >95%) como sólido blanco.

Ejemplo 22: Preparación de (2–fluorfenil)–N–[5–(6–metilbenzotiazol–5–il)(2–piridil)]carboxamida (57):



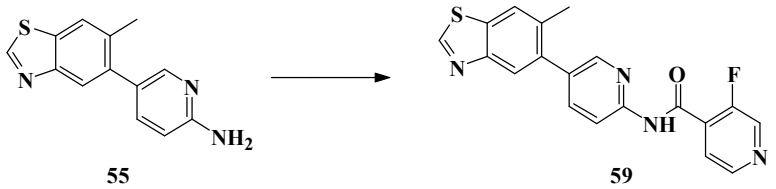
En un procedimiento similar al descrito anteriormente, se preparó (2–fluorfenil)–N–[5–(6–metilbenzotiazol–5–il)(2–piridil)]carboxamida (**55**) (26,7 mg, rendimiento: 73,5%, pureza >95%) como un sólido amarillo a partir de 5–(6–metilbenzotiazol–5–il)–2–piridilamina (**57**) (24 mg, 0,1 mmol) mediante reacción con cloruro de 2–fluorbenzoílo (0,2 mmol).

Ejemplo 23: Preparación de (3,5–difluor(4–piridil))–N–[5–(6–metilbenzotiazol–5–il)(2–piridil)]carboxamida (58):



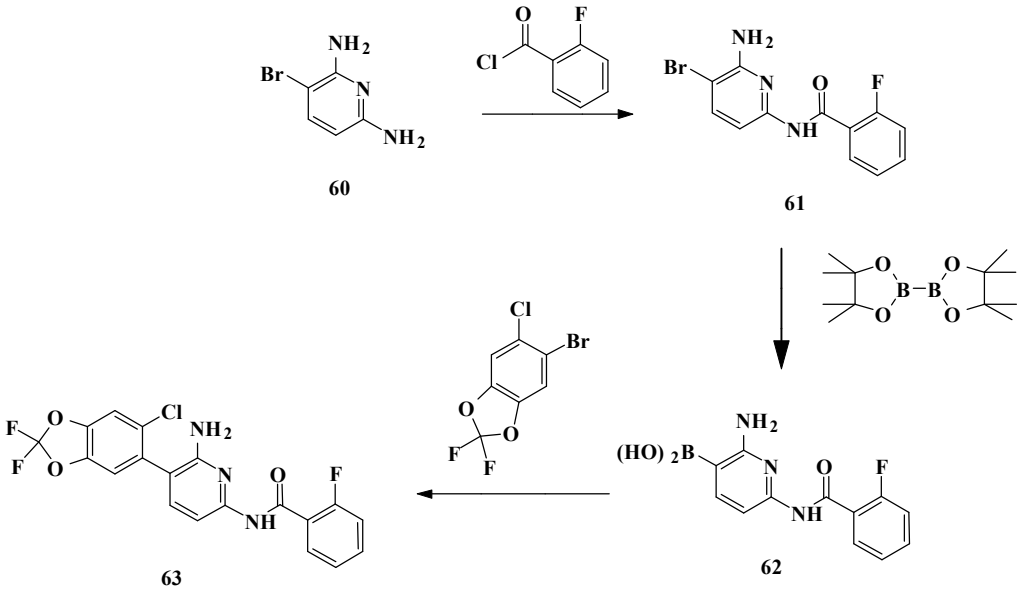
Una suspensión de ácido 3,5–difluorisonicotínico (24 mg, 0,15 mmol), 2–cloro–4,6–dimetoxi–1,3,5–triazina (CDMT) (35 mg, 0,2 mmol) y 45 µl de N–metil morfolina en 2 ml de DCM se agitó a t.a. durante 1h antes de la adición de 5–(6–metilbenzotiazol–5–il)–2–piridilamina (**55**) (24 mg, 0,1 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a t.a. durante toda la noche y luego a 50°C durante 3h. La mezcla de reacción se trabajó con $NaHCO_3$ ac./EA. La fase org. se lavó con salmuera, se concentró y se sometió a cromatografía en columna flash sobre sílice para proporcionar 8,9mg de (3,5–difluor(4–piridil))–N–[5–(6–metilbenzotiazol–5–il)(2–piridil)]carboxamida (**58**) como un semisólido amarillo. (rendimiento: 23,3%, pureza >90%).

Ejemplo 24: Preparación de (3–fluor(4–piridil))–N–[5–(6–metilbenzotiazol–5–il)(2–piridil)]carboxamida (59):



En un procedimiento similar al descrito anteriormente, se preparó (3–fluor(4–piridil))–N–[5–(6–metilbenzotiazol–5–il)(2–piridil)]carboxamida (**59**) (22,5 mg, rendimiento: 61,7%, pureza >95%) como un sólido blancuzco a partir de 5–(6–metilbenzotiazol–5–il)–2–piridilamina (**55**) (24 mg, 0,1 mmol) mediante reacción con ácido 3–fluor–isonicotínico (0,15 mmol).

Ejemplo 25: Preparación de N–[6–amino–5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d]1,3–dioxolen–5–il)(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (63)



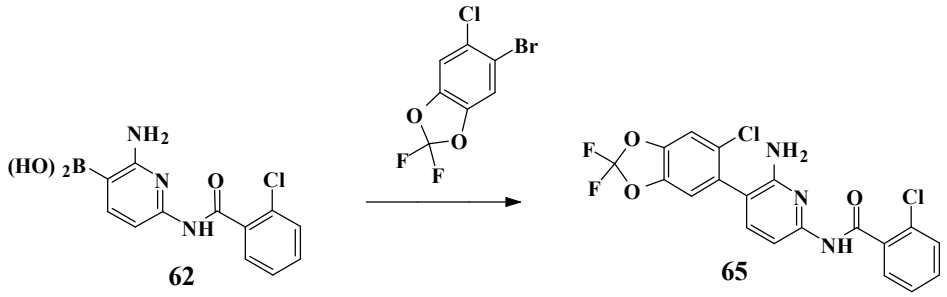
Preparación de N–(6–amino–5–bromo(2–piridil))(2–fluorfenil)carboxamida (61): Una solución de 3–bromo–2,6–diaminopiridina (**60**) (564mg, 3 mmol), trietilamina (0,54 ml) en DCM (6ml)/THF(4ml) se enfrió hasta –78°C. Se agregó una solución de cloruro de 2–fluorbenzoílo (362µl, 3,03 mmol) en 2 ml de DCM por goteo dentro del lapso de 10 min. La mezcla de reacción resultante se agitó a –78°C durante 1h antes de calentarse lentamente hasta t.a. Luego de agitarse a t.a. durante 3h, la reacción se templó con solución de $NaHCO_3$ ac. Se agregaron 200 ml de EA. La fase org. se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se concentró. El residuo sólido amarillo claro se trituró con DCM (ca. 15 ml), se filtró y secó para dar 530mg de N–

(6–amino–5–bromo(2–piridil))(2–fluorfenil)carboxamida (**61**) como sólido blanco. (pureza>95%, rendimiento: 57%).

Preparación de N–[6–amino–5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d]1,3–dioxolen–5–il)(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (63): Una mezcla de N–(6–amino–5–bromo(2–piridil))(2–fluorfenil)carboxamida (**61**) (358 mg, 1,15 mmol), bis(pinacolato)diboro (292mg, 2 eq.), $PdCl_2(dppf)_2.CH_2Cl_2$ (94mg, 10%mol), acetato de potasio (338 mg, 3eq.) en dioxano (4 ml) se burbujeó con argón y luego se calentó a 90°C durante 16h. La mezcla de reacción se trabajó con EA/ $NaHCO_3$ ac./salmuera. La fase org. se secó sobre sulfato sódico, se concentró y luego se sometió a purificación en columna flash de gel de sílice (0–80%B, A: hexano; B: 50%EA en hexano) para proporcionar 196 mg (rendimiento: 62%) del compuesto intermedio **62** el cual contiene aprox. 10% del éster de pinacol borónico correspondiente.

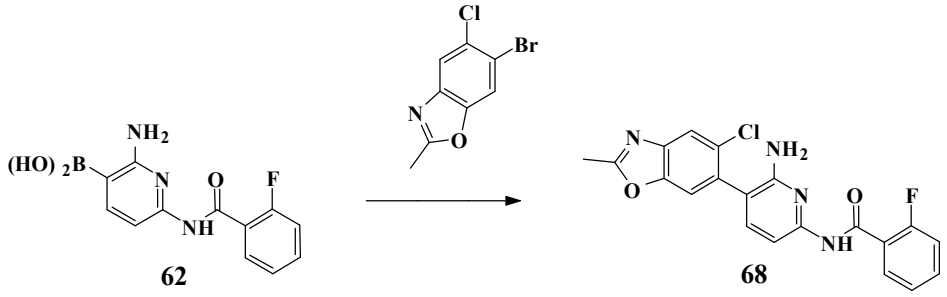
Una mezcla de compuesto intermedio **62** (55 mg, 0,2 mmol), 5–bromo–6–cloro–2,2–difluorbenzo[d]1,3–dioxoleno (54mg, 0,2 mmol), bis(ditercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (12 mg, 10%mol) y K_3PO_4 (42 mg, 0,2 mmol) en 0,5ml de ACN, 0,5ml de dioxano, 0,2 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 3h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con $NaHCO_3$ ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró hasta sequedad. La purificación en columna flash de gel de sílice (0–40%B, A: hexano; B: 50% EA en hexano) proporcionó 17,8 mg de N–[6–amino–5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d]1,3–dioxolen–5–il)(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (**63**) en forma de sólido amarillo pálido. (rendimiento: 21%, pureza >95%).

Ejemplo 26: Preparación de N–[6–amino–5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d]1,3–dioxolen–5–il)(2–piridil)](2–clorofenil)carboxamida (65)



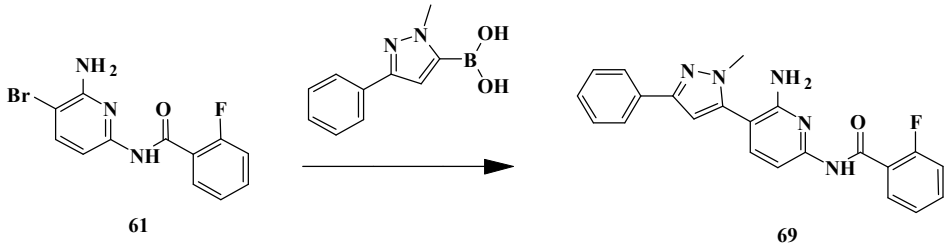
En un procedimiento similar al descrito anteriormente, se prepararon 32,5 mg (rendimiento: 37%, pureza>95%) de N–[6–amino–5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d]1,3–dioxolen–5–il)(2–piridil)](2–clorofenil)carboxamida (**65**) a partir de 5–bromo–6–cloro–2,2–difluorbenzo[d]1,3–dioxoleno (54 mg, 0,2 mmol) y ácido 2–amino–6–(2–clorofenil)carbonilamino–piridin–3–ilborónico (**62**) (58 mg, 0,2 mmol) como sólido amarillo pálido.

Ejemplo 27: Preparación de N–[6–amino–5–(5–cloro–2–metilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (68)



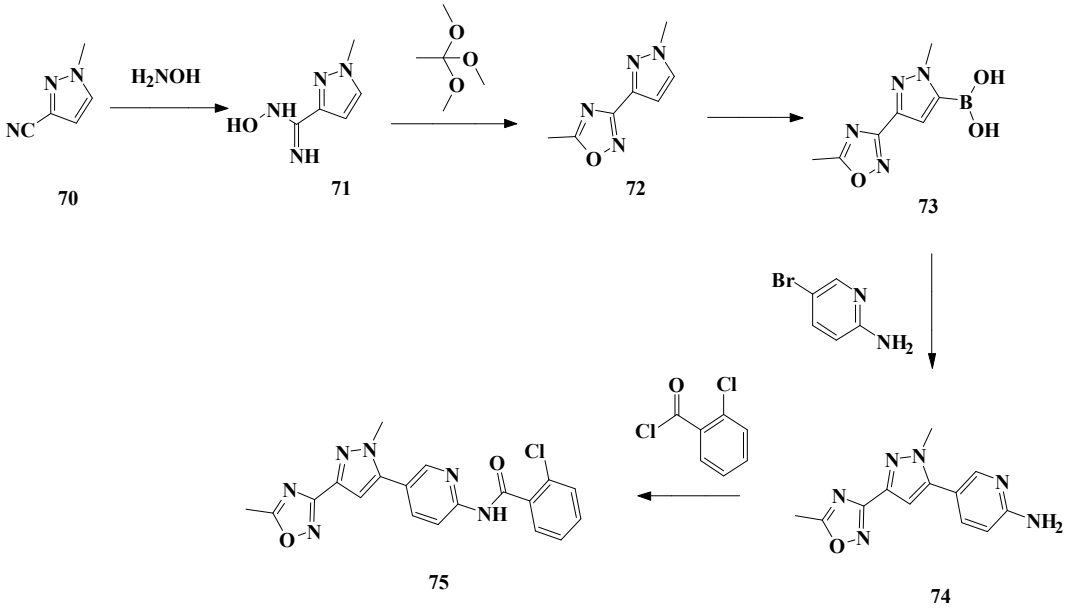
En un procedimiento similar al descrito anteriormente, se prepararon 18,4 mg (rendimiento: 46%, pureza>95%) de N–[6–amino–5–(5–cloro–2–metilbenzoxazol–6–il)(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (**68**) a partir de 6–bromo–5–cloro–2–metilbenzoxazol (25 mg, 0,1 mmol) y ácido 2–amino–6–(2–fluorfenil)carbonilamino–piridin–3–ilborónico (**62**) (28 mg, 0,1 mmol) como un sólido amarillo.

Ejemplo 28: Preparación de N–[6–amino–5–(1–metil–3–fenilpirazol–5–il)(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (69)



Una mezcla de N–(6–amino–5–bromo(2–piridil))(2–fluorfenil)carboxamida (**61**) (16mg, 0,05 mmol), bis(ditercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (4 mg, 10%mol) y K_3PO_4 (11 mg, 0,05 mmol) en 0,5ml de ACN, 0,5ml de dioxano, 0,2 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 4h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con $NaHCO_3$ ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró hasta sequedad. La purificación en columna flash de gel de sílice (0–90%B, A: hexano; B: 50% EA en hexano) proporcionó 2,2 mg de producto deseado en bruto como un sólido amarillo el cual se repurificó en HPLC prep. para dar 0,8 mg de N–[6–amino–5–(1–metil–3–fenilpirazol–5–il)(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (**69**) como un sólido blancuzco. (rendimiento: 4%, pureza >90%).

Ejemplo 29: Preparación de (2–clorofenil)–N–{5–[1–metil–3–(5–metil(1,2,4–oxadiazol–3–il))pirazol–5–il](2–piridil)}carboxamida (75):



Preparación de 5–metil–3–(1–metilpirazol–3–il)–1,2,4–oxadiazol (72): A una suspensión de clorhidrato de hidroxilamina (351 mg, 5,05 mmol) en 4 ml EtOH se agregó 1,86 ml de etóxido de sodio al 21%p en etanol. La mezcla resultante se agitó durante 10 min a t.a. antes de la adición de 3–ciano–1–metilpirazol (**70**) (535 mg, 5mmol). La suspensión resultante se calentó durante toda la noche a 90°C. Luego del enfriamiento, la mezcla de reacción se diluyó con EA y luego se lavó con salmuera. La fase org. se concentró hasta sequedad para dar 506 mg del compuesto intermedio en bruto **71**. Una mezcla del compuesto intermedio en bruto antes mencionado **71**, sal de Iterbio (III) del ácido trifluormetansulfónico (22mg, 1%mol) y ortoacetato de trimetilo (550µl, 1,2 eq.) en 5 ml de EtOH se calentó a 85°C durante 2h. Luego de enfriamiento hasta t.a., se formaron agujas finas. Después de filtración y lavado con MeOH se recuperó 166 mg de compuesto intermedio **71** en forma de agujas de color amarillo pálido. El filtrado se concentró, se sometió a purificación en columna de gel de sílice empleando 0–100%B (A: hexano; B: EA) para proporcionar 230 mg de 5–metil–3–(1–metilpirazol–3–il)–1,2,4–oxadiazol (**72**) como sólido blanco.

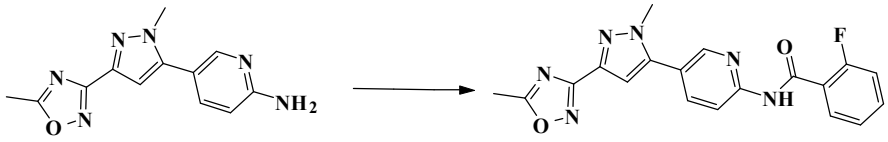
Preparación de ácido [1–metil–3–(5–metil–1,2,4–oxadiazol–3–il)]pirazol–5–il–borónico (73): Una solución de n–butillitio (1,12 ml, 2,5M en hexano) en hexano se agregó por goteo a una solución fría de 5–metil–3–(1–metilpirazol–3–il)–1,2,4–oxadiazol (**72**) (230 mg, 1,4 mmol) en 7 ml de THF seco a –70°C. La mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 3 h antes de la adición de borato de trimetilo (468 µl, 3eq). La mezcla se dejó calentar lentamente hasta t.a. y se agitó a t.a. durante toda la noche. La reacción se templó con 15 ml de HCl 1N. Después de agitar a t.a. durante 2h, se agregó EA y luego se lavó con salmuera. La fase

org. se extrajo con NaOH 1N. La fase ac. se acidificó con HCl hasta pH=2 y luego se extrajo con EA. La fase de EA se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró hasta sequedad para dar 374 mg de ácido [1–metil–3–(5–metil–1,2,4–oxadiazol–3–il)]pirazol–5–il–borónico (**73**) como un sólido amarillo.

Preparación de 5–[1–metil–3–(5–metil(1,2,4–oxadiazol–3–il))pirazol–5–il]–2–piridilamina (74): Una suspensión de ácido [1–metil–3–(5–metil–1,2,4–oxadiazol–3–il)]pirazol–5–il–borónico (**73**) (62 mg, 0,3 mmol), 2–amino–5–bromopiridina (52 mg, 0,3 mmol), bis(di–tercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (A–Phos) (21 mg) y K_3PO_4 (64 mg, 0,3 mmol) en 1 ml de ACN, 1 ml de dioxano, 0,5 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 1h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con NaHCO3 ac. y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se concentró hasta sequedad. Para dar 82,5 mg de 5–[1–metil–3–(5–metil(1,2,4–oxadiazol–3–il))pirazol–5–il]–2–piridilamina en bruto (**74**) como semisólido naranja el cual se empleó directamente para el acoplamiento de amida del paso siguiente.

Preparación de (2–clorofenil)–N–{5–[1–metil–3–(5–metil(1,2,4–oxadiazol–3–il))pirazol–5–il](2–piridil)}carboxamida (75): A una solución de 5–[1–metil–3–(5–metil(1,2,4–oxadiazol–3–il))pirazol–5–il]–2–piridilamina (**74**) en bruto (27 mg, 0,1 mmol) en 2 ml de DCM se agregó cloruro de 2–clorobenzoílo (25µl, 2eq) seguido por la adición de DIEA (70 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante 3h. La mezcla de reacción se trabajó con $NaHCO_3$ ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 2ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (250 µl) a t.a. durante 1h antes de trabajarse con EA/ NaHCO3 ac. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó 7mg de (2–clorofenil)–N–{5–[1–metil–3–(5–metil(1,2,4–oxadiazol–3–il))pirazol–5–il](2–piridil)}carboxamida (**75**) como sólido amarillo claro. (rendimiento: 17,7%, pureza >95%).

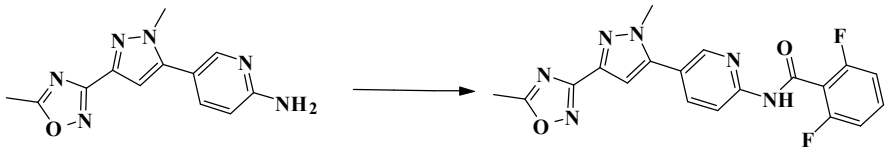
Ejemplo 30: Preparación de (2–fluorfenil)–N–{5–[1–metil–3–(5–metil(1,2,4–oxadiazol–3–il))pirazol–5–il](2–piridil)}carboxamida (76):



74 76

En un procedimiento similar al descrito anteriormente, se prepararon 6,4 mg de (2–fluorfenil)–N–{5–[1–metil–3–(5–metil(1,2,4–oxadiazol–3–il))pirazol–5–il](2–piridil)}carboxamida (**76**) (rendimiento: 16,9%, pureza >95%) como sólido amarillo claro a partir de 5–[1–metil–3–(5–metil(1,2,4–oxadiazol–3–il))pirazol–5–il]–2–piridilamina (**74**) en bruto (27 mg, 0,1 mmol) mediante reacción con cloruro de 2–fluorbenzoílo (25µl, 2eq).

Ejemplo 31: Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–{5–[1–metil–3–(5–metil(1,2,4–oxadiazol–3–il))pirazol–5–il](2–piridil)}carboxamida (77):

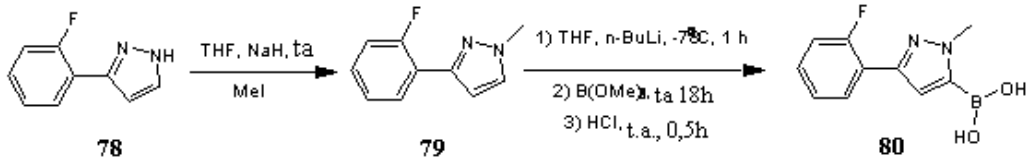


74 77

En un procedimiento similar al descrito anteriormente, se prepararon 6,6 mg de (2,6–difluorfenil)–N–{5–[1–metil–3–(5–metil(1,2,4–oxadiazol–3–il))pirazol–5–il](2–piridil)}carboxamida (**77**) (rendimiento: 16,7%, pureza >95%) como sólido amarillo claro a partir de 5–[1–metil–3–(5–metil(1,2,4–oxadiazol–3–il))pirazol–5–il]–2–piridilamina (**74**) en bruto (27 mg, 0,1 mmol) mediante reacción con cloruro de 2,6–difluorbenzoílo (25µl, 2eq).

Ejemplo 32: Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–{5–[3–(2–fulorometil)–1–metilpirazol–5–il)(2–piridil)]carboxamida (83):

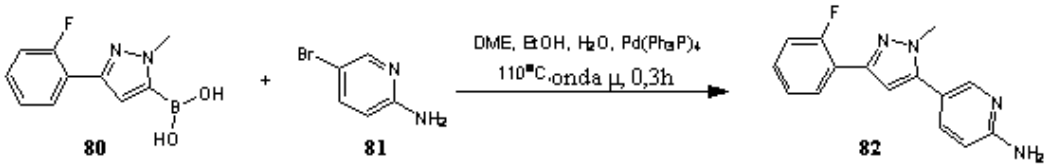
Síntesis de ácido 1–metil–3–(2–fluorfenil)pirazol–5–il borónico (80)



A una solución de **78** (1 g, 6,0 mmol) en THF (50 mL) se le agregó NaH (0,57 g, 24 mmol). La mezcla se agitó durante 1h y se agregó MeI (1,75 g, 12 mmol) en una porción. La mezcla de reacción se agitó durante 18 h a temperatura ambiente. La reacción se templó con MeOH y el solvente se removió in vacuo. El residuo se trató con agua y EtOAc. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró, concentró para dar el producto en bruto. El producto en bruto se purificó en columnas ISCO. Las fracciones que contenían producto puro se combinaron y evaporaron. Se obtuvo aceite amarillo **79** (0,97 g, 92%).

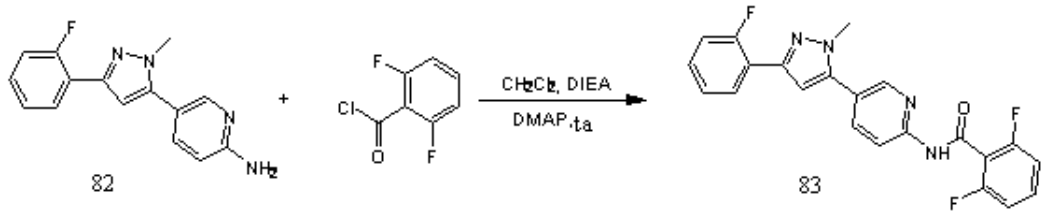
Una solución de **79** (971 mg, 5,51 mmol) en THF (20 ml) se enfrió a –78°C seguido por el agregado de n–BuLi 2,5 M (3,3 mL, 8,26 mmol). La mezcla se agitó durante 4 h a –78°C y se agregó el borato de trimetilo (1 mL, 8,96 mmol). La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante toda la noche. La reacción se templó con HCl 1M y se agitó durante 0,5 h. La mezcla se extrajo con EtOAc (20 mL x 2). La fase orgánica se lavó con NaOH 1M. La fase acuosa se acidificó con HCl conc. y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró, se concentró para dar ácido borónico **80** (994 mg, 82%) como un sólido amarillo.

5–(1–metil–3–(2–fluorfenil)pirazol–5–il)–2–piridilamina (82)



El ácido borónico **80** (480 mg, 2,18 mmol) y **81** (377 mg, 2,18 mmol) se disolvió en 5mL de dimetoxietano y 5 mL de EtOH. Los 4 ml de Na_2CO_3 2 M se agregaron y la mezcla se burbujeó con Ar durante 1 min antes de agregar tetrakis(trifenilfosfina)–paladio (0) ($Pd(Ph_3P)_4$, 230 mg, 0,2 mmol). La reacción se calentó a 110 °C durante 30 min bajo iniciador de microondas. La mezcla de reacción se trabajó con extracción de EtOAc y el producto se purificó mediante columna flash y proporcionó **82** (410 mg, 70%) en forma de un aceite amarillo.

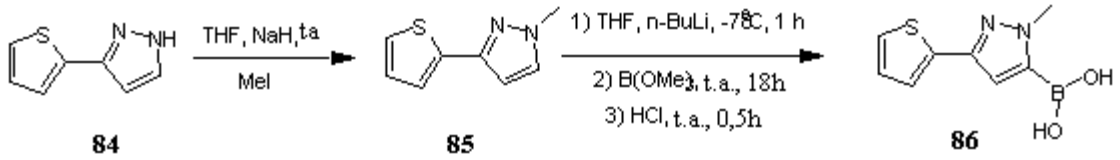
(2,6–difluorfenil)–N–{5–[3–(2–fuloromethil)–1–metilpirazol–5–il)(2–piridil)]carboxamida



A una solución de **82** (25 mg, 0,11 mmol) en CH_2Cl_2 (10 ml) se le agregó *N,N*–diisopropiletilamina (DIEA, 52 mg, 72 L, 0,4 mmol), 4–dimetilaminopiridina (DMAP, 0,6 mg, 0,05 mmol). El cloruro de 2,6–difluorbenzoílo (22 mg, 0,12 mmol) se tiró en la solución antes mencionada. La mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La reacción se templó con $NaHCO_3$ saturado (20 ml) y se extrajo con EtOAc. El producto se purificó por HPLC y proporcionó **83** (20,4 mg, 45%) como un sólido amarillo. LC–MS: calc. para $C_{22}H_{15}F_3N_4O$: 409 (M +1).

Ejemplo 33: (2,6–difluorfenil)–N–{5–[3–(tienil)–1–metilpirazol–5–il)(2–piridil)]carboxamida (83):

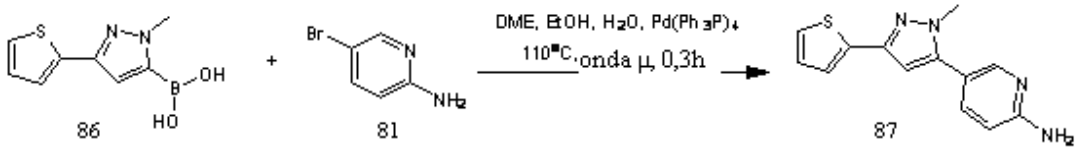
Síntesis de ácido 1–metil–3–(2–tienil)pirazol–5–ilborónico (86)



A una solución de **84** (1,5 g, 10 mmol) en THF (50 mL) se le agregó NaH (2,4 g, 100 mmol). La mezcla se agitó durante 1h y se agregó MeI (2,8 g, 20 mmol) en una poción. La mezcla de reacción se agitó durante 18 h a temperatura ambiente. La reacción se templó con MeOH y el solvente se removió in vacuo. El residuo se trató con agua y EtOAc. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y concentró para dar el producto en bruto. El producto en bruto se purificó sobre columnas ISCO. Las fracciones que contenían producto puro se combinaron y evaporaron. Se obtuvo el aceite amarillo **85** (1,5 g, 91%).

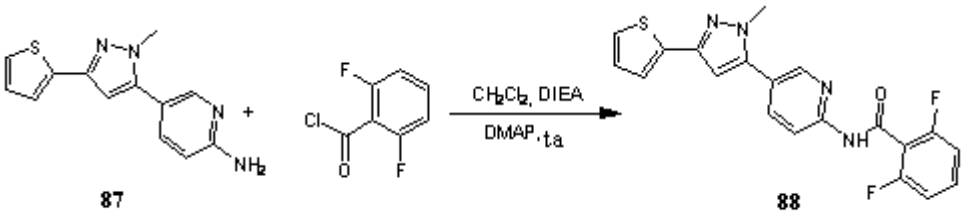
Una solución de **85** (395 mg, 2,4 mmol) en THF (20 ml) se enfrió a –78°C seguido por el agregado de n–BuLi 2,5 M (1,4 mL, 3,6 mmol). La mezcla se agitó durante 4 h a –78°C y se agregó el borato de trimetilo (0,4 mL, 3,6 mmol). La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante toda la noche. La reacción se templó con HCl 1M y se agitó durante 0,5 h. La mezcla se extrajo con EtOAc (20 mL x 2). La fase orgánica se lavó con NaOH 1M. La fase acuosa se acidificó con HCl con. y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y concentró para dar ácido borónico **86** (317 mg, 63%) como un sólido amarillo.

Síntesis de 5–(1–metil–3–(2–tienil)pirazol–5–il)–2–piridilamina (87)



El ácido borónico **86** (123 mg, 0,59 mmol) y **81** (85 mg, 0,49 mmol) se disolvió en 1mL de dimetoxietano y 1 mL de EtOH. Se agregó 1 ml de Na_2CO_3 2 M y la mezcla se burbujeó con Ar durante 1 min antes del agregado de tetrakis(trifenilfosfina)–paladio (0) ($Pd(Ph_3P)_4$, 58 mg, 0,05 mmol). La reacción se calentó a 110 °C durante 30 min bajo iniciador de microondas. La mezcla de reacción se trabajó con extracción de EtOAc y el producto se purificó mediante columna flash y proporcionó **87** (60 mg, 48%) como un sólido amarillo.

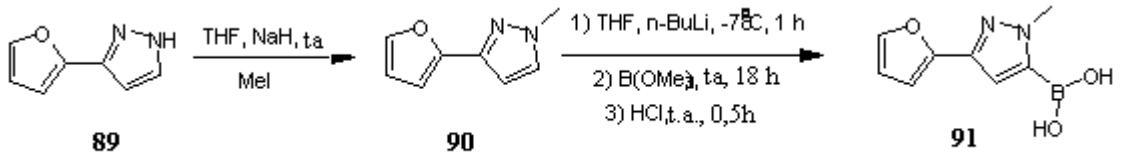
Síntesis de (2,6–difluorfenil)–N–{5–[3–(2–tienil)–1–metilpirazol–5–il)(2–piridil)]carboxamida (88)



A una solución de **87** (20 mg, 0,08 mmol) en CH_2Cl_2 (10 ml) se le agregó *N,N*–diisopropiletilamina (DIEA, 52 mg, 72 □L, 0,4 mmol), 4–dimetilaminopiridina (DMAP, 0,6 mg, 0,05 mmol). El cloruro de 2,6–difluorbenzoílo (22 mg, 0,12 mmol) se tiró en solución antes mencionada. La mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La reacción se templó con $NaHCO_3$ saturado (20 ml) y se extrajo con EtOAc. El producto se purificó por HPLC y proporcionó **88** (11 mg, 35%) como sólido blanco. LC–MS: calc. para $C_{20}H_{14}F_2N_4OS$: 397 (M +1).

Ejemplo 34: (2,6–difluorfenil)–N–{5–[3–(2–furil)–1–metilpirazol–5–il)(2–piridil)]carboxamida (94)

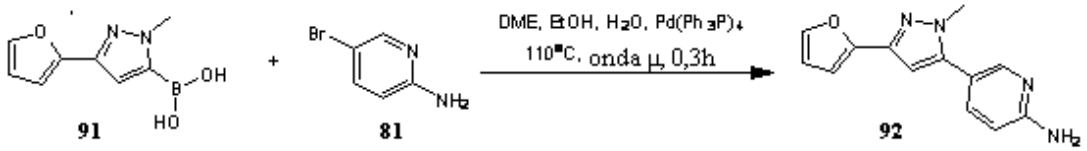
Síntesis de ácido 1–metil–3–(2–furil)pirazol–5–ilborónico (91)



A una solución de (1,4 g, 10,4 mmol) en THF (50 mL) se le agregó NaH (2,4 g, 100 mmol). La mezcla se agitó durante 1h y el MeI (3 g, 21 mmol) se agregó en una poción. La mezcla de reacción se agitó durante 18 h a temperatura ambiente. La reacción se templó con MeOH y el solvente se removió in vacuo. El residuo se trató con agua y EtOAc. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y concentró para dar el producto en bruto. El producto en bruto se purificó en columnas ISCO. Las fracciones que contenían producto puro se combinaron y evaporaron. Se obtuvo el aceite amarillo **90** (1,45 g, 94%).

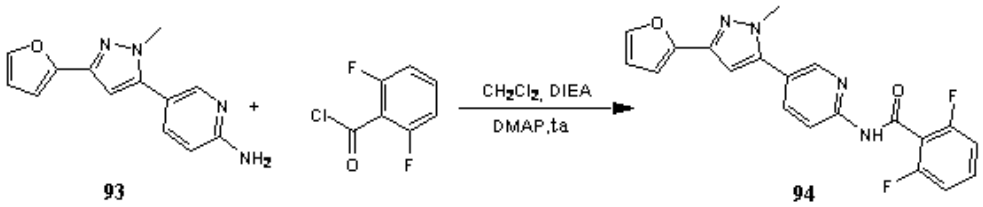
Una solución de **90** (670 mg, 4,5 mmol) en THF (20 ml) se enfrió a –78°C seguido por el agregado de n–BuLi 2.5 M (3,6 mL, 9 mmol). La mezcla se agitó durante 4 h a –78°C y el borato de trimetilo (1 mL, 9 mmol) se agregó. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante toda la noche. La reacción se templó con HCl 1M y se agitó durante 0,5 h. La mezcla se extrajo con EtOAc (20 mL x 2). La fase orgánica se lavó con NaOH 1M. La fase acuosa se acidificó con HCl con. y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y concentró para dar ácido borónico **91** (343 mg, 40%) como un sólido amarillo.

Síntesis de 5–(1–metil–3–(2–furil)pirazol–5–il)–2–piridilamina (92)



El ácido borónico **91** (156 mg, 0,8 mmol) y **81** (140,5 mg, 0,8 mmol) se disolvió en 1mL de dimetoxietano y 1 mL de EtOH. Se agregó 1 ml de Na_2CO_3 2 M y la mezcla se burbujeó con Ar durante 1 min antes del agregado de tetrakis(trifenilfosfina)–paladio(0) ($Pd(Ph_3P)_4$, 100 mg, 0,08 mmol). La reacción se calentó a 110°C durante 30 min bajo iniciador de microondas. La mezcla de reacción se trabajó con extracción de EtOAc y el producto se purificó mediante columna flash y proporcionó **92** (47 mg, 24%) como un sólido amarillo.

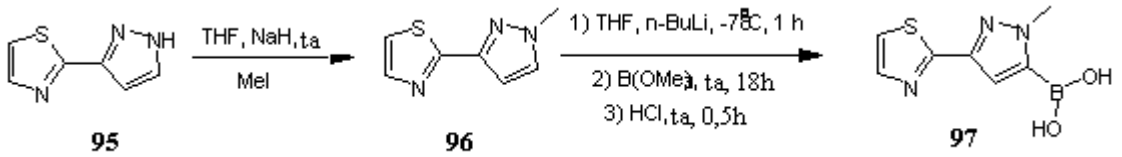
Síntesis de (2,6–difluorfenil)–N–{5–[3–(2–furil)–1–metilpirazol–5–il)(2–piridil)]carboxamida (94)



A una solución de **93** (15 mg, 0,06 mmol) en CH_2Cl_2 (10 ml) se agregó *N*,*N*–diisopropiletilamina (DIEA, 52 mg, 72 □L, 0,4 mmol), 4–dimetilaminopiridina (DMAP, 0,6 mg, 0,05 mmol). El cloruro de 2,6–difluorbenzoílo (22 mg, 0,12 mmol) se volcó dentro de la solución antes mencionada. La mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La reacción se templó con $NaHCO_3$ saturado (20 ml) y se extrajo con EtOAc. El producto se purificó por HPLC y proporcionó **94** (7 mg, 30%) como sólido blanco. LC–MS: calc. para $C_{20}H_{14}F_2N_4O2$: 381 (M +1).

Ejemplo 35: (2,6–difluorfenil)–N–[5–(1–metil–3–(1,3–tiazol–2–il)pirazol–5–il)(2–piridil)]carboxamida (99)

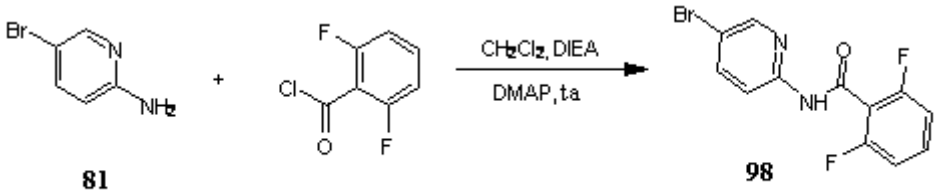
Síntesis de ácido 1–metil–3–(1,3–tiazol–2–il)pirazol–5–ilborónico (97)



A una solución de **95** (1,51 g, 10 mmol) en THF (50 mL) se le agregó NaH (1,2 g, 50 mmol). La mezcla se agitó durante 1h y el MeI (2,8 g, 20 mmol) se agregó en una poción. La mezcla de reacción se agitó durante 18 h a temperatura ambiente. La reacción se templó con MeOH y el solvente se removió in vacuo. El residuo se trató con agua y EtOAc. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y concentró para dar el producto en bruto. El producto en bruto se purificó en columnas ISCO. Las fracciones que contenían producto puro se combinaron y evaporaron. El aceite amarillo **96** (1,6 g, 97%) se obtuvo.

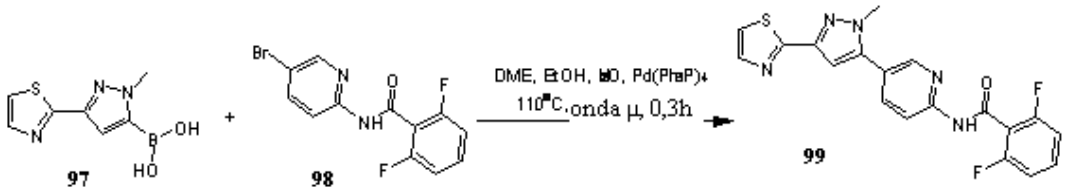
Una solución de **96** (604 mg, 3,6 mmol) en THF (20 ml) se enfrió a –78°C seguido por el agregado de n–BuLi 2.5 M (2,2 mL, 5,5 mmol). La mezcla se agitó durante 4 h a –78°C y se agregó el borato de trimetilo (0,6 mL, 5,5 mmol). La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante toda la noche. La reacción se templó con HCl 1M y se agitó durante 0,5 h. La mezcla se extrajo con EtOAc (20 mL x 2). La fase orgánica se lavó con NaOH 1M. La fase acuosa se acidificó con HCl conc. y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y concentró para dar ácido borónico **97** (635 mg, 84%) como un sólido amarillo.

Síntesis de (2,6–difluorfenil)–N–(5–bromo(2–piridil)carboxamida (98)



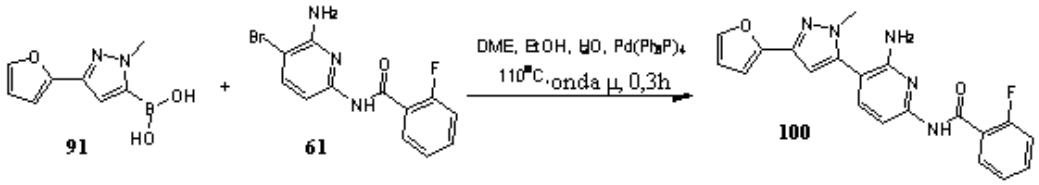
A una solución de **81** (346 mg, 2 mmol) en CH_2Cl_2 (20 ml) se le agregó *N,N*–diisopropiletilamina (DIEA, 1 g, 8 mmol), 4–dimetilaminopiridina (DMAP, 12 mg, 0,1 mmol). El cloruro de 2,6–difluorbenzoílo (388 mg, 2,2 mmol) se volcó dentro de la solución antes mencionada. La mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La reacción se templó con $NaHCO_3$ saturado (20 ml) y se extrajo con EtOAc. El producto se purificó por ISCO y proporcionó **98** (400 mg, 64%) como sólido blanco.

Síntesis de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(1–metil–3–(1,3–tiazol–2–il)pirazol–5–il)(2–piridil)] carboxamida (99)



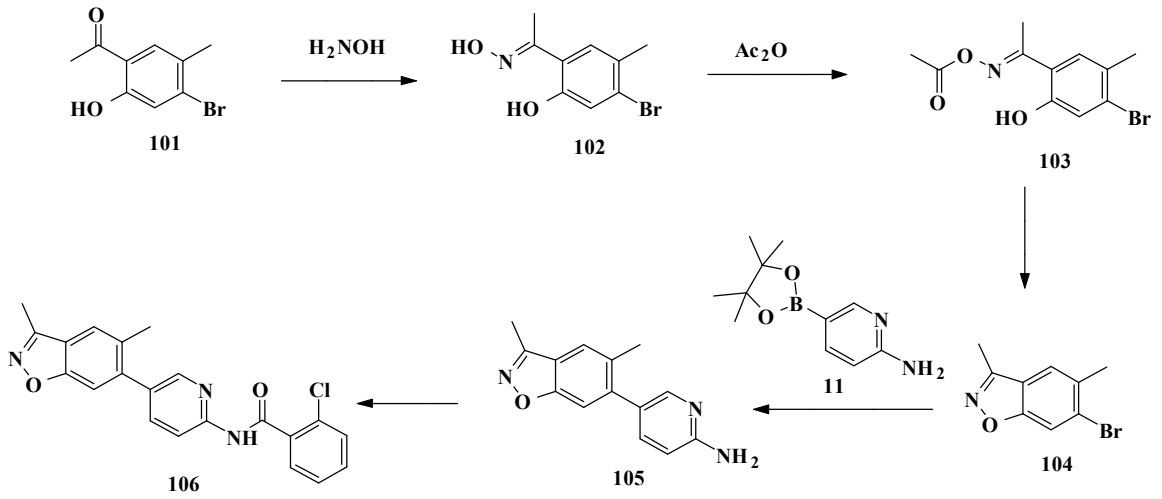
El ácido borónico **97** (21 mg, 0,1 mmol) y **98** (31 mg, 0,1 mmol) se disolvió en 1mL de dimetoxietano y 1 mL de EtOH. Los 0,5 ml de Na_2CO_3 2 M se agregó y la mezcla se burbujeó con Ar durante 1 min antes de agregar tetrakis(trifenilfosfina)–paladio (0) ($Pd(Ph_3P)_4$, 11 mg, 0,01 mmol). La reacción se calentó a 110 °C durante 30 min bajo iniciador de microondas. La mezcla de reacción se trabajó con extracción de EtOAc y el producto se purificó por HPLC y proporcionó **99** (8,5 mg, 21%) como sólido blanco. LC–MS: calc. para $C_{19}H_{13}F_2N_5OS$: 398 (M +1).

Ejemplo 36: N–[6–amino–5–(3–(2–furil)–1–metilpirazol–5–il)(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (100)



El ácido borónico **91** (19,2 mg, 0,1 mmol) y **61** (31 mg, 0,1 mmol) se disolvió en 1mL de dimetoxietano y 1 mL de EtOH. Se agregaron 0,5 ml de Na_2CO_3 2 M y la mezcla se burbujeó con Ar durante 1 min antes de agregar tetrakis(trifenilfosfina)–paladio(0) ($Pd(Ph_3P)_4$, 11 mg, 0,01 mmol). La reacción se calentó a 110 °C durante 30 min bajo iniciador de microondas. La mezcla de reacción se trabajó con extracción de EtOAc y el producto se purificó por HPLC y proporcionó **100** (10,8 mg, 29%) como sólido blanco. LC–MS: calc. para $C_{20}H_{16}FN_5O_2$: 378 (M +1).

Ejemplo 37: Preparación de N–[5–(3,5–dimetilbenzo[d]isoxazol–6–il)(2–piridil)](2–clorofenil)carboxamida (106)



Preparación de 6–bromo–3,5–dimetilbenz[d]isoxazol (104): Una solución de clorhidrato de hidroxilamina (400 mg, 5 8 mmol) en 1 ml de agua se agregó a una solución de NaOAc en 1 ml de agua. A la solución resultante se agregó 1–acetil–4–bromo–2–hidroxi–5–metilbenceno (**101**) (1,14g, 5 mmol) seguido por la adición de 15 ml de EtOH. La mezcla de reacción se agitó a 80°C durante 1 h. Luego de concentrarse hasta la mitad de su volumen, la mezcla de reacción se volcó en 60 ml de agua helada. El precipitado formado se filtró, se lavó con agua y se secó para dar 1,19 g (rendimiento: 97,5%, pureza >95%) de 5–bromo–2–((hidroxiimino)etil)–4–metilfenol (**102**) como sólido blanco.

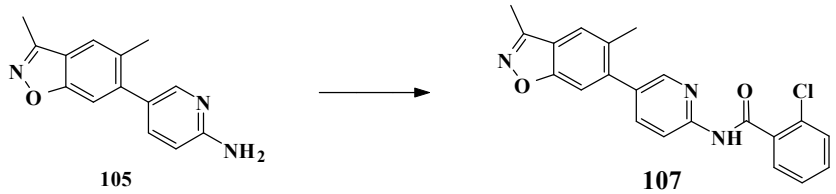
El compuesto intermedio antes mencionado **102** (1,19g, 4,875 mmol) se disolvió en 10 ml de Ac_2O, se agitó a t.a. durante 2h y la mezcla de reacción se convirtió en una suspensión blanca. Después de filtración y lavado con agua se obtuvo 1,0 g de acetato de 2–(4–bromo–2–hidroxi–5–metilfenil)–1–azaprop–1–enil (**103**). EA se agregó al filtrado, se lavó con agua. La fase org. se secó sobre sulfato sódico y se concentró hasta sequedad para dar otros 370 mg de **103** como un sólido blancuzco. (total 1,37g, rendimiento: 98%, pureza >95%).

2–(4–bromo–2–hidroxi–5–metilfenil)–1–azaprop–1–enil acetato puro (**103**) (0,5 g, 1,748 mmol) se calentó a 175°C durante 2h y luego a 100°C durante 1h. Luego de enfriamiento hasta t.a., el sólido marrón oscuro se disolvió en DCM y se sometió a cromatografía flash en gel de sílice (0–40%B, A: hexano; B: 50% EA en hexano) para dar 6–bromo–3,5–dimetilbenz[d]isoxazol (**104**) (92 mg, rendimiento: 23,3%; pureza >95%) como cristales amarillos.

Preparación de 5–(3,5–dimetilbenzo[d]isoxazol–6–il)–2–piridilamina (105): Una mezcla de 6–bromo–3,5–dimetilbenz[d]isoxazol (**104**) (46mg, 0,2 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (**11**) (66 mg, 0,3 mmol), bis(ditercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (21 mg, 10%mol) y K_3PO_4 (64 mg, 0,3 mmol) en 0,5ml de ACN, 0,5ml de dioxano, 0,25 ml H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 2,5h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con NaHCO3 ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y luego se sometió a cromatografía en columna flash sobre gel de sílice (0–100%B, A: hexano; B: EA) para dar 5–(3,5–dimetilbenzo[d]isoxazol–6–il)–2–piridilamina (**105**) (44 mg, rendimiento: 91,9%, pureza >90%) como un sólido amarillo.

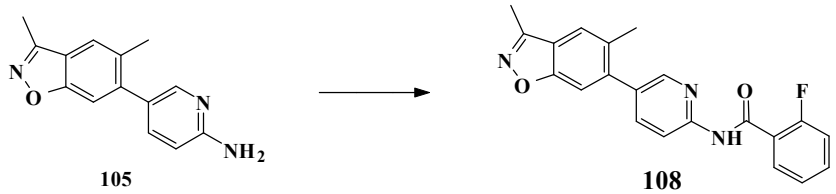
Preparación de N–[5–(3,5–dimetilbenzo[d]isoxazol–6–il)(2–piridil)](2–clorofenil)carboxamida (106): A una solución de 5–(3,5–dimetilbenzo[d]isoxazol–6–il)–2–piridilamina (**105**) (14,5 mg, 0,06 mmol) en 1 ml DCM se agregó cloruro de 2–clorobenzoílo (16µl, 0,12 mmol) seguido por la adición de DIEA (63 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante 2h. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 2ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (120 µl) a t.a. durante 1h antes de trabajarse con EA/ $NaHCO_3$ ac.. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó N–[5–(3,5–dimetilbenzo[d]isoxazol–6–il)(2–piridil)](2–clorofenil)carboxamida (**106**) (17,1 mg, rendimiento: 75,4%, pureza >95%) como un sólido blancuzco.

Ejemplo 38: Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(3,5–dimetilbenzo[d]isoxazol–6–il)(2–piridil)]carboxamida (107)



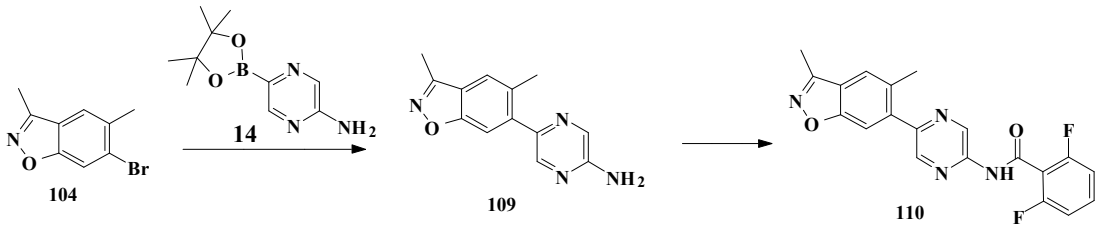
En un procedimiento similar al descrito anteriormente, se preparó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(3,5–dimetilbenzo[d]isoxazol–6–il)(2–piridil)]carboxamida (**107**) (17,9 mg, rendimiento: 78,6%, pureza >95%) como sólido blanco a partir de 5–(3,5–dimetilbenzo[d]isoxazol–6–il)–2–piridilamina (**105**) (14,5 mg, 0,06 mmol) mediante reacción con cloruro de 2,6–difluorbenzoílo (0,3 mmol).

Ejemplo 39: Preparación de N–[5–(3,5–dimetilbenzo[d]isoxazol–6–il)(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (108)



En un procedimiento similar al descrito anteriormente, se preparó N–[5–(3,5–dimetilbenzo[d]isoxazol–6–il)(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (**108**) (20,1 mg, rendimiento: 92,7%, pureza >95%) como sólido amarillo claro a partir de 5–(3,5–dimetilbenzo[d]isoxazol–6–il)–2–piridilamina (**105**) (14,5 mg, 0,06 mmol) mediante reacción con cloruro de 2–fluorbenzoílo (0,3 mmol).

Ejemplo 40: Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(3,5–dimetilbenzo[d]isoxazol–6–il)pirazin–2–il]carboxamida (110)

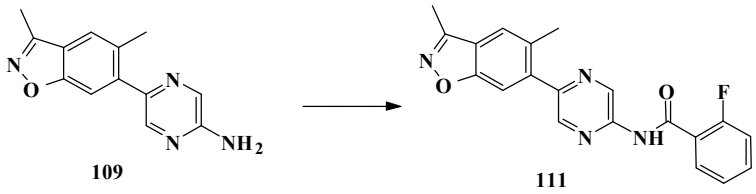


Preparación de 5–(3,5–dimetilbenz[d]isoxazol–6–il)pirazin–2–ilamina (109): Una mezcla de 6–bromo–3,5–dimetilbenz[d]isoxazol (**104**) (54mg, 0,24 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopirazin–5–borónico (**14**) (79 mg, 0,358 mmol), bis(ditertbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (25 mg, 10%mol) y K_3PO_4 (76 mg) en 1ml de ACN, 1ml de dioxano, 0,5 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 3h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con NaHCO3 ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y luego se sometió a cromatografía en columna flash sobre gel de sílice (0–100%B, A: hexano; B: EA) para dar 5–(3,5–dimetilbenz[d]isoxazol–6–il)pirazin–2–ilamina (**109**) (15 mg, rendimiento: 26,1%, pureza >95%) como sólido amarillo claro.

Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(3,5–dimetilbenzo[d]isoxazol–6–il)pirazin–2–il]carboxamida (110): A una solución de 5–(3,5–dimetilbenz[d]isoxazol–6–il)pirazin–2–ilamina (**109**) (7,5 mg, 0,03 mmol) en 1 ml de DCM se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoílo (11µl, 0,09 mmol) seguido por la adición de DIEA (47 µl).

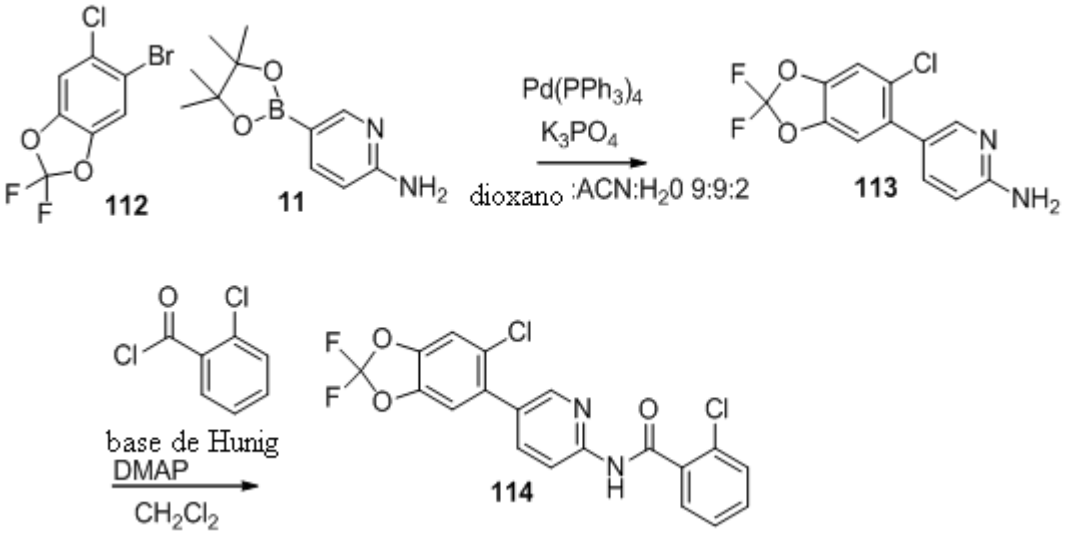
La solución resultante se agitó a t.a. durante 2h. La mezcla de reacción se trabajó con $NaHCO_3$ ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 2ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (90 µl) a t.a. durante 1h antes de trabajarse con EA/ $NaHCO_3$ ac.. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó 7,3 mg (rendimiento: 63,8%, pureza >95%) (2,6–difluorfenil)–N–[5–(3,5–dimetilbenzo[d]isoxazol–6–il)pirazin–2–il]carboxamida (**110**) como sólido blanco.

Ejemplo 41: Preparación de N–[5–(3,5–dimetilbenzo[d]isoxazol–6–il)pirazin–2–il](2–fluorfenil)carboxamida (111)



En un procedimiento similar al descrito anteriormente, se preparó N–[5–(3,5–dimetilbenzo[d]isoxazol–6–il)pirazin–2–il](2–fluorfenil)carboxamida (**111**) (6,3 mg como sólido blanco, rendimiento: 58%, pureza >95%) a partir de 5–(3,5–dimetilbenz[d]isoxazol–6–il)pirazin–2–ilamina (**109**) (7,5 mg, 0,03 mmol) mediante reacción con cloruro de 2–fluorbenzoílo (0,09 mmol).

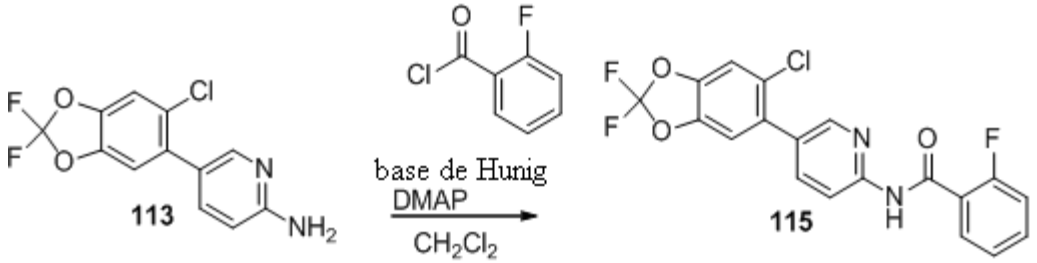
Ejemplo 42: 2–cloro–N–(5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–il)benzamida (114)



Preparación de 5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–amina (113). Tetrakis-trifenilfosfina de paladio (43 mg, 37 µmol) se agregó a una solución desgasificada de bromuro **112** (200 mg, 740 µmol) y boronato **11** (195 mg, 880 µmol) en dioxano : acetonitrilo : agua (9:9:2, 3,7 mL) y carbonato potásico (234 mg, 1,11 mmol). La mezcla resultante se calentó bajo argón a 90ºC con agitación durante 1 h. La mezcla luego se enfrió, se diluyó con diclorometano (3 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–50% acetato de etilo en hexano) proporcionó **113** (94,5 mg, 45%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 285,3 $[M+H]^+$, calc. para $C_{12}H_8Cl_1F_2N_2O_2$ 285,0.

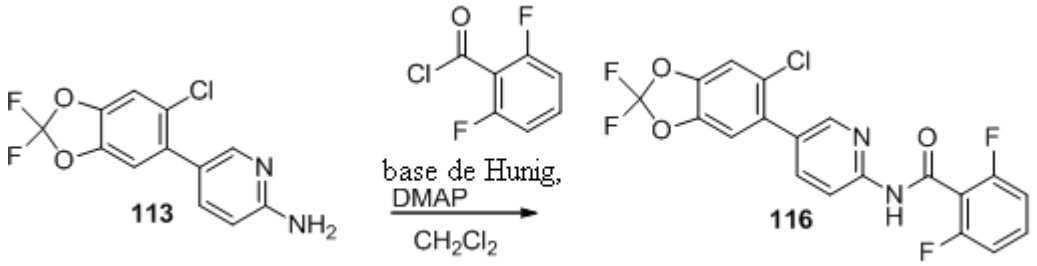
Preparación de 2–cloro–N–(5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–il)benzamida (114). Bajo una atmósfera de argón, cloruro de ácido 2,6–difluorbenzoílo (16 mg, 92 µmol) se agregó a una solución agitada de **113** (25 mg, 88 µmol), base de Hünig (46 µL, 34 mg, 260 µmol), y DMAP (1,1 mg, 8,8 µmol) en diclorometano (440 µL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 0,5 h. La solución se diluyó con tetrahidrofurano (500 µL), metanol (200 µL) y solución de hidróxido de litio 1,2 M (100 µL). La mezcla se agitó y calentó hasta 60 ºC durante 5 min luego se enfrió hasta temperatura ambiente y se diluyó con diclorometano y se secó con sulfato sódico. La mezcla se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–50% acetato de etilo en hexano) proporcionó **114** (21,6 mg, 58%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 423,3 $[M+H]^+$, calc. para $C_{19}H_{11}Cl_2F_2N_2O_3$ 423,0.

Ejemplo 43: Preparación de N–(5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–il)–2–fluorbenzamida (115)



En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó N–(5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–il)–2–fluorbenzamida (**115**) a partir de 5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–amina (**113**) mediante reacción con cloruro de 2–fluorbenzoílo.

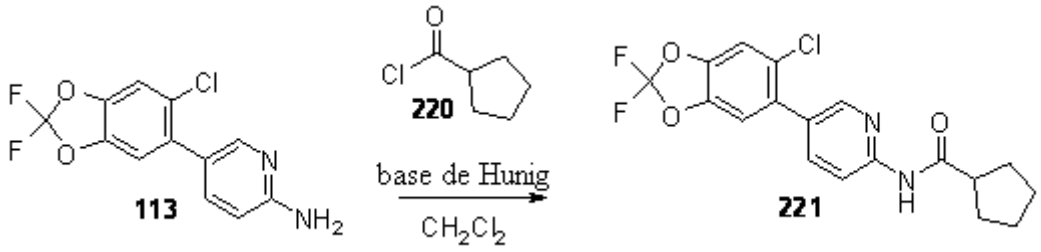
Ejemplo 44: N–(5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–il)–2,6–difluorbenzamida **(116)**



En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó N–(5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–il)–2,6–difluorbenzamida (**116**) a partir de 5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–amina (**113**) mediante reacción con cloruro de 2,6–difluorbenzoílo.

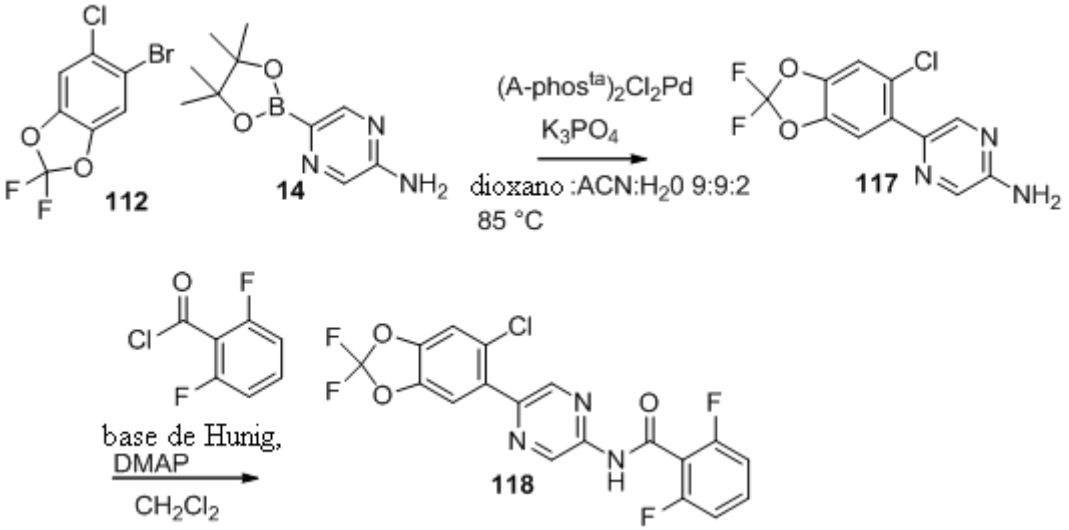
Ejemplo 45: N–(5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–il)–2,6–difluorbenzamida (118)

Preparación de N–(5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–il)ciclopentancarboxamida



Preparación de N–(5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–il)ciclopentancarboxamida (221).

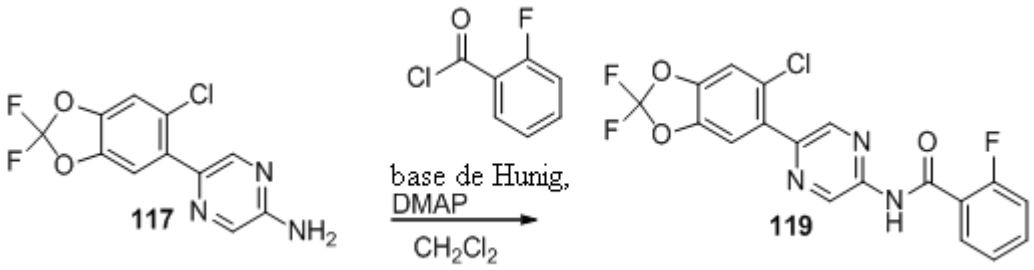
Se agregó cloruro ácido **220** (28 mg, 0,2 mmol) a una solución agitada de **113** (30 mg, 0,1 mmol) y base de Hünig (92 µL, 68 mg, 0,7 mmol) en diclorometano (1 mL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 0.5 h y luego se concentró bajo presión reducida. El material en bruto se disolvió en tetrahidrofurano (0,9 mL), metanol (0,6 mL) y solución de hidróxido sódico 2 M (0,4 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 min y luego se extrajo con diclorometano (3 x 3 mL) y los extractos combinados se secaron con sulfato sódico. La mezcla se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–25% acetato de etilo en hexano) proporcionó **221** (28 mg, 68%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 381,1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{18}H_{16}Cl_1F_2N_2O_3$ 381,1.



Preparación de 5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–amina (117). Bis(di–*tercbutilo*(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio(II) (20 mg, 28 µmol) se agregó a una solución desgasificada de bromuro **112** (150 mg, 550 µmol) y boronato **14** (134 mg, 610 µmol) en dioxano : acetonitrilo : agua (9:9:2, 2,8 mL) y carbonato potásico (176 mg, 0,83 mmol). La mezcla resultante se calentó bajo argón a 85ºC con agitación durante 1 h. La mezcla luego se enfrió, se diluyó con diclorometano (15 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–50% acetato de etilo en hexano) proporcionó **117** (43 mg, 27%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 286,1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{11}H_7Cl_1F_2N_3O_2$ 286,0.

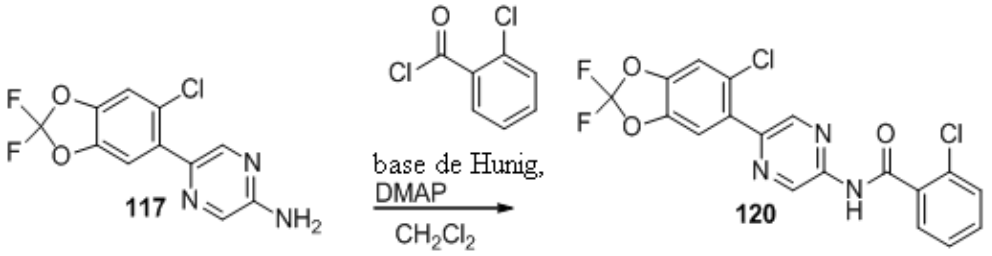
Preparación de N–(5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–il)–2,6–difluorbenzamida (118). Bajo una atmósfera de argón, se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoílo (17 mg, 98 µmol) a una solución agitada de **117** (14 mg, 49 µmol), base de Hünig (51 µL, 38 mg, 290 µmol), y DMAP (1 mg, 8 µmol) en diclorometano (780 µL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 0,5 h. La solución se diluyó con tetrahidrofurano (1,5 mL), metanol (1 mL) y solución de hidróxido de litio 1,2 M (500 µL). La mezcla se agitó y calentó hasta 60ºC durante 45 min luego se enfrió hasta temperatura ambiente y se diluyó con diclorometano (5 mL) y se secó con sulfato sódico. La mezcla se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–30% acetato de etilo en hexano) proporcionó **118** (11,5 mg, 55%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 426,1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{18}H_9Cl_1F_4N_3O_3$ 426,0.

Ejemplo 46: Preparación de N–(5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–il)–2–fluorbenzamida (119)

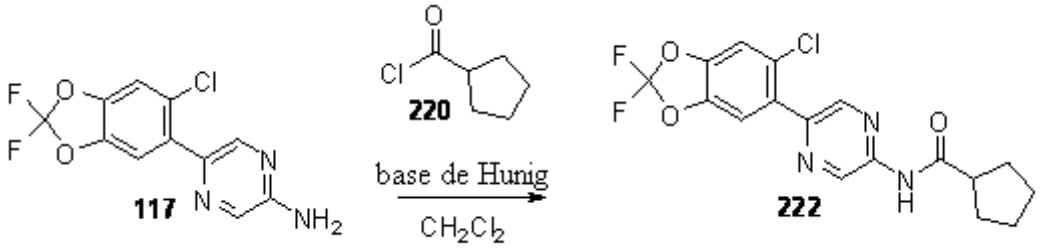


En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó N–(5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–il)–2–fluorbenzamida (**119**) a partir de 5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–amina (**117**) mediante reacción con cloruro de 2–fluorbenzoílo.

Ejemplo 47: Preparación de 2–cloro–N–(5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–il)benzamida (120)

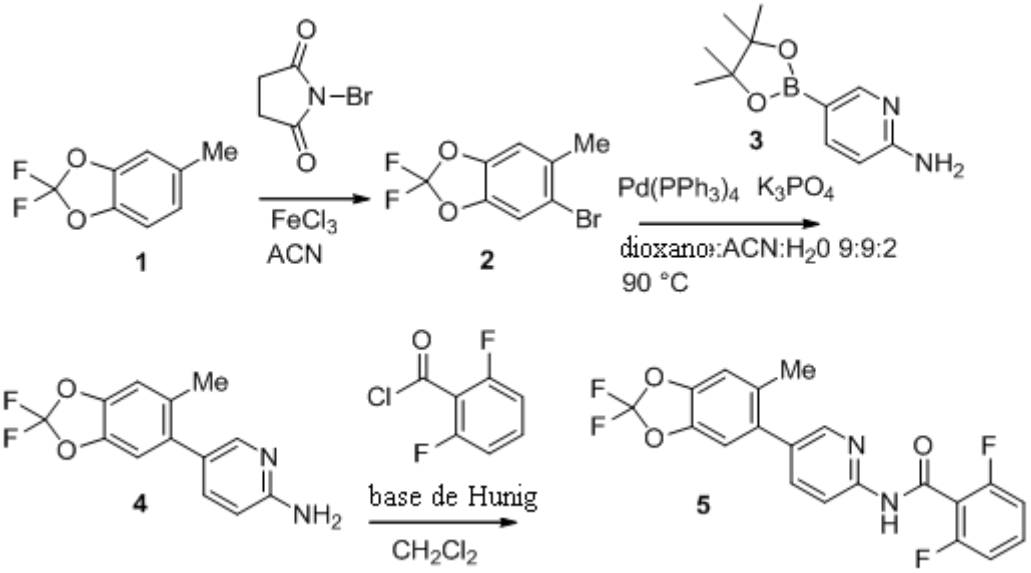


En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó 2–cloro–N–(5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–il)benzamida (**120**) a partir de 5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–amina (**117**) mediante reacción con cloruro de 2–clorobenzoílo.



Preparación de N–(5–(6–cloro–2,2–difluorbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–il)ciclopentancarboxamida (222).

Se agregó cloruro ácido **220** (28 mg, 0,2 mmol) a una solución agitada de **117** (30 mg, 0,1 mmol) y base de Hünig (92 µL, 68 mg, 0,7 mmol) en diclorometano (1 mL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 0,5 h y luego se concentró bajo presión reducida. El material en bruto se disolvió en tetrahidrofurano (0,9 mL), metanol (0,6 mL) y solución de hidróxido sódico 2 M (0,4 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 min y luego se extrajo con diclorometano (3 x 3 mL) y los extractos combinados se secaron con sulfato sódico. La mezcla se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–25% acetato de etilo en hexano) proporcionó **222** (23 mg, 57%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 382,0 $[M+H]^+$, calc. para $C_{17}H_{15}Cl_1F_2N_3O_3$ 382,1.

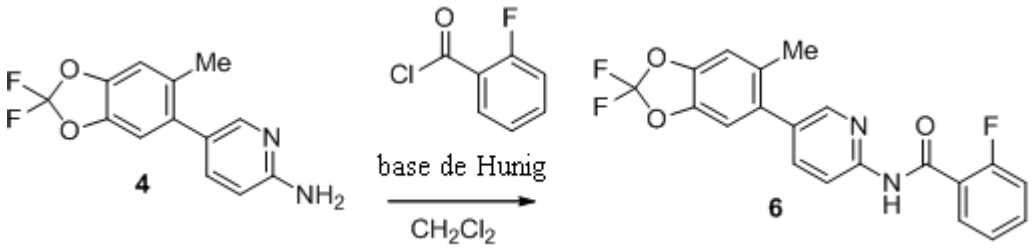


Preparación de 5–bromo–2,2–difluor–6–metilbenzo[d][1,3]dioxol (2). N–bromosuccinimida (4,34 g, 24,4 mmol) y cloruro de hierro (III) (1,13 g, 7,0 mmol) se agregó a una solución de **1** (4,0 g, 23,2 mmol) en acetonitrilo (46 mL). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas. La mezcla se diluyó con solución de bicarbonato sódico saturado (100 mL) y se extrajo con diclorometano (3x50 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato sódico y se concentraron bajo presión reducida. La

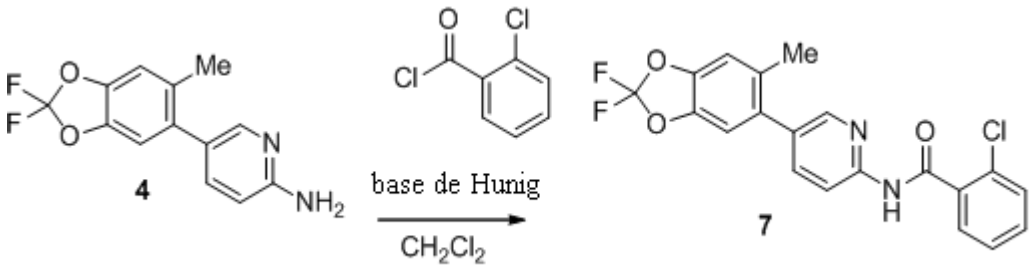
cromatografía flash (Sistema ISCO, sílice, 0–5% acetato de etilo en hexano) proporcionó **2** (5.46 g, 94%) como un líquido.

Preparación de 5–(2,2–difluor–6–metilbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–amina (4). Tetrakis-trifenilfosfina de paladio (58 mg, 43 µmol) se agregó a una solución desgasificada de bromuro **2** (250 mg, 1,0 mmol) y boronato **3** (274 mg, 1,25 mmol) en dioxano : acetonitrilo : agua (9:9:2, 5 mL) y fosfato potásico (317 mg, 1,5 mmol). La mezcla resultante se calentó bajo argón a 90 ºC con agitación durante 14 horas. La mezcla luego se enfrió, se extrajo con diclorometano (3x50 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–50% acetato de etilo en hexano) proporcionó **4** (236 mg, 90%) como un sólido cristalino: LRESIMS *m/z* 265,2 $[M+H]^+$, calc. para $C_{13}H_{11}F_2N_2O_2$ 265,1.

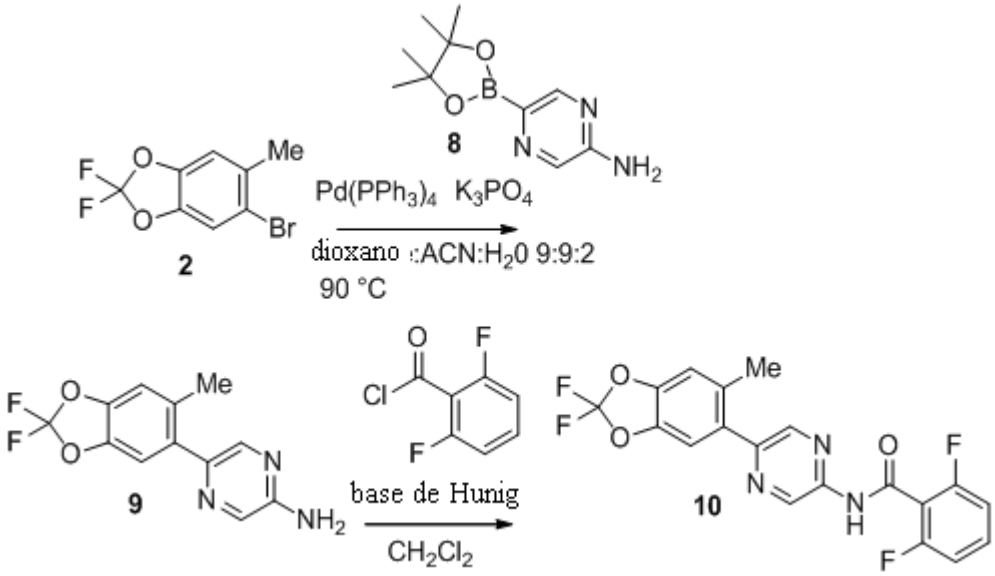
Preparación de N–(5–(2,2–difluor–6–metilbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–il)–2,6–difluorbenzamida (5). Bajo una atmósfera de argón, se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoílo (32 mg, 0,2 mmol) a una solución agitada de **4** (24 mg, 0,1 mmol) y base de Hünig (95 µL, 70 mg, 0,5 mmol) en diclorometano (1,0 mL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 0.5 h. La solución se diluyó con tetrahidrofurano (0.6 mL), metanol (0.4 mL) y solución de hidróxido sódico 2 M (0,2 mL). La mezcla se agitó y calentó hasta 60 ºC durante 15 min luego se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con diclorometano (5 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–25% acetato de etilo en hexano) proporcionó **5** (27,8 mg, 76%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 405,1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{20}H_{13}F_4N_2O_3$ 405,1.



En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó N–(5–(2,2–difluor–6–metilbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–il)–2–fluorbenzamida (**6**) a partir de 5–(2,2–difluor–6–metilbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–amina (**4**) mediante reacción con cloruro de 2–fluorbenzoílo.

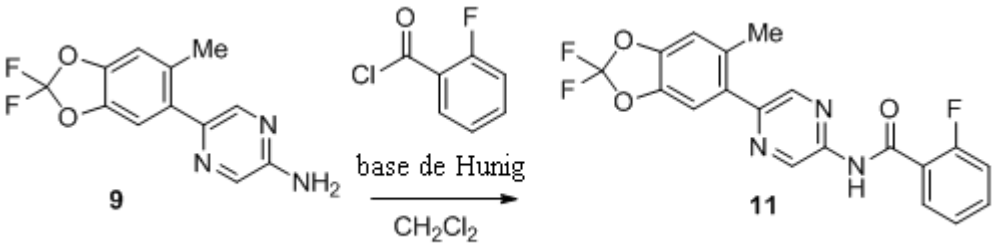


En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó 2–cloro–N–(5–(2,2–difluor–6–metilbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–il)benzamida (**7**) a partir de 5–(2,2–difluor–6–metilbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)piridin–2–amina (**4**) mediante reacción con cloruro de 2–clorobenzoílo.

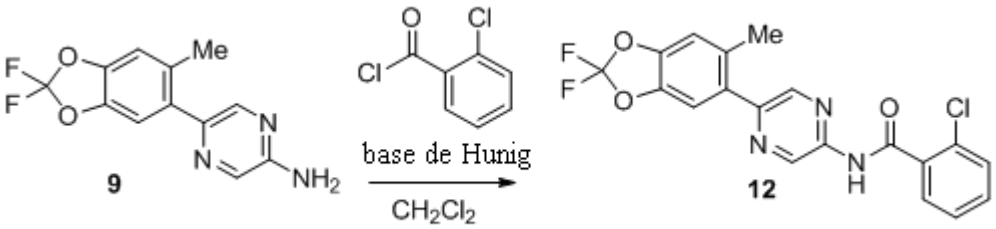


Preparación de 5–(2,2–difluor–6–metilbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–amina (9). Tetrakis-trifenilfosfina de paladio (35 mg, 30 µmol) se agregó a una solución desgasificada de bromuro **2** (150 mg, 0,6 mmol) y boronato **8** (171 mg, 0,8 mmol) en dioxano : acetonitrilo : agua (9:9:2, 3 mL) y fosfato potásico (190 mg, 0,9 mmol). La mezcla resultante se calentó bajo argón a 80 ºC con agitación durante 4 horas. La mezcla luego se enfrió, se extrajo con diclorometano (3x5 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–50% acetato de etilo en hexano) proporcionó **9** (64 mg, 40%) en forma de un sólido cristalino: LRESIMS *m/z* 266,1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{12}H_{10}F_2N_3O_2$ 266,1.

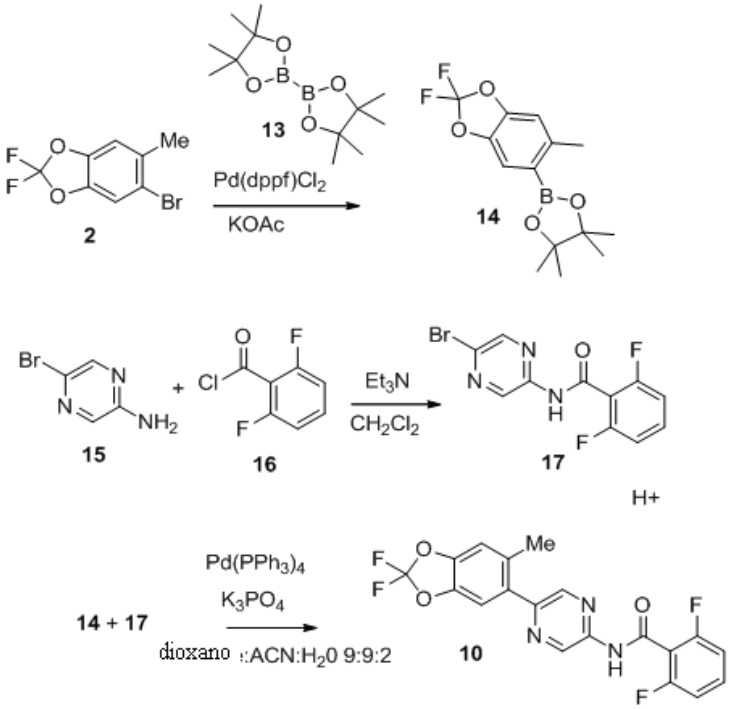
Preparación de N–(5–(2,2–difluor–6–metilbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–il)–2,6–difluorbenzamida (10). Bajo una atmósfera de argón, se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoílo (40 mg, 0,2 mmol) a una solución agitada de **9** (30 mg, 0,1 mmol) y base de Hünig (120 µL, 88 mg, 0,7 mmol) en diclorometano (1.0 mL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 0.5 h. La solución se diluyó con tetrahidrofurano (0,9 mL), metanol (0,6 mL) y solución de hidróxido sódico 2 M (0,2 mL). La mezcla se agitó y calentó hasta 60 ºC durante 10 min luego se enfrió hasta temperatura ambiente, se extrajo con diclorometano (3x5 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–20% acetato de etilo en hexano) proporcionó **10** (26,4 mg, 58%) en forma de un sólido cristalino: LRESIMS *m/z* 406.1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{19}H_{12}F_4N_3O_3$ 406,1.



En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó N–(5–(2,2–difluor–6–metilbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–il)–2–fluorbenzamida (**11**) a partir de 5–(2,2–difluor–6–metilbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–amina (**9**) mediante reacción con cloruro de 2–fluorbenzoílo.



En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó 2–cloro–N–(5–(2,2–difluor–6–metilbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–il)benzamida (**12**) a partir de 5–(2,2–difluor–6–metilbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–amina (**9**) mediante reacción con cloruro de 2–clorobenzoílo.

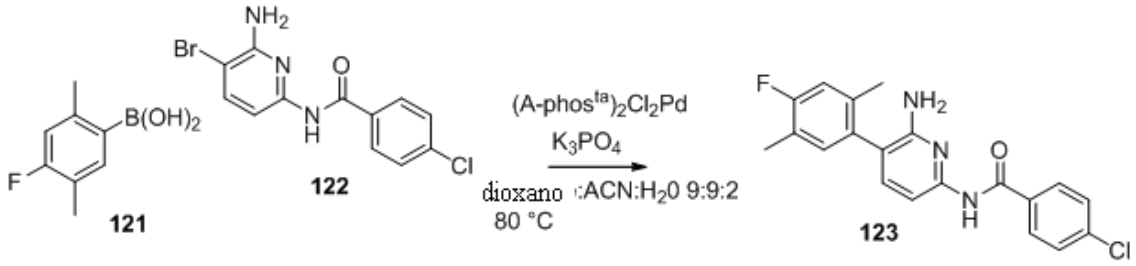


Preparación de 2–(2,2–difluor–6–metilbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)–4,4,5,5–tetrametil–1,3,2–dioxaborolano (14). Se agregó $Pd(dppf)_2Cl_2$ (51 mg, 0,1 mmol) a una solución desgasificada de bromuro **2** (150 mg, 0,6 mmol) y boronato **13** (182 mg, 0,7 mmol) en dioxano y acetato potásico (117 mg, 12 mmol). La mezcla resultante se calentó bajo argón a 90ºC con agitación durante 14 horas. La mezcla luego se enfrió, se diluyó con diclorometano (5 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (Sistema ISCO, sílice, 0–30% acetato de etilo en hexano) proporcionó **14** (117 mg, 66%) como un líquido.

Preparación de N–(5–bromopirazin–2–il)–2,6–difluorbenzamida (17). Bajo una atmósfera de argón, cloruro de 2,6–difluorbenzoílo (20,3 g, 115 mmol) se agregó a una solución agitada de **15** (10,0 g, 57,5 mmol) y trietilamina (24,0 mL, 17,4 g, 172 mmol) en diclorometano (145 mL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 15 h. La mezcla se templó con solución de bicarbonato sódico saturado (100 mL) y se extrajo con diclorometano (3x100 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato sódico y se concentraron bajo presión reducida. El material en bruto se disolvió con tetrahidrofurano (200 mL), metanol (100 mL) y solución de hidróxido sódico 2 M (75 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 min y luego se extrajo con 1:1 acetato de etilo:hexano (3x300 mL), se secó con salmuera (100 mL) y luego sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (silica, 25% acetato de etilo en hexano) seguida por cristalización a partir de acetato de etilo en hexano proporcionó **17** (15 g, 84%) en forma de un sólido cristalino: LRESIMS *m/z* 314.0 $[M+H]^+$, calc. para $C_{11}H_7Br_1F_2N_3O_1$ 314,0.

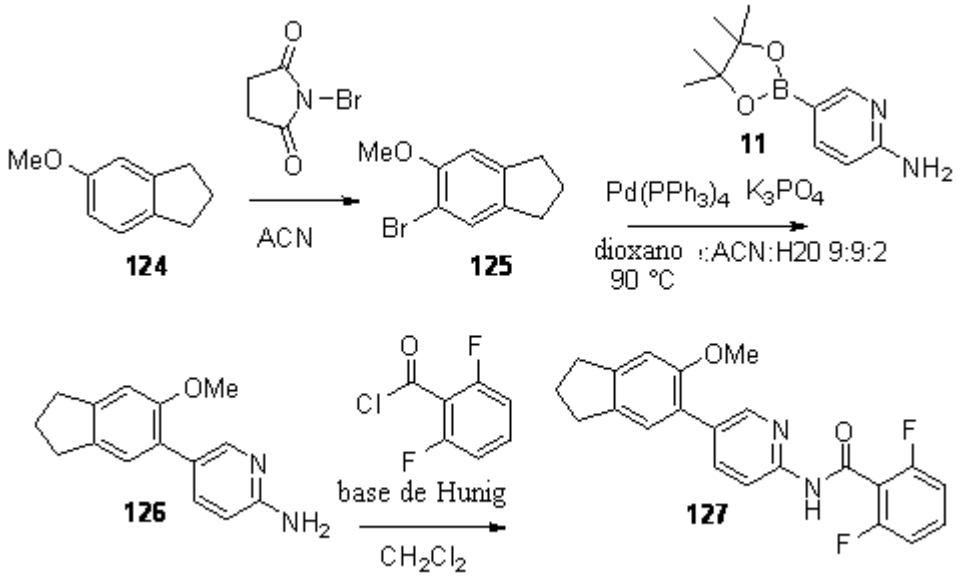
Preparación de N–(5–(2,2–difluor–6–metilbenzo[d][1,3]dioxol–5–il)pirazin–2–il)–2,6–difluorbenzamida (10). Tetrakis-trifenilfosfina de paladio (23 mg, 20 µmol) se agregó a una solución desgasificada de bromuro **17** (129 mg, 0,4 mmol) y boronato **14** (117 mg, 0,4 mmol) en dioxano : acetonitrilo : agua (9:9:2, 2,0 mL) y fosfato potásico (125 mg, 0,6 mmol). La mezcla resultante se calentó bajo argón a 80 ºC con agitación durante 1,5 horas. La mezcla luego se enfrió, se extrajo con diclorometano (3x7 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–30% acetato de etilo en hexano) proporcionó **10** (124 g, 78%) en forma de un sólido cristalino: LRESIMS *m/z* 406.1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{19}H_{12}F_4N_3O_3$ 406,1.

Ejemplo 48: N–(6–amino–5–(4–fluor–2,5–dimetilfenil)piridin–2–il)–4–clorobenzamida (123))



Preparación de N–(6–amino–5–(4–fluor–2,5–dimetilfenil)piridin–2–il)–4–clorobenzamida (123). Se agregó Bis(di–*tercbutilo*(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio(II) (5.5 mg, 8 µmol) a una solución desgasificada de bromuro **122** (50 mg, 153 µmol65) y ácido borónico **121** (mg, 385 µmol) en dioxano : acetonitrilo : agua (9:9:2, 1.0 mL) y carbonato de potasio (49 mg, 230 µmol). La mezcla resultante se calentó bajo argón a 80 ºC con agitación durante 0.5 h. La mezcla luego se enfrió, se diluyó con diclorometano (4 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–30% acetato de etilo en hexano) proporcionó **123** (45,9 mg, 81%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 370,3 $[M+H]^+$, calc. para $C_{20}H_{18}Cl_1F_1N_3O_1$ 370,1.

Ejemplo 49: 2,6–difluor–N–(5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)piridin–2–il)benzamida (127)



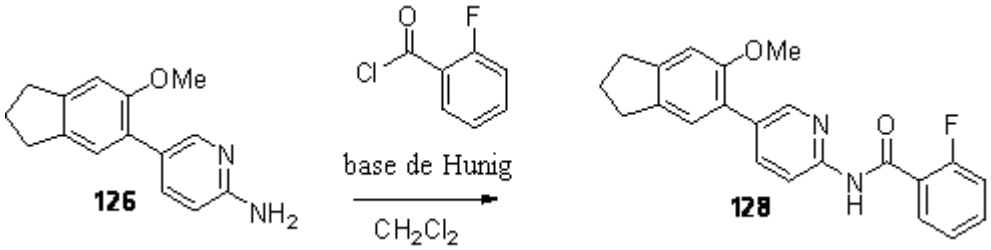
Preparación de 5–bromo–6–metoxi–2,3–dihidro–1H–indeno (125). N–bromosuccinimida (1,26 g, 7,1 mmol) se agregó a una solución de 5–metoxiindan **124** (1,0 g, 6,7 mmol) en acetonitrilo (34 mL). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla se diluyó con agua (100 mL) y se extrajo con diclorometano (3x50 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato sódico y se concentraron bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–10% acetato de etilo en hexano) proporcionó **125** (1,53 g, 100%) como un líquido.

Preparación de 5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)piridin–2–amina (126). Se agregó tetrakis-trifenilfosfina de paladio (25 mg, 20 µmol) a una solución desgasificada de bromuro **125** (100 mg, 0,4 mmol) y boronato **11** (174 mg, 0,8 mmol) en dioxano : acetonitrilo : agua (9:9:2, 2,2 mL) y carbonato de potasio (139 mg, 0,7 mmol). La mezcla resultante se calentó bajo argón a 90 ºC con agitación durante 2 días. La mezcla luego se enfrió, se diluyó con diclorometano (5 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–50% acetato de etilo en hexano) proporcionó **126** como un aceite impuro: LRESIMS *m/z* 241.1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{15}H_{17}N_2O_1$ 241,1.

Preparación de 2,6–difluor–N–(5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)piridin–2–il)benzamida (127). Bajo una atmósfera de argón, se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoílo (44 mg, 0,2 mmol) a una solución agitada de **126** (30 mg, 0.1 mmol) y Base de Hünig (130 µL, 97 mg, 0,7 mmol) en diclorometano (0,7 mL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 0,5 h. La solución se diluyó con tetrahidrofurano (0,6 mL), metanol (0,4 mL) y solución de hidróxido sódico 2 M (0,2 mL). La mezcla se agitó y calentó hasta 60 ºC

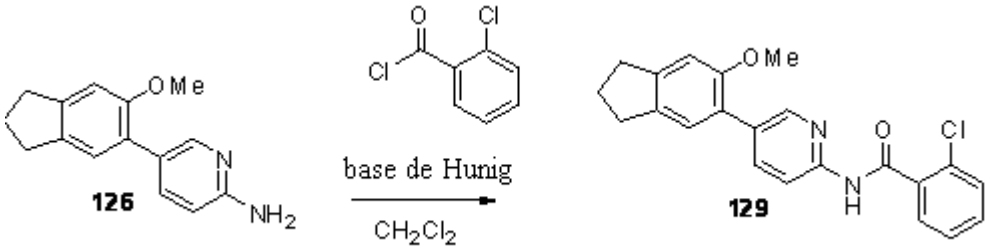
durante 60 min luego se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con diclorometano (5 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (Sistema ISCO, sílice, 0–20% acetato de etilo en hexano) proporcionó **127** (14.4 mg, 30%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 381.1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{22}H_{19}F_2N_2O_2$ 381,1.

Ejemplo 50: 2–fluor–N–(5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)piridin–2–il)benzamida (128)



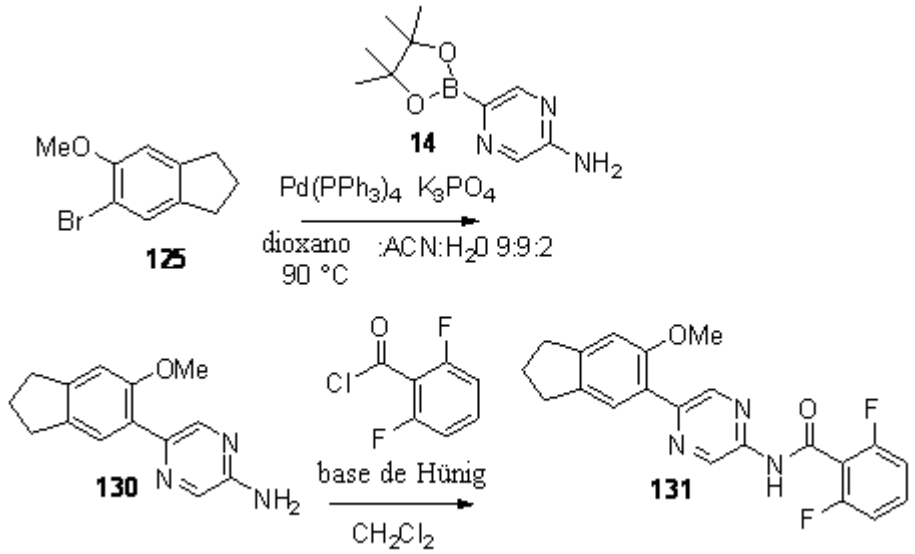
En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó 2–fluor–N–(5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)piridin–2–il)benzamida (**128**) a partir de 5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)piridin–2–amina (**126**) mediante reacción con cloruro de 2–fluorbenzoílo.

Ejemplo 51: 2–cloro–N–(5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)piridin–2–il)benzamida (129)



En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó 2–cloro–N–(5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)piridin–2–il)benzamida (**129**) a partir de 5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)piridin–2–amina (**126**) mediante reacción con cloruro de 2–clorobenzoílo.

Ejemplo 52: 2,6–difluor–N–(5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)pirazin–2–il)benzamida (131)

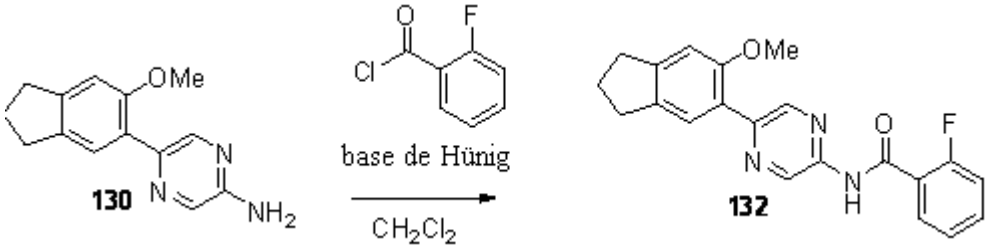


Preparación de 5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)pirazin–2–amina (130). Se agregó tetrakis-trifenilfosfina de paladio (25 mg, 20 µmol) a una solución desgasificada de bromuro **125** (100 mg, 0,4 mmol) y boronato **14** (122 mg, 0,6 mmol) en dioxano : acetonitrilo : agua (9:9:2, 2,2 mL) y carbonato de potasio (139 mg, 0,7 mmol). La mezcla resultante se calentó bajo argón a 90 ºC con agitación durante 3 días. La mezcla

luego se enfrió, se diluyó con diclorometano (5 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–50% acetato de etilo en hexano) proporcionó **130** como un aceite impuro: LRESIMS *m/z* 242,1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{14}H_{16}N_3O_1$ 242,1.

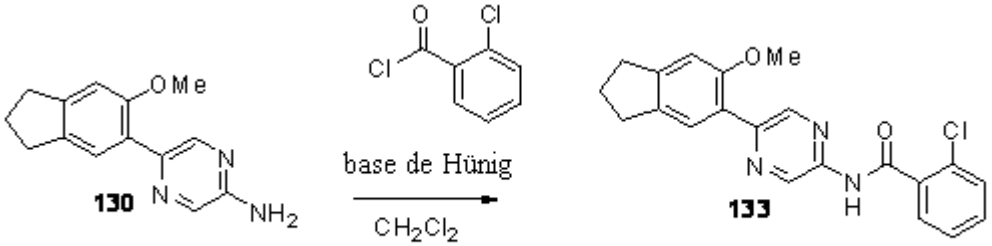
Preparación de 2,6–difluor–N–(5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)pirazin–2–il)benzamida (131). Bajo una atmósfera de argón, cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (29 mg, 0,2 mmol) se agregó a una solución agitada de **130** (20 mg, 0,1 mmol) y base de Hünig (90 µL, 64 mg, 0,5 mmol) en diclorometano (0,5 mL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 0,5 h. La solución se diluyó con tetrahidrofurano (0,6 mL), metanol (0,4 mL) y solución de hidróxido sódico 2 M (0,2 mL). La mezcla se agitó y calentó hasta 60 ºC durante 60 min luego se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con diclorometano (5 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–20% acetato de etilo en hexano) proporcionó **131** (14,4 mg, 30%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 381.1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{21}H_{18}F_2N_3O_2$ 382,1.

Ejemplo 53: 2–fluor–N–(5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)pirazin–2–il)benzamida (**132**)



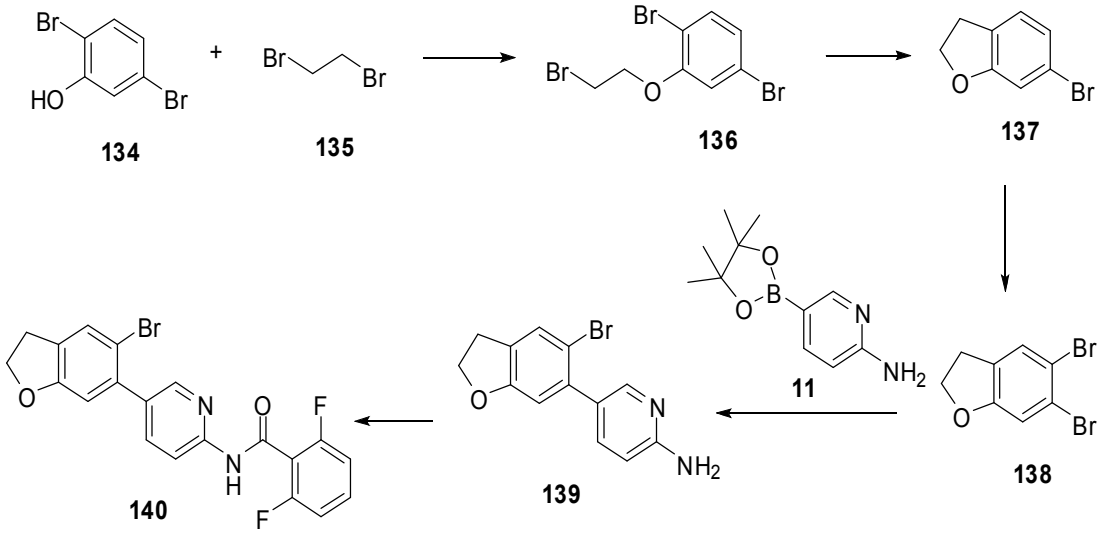
En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó 2–fluor–N–(5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)pirazin–2–il)benzamida (**132**) a partir de 5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)pirazin–2–amina (**130**) mediante reacción con cloruro de 2–fluorbenzoílo.

Ejemplo 54: 2–cloro–N–(5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)pirazin–2–il)benzamida (**133**)



En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó 2–cloro–N–(5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)pirazin–2–il)benzamida (**133**) a partir de 5–(6–metoxi–2,3–dihidro–1H–inden–5–il)pirazin–2–amina (**130**) mediante reacción con cloruro de 2–clorobenzoílo.

Ejemplo 55: (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–bromo(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il))(2–piridil)]carboxamida (140)



Preparación de 1,4–dibromo–2–(2–bromoetoxi)benceno (136). Una mezcla de 2,5–dibromofenol (**134**) (1,26g, 5 mmol) y 1,2–dibromoetano (**135**) (431 µl, 5 mmol) en 5 ml de NaOH 1N se agitó a 80°C durante 40h. Luego de enfriamiento, la mezcla de reacción se extrajo con éter dietílico. La fase org. se lavó con NaOH 1 N y salmuera posteriormente. La fase org. se secó sobre sulfato sódico y se concentró para dar 922 mg (rendimiento 51%, pureza aprox. 90%) 1,4–dibromo–2–(2–bromoetoxi)benceno (**136**) como aceite rojo anaranjado el cual se utilizó directamente para posterior reacción sin purificación.

Preparación de 6–bromo–2,3–dihidrobenzo[b]furan (137). 1,4–dibromo–2–(2–bromoetoxi)benceno (**136**) (922mg, 2,57 mmol) se disolvió en 25 ml de THF seco. Luego de enfriamiento hasta –78°C, se agregó por goteo una solución de n–BuLi 2.5M (1,23 ml, 1,2q) en hexano. La mezcla de reacción se agitó a –78°C durante 4h antes de volcarla en agua helada. Luego de extracción dos veces con acetato de etilo, la fase org. se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato sódico y luego se concentró para dar 504 mg (pureza aprox. 80%) 6–bromo–2,3–dihidrobenzo[b]furan (**137**) como un aceite marrón oscuro el cual se utilizó directamente para posterior reacción.

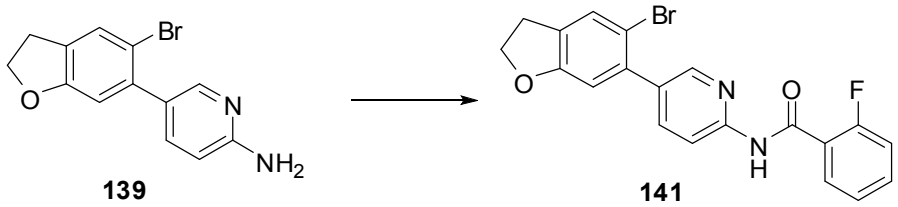
Preparación de 5,6–dibromo–2,3–dihidrobenzo[b]furan (138). NBS (450 mg, 2,53 mmol) se agregó a una solución de 6–bromo–2,3–dihidrobenzo[b]furan (**137**) (504 mg, 2,53 mmol) en 15 ml de ACN. La mezcla de reacción se agitó durante toda la noche a t.a. La solución amarilla se vertió en agua helada, se extrajo con EA. La fase org. se lavó con bicarbonato sódico ac. y salmuera posteriormente. Luego de secado sobre sulfato sódico la fase org. se concentró para dar 676 mg (pureza aprox. 90%) del compuesto del título como un aceite oscuro el cual solidificó luego de reposo a t.a.

Preparación de 5–(5–bromo–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il)–2–piridilamina (139). Una mezcla de 5,6–dibromo–2,3–dihidrobenzo[b]furan (**138**) (489mg, 1,75 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (**11**) (465 mg, 1,2 eq), bis(ditercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (124 mg, 10%mol) y K_3PO_4 (371 mg, 1,75 mmol) en 2ml de ACN, 2ml de dioxano, 0,5 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 2h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con NaHCO3 ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y luego se sometió a cromatografía en columna flash sobre gel de sílice (0–100%B, A: hexano; B: EA) para dar 5–(5–bromo–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il)–2–piridilamina (**139**) (48,5 mg, rendimiento: 9,5%) como un sólido amarillo.

Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–bromo(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il))(2–piridil)]carboxamida (140):

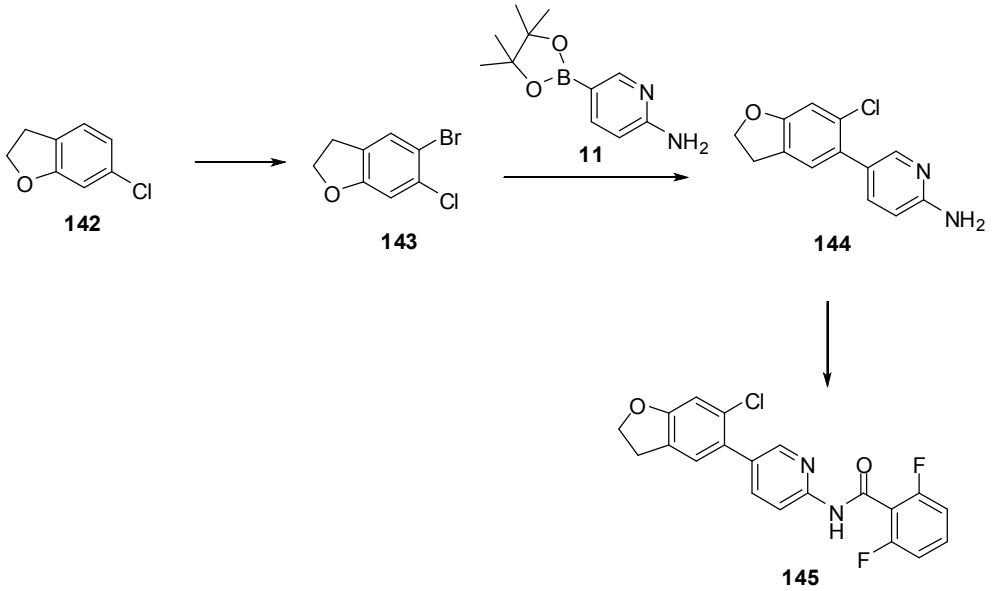
A una solución de 5–(5–bromo–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il)–2–piridilamina (**139**) (13 mg, 0,044 mmol) en 1 ml de DCM se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (11µl, 0.088 mmol) seguido por la adición de DIEA (38 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante toda la noche. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 1ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (100 µl) a t.a. durante 2h y antes de trabajarse con EA/ NaHCO3 ac.. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–bromo(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il))(2–piridil)]carboxamida (**140**) (15,5 mg, rendimiento: 81,6%, pureza >90%) como sólido blanco.

Ejemplo 56: N–[5–(5–bromo(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il))(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (141)



Preparación de N–[5–(5–bromo(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il))(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (141). A una solución de 5–(5–bromo–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il)–2–piridilamina (**139**) (13 mg, 0,044 mmol) en 1 ml DCM se agregó cloruro de 2–fluorbenzoílo (11µl, 0,088 mmol) seguido por la adición de DIEA (38 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante toda la noche. La mezcla de reacción se trabajó con $NaHCO_3$ ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 1ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (100 µl) a t.a. durante 2h y antes de trabajarse con EA/ NaHCO3 ac. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó N–[5–(5–bromo(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il))(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (**141**) (11 mg, rendimiento: 64,9%, pureza >90%) como sólido blanco.

Ejemplo 57: (2,6–difluorfenil)–N–[5–(6–cloro(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))(2–piridil)]carboxamida (145)



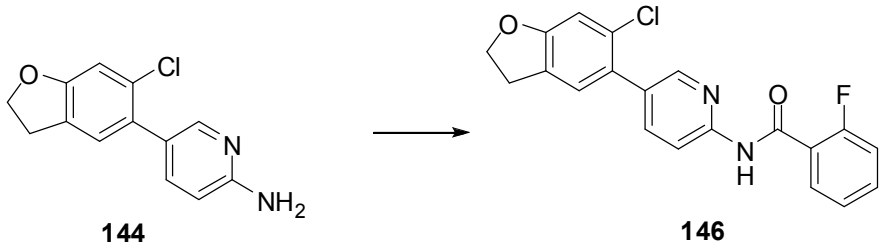
Preparación de 5–bromo–6–cloro–2,3–dihidrobenzo[b]furan (143). En forma similar a la descrita anteriormente, se preparó 6–cloro–2,3–dihidrobenzofurano (**142**) comenzando a partir de 2–bromo–5–clorofenol. NBS (155 mg, 0,87 mmol) se agregó a una solución de 2–bromo–5–cloro–2,3–dihidrobenzo[b]furan (**142**) (135 mg, 0,87 mmol) en 5 ml de ACN. La mezcla de reacción se agitó 5h a t.a. La solución amarilla se vertió en agua helada, se extrajo con EA. La fase org. se lavó con bicarbonato sódico ac. y salmuera posteriormente. Luego de secarse sobre sulfato sódico la fase org. se concentró para dar 204 mg (pureza >90%, rendimiento cuantitativo) del compuesto del título en forma de sólido amarillo pálido.

Preparación de 5–(6–cloro–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)–2–piridilamina (144). Una mezcla de 5–bromo–6–cloro–2,3–dihidrobenzo[b]furan (**144**) (102 mg, 0,437 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (**11**) (144 mg, 1,5 eq), bis(ditercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (23 mg, 5%mol), $Pd(PPh_3)_4$ (38mg, 5%mol) y K_3PO_4 (139 mg, 0,437 mmol) en 1ml de ACN, 1ml de dioxano, 0,5 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 3h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con NaHCO3 ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y luego se sometió a cromatografía en columna flash sobre gel de sílice (0–100%B, A: hexano; B: EA) seguido por purificación por HPLC prep para dar 64 mg de 5–(6–cloro–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)–2–piridilamina (**144**) (rendimiento: 59%, pureza>95%) como un sólido blancuzco.

Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(6–cloro(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))(2–piridil)]carboxamida (145). A una solución de 5–(6–cloro–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)–2–piridilamina (**144**) (41 mg, 0,166 mmol) en 2 ml de DCM se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (42µl, 2eq) seguido por la adición de DIEA (145 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante toda la noche. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió

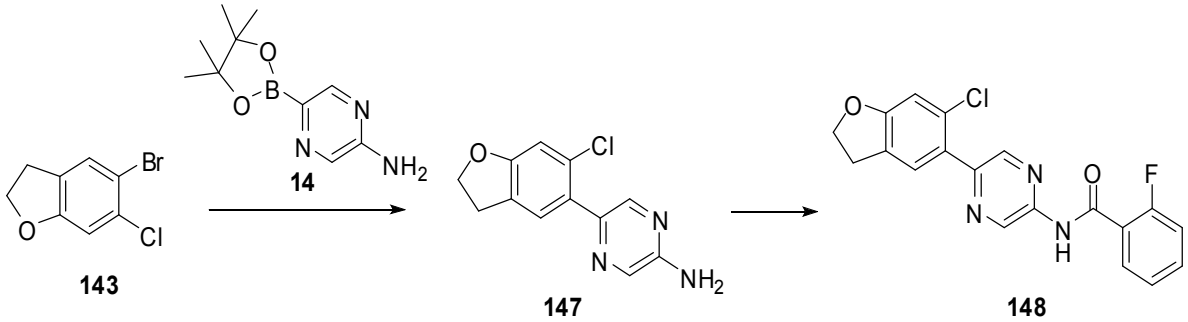
en 2ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (330 µl) a t.a. durante 2h y antes de trabajarse con EA/ NaHCO3 ac. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(6–cloro(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))(2–piridil)]carboxamida (**145**) (52,7 mg, rendimiento: 82.1%, pureza >95%) como sólido blanco.

Ejemplo 58: N–[5–(6–cloro(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il))(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (146)



Preparación de N–[5–(6–cloro(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il))(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (146). A una solución de 5–(6–cloro–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)–2–piridilamina (**144**) (19 mg, 0,045 mmol) en 1 ml DCM se agregó cloruro de 2–fluorbenzoílo (16µl, 3 eq) seguido por la adición de DIEA (39 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante toda la noche. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 1ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (100 µl) a t.a. durante 2h y antes de trabajarse con EA/ NaHCO3 ac. Purificación por HPLC prep proporcionó N–[5–(6–cloro(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il))(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (**146**) (7,6 mg, rendimiento: 45,8%, pureza >95%) como sólido blanco.

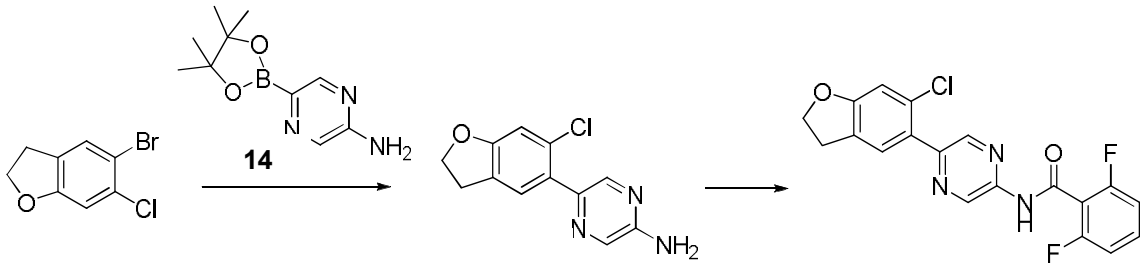
Ejemplo 59: (2,6–difluorfenil)–N–[5–(6–cloro(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))pirazin–2–il]carboxamida (148)



Preparación de 5–(6–cloro–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)pirazin–2il-amina (147). Una mezcla de 5–bromo–6–cloro–2,3–dihidrobenzo[b]furan (**143**) (102 mg, 0,437 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopirazin–5–borónico (**14**) (145 mg, 1,5 eq), bis(ditercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (23 mg, 5%mol), $Pd(PPh_3)_4$ (38mg, 5%mol) y K_3PO_4 (139 mg, 0,437 mmol) en 1ml de ACN, 1ml de dioxano, 0,5 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante toda la noche. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con $NaHCO_3$ ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y luego se sometió a purificación por HPLC prep para dar 7,8 mg de 5–(6–cloro–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)pirazin–2ilamina (**147**) (rendimiento: 7.2%, pureza>95%) como un sólido amarillo.

Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(6–cloro(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))pirazin–2–il]carboxamida (148):

A una solución de 5–(6–cloro–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)pirazin–2ilamina (**147**) (7,8 mg, 0,031 mmol) en 1 ml de DCM se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (12µl, 3eq) seguido por la adición de DIEA (27 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante toda la noche. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 1ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (100 µl) a 60°C durante 1h y antes de trabajarse con EA/ NaHCO3 ac. Purificación por HPLC prep proporcionó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(6–cloro(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))pirazin–2–il]carboxamida (**148**) (4.2 mg, rendimiento: 34.9%, pureza >90%) en forma de sólido amarillo pálido.



Ejemplo 60: Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–cloro(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il))(2–piridil)]carboxamida (20):

Preparación de 6–bromo–5–cloro–2,3–dihidrobenzo[b]furan (18):

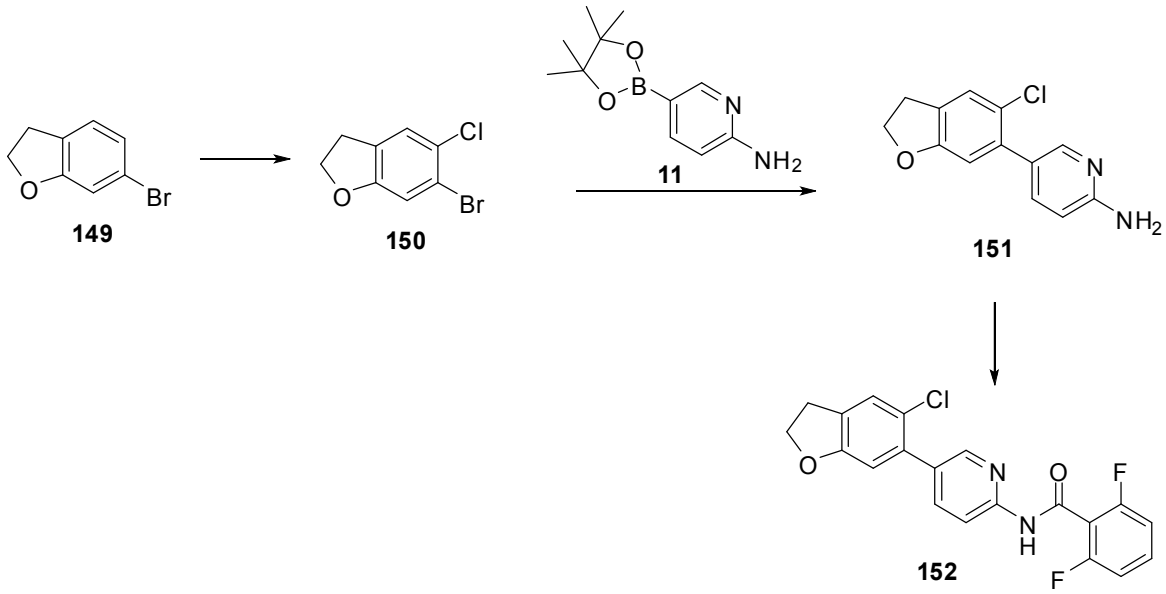
NCS (451 mg, 3,39 mmol) se agregó a una solución de 6–bromo–2,3–dihidrobenzo[b]furan (4) (695 mg, aprox. 60% pureza, aprox. 3,4 mmol) en 20 ml de ACN. La mezcla de reacción se agitó durante toda la noche a t.a. La solución amarilla se vertió en agua helada, se extrajo con EA. La fase org. se lavó con bicarbonato sódico ac. y salmuera posteriormente. Luego de secarse sobre sulfato sódico la fase org. se concentró para dar 773 mg (pureza ca. 60%) del compuesto del título como un aceite oscuro el cual solidificó luego de reposo a t.a.

Preparación de 5–(5–cloro–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il)–2–piridilamina (19):

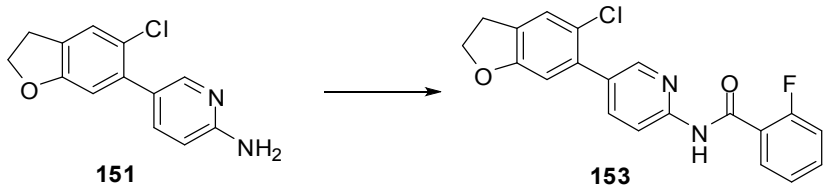
Una mezcla de 6–bromo–5–cloro–2,3–dihidrobenzo[b]furan (18) (233mg, pureza aprox. 60%, aprox. 0,6 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (6) (220 mg, 1 mmol), bis(diterc-butil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (36 mg, 10%mol), Pd(PPh3)4 (58 mg) y K3PO4 (212 mg, 1 mmol) en 2ml de ACN, 2ml de dioxano, 0,5 ml de H2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 4h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con NaHCO3 ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na2SO4, se concentró y luego se sometió a purificación por HPLC prep para dar 5–(5–cloro–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il)–2–piridilamina (19) (111,8 mg, rendimiento: 75,5%, pureza >95%) como un sólido amarillo.

Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–cloro(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il))(2–piridil)]carboxamida (152):

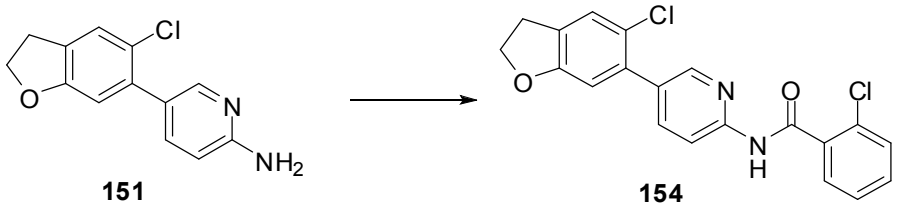
A una solución de 5–(5–cloro–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il)–2–piridilamina (151) (15 mg, 0,06 mmol) en 1 ml de DCM se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (11µl, 0,088 mmol) seguido por la adición de DIEA (52 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante toda la noche. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 1ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (120 µl) a t.a. durante 2h y antes de trabajarse con EA/NaHCO3 ac. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–cloro(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il))(2–piridil)]carboxamida (152) (14 mg, rendimiento: 60,1%, pureza >90%) como sólido blanco.



Preparación de N–[5–(5–cloro(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il))(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (153):

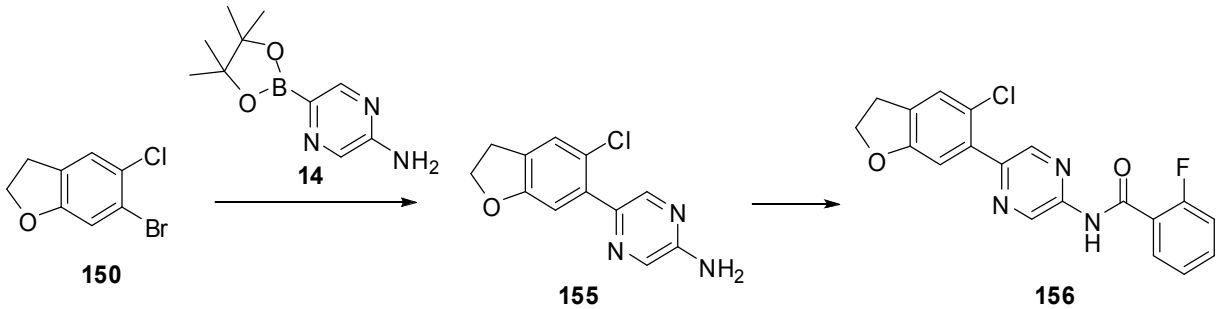


A una solución de 5–(5–cloro–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il)–2–piridilamina (**151**) (15 mg, 0,06 mmol) en 1 ml de DCM se agregó cloruro de 2–fluorbenzoílo (11µl, 0,088 mmol) seguido por la adición de DIEA (52 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante toda la noche. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 1ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (120 µl) a t.a. durante 2h y antes de trabajarse con EA/ NaHCO3 ac. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó N–[5–(5–cloro(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il))(2–piridil)](2–fluorfenil)carboxamida (**153**) (14,7 mg, rendimiento: 66,4%, pureza >90%) como sólido blanco.



Preparación de N–[5–(5–cloro(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il))(2–piridil)](2–clorofenil)carboxamida (154):

Similarmente, se preparó N–[5–(5–cloro(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il))(2–piridil)](2–clorofenil)carboxamida (**154**) (16,1 mg, rendimiento 69,7%, pureza >90%) a partir de 5–(5–cloro–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il)–2–piridilamina (**151**) (15 mg, 0,06 mmol) y cloruro de 2–clorobenzoílo (11µl).



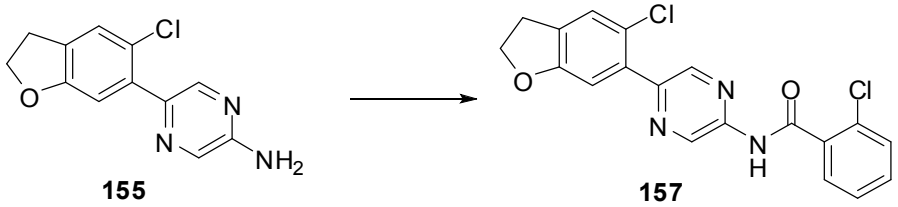
Preparación de 5–(5–cloro–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il)pirazin–2il–amina (155):

Una mezcla de 6–bromo–5–cloro–2,3–dihidrobenzo[b]furan (**150**) (233 mg, pureza aprox. 60%, aprox. 0,6 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopirazin–5–borónico (**14**) (221 mg, 1mmol), bis(ditercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (36 mg, 5%mol), $Pd(PPh_3)_4$ (58mg, 5%mol) y K_3PO_4 (212 mg, 1 mmol) en 2ml de ACN, 2ml de dioxano, 0,5 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 4h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con NaHCO3 ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y luego se sometió a purificación por HPLC prep para dar 34,7 mg a 5–(5–cloro–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il)pirazin–2–ilamina (**155**) (rendimiento: 23,3%, pureza>90%) como un semisólido marrón.

Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–cloro(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))pirazin–2–il]carboxamida (156):

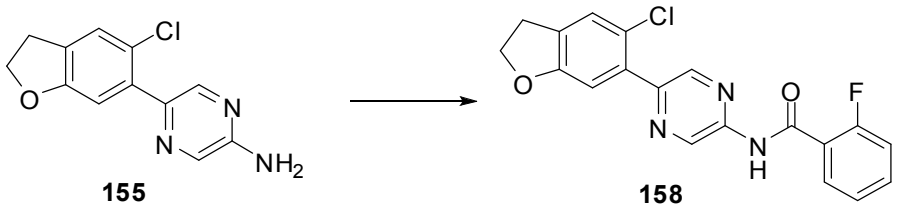
A una solución de 5–(5–cloro–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il)pirazin–2–ilamina (**23**) (11.5 mg, 0,046 mmol) en 1 ml DCM se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (17µl, 3eq) seguido por la adición de DIEA (40 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante 2h. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 1ml THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (200 µl) a t.a. durante 2h y antes de trabajarse con EA/ NaHCO3 ac.

Purificación por HPLC prep proporcionó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–cloro(2,3–dihidrobenzo[b]furan–6–il))pirazin–2–il]carboxamida (**156**) (6.2 mg, rendimiento: 34.7%, pureza >95%) como un sólido blancuzco.



Preparación de N–[5–(5–cloro(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il))pirazin–2–il)](2–clorofenil)carboxamida (154):

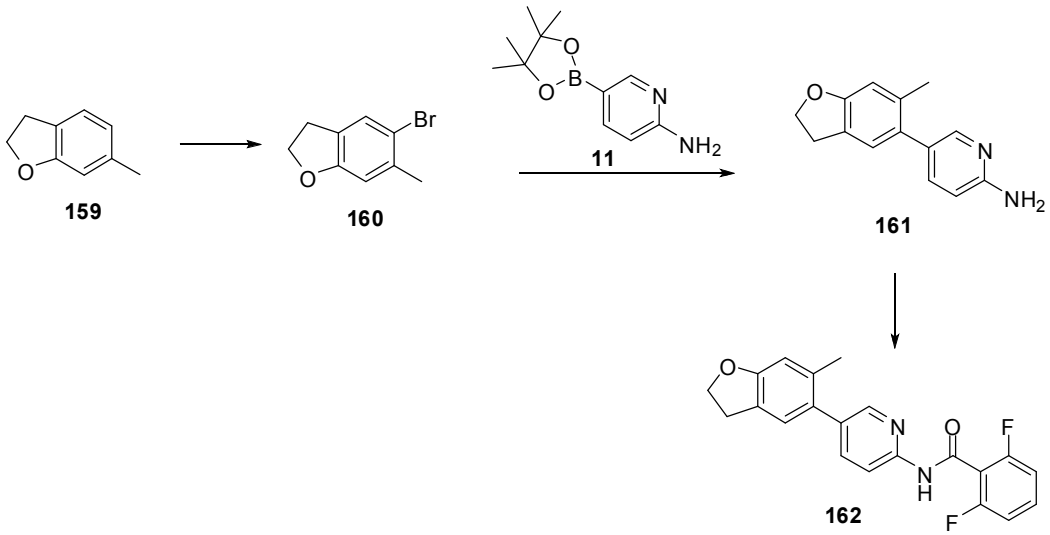
Similarmente, se preparó N–[5–(5–cloro(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il))pirazin–2–il](2–clorofenil)carboxamida (**154**) (5,4 mg, rendimiento 30,4%, pureza >95%) a partir de 5–(5–cloro–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il)pirazin–2–ilamina (**155**) (11,5 mg, 0,046 mmol) y cloruro de 2–clorobenzoílo (17 µl).



Preparación de N–[5–(5–cloro(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il))pirazin–2–il)](2–fluorfenil)carboxamida (158):

Similarmente, se preparó N–[5–(5–cloro(2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il))pirazin–2–il](2–fluorfenil)carboxamida (**158**) (2 mg, rendimiento 30,4%, pureza >95%) a partir de 5–(5–cloro–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–6–il)pirazin–2–ilamina (**155**) (11,5 mg, 0,046 mmol) y cloruro de 2–fluorbenzoílo (16 µl).

Ejemplo 61: Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(6–metil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))(2–piridil)]carboxamida (162):



Preparación de 5–bromo–6–metil–2,3–dihidrobenzo[b]furan (159):

En forma similar al compuesto **149** según lo descrito anteriormente, se preparó 6–metil–2,3–dihidrobenzofurano (**159**) comenzando a partir de 2–bromo–5–metilfenol. Se agregó NBS (539 mg, 3,03 mmol) a una solución de 6–metil–2,3–dihidrobenzo[b]furan (**159**) (508 mg, pureza aprox. 40%) en 20 ml ACN. La mezcla de reacción se agitó durante toda la noche a t.a. La solución amarilla se vertió en agua helada, se extrajo con EA. La fase org. se lavó con bicarbonato sódico ac. y salmuera posteriormente. Luego de secarse

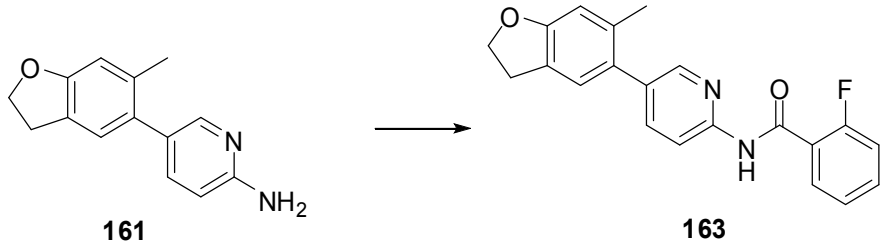
sobre sulfato sódico la fase org. se concentró para dar 709 mg (pureza aprox 40%) del compuesto del título en bruto como aceite marrón, el cual fue utilizado directamente para el siguiente paso sin más purificación.

Preparación de 5–(6–metil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)–2–piridilamina (161):

Una mezcla de 5–bromo–6–metil–2,3–dihidrobenzo[b]furan (**160**) (350 mg, pureza aprox 40%, 0,66 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (**11**) (360 mg, 1,6 mmol), bis(ditertbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (113 mg, 5%mol), y K_3PO_4 (348 mg, 1,6 mmol) en 2ml de ACN, 2ml de dioxano, 1 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 4h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con NaHCO3 ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y luego se sometió a purificación por HPLC prep para dar 94 mg de 5–(6–metil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)–2–piridilamina (**161**) (rendimiento: 63%, pureza>95%) como sólido amarillo claro.

Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(6–metil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))(2–piridil)]carboxamida (162):

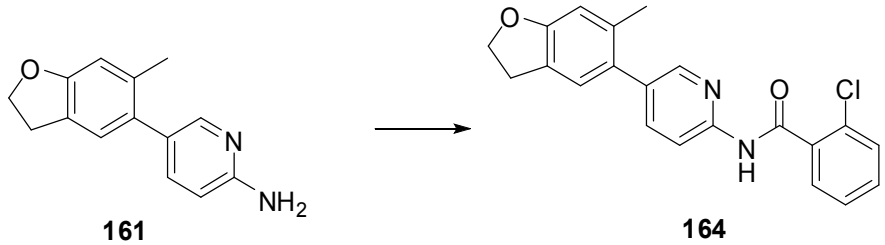
A una solución de 5–(6–metil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)–2–piridilamina (**161**) (13 mg, 0,06 mmol) en 1 ml de DCM se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (22µl, 3eq) seguido por la adición de DIEA (94 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante 3h. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 1ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (100 µl) a t.a. durante 2h y antes de trabajarse con EA/salmuera. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(6–metil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))(2–piridil)]carboxamida (**162**) (13,9 mg, rendimiento: 63,9%, pureza >95%) como sólido blanco.



161 **163**

Preparación de (2–fluorfenil)–N–[5–(6–metil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))(2–piridil)]carboxamida (163):

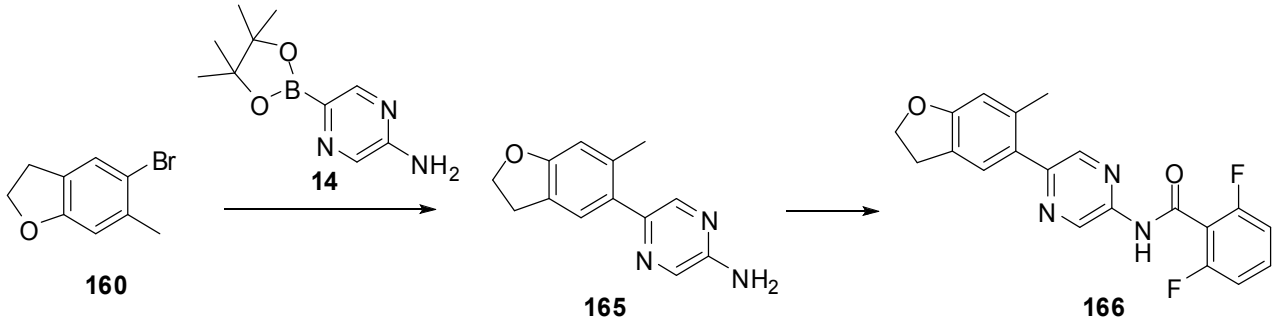
Similarmente, se preparó (2–fluorfenil)–N–[5–(6–metil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))(2–piridil)]carboxamida (**163**) (15,5 mg, rendimiento: 74,2%, pureza>95%) a partir de 5–(6–metil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)–2–piridilamina (**161**) (13 mg, 0,06 mmol) y cloruro de 2–fluorbenzoílo (21µl).



161 **164**

Preparación de (2–clorofenil)–N–[5–(6–metil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))(2–piridil)]carboxamida (164):

Similarmente, se preparó (2–clorofenil)–N–[5–(6–metil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))(2–piridil)]carboxamida (**164**) (13,1 mg, rendimiento: 59,8%, pureza>95%) a partir de 5–(6–metil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)–2–piridilamina (**161**) (13 mg, 0,06 mmol) y cloruro de 2–clorobenzoílo (23µl).

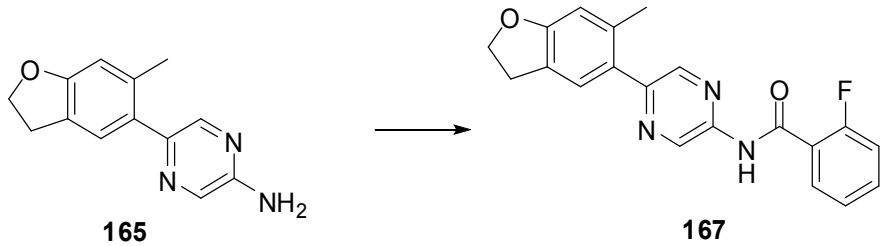


Preparación de 5–(6–metil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)pirazin–2–ilamina (165):

Una mezcla de 5–bromo–6–metil–2,3–dihidrobenzo[b]furan (**160**) (350 mg, pureza aprox. 40%, 0,66 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopirazin–5–borónico (**14**) (290 mg, 2 eq), bis(ditercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (93 mg, 10%mol) y K_3PO_4 (280 mg, 1,32 mmol) en 2ml de ACN, 2ml de dioxano, 1 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 3h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con NaHCO3 ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y luego se sometió a purificación por HPLC prep para dar 23 mg de 5–(6–metil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)pirazin–2–ilamina (**165**) (rendimiento: 15,3%, pureza 90%) como un sólido amarillo.

Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(6–metil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))pirazin–2–il]carboxamida (166):

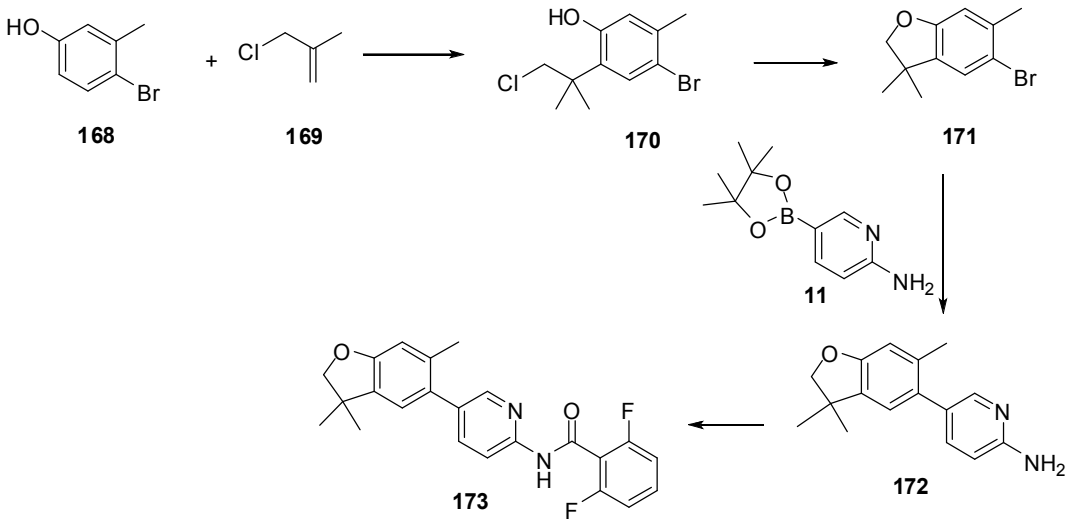
A una solución de 5–(6–metil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)pirazin–2–ilamina (**165**) (7,5 mg, 0,03 mmol) en 1 ml de DCM se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (12µl, 3eq) seguido por la adición de DIEA (26 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante 1h. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 1ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (150 µl) a t.a. durante 1h antes de trabajarse con EA/salmuera. Purificación por HPLC prep proporcionó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(6–metil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))pirazin–2–il]carboxamida (**166**) (8,3 mg, rendimiento: 75.3%, pureza >95%) como un sólido blancuzco.



Preparación de (2–fluorfenil)–N–[5–(6–metil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))–pirazin–2–il]carboxamida (167):

Similarmente, se preparó (2–fluorfenil)–N–[5–(6–metil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))–pirazin–2–il]carboxamida (**167**) (6,8 mg, rendimiento: 64,9%, pureza>95%) a partir de 5–(6–metil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)pirazin–2–ilamina (**165**) (7,5 mg, 0,03 mmol) y cloruro de 2–fluorbenzoílo (11µl).

Ejemplo 62: Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(3,3,6–trimetil (2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))(2–piridil)]carboxamida (173):



Preparación de 4–bromo–2–(2–cloro–tercbutilo)–5–metilfenol (170):

Se agregó por goteo ácido sulfúrico concentrado (178µl, 3,3 mmol) a una mezcla enfriada (agua helada) de 4–bromo–3–metilfenol (36, 1,87g, 10 mmol) 3–cloro–2–metil–propeno (980 µl, 10 mmol). Luego de 10 min, la mezcla semi–sólida se sonicó y se volvió un líquido oscuro espeso. Luego de agitación a t.a. durante 1h, se volvió un sólido de color rojo rosado. Se agregó agua helada seguido por la adición de éter dietílico. La fase org. se lavó con agua y salmuera, y se concentró. El sólido amarillo pálido se sometió a purificación en columna de gel de sílice empleando 0–20%B (A: hexano; B: 50% EA en hexano) para dar 1,751g (rendimiento: 63,1%, pureza>95%) **170** como un sólido rosado.

Preparación de 5–bromo–3,3,6–trimetil–2,3–dihidrobenzo[b]furan (171):

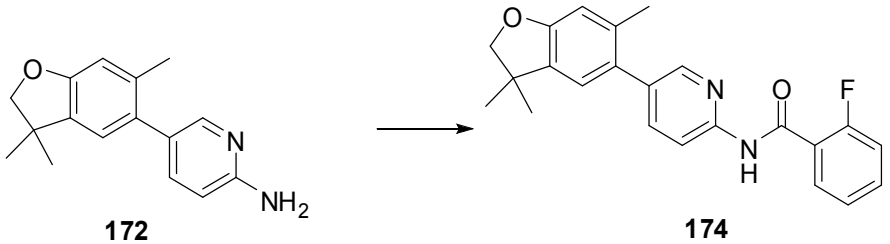
A una suspensión agitada, enfriada (baño de agua helada) de hidruro sódico (60% dispersión en aceite mineral, 302 mg, 1,2 eq) en 12 ml de THF seco se agregó una solución de 4–bromo–2–(2–cloro–tercbutilo)–5–metilfenol (**170,** 1,751g, 6,3 mmol) en 5 ml de THF. Luego de agitación a 0°C durante 1h, la reacción se templó con metanol y la mezcla se diluyó con agua, se extrajo con EA. La fase org. se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y concentró para dar 1,412 g de 5–bromo–3,3,6–trimetil–2,3–dihidrobenzo[b]furan (**171,** rendimiento: 93%, pureza> 90%) en forma de un aceite amarillo.

Preparación de 5–(3,3,6–trimetil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)–2–piridilamina (172):

Una mezcla de 5–bromo–3,3,6–trimetil–2,3–dihidrobenzo[b]furan (**171**) (241 mg, 1mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (**11**) (330 mg, 1,5 mmol), bis(ditercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (106 mg), y K_3PO_4 (636 mg) en 3ml de ACN, 3ml de dioxano, 1,5 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 2,5h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con NaHCO3 ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y luego se sometió a purificación en columna de gel de sílice para dar 231 mg 5–(3,3,6–trimetil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)–2–piridilamina (**172**) (rendimiento: 90,8%, pureza>95%) en forma de un aceite amarillo espeso.

Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(3,3,6–trimetil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))(2–piridil)]carboxamida (173):

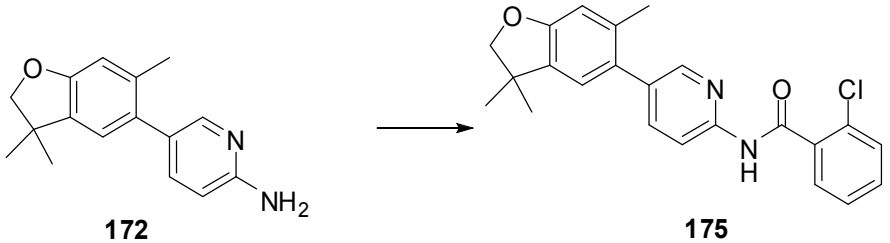
A una solución de 5–(3,3,6–trimetil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)–2–piridilamina (**172**) (25 mg, 0,1 mmol) en 1 ml de DCM se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (25µl, 2eq) seguido por la adición de DIEA (87 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante 2h. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 1ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (200 µl) a t.a. durante 1h y antes de trabajarse con EA/salmuera. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(3,3,6–trimetil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))(2–piridil)]carboxamida (**173**) (20,1 mg, rendimiento: 51%, pureza >95%) como sólido blanco.



172 **174**

Preparación de (2–fluorfenil)–N–[5–(3,3,6–metil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))(2–piridil)]carboxamida (174):

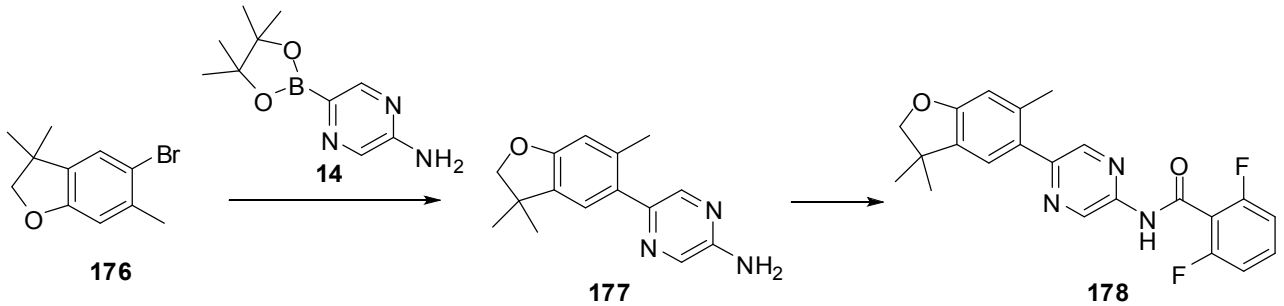
Similarmente, se preparó (2–fluorfenil)–N–[5–(3,3,6–metil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))(2–piridil)]carboxamida (**174**) (18,1 mg, rendimiento: 48,1%, pureza>95%) a partir de 5–(3,3,6–trimetil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)–2–piridilamina (**172**) (25 mg, 0,1 mmol) y cloruro de 2–fluorbenzoílo (24µl).



172 **175**

Preparación de (2–clorofenil)–N–[5–(3,3,6–metil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))(2–piridil)]carboxamida (175):

Similarmente, se preparó (2–clorofenil)–N–[5–(3,3,6–metil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))(2–piridil)]carboxamida (**175**) (23,2 mg, rendimiento: 59,1%, pureza>95%) a partir de 5–(3,3,6–trimetil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)–2–piridilamina (**172**) (25 mg, 0,1 mmol) y cloruro de 2–clorobenzoílo (25µl).



176 **14** **177** **178**

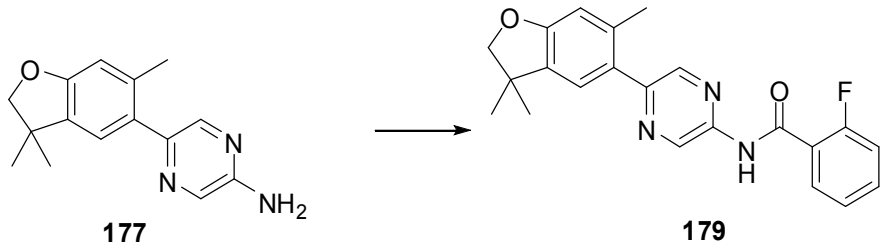
Preparación de 5–(3,3,6–trimetil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)pirazin–2–ilamina (177):

Una mezcla de 5–bromo–3,3,6–trimetil–2,3–dihidrobenzo[b]furan (**176**) (200 mg, 0,83 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopirazin–5–borónico (**14**) (221 mg, 1,2 eq), bis(ditercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (71 mg) y K_3PO_4 (424 mg, 2 mmol) en 2ml de ACN, 2ml de dioxano, 1 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 3h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con NaHCO3 ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y luego se sometió a purificación en columna de gel de sílice para dar 57,7 mg de 5–(3,3,6–trimetil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)pirazin–2–ilamina (**177**) (rendimiento: 27,3%, pureza >95%) en forma de un aceite amarillo espeso.

Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(3,3,6–trimetil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))pirazin–2–il]carboxamida (178):

A una solución de 5–(3,3,6–trimetil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)pirazin–2–ilamina (**177**) (19 mg, 0,075 mmol) en 1 ml de DCM se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (19µl, 2eq) seguido por la adición de DIEA (65 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante 1h. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 1ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (400 µl) a 60°C durante 1h antes de trabajarse con EA/salmuera. Purificación por HPLC prep proporcionó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(3,3,6–trimetil(2,3–

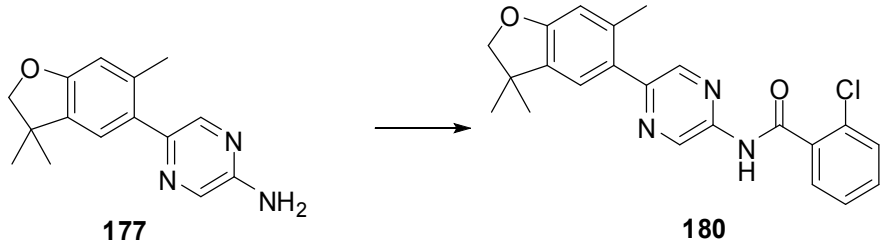
dihidrobenzo[b]furan–5–il))pirazin–2–il]carboxamida (**178**) (10.5 mg, rendimiento: 35.4%, pureza >95%) como un sólido blancuzco.



177 **179**

Preparación de (2–fluorfenil)–N–[5–(3,3,6–trimetil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))–pirazin–2–il]carboxamida (179):

Similarmente, se preparó (2–fluorfenil)–N–[5–(3,3,6–trimetil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))–pirazin–2–il]carboxamida (**179**) (13,8 mg, rendimiento: 48,7%, pureza>95%) a partir de 5–(3,3,6–trimetil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)pirazin–2–ilamina (**177**) (19 mg, 0,075 mmol) y cloruro de 2–fluorbenzoílo (18µl).



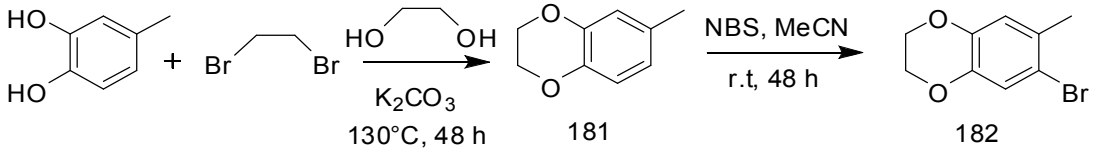
177 **180**

Preparación de (2–clorofenil)–N–[5–(3,3,6–trimetil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))–pirazin–2–il]carboxamida (180):

Similarmente, se preparó (2–clorofenil)–N–[5–(3,3,6–trimetil(2,3–dihidrobenzo[b]furan–5–il))–pirazin–2–il]carboxamida (**180**) (14,8 mg, rendimiento: 50,1%, pureza>95%) como sólido blanco a partir de 5–(3,3,6–trimetil–2,3–dihidrobenzo[3,4–b]furan–5–il)pirazin–2–ilamina (**177**) (19 mg, 0,075 mmol) y cloruro de 2–clorobenzoílo (19µl).

Ejemplo 63: Preparación de 5–(7–metil–2H,3H–benzo[e]1,4–dioxin–6–il)–2–piridilamina (183)

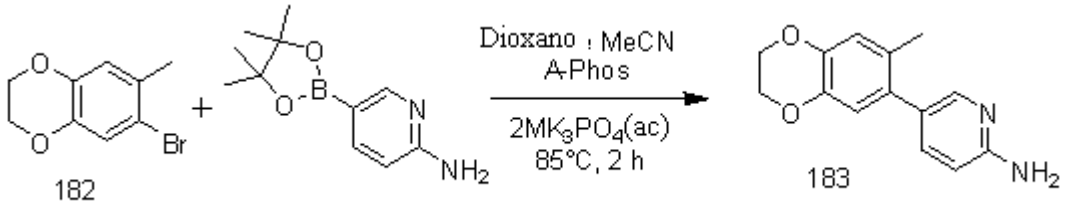
Preparación de 7–Bromo–6–metil–2H,3H–benzo[e]1,4–dioxina (182):



Una mezcla de 4–metilcatecol (6,2 g, 50 mmol), 1,2–dibromoetano (37,4 g, 200 mmol), K_2CO_3 (13,8 g, 100 mmol) en etilenglicol (200 mL) se calentó hasta 130°C bajo argón durante 48 h. La mezcla de reacción se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se vertió en salmuera. El producto se extrajo con EtOAc y se purificó mediante columna flash. El compuesto **181** (3 g, 40%) se obtuvo como aceite incoloro.

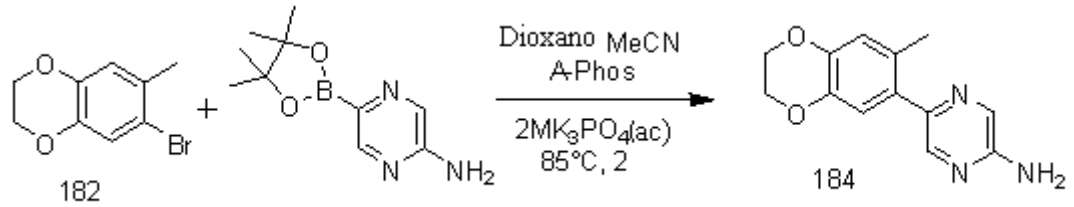
El compuesto **181** (150 mg, 1 mmol) se disolvió en MeCN anhidro (2 mL) y se agregó *N*–bromosuccinimida (214 mg, 1,2 mmol). La mezcla se agitó durante 72 h a temperatura ambiente y luego se vertió en $NaHCO_3$ saturado. El producto se extrajo con EtOAc. El compuesto en bruto **182** (200 mg, 87%) se obtuvo y se utilizó para el siguiente paso sin más purificación.

Preparación de 5–(7–metil–2H,3H–benzo[e]1,4–dioxin–6–il)–2–piridilamina (183):



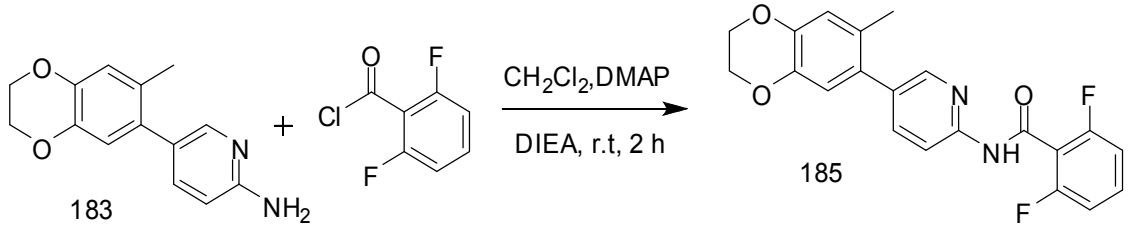
El éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (400 mg, 1,8 mmol) y **182** (550 mg, 2 mmol) se disolvió en 2mL de 1,4–dioxano y 2 mL de MeCN. Se agregaron 4 ml de Na_2CO_3 2 M y la mezcla se burbujeó con Ar durante 2 min antes de agregarse bis(di–*tercbutilo*(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio(II) (A–Phos, 70 mg, 0,1 mmol). La reacción se calentó a 85 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se trabajó con extracción con EtOAc. El producto se purificó por columna flash y proporcionó **183** (112,4 mg, 26%) en forma de un aceite amarillo. LC–MS: calc. para $C_{14}H_{14}N_2O_2$: 243 (M +1).

Preparación de 5–(7–metil–2H,3H–benzo[e]1,4–dioxin–6–il)pirazin–2–ilamina (184)

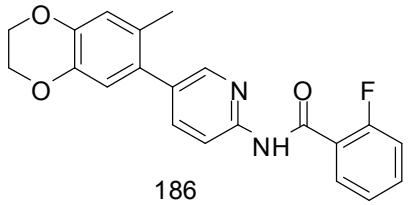


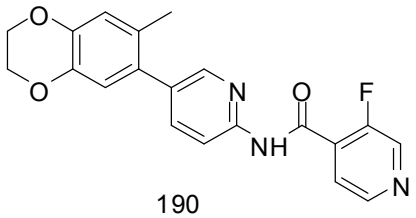
El éster de pinacol del ácido 5–aminopirazin–2–borónico (400 mg, 1,8 mmol) y **182** (550 mg, 2 mmol) se disolvió en 2mL de 1,4–dioxano y 2 mL de MeCN. Se agregaron 4 ml de Na_2CO_3 2 M y la mezcla se burbujeó con Ar durante 2 min antes de agregarse bis(di–*tercbutilo* (4–dimetilaminofenil) fosfina) dicloropaladio(II) (A–Phos, 70 mg, 0,1 mmol). La reacción se calentó a 85 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se trabajó con extracción de EtOAc. El producto se purificó por columna flash y proporcionó **184** (95 mg, 20%) como una cera de color amarillo. LC–MS: calc. para $C_{13}H_{13}N_3O_2$: 244 (M +1).

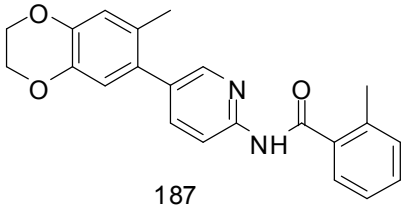
Preparación de (2,6–difluorfenil)–*N*–[5–(7–metil–2H,3H–benzo[e]1,4–dioxin–6–il)(2–piridil)]carboxamida (185):

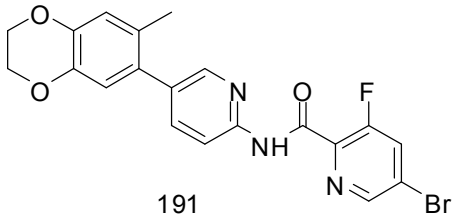


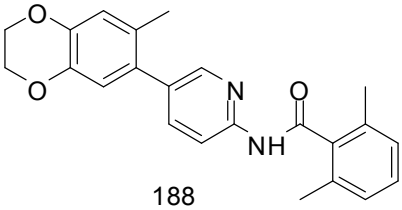
A una solución de **183** (30 mg, 0,12 mmol) en CH_2Cl_2 se agregó 4–dimetilaminopiridina (DMAP, 1,2 mg, 0,01 mmol), cloruro de 2,6–difluorbenzol (53 mg, 0,3 mmol) y diisopropiletilamina (DIEA, 62 mg, 0,48 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La reacción se templó con $NaHCO_3$ saturado (20 ml) y se extrajo con EtOAc. El solvente orgánico se removió *in vacuo*. El residuo se disolvió en THF : MeOH (1 : 1) y se agregó NaOH 1N (2 eq). La mezcla se agitó durante 10 min a temperatura ambiente. La solución de reacción se concentró *in vacuo* y el residuo se extrajo con EtOAc. El producto en bruto se purificó por columna ISCO y HPLC. Las fracciones que contenían producto puro se combinaron y evaporaron. Se obtuvo el sólido blanco **185** (18,2 mg, 40%). LC–MS: calc. para $C_{21}H_{16}F_2N_2O_3$: 383 (M +1).

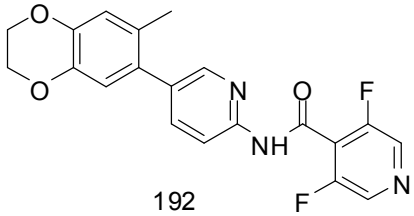

186

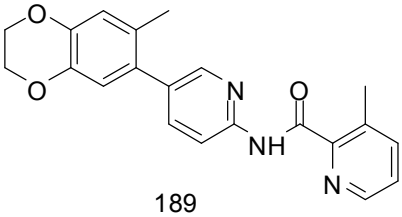

190

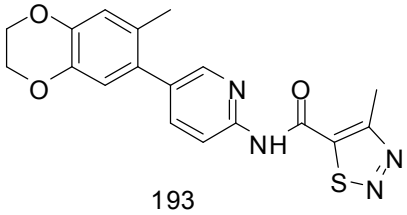

187


191


188

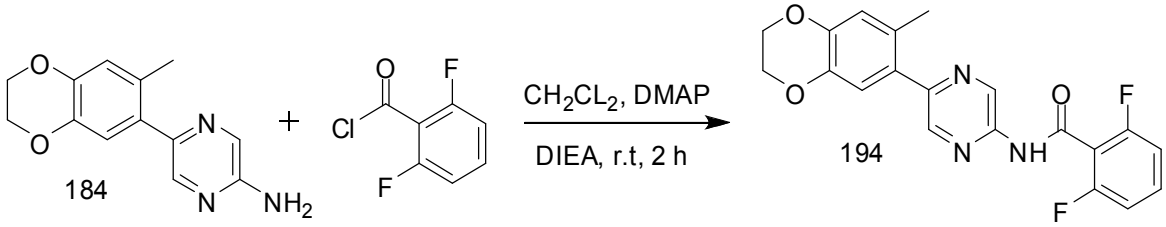

192


189

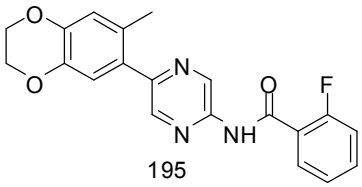

193

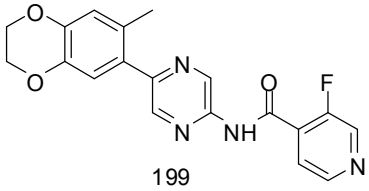
Se prepararon los compuestos **186–193** empleando un método similar al compuesto **185**.

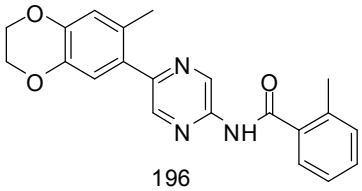
Preparación de (2,6–difluorfenil)–*N*–[5–(7–metil–2H,3H–benzo[e]1,4–dioxin–6–il)pirazin–2–il]carboxamida (194):

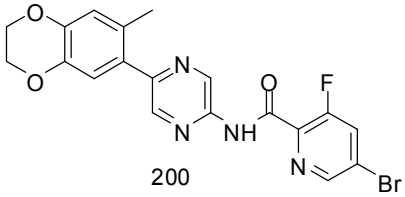


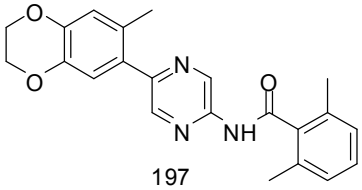
A una solución de **184** (25 mg, 0,1 mmol) en CH_2Cl_2 se agregó 4–dimetilaminopiridina (DMAP, 1,2 mg, 0,01 mmol), cloruro de 2,6–difluorbenzol (53 mg, 0,3 mmol) y diisopropiletilamina (DIEA, 62 mg, 0,48 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La reacción se templó con $NaHCO_3$ saturado (20 ml) y se extrajo con EtOAc. El solvente orgánico se removió *in vacuo*. El residuo se disolvió en THF : MeOH (1 : 1) y se agregó NaOH 1N (2 eq). La mezcla se agitó durante 10 min a temperatura ambiente. La solución de reacción se concentró *in vacuo* y el residuo se extrajo con EtOAc. El producto en bruto se purificó por columna ISCO y HPLC. Las fracciones que contenían producto puro se combinaron y evaporaron. Se obtuvo el sólido blanco **194** (3,3 mg, 9%). LC–MS: calc. para $C_{20}H_{15}F_2N_3O_3$: 384 (M +1).

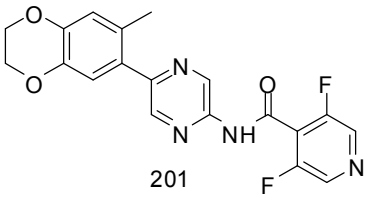

195

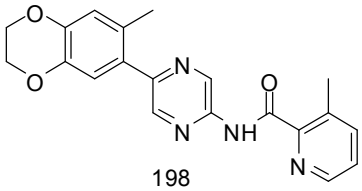

199

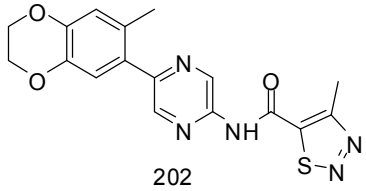

196


200


197


201

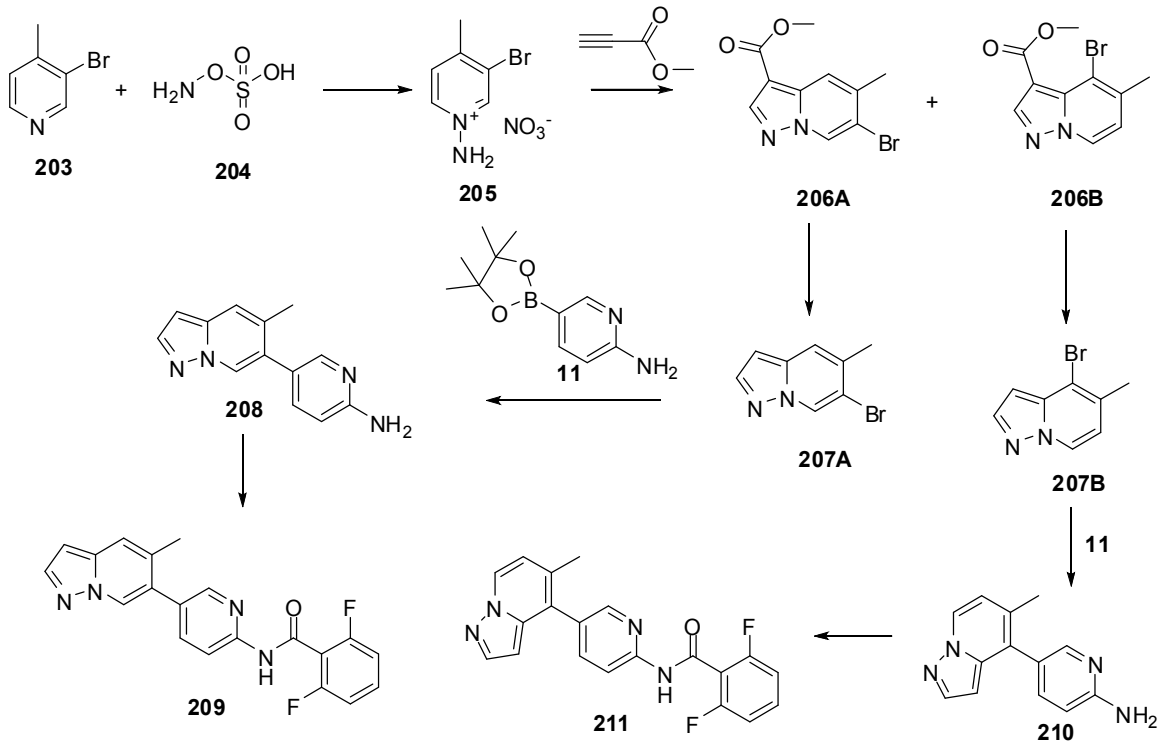

198


202

Los compuestos **195–202** se prepararon empleando un método similar al compuesto **194**.

Ejemplo 64: Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(4–metil(8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–5–il))(2–piridil)]carboxamida

Preparación de nitrato de 1–amino–3–bromo–4–metilpiridinio (205):



Se agregó cuidadosamente óxido de bario (950mg, 90%, 5,56 mmol) en 6 ml de agua en pequeñas porciones seguido por la adición de nitrato de bario (983g, 3,76 mmol) y 3–bromo4–metilpiridina (1,72g, 10 mmol). La suspensión resultante se agitó a t.a. y se agregó por goteo una solución de ácido O-sulfónico de hidroxilamina (995mg, 8,36 mmol) en 2 ml agua. La suspensión blanca se agitó a 90ºC durante 15h antes de enfriarse hasta t.a. El precipitado blanco se separó por filtración y se lavó con agua. La fase acuosa se evaporó hasta sequedad para dar 1,065g de **205** como un sólido blancuzco (rendimiento: 45,7%) el cual se utilizó directamente para el siguiente paso sin más purificación.

Preparación de 6–bromo–5–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–3–carboxilato de metilo (206A) y 4–bromo–5–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–3–carboxilato de metilo (206B):

Se disolvió nitrato de 1–amino–3–bromo–4–metilpiridinio (**205**, 1,065 g, 4,57 mmol) en 7 ml de DMF y se agregó en porciones carbonato potásico sólido (630mg, 1 eq) seguido por adición gota a gota de acetilen-carboxilato de metilo (382µl, 1eq). La suspensión roja resultante se agitó vigorosamente a t.a. con burbujeo de aire. Luego de 4 h la mezcla de reacción se diluyó con agua helada y se extrajo 3x con acetato de etilo. La fase de acetato de etilo combinada se secó sobre sulfato sódico y se concentró. La purificación se realizó por columna de gel de sílice (40g columna ISCO) empleando 0–60%B (A: hexano; B: 50% EA en hexano) como eluyente. A partir del primer pico, se aislaron 79,6mg de compuesto **206A** como un sólido blancuzco (rendimiento: 6,5%, pureza >90%, la estructura se confirmó por RMN). A partir del segundo pico, se obtuvieron 188 mg de compuesto **206B** como un sólido amarillo (pureza cerca de 70%, rendimiento 11%).

Preparación de 6–bromo–5–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridina (207A):

Se calentó 6–bromo–5–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–3–carboxilato (**206A,** 79,6mg, 0,3 mmol) en 3 ml de ácido sulfúrico 50%v/v a 85°C durante 3h, luego 4 días a 60°C. Luego de enfriar la mezcla de reacción se diluyó con agua, se neutralizó en primer lugar con NaOH 1 N luego con solución de bicarbonato sódico sat. hasta pH=9. La mezcla se extrajo con EA, se lavó con salmuera. La fase org. se secó sobre sulfato sódico, se concentró hasta sequedad para dar 51 mg **207A** (rendimiento: 64%, pureza>80%) como un sólido marrón el cual se empleó directamente para posterior reacción sin más purificación.

Preparación de 5–(5–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–6–il)–2–piridilamina (208):

Una mezcla de 6–bromo–5–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridina (**207A**) (26mg, 0,12 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (**11**) (53 mg, 2 eq), bis(ditercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (17 mg, 10%mol) y K_3PO_4 (53 mg, 0,24 mmol) en 1ml de ACN, 1ml de dioxano, 0,25 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 3h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con NaHCO3 ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y luego se sometió a cromatografía en columna flash sobre gel de sílice (0–100%B, A: hexano; B: EA) para dar 5–(5–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–6–il)–2–piridilamina (**208**) (10,6 mg, pureza >90%, rendimiento: 39,2%) como un sólido amarillo.

Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–metil(8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–6–il))(2–piridil)]carboxamida (209):

A una solución de 5–(5–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–6–il)–2–piridilamina (**208**) (10,6 mg, 0,047 mmol) en 1 ml de DCM se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (12µl, 0,094 mmol) seguido por la adición de DIEA (41 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante 1h. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 1ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (200 µl) a t.a. durante 2h y antes de trabajarse con EA/ NaHCO3 ac.. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–metil(8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–6–il))(2–piridil)]carboxamida (**209**) (3,3 mg, rendimiento: 19,2%, pureza >90%) como sólido blanco.

Preparación de 4–bromo–5–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridina (207B):

4–Bromo–5–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–3–carboxilato (**206B,** 188mg, 0,7 mmol) se calentó en 5 ml de ácido sulfúrico al 50%v/v a 85°C durante 3h. Luego de enfriar la mezcla de reacción se diluyó con agua, se neutralizó con NaOH 1 N hasta pH=11. La mezcla se extrajo con EA, se lavó con salmuera. La fase org. se secó sobre sulfato sódico, se concentró hasta sequedad para dar 113,7 mg **207B** (rendimiento: 77%, pureza>95%) en forma de sólido amarillo pálido.

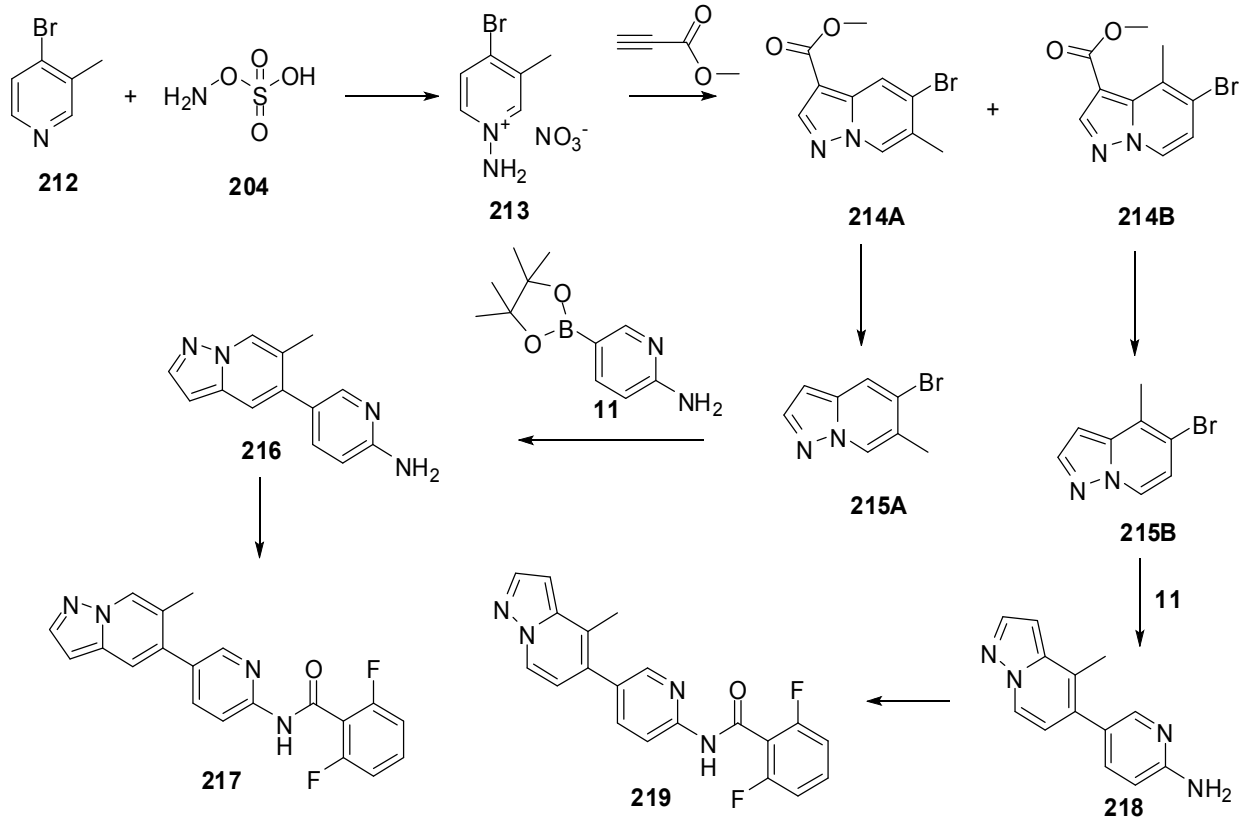
Preparación de 5–(5–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–4–il)–2–piridilamina (210):

Una mezcla de 4–bromo–5–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridina (**207B**) (31mg, 0,15 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (**11**) (48 mg, 1,5 eq), bis(ditercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (16 mg, 10%mol) y K_3PO_4 (48 mg) en 1ml de ACN, 1ml de dioxano, 0,25 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 3h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con NaHCO3 ac. y salmuera. La fase org. se secó

sobre Na_2SO_4, se concentró y luego se sometió a cromatografía en columna flash sobre gel de sílice (0–100%B, A: hexano; B: EA) para dar 5–(5–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–4–il)–2–piridilamina (**210**) (22 mg, pureza >90%, rendimiento: 65,4%) como un sólido blancuzco.

Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–metil(8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–4–il))(2–piridil)]carboxamida (211):

A una solución de 5–(5–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–4–il)–2–piridilamina (**210**) (22 mg, 0,098 mmol) en 2 ml de DCM se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (25µl, 2eq) seguido por la adición de DIEA (87 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante 1h. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 2ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (200 µl) a t.a. durante 2h y antes de trabajarse con EA/ NaHCO3 ac.. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(5–metil(8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–4–il))(2–piridil)]carboxamida (**211**) (31,5 mg, rendimiento: 88,3%, pureza >95%) como sólido blanco.



En forma similar a **206A** y **206B**, se prepararon **214A** y **214B** a partir de 4–bromo–3–metilpiridina.

Preparación de 5–bromo–6–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridina (215A):

Se calentó 5–Bromo–6–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–3–carboxilato de metilo (**214A,** 15,9mg, 0,06 mmol) en 3 ml de ácido sulfúrico al 50%v/v a 85°C durante 20h, luego 6 días a 70°C. Luego de enfriar la mezcla de reacción se diluyó con agua, se neutralizó en primer lugar con NaOH 1 N luego con solución de bicarbonato sódico sat. hasta pH=9. La mezcla se extrajo con EA, se lavó con salmuera. La fase org. se secó sobre sulfato sódico, se concentró hasta sequedad para dar 12,3 mg de **215A** (rendimiento: 97%, pureza cerca de 80%) como un sólido blancuzco el cual se empleó directamente para posterior reacción sin más purificación.

Preparación de 5–(6–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–5–il)–2–piridilamina (216):

Una mezcla de 5–bromo–6–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridina (**215A**) (12,3mg, 0,058 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (**11**) (26 mg, 2 eq), bis(ditercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (8 mg, 10%mol) y K_3PO_4 (13 mg) en 1ml de ACN, 1ml de dioxano, 0,5 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 2,5h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con NaHCO3 ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y luego se sometió a cromatografía en columna flash sobre gel de sílice (0–100%B, A: hexano; B: EA) para dar 5–(6–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–5–il)–2–piridilamina (**216**) (7,3

mg, pureza >80%, rendimiento: 56%) como un sólido blancuzco, el cual se empleó directamente para la reacción del siguiente paso.

Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(6–metil(8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–5–il))(2–piridil)]carboxamida (217):

A una solución de 5–(6–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–5–il)–2–piridilamina (**216**) (7,3 mg, 0,03 mmol) en 1 ml de DCM se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (11µl, 3 eq) seguido por la adición de DIEA (21 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante 1.5h. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 2ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (150 µl) a t.a. durante 1h y antes de trabajarse con EA/ NaHCO3 ac.. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(6–metil(8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–5–il))(2–piridil)]carboxamida (**217**) (11,1 mg, rendimiento: 100%, pureza >90%) como sólido blanco.

Preparación de 5–bromo–4–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridina (215B):

5–Bromo–4–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–3–carboxilato (**214B,** 36,9mg, 0,137 mmol) se calentó en 3 ml de ácido sulfúrico al 50%v/v a 85°C durante 5h. Luego de enfriar la mezcla de reacción se diluyó con agua, se neutralizó en primer lugar con NaOH 1 N y luego con solución de bicarbonato sódico hasta pH=8. La mezcla se extrajo con EA, se lavó con salmuera. La fase org. se secó sobre sulfato sódico, se concentró hasta sequedad para dar 29 mg **215B** (rendimiento: 100%, pureza>95%) como sólido blanco.

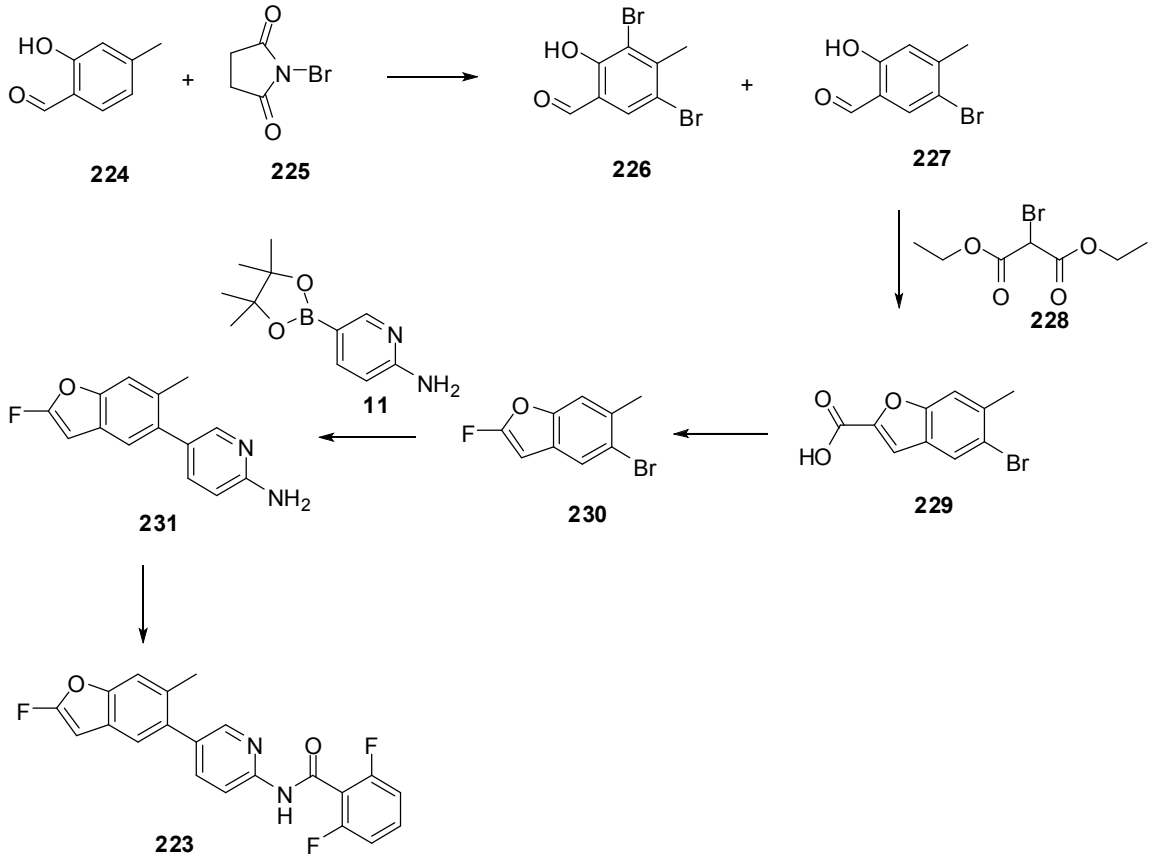
Preparación de 5–(4–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–5–il)–2–piridilamina (218):

Una mezcla de 5–bromo–4–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridina (**215B**) (29mg, 0,137 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (**11**) (60 mg, 2 eq), bis(ditercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (19 mg, 10%mol) y K_3PO_4 (57 mg) en 1ml de ACN, 1ml de dioxano, 0,5 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 3h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con NaHCO3 ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y luego se sometió a cromatografía en columna flash sobre gel de sílice (0–100%B, A: hexano; B: EA) para dar 5–(4–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–5–il)–2–piridilamina (**218**) (20,5 mg, pureza >90%, rendimiento: 66,7%) como sólido blanco.

Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(4–metil(8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–5–il))(2–piridil)]carboxamida (219):

A una solución de 5–(4–metil–8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–5–il)–2–piridilamina (**218**) (20,5 mg, 0,09 mmol) en 2 ml de DCM se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (22µl, 2eq) seguido por la adición de DIEA (63 µl). La solución resultante se agitó a t.a. durante 1h. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 2ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (200 µl) a t.a. durante 2h y antes de trabajarse con EA/ NaHCO3 ac.. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(4–metil(8–hidropirazolo[1,5–a]piridin–5–il))(2–piridil)]carboxamida (**219**) (24 mg, rendimiento: 73,2%, pureza >95%) como sólido blanco.

Ejemplo 65: Preparación de 2,6–difluor–N–(5–(2–fluor–6–metilbenzofuran–5–il)piridin–2–il)benzamido (223) y análogos



Preparación de 5–bromo–2–hidroxibenzaldehído (227): A una solución de 2–hidroxi–4–metilbenzaldehído (**224**, 1,36g, 10mmol) en 50 ml de acetonitrilo se agregó NBS sólido (**225**, 1,78g, 10mmol) en pequeñas porciones. La solución resultante se agitó durante toda la noche a t.a.. LC–MS mostró que aún había material de partida considerable que quedaba sin reaccionar. Se agregaron otros 0,3 eq (534 mg) de NBS y la mezcla de reacción se agitó 3 horas más a t.a. La solución de bicarbonato sódico acuoso se agregó y el acetonitrilo se evaporó. El residuo se trabajó con EA/ NaHCO3 ac./salmuera. La purificación en columna de gel de sílice proporcionó una mezcla de **226** y **227** (2,125g). Se purificaron 1,035g de esta mezcla en columna inversa para dar 356mg de **226** como un sólido blancuzco y 317 mg de **227** como un sólido amarillo respectivamente. Ambas estructuras fueron confirmadas por H–RMN.

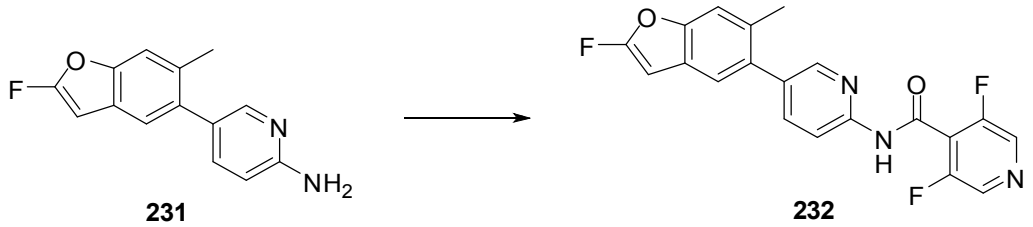
Preparación de ácido 5–bromo–6–metil–benzofuran–2–carboxílico (229): Una suspensión de 5–bromo–2–hidroxibenzaldehído (**227**, 356 mg, 1,656 mmol), bromomalonato de dietilo (339µl, 1,2 eq) y carbonato de potasio (828mg, 6 mmol) en 10 ml de 2–butanona se calentó en un reactor de microondas a 100°C durante 30min. La elaboración con acetato de etilo (EA)/salmuera seguido por columna flash de sílice proporcionó 637 mg del compuesto intermedio como un aceite amarillo claro, el cual se calentó en 8,5 ml de NaOH 1 N y 8,5 ml de EtOH a 70°C durante 3h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción se evaporó para eliminar EtOH. El residuo se acidificó con H_2SO_4 2.5 M hasta pH=1–2 y se extrajo dos veces con EA. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se concentró para dar 423 mg del compuesto del título en forma de un sólido blancuzco.

Preparación de 5–bromo–2–fluor–6–metil–benzofuran (230): Una mezcla de ácido 5–bromo–6–metil–benzofuran–2–carboxílico (**229**, 243 mg, 0,95 mmol), Selectfluor (481mg, 1,36 mmol) y bicarbonato sódico (228mg, 2,72 mmol) en 3 ml de agua y 3 ml de EA se agitó vigorosamente a t.a. durante 60h antes de la adición de otros 240mg de Selectfluor. Después de otras 20h, la mezcla de reacción se diluyó con EA, se lavó dos veces con NaOH 1N. La fase org. se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se concentró hasta sequedad para dar 78,5 mg de compuesto del título en forma de una cera de color marrón claro (rendimiento: 36,1%, pureza >95%).

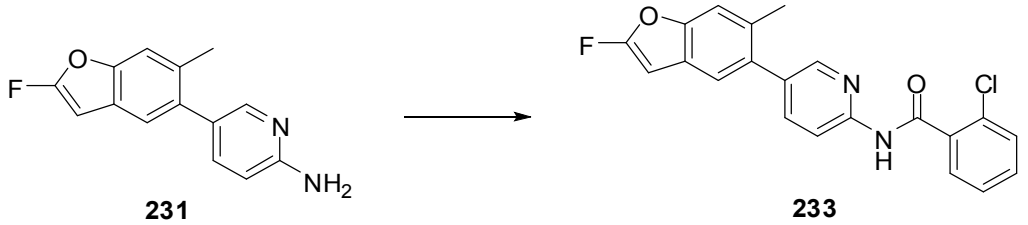
Preparación de 5–(2–fluor–6–metilbenzo[b]furan–5–il)–2–piridilamina (231): Una mezcla de 5–bromo–2–fluor–6–metil–benzofuran (**230**) (78,5mg, 0,34 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (**11**) (151 mg, 2 eq), bis(ditertbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (48 mg, 10%mol) y K_3PO_4 (145 mg, 0,69 mmol) en 2ml de ACN, 2ml de dioxano, 0,5 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 3h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con NaHCO3 ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y luego se sometió a cromatografía

en columna flash sobre gel de sílice (0–100%B, A: hexano; B: EA) para dar 5–(2–fluor–6–metilbenzo[b]furan–5–il)–2–piridilamina (**231**) (46,8 mg, pureza >95%, rendimiento: 56,8%) como un sólido amarillo.

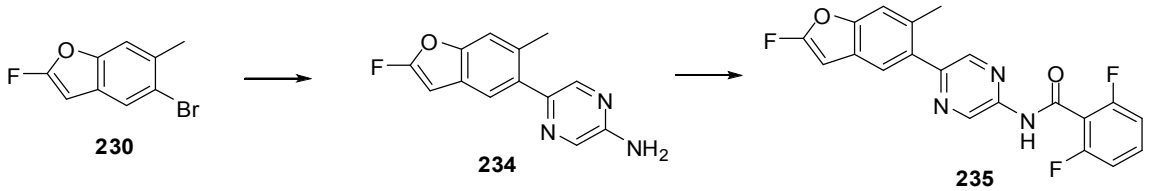
Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(2–fluor–6–metilbenzo[b]furan–5–il)(2–piridil)]carboxamida (223): A una solución de 5–(2–fluor–6–metilbenzo[b]furan–5–il)–2–piridilamina (**231**) (23 mg, 0,095 mmol) en 3 ml de DCM se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (36µl, 3eq) seguido por la adición de DIEA (149 µl). La solución resultante se agitó durante toda la noche a t.a. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 3ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (200 µl) a t.a. durante 2h antes de trabajarse con EA/ NaHCO3 ac.. La cromatografía flash en gel de sílice proporcionó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(2–fluor–6–metilbenzo[b]furan–5–il)(2–piridil)]carboxamida (**223**) (24,9 mg, rendimiento: 68,6%, pureza >95%) como sólido blanco.



Preparación de (3,5–difluor(4–piridil))–N–[5–(2–fluor–6–metilbenzo[b]furan–5–il)(2–piridil)]carboxamida (232): En forma similar al compuesto **223**, según lo descrito anteriormente, se preparó (3,5–difluor(4–piridil))–N–[5–(2–fluor–6–metilbenzo[b]furan–5–il)(2–piridil)]carboxamida (**232**) (11,2 mg, rendimiento: 58,5%, pureza>95%) a partir de cloruro de 3,5–difluorpiridin–4–carbonilo (40 mg) mediante reacción con 5–(2–fluor–6–metilbenzo[b]furan–5–il)–2–piridilamina (**231** (12 mg, 0,05 mmol).



Preparación de (2–clorofenil)–N–[5–(2–fluor–6–metilbenzo[b]furan–5–il)(2–piridil)]carboxamida (233): En forma similar al compuesto **223**, según lo descrito anteriormente, se preparó (2–clorofenil)–N–[5–(2–fluor–6–metilbenzo[b]furan–5–il)(2–piridil)]carboxamida (**233**) (13 mg, rendimiento: 68,4%, pureza>95%) a partir de cloruro de 2–clorobenzoílo (3 eq) mediante reacción con 5–(2–fluor–6–metilbenzo[b]furan–5–il)–2–piridilamina (**231**) (12 mg, 0,05 mmol).

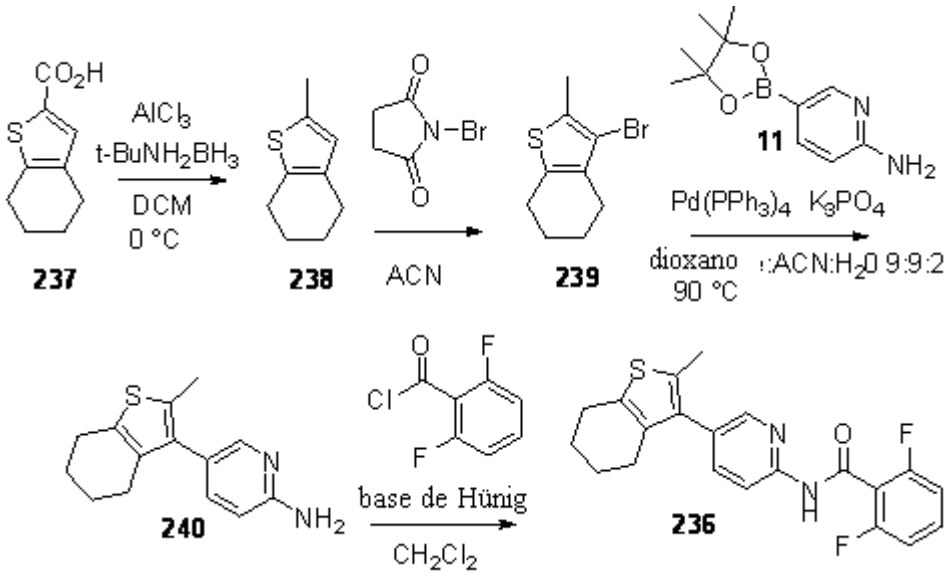


Preparación de 5–(2–fluor–6–metilbenzo[b]furan–5–il)–pirazin–2–ilamina (234): Una mezcla de 5–bromo–2–fluor–6–metil–benzofuran (**230**) (0,3 mmol), éster de pinacol del ácido 2–aminopirazin–5–borónico (133 mg, 2 eq), bis(ditercbutil(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio (II) (42 mg, 10%mol) y K_3PO_4 (127 mg, 0,6 mmol) en 1ml de ACN, 1ml de dioxano, 0,5 ml de H_2O se burbujeó con argón antes de calentamiento a 85ºC durante 2h. Luego de enfriamiento hasta t.a., la mezcla de reacción fue absorbida en EA, se lavó con NaHCO3 ac. y salmuera. La fase org. se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y luego se sometió a cromatografía en columna flash sobre gel de sílice (0–100%B, A: hexano; B: EA) para dar 5–(2–fluor–6–metilbenzo[b]furan–5–il)–pirazin–2–ilamina (**234**) (18,5 mg, pureza >95%, rendimiento: 25,4%) como un sólido amarillo.

Preparación de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(2–fluor–6–metilbenzo[b]furan–5–il)pirazin–2–il)]carboxamida (235): A una solución de (2,6–difluorfenil)–N–[5–(2–fluor–6–metilbenzo[b]furan–5–il)pirazin–2–il)]carboxamida (**234**) (9 mg, 0,037 mmol) en 1 ml de DCM se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (14µl, 3eq) seguido por la adición de DIEA (32 µl). La solución resultante se agitó durante toda la noche a t.a. La mezcla de reacción se trabajó con NaHCO3 ac./DCM. La fase de DCM se lavó con salmuera, se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en 1ml de THF/MeOH/H_2O (5:4:1) y se agitó con NaOH 1N (100 µl) a t.a. durante 2h antes de trabajarse con EA/ NaHCO3 ac.. La HPLC Prep proporcionó (2,6–difluorfenil)–N–[5–(2–fluor–6–

metilbenzo[b]furan–5–il)pirazin–2–il)]carboxamida (**235**) (7,1 mg, rendimiento: 50%, pureza >95%) como sólido blanco.

Ejemplo 66: Preparación de 2,6–difluor–N–(5–(2–metil–4,5,6,7–tetrahidrobenzo[b]tiofen–3–il)piridin–2–il)benzamida (236) y análogos

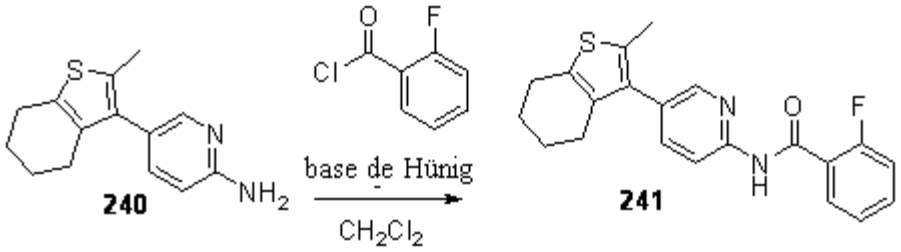


Preparación de 2–metil–4,5,6,7–tetrahidrobenzo[b]tiofeno (238). *Tercbutil*amina–borano (5,73 g, 65,8 mmol) se agregó a una solución de cloruro de aluminio (4,3 g, 32,9 mmol) en diclorometano (46 mL) a 0 ºC. La mezcla resultante se agitó a 0 ºC durante 10 minutos luego se agregó **237** (1,0 g, 5,5 mmol) en diclorometano (10 mL). La mezcla resultante se agitó a 0 ºC durante 3 horas y luego se templó mediante la lenta adición de HCl 0,1 N enfriado con hielo (60 mL). La mezcla se extrajo con diclorometano (3x100 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con HCl 0.1N (2x60 mL), se secaron con sulfato sódico y se concentraron bajo presión reducida. La cromatografía flash (Sistema ISCO, sílice, 0–35% acetato de etilo en hexano) proporcionó **238** (27 mg, 3%) como un líquido.

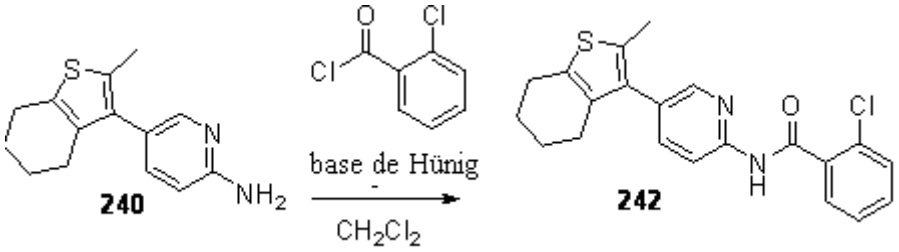
Preparación de 3–bromo–2–metil–4,5,6,7–tetrahidrobenzo[b]tiofeno (239). N–bromosuccinimida (52 mg, 0,3 mmol) se agregó a una solución de **238** (42 mg, 0,3 mmol) en acetonitrilo (1,4 mL). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. La mezcla se diluyó con solución de bicarbonato sódico saturado (10 mL) y se extrajo con diclorometano (3x5 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron con sulfato sódico y se concentraron bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–5% acetato de etilo en hexano) proporcionó **239** (47 g, 73%) como un líquido.

Preparación de 5–(2–metil–4,5,6,7–tetrahidrobenzo[b]tiofen–3–il)piridin–2–amina (240). Tetrakis-trifenilfosfina de paladio (12 mg, 10 µmol) se agregó a una solución desgasificada de bromuro **239** (46 mg, 0,2 mmol) y boronato **11** (88 mg, 0,4 mmol) en dioxano : acetonitrilo : agua (9:9:2, 1,5 mL) y fosfato potásico (63 mg, 0,3 mmol). La mezcla resultante se calentó bajo argón a 90 ºC con agitación durante 4 horas. La mezcla luego se enfrió, se extrajo con diclorometano (3x10 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–50% acetato de etilo en hexano) proporcionó **240** (32 mg, 66%) como un aceite: LRESIMS *m/z* 245,1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{14}H_{17}N_2S_1$ 245,1.

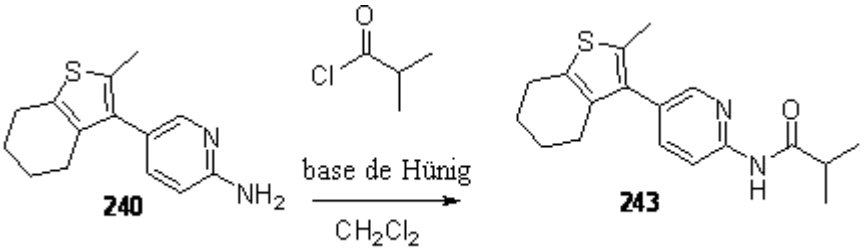
Preparación de 2,6–difluor–N–(5–(2–metil–4,5,6,7–tetrahidrobenzo[b]tiofen–3–il)piridin–2–il)benzamida (236). Bajo una atmósfera de argón, se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (9,4 mg, 53 µmol) a una solución agitada de **240** (6,5 mg, 26 µmol) y base de Hünig (28 µL, 21 mg, 0,2 mmol) en diclorometano (0,5 mL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 0,5 h. La solución se diluyó con tetrahidrofurano (0,6 mL), metanol (0,4 mL) y solución de hidróxido sódico 2 M (0,2 mL). La mezcla se agitó y calentó hasta 60 ºC durante 5 min luego se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con diclorometano (5 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–20% acetato de etilo en hexano) proporcionó **236** (5,1 mg, 50%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 385,1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{21}H_{19}F_2N_2O_1S_1$ 385,1.



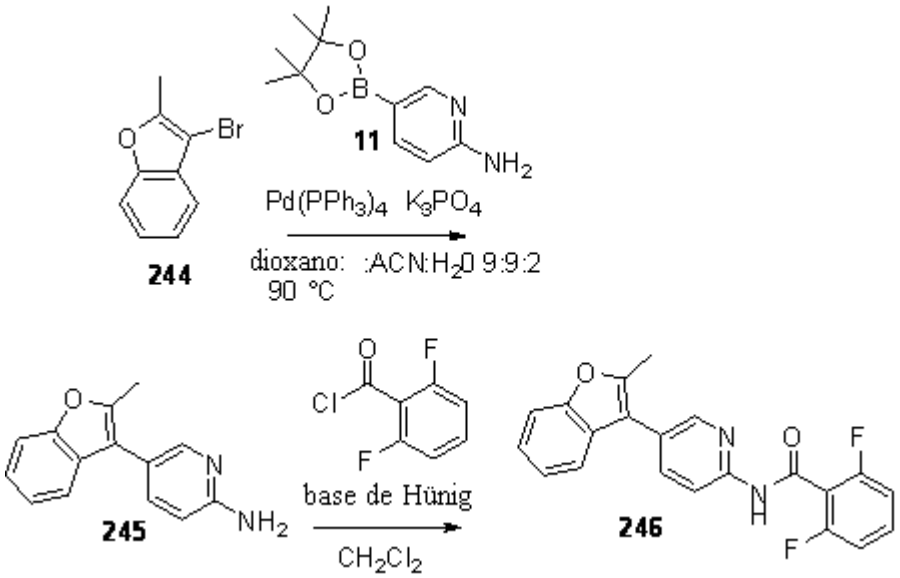
En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó 2–fluor–N–(5–(2–metil–4,5,6,7–tetrahidrobenzo[b]tiofen–3–il)piridin–2–il)benzamida (**241**) a partir de 5–(2–metil–4,5,6,7–tetrahidrobenzo[b]tiofen–3–il)piridin–2–amina (**240**) mediante reacción con cloruro de 2–fluorbenzoílo.



En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó 2–cloro–N–(5–(2–metil–4,5,6,7–tetrahidrobenzo[b]tiofen–3–il)piridin–2–il)benzamida (**242**) a partir de 5–(2–metil–4,5,6,7–tetrahidrobenzo[b]tiofen–3–il)piridin–2–amina (**240**) mediante reacción con cloruro de 2–clorobenzoílo.

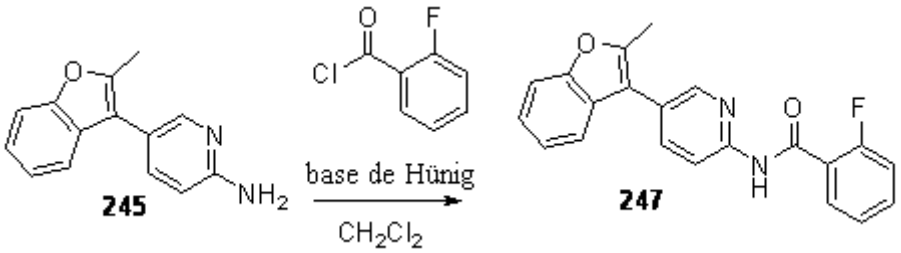


En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó N–(5–(2–metil–4,5,6,7–tetrahidrobenzo[b]tiofen–3–il)piridin–2–il)isobutiramida (**243**) a partir de 5–(2–metil–4,5,6,7–tetrahidrobenzo[b]tiofen–3–il)piridin–2–amina (**240**) mediante reacción con cloruro de isobutirilo.

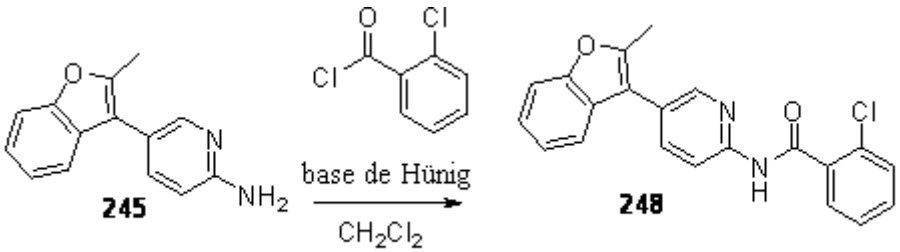


Preparación de 5–(2–metilbenzofuran–3–il)piridin–2–amina (245). Tetrakis-trifenilfosfina de paladio (68 mg, 0,1 mmol) se agregó a una solución desgasificada de bromuro **244** (250 mg, 1,2 mmol) y boronato **11** (521 mg, 2,4 mmol) en dioxano : acetonitrilo : agua (9:9:2, 6 mL) y fosfato potásico (376 mg, 1,8 mmol). La mezcla resultante se calentó bajo argón a 90 ºC con agitación durante 18 horas. La mezcla luego se enfrió, se extrajo con diclorometano (3x15 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (Sistema ISCO, sílice, 0–50% acetato de etilo en hexano) proporcionó **245** (202 mg, 76%) como un sólido: LRESIMS *m/z* 225,2 $[M+H]^+$, calc. para $C_{14}H_{13}N_2O_1$ 225,1.

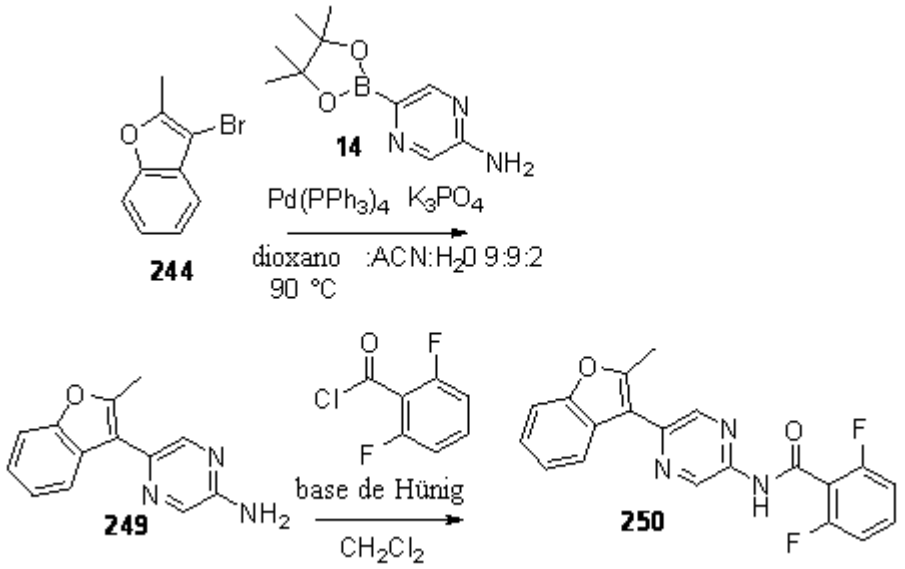
Preparación de 2,6–difluor–N–(5–(2–metilbenzofuran–3–il)piridin–2–il)benzamida (246). Bajo una atmósfera de argón, se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (47 mg, 0,3 mmol) a una solución agitada de **245** (30 mg, 0,1 mmol) y base de Hünig (140 µL, 104 mg, 0,8 mmol) en diclorometano (1,0 mL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 0,5 h. La solución se diluyó con tetrahidrofurano (0,8 mL), metanol (0,6 mL) y solución de hidróxido sódico 2 M (0,2 mL). La mezcla se agitó y calentó hasta 60 ºC durante 15 min luego se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con diclorometano (10 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (sistema ISCO, sílice, 0–20% acetato de etilo en hexano) proporcionó **246** (35.5 mg, 73%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 365,1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{21}H_{15}F_2N_2O_2$ 365,1.



En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó 2–fluor–N–(5–(2–metilbenzofuran–3–il)piridin–2–il)benzamida (**247**) a partir de 5–(2–metilbenzofuran–3–il)piridin–2–amina (**245**) mediante reacción con cloruro de 2–fluorbenzoílo.

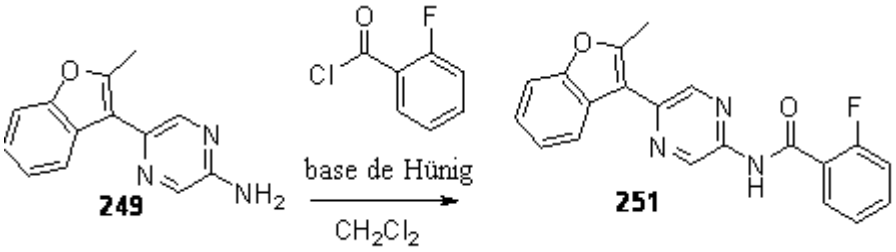


En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó 2–cloro–N–(5–(2–metilbenzofuran–3–il)piridin–2–il)benzamida (**248**) a partir de 5–(2–metilbenzofuran–3–il)piridin–2–amina (**245**) mediante reacción con cloruro de 2–clorobenzoílo.

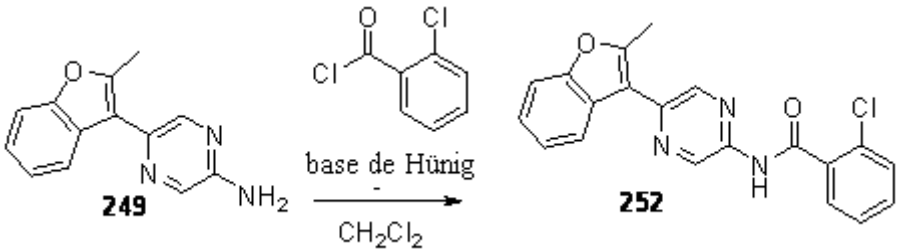


Preparación de 5–(2–metilbenzofuran–3–il)pirazin–2–amina (249). Se agregó tetrakis-trifenilfosfina de paladio (41 mg, 35 µmol) a una solución desgasificada de bromuro **244** (150 mg, 0,7 mmol) y boronato **14** (196 mg, 0,9 mmol) en dioxano : acetonitrilo : agua (9:9:2, 4 mL) y fosfato potásico (226 mg, 1,1 mmol). La mezcla resultante se calentó bajo argón a 90 ºC con agitación durante 14 horas. La mezcla luego se enfrió, se extrajo con diclorometano (3x15 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (Sistema ISCO, sílice, 0–50% acetato de etilo en hexano) proporcionó **249** (34,3 mg, 21%) como un sólido: LRESIMS *m/z* 226,1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{13}H_{12}N_3O_1$ 226,1.

Preparación de 2,6–difluor–N–(5–(2–metilbenzofuran–3–il)pirazin–2–il)benzamida (250). Bajo una atmósfera de argón, se agregó cloruro de 2,6–difluorbenzoilo (8,0 mg, 35 µmol) a una solución agitada de **249** (13 mg, 0,1 mmol) y base de Hünig (37 µL, 28 mg, 0,2 mmol) en diclorometano (0,5 mL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 0,5 h. La solución se diluyó con tetrahidrofurano (0.6 mL), metanol (0.3 mL) y solución de hidróxido sódico 2 M (0.1 mL). La mezcla se agitó y calentó hasta 50 ºC durante 20 min luego se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con diclorometano (10 mL), se secó con sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. La cromatografía flash (Sistema ISCO, sílice, 0–20% acetato de etilo en hexano) proporcionó **250** (7,0 mg, 54%) en forma de sólido: LRESIMS *m/z* 366,1 $[M+H]^+$, calc. para $C_{20}H_{14}F_2N_3O_2$ 366,1.

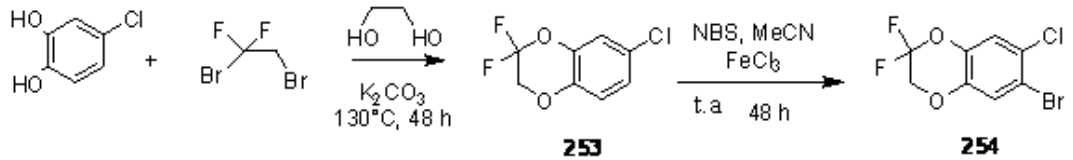


En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó 2–fluor–N–(5–(2–metilbenzofuran–3–il)pirazin–2–il)benzamida (**251**) a partir de 5–(2–metilbenzofuran–3–il)pirazin–2–amina (**249**) mediante reacción con cloruro de 2–fluorbenzoílo.



En un procedimiento similar a aquel descrito con anterioridad, se preparó 2–cloro–N–(5–(2–metilbenzofuran–3–il)pirazin–2–il)benzamida (**252**) a partir de 5–(2–metilbenzofuran–3–il)pirazin–2–amina (**249**) mediante reacción con cloruro de 2–clorobenzoílo.

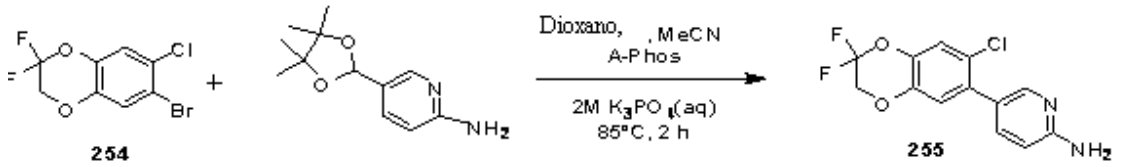
Ejemplo 67: Preparación de 6–bromo–7–cloro–2,2–difluor–3H–benzo[e]1,4–dioxin (254)



Una mezcla de 4–clorocatecol (5,8 g, 40 mmol), 1,2–dibromo–1,1–difluoretano (18 g, 40 mmol), K_2CO_3 (22 g, 160 mmol) en etilenglicol (100 mL) se calentó hasta 130°C bajo argón durante 48 h. La mezcla de reacción se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se vertió en salmuera proporcionando una mezcla de isómeros. La mezcla se extrajo con EtOAc y se purificó por cromatografía flash. Se obtuvo el compuesto **253** (0,9 g, 11%) como un aceite incoloro.

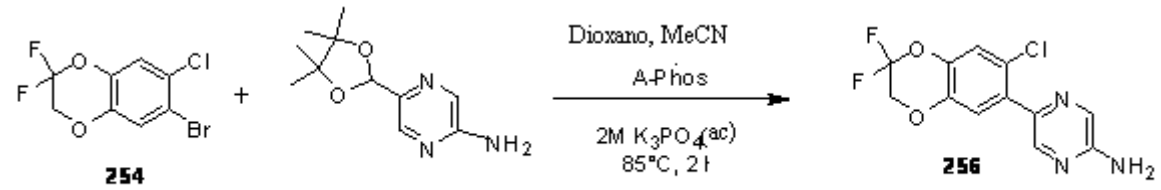
El compuesto **253** (900 mg, 4,3 mmol) se disolvió en MeCN anhidro (2 mL) y se agregaron *N*–bromosuccinimida (214 mg, 1,2 mmol) y $FeCl_3$ (1,2g, 7,3 mmol). La mezcla se agitó durante 72 h a temperatura ambiente y luego se vertió en $NaHCO_3$ saturado. El producto se extrajo con EtOAc y luego se evaporó hasta sequedad. El compuesto en bruto **254** (134 mg, 11%) se obtuvo y se empleó para el siguiente paso sin más purificación.

Preparación de 5–(7–cloro–2,2–difluor–3H–benzo[3,4–e]1,4–dioxin–6–il)–2–piridilamina (255)



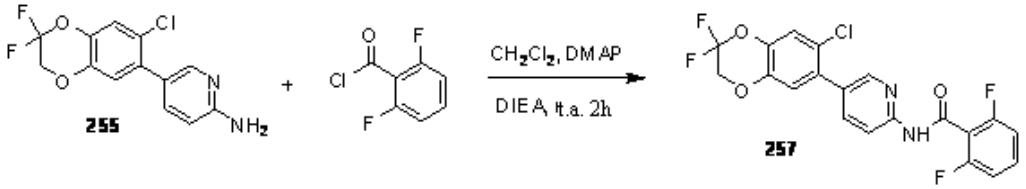
Se disolvieron éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (62 mg, 0,28 mmol) y **254** (67 mg, 0,23 mmol) en 2mL de 1,4–dioxano y 2 mL de MeCN. Luego, se agregó 1 ml de K_3PO_3 2 M y la mezcla se burbujeó con Ar durante 2 min antes de agregarse bis(di–*tercbutilo*(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio(II) (A–Phos, 14 mg, 0,02 mmol). Luego, la reacción se calentó a 85°C durante 2 h. La reacción se enfrió y la mezcla se elaboró con una extracción de EtOAc. El producto en bruto resultante se purificó por columna flash y proporcionó **255** (6 mg, 9%) como un sólido amarillo.

Preparación de 5–(7–cloro–2,2–difluor–3H–benzo[3,4–e]1,4–dioxin–6–il)pirazin–2–ilamina (256)



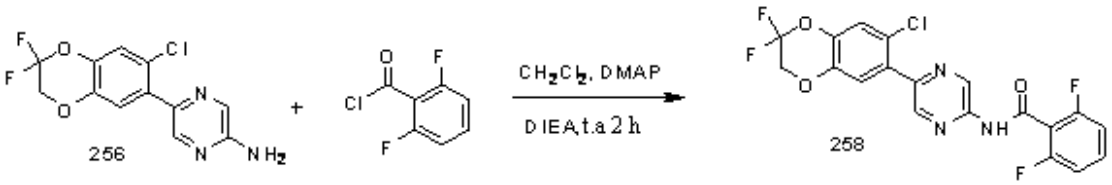
Se disolvieron el éster de pinacol del ácido 5–aminopirazin–2–borónico (62 mg, 0,28 mmol) y **254** (67 mg, 0,23 mmol) en 2mL de 1,4–dioxano y 2 mL de MeCN. Luego, se agregó 1 ml de K_3PO_3 2 M y la mezcla luego se burbujeó con Ar durante 2 min antes de agregarse bis(di–*tercbutilo*(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio(II) (A–Phos, 70 mg, 0,1 mmol). Luego, la reacción se calentó a 85°C durante 2 h. La mezcla de reacción se enfrió y luego se elaboró con extracción de EtOAc. El producto se purificó por columna flash y proporcionó **256** (6 mg, 9%) como una cera amarilla.

Preparación de (2,6–difluorfenil)–*N*–[5–(7–cloro–2,2difluor(3H–benzo[3,4–e]1,4–dioxin–6–il)(2–piridil)]carboxamida (257)



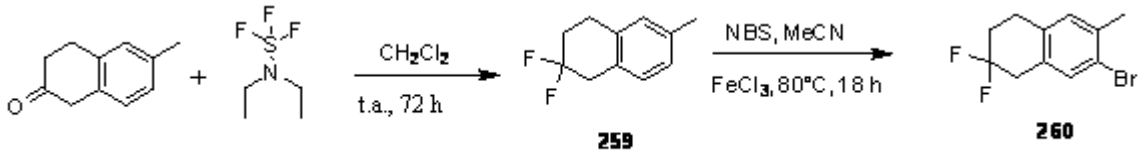
A una solución de **255** (6 mg, 0,02 mmol) en CH_2Cl_2 se agregó 4–dimetilaminopiridina (DMAP, 1,2 mg, 0,01 mmol), cloruro de 2,6–difluorbenzol (5 mg, 0,03 mmol) y diisopropiletilamina (DIEA, 62 mg, 0,48 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. Luego, la reacción se apagó con $NaHCO_3$ saturado (20 ml) y se extrajo con EtOAc. El solvente orgánico se removió *in vacuo*. Luego, el residuo se disolvió en THF : MeOH (1 : 1) y se agregó NaOH (2 eq) 1N. Luego, la mezcla resultante se agitó durante 10 min a temperatura ambiente y luego se concentró *in vacuo* . Luego, el residuo se extrajo con EtOAc y el producto en bruto se purificó mediante una columna de gel de sílice ISCO seguido por HPLC preparativa de fase inversa. Las fracciones que contenían producto puro se combinaron y evaporaron. Se obtuvo el sólido blanco **257** (7,8 mg, 88%). LC–MS: calc. para $C_{20}H_{11}ClF_4N_2O_3$: 439 (M +1).

Preparación de (2,6–difluorfenil)–*N*–[5–(7–cloro–2,2–difluor(3H–benzo[3,4–e]1,4–dioxin–6–il)pirazin–2–il]carboxamida (258)



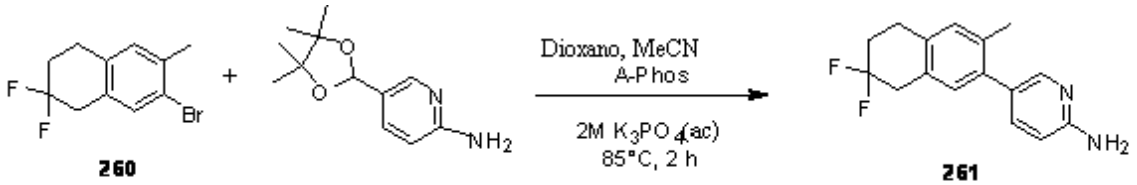
A una solución de **256** (6 mg, 0,02 mmol) en CH_2Cl_2 se agregó 4–dimetilaminopiridina (DMAP, 1,2 mg, 0,01 mmol), cloruro de 2,6–difluorbenzol (5 mg, 0,03 mmol) y diisopropiletilamina (DIEA, 62 mg, 0,48 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. Luego, la reacción se templó con $NaHCO_3$ saturado (20 ml) y se extrajo con EtOAc. El solvente orgánico se removió *in vacuo* y el residuo se disolvió posteriormente en THF : MeOH (1 : 1) y se agregó NaOH 1N (2 eq). La mezcla resultante se agitó durante 10 min a temperatura ambiente. Luego, la solución de reacción se concentró *in vacuo* y el residuo se extrajo con EtOAc. El producto en bruto se purificó en una columna de gel de sílice ISCO seguido por HPLC preparativa de fase inversa. Las fracciones que contenían producto puro se combinaron y evaporaron. Se obtuvo el sólido blanco **258** (5,6 mg, 64%). LC–MS: calc. para $C_{19}H_{10}F_2N_3O_3$: 440 (M +1).

Preparación de 7–bromo–2,2–difluor–6–metil–1,2,3,4–tetrahidronaftaleno (260)



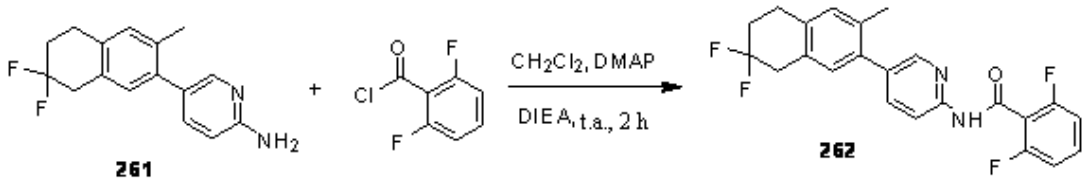
Una solución de 6–metil–1,3,4–trihidronaftalen–2–ona (320,4 mg, 2 mmol) y trifluoruro de dietilaminoazufre (*DAST, 806 mg, 5 mmol*) en CH_2Cl_2 (1 mL) se agitó durante 72 h a temperatura ambiente. Luego, la reacción se templó con $NaHCO_3$ saturado (10 ml) y se extrajo con EtOAc. El solvente orgánico se removió *in vacuo*. El residuo resultante se disolvió en MeCN anhidro (5 mL) y se agregaron *N*–bromosuccinimida (428 mg, 2,4 mmol) y $FeCl_3$ (81 mg, 0,5 mmol). La mezcla se calentó a 80°C durante 18 h y luego se vertió en $NaHCO_3$ saturado. El producto se extrajo con EtOAc y se evaporó hasta sequedad. El compuesto en bruto se purificó por columna de gel de sílice ISCO y proporcionó **260** (440 mg, 84%) en forma de un aceite marrón.

Preparación de 5–(7,7–difluor–3–metil–2–5,6,7,8–tetrahidronaftil)–2–piridilamina (261)

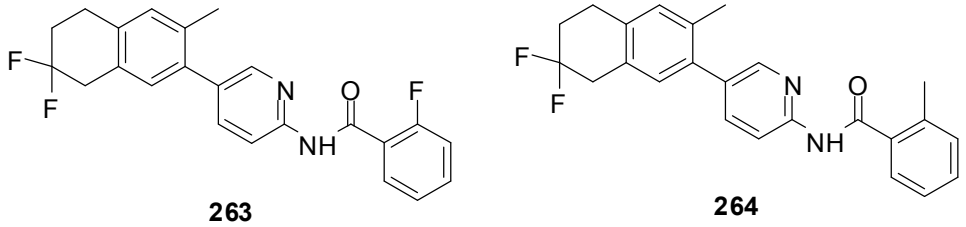


El éster de pinacol del ácido 2–aminopiridin–5–borónico (132 mg, 0.6 mmol) y **260** (131 mg, 0,5 mmol) se disolvieron en 2mL de 1,4–dioxano y 2 mL de MeCN. Luego, se agregaron 4 ml de K_3PO_3 2 M y la mezcla se burbujeó con Ar durante 2 min antes de agregarse bis(di–*tercbutilo*(4–dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio(II) (A–Phos, 35 mg, 0,05 mmol). Luego, la reacción se calentó a 85 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se trabajó con extracción de EtOAc. El producto se purificó por columna flash y proporcionó **261** (73 mg, 53%) como una cera de color amarillo.

Preparación de N–[5–(7,7–difluor–3–metil(2–5,6,7,8–tetrahidropnftil)(2–piridil)](2,6–difluorfenil)carboxamida (262)



A una solución de **261** (73 mg, 0,26 mmol) en CH_2Cl_2 se agregó 4–dimetilaminopiridina (DMAP, 1,2 mg, 0,01 mmol), cloruro de 2,6–difluorbenzol (53 mg, 0,3 mmol) y diisopropiletilamina (DIEA, 62 mg, 0,48 mmol). La mezcla de reacción luego se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La reacción se templó con $NaHCO_3$ saturado (20 ml) y se extrajo con EtOAc y el solvente orgánico se removió *in vacuo*. El residuo se disolvió en THF : MeOH (1 : 1) y luego se agregó NaOH 1N (2 eq). La mezcla se agitó durante 10 min adicionales a temperatura ambiente. Luego, la solución de reacción se concentró *in vacuo* y el residuo se extrajo con EtOAc. El producto en bruto se purificó sobre una columna de gel de sílice ISCO seguido por HPLC preparativa. Las fracciones que contenían producto puro se combinaron y evaporaron. Se obtuvo el sólido blanco **262** (11,5 mg, 11%). LC–MS: calc. para $C_{23}H_{18}F_4N_2O$: 415 (M +1).



Los compuestos **263–264** se prepararon empleando un método similar al compuesto **262**.

<u>Ejemplos *In Vitro*</u>

Ejemplo 68: Screening *In Vitro* para Agentes que Modulan los Niveles de Calcio Intracelular

Se emplean ensayos basados en fluorescencia para el screening de los compuestos descritos en esta invención, tales como los compuestos de fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) los cuales modulan el calcio intracelular.

Ensayo Basado en Fluorescencia de Entrada de Calcio Activada por el Vaciado de los Depósitos Intracelulares en Células Estables de Orai1/STIM1.

<u>Células:</u>

Células que expresan establemente STIM1 y Orai1 humanas y recombinantes son generadas transfectando un plásmido de expresión de Orai1 humana (pcDNA3.1–Orai1–cmyc) en células HEK–293 que sobreexpresan establemente STIM1 humana (Roos et al. 2005 JCB 169(3): 435–445). Se seleccionan colonias de células que expresan establemente tanto proteínas STIM1 como Orai1 y luego son subclonadas por dilución limitativa. Las células se cultivaron a 37ºC /6% CO_2 en medio completo con 10% FBS y marcadores de selección apropiados.

Ensayo:

El día antes de llevar a cabo el ensayo, las células estables de Orai1/STIM1 son colocadas en placas en 50 □L de medio completo a 90–95% de confluencia en una placa de 384 pocillos. Las células se cultivan a 37ºC/6% CO_2 durante toda la noche. El día del ensayo, se agrega 1,5 □M de fluo–4–AM (Invitrogen) en medio completo a las células, las cuales son luego incubadas durante 1 hora a TA. Las células son lavadas una vez en HBSS libre de Ca^{2+} (solución salina tamponada de Hank) y se agrega 35 □l de HBSS libre de Ca^{2+} a cada pocillo. Los compuestos de ensayo son agregados a pocillos en una solución de HBSS libre de Ca2+ 10 □L, preparados a 4,5X la concentración final deseada, y se incubaron durante 30 minutos a TA. Luego, la señal de fluorescencia de punto de partida inicial se mide con un lector de placas $FLIPR^{384}$ (Molecular Devices). La entrada de calcio es iniciada agregando 5 □l de 10X $CaCl_2$ (10 mM) en HBSS, y se miden los cambios en la fluorescencia celular con el lector de placas $FLIPR^{384}$. En cada pocillo, se determina la magnitud de la señal de fluorescencia como resultado de la entrada de calcio en la célula calculando la diferencia entre la señal de fluorescencia pico medida después de la adición de calcio y la señal de fluorescencia de punto de partida inicial (designada Pico–Basal). Los valores de IC_{50} son típicamente calculados como la concentración que inhibió el 50% de la señal Pico-Basal.

B. En sayo basado en Fluorescencia de Entrada de calcio activado por depósitos intracelulares en Células RBL–2H3.

Células:

Las células RBL–2H3 son obtenidas de ATCC y se mantienen en medio completo con 10% FBS a 37ºC /6% CO_2.

Ensayo:

El día anterior a la realización del ensayo, las células RBL–2H3 son colocadas en placas en 50 µL de medio completo en una placa de 384 pocillos. Las células son cultivadas a 37ºC/6% CO_2 durante toda la noche y cultivadas a 50–60 % de confluencia para el siguiente día. El día del ensayo, se agrega 1,5 µM de tinte Fluo–4–AM (Invitrogen) en medio completo y se incuba durante 1 hora a TA. Las células son lavadas dos veces en buffer de HBSS libre de Ca^{2+} y se agregan 35 µL de buffer HBSS libre de Ca^{2+} a cada pocillo. Se agregan 10 µL de un compuesto de ensayo preparado en una solución HBSS libre de Ca^{2+} a 4,5X de la concentración deseada a un pocillo y se incuban durante 5 minutos a TA. Se agregan 10 µL de tapsigargina preparada en una solución de HBSS libre de Ca^{2+} a 5,5X de la concentración deseada (5,5 uM) a cada pocillo y se incuban durante 25 minutos adicionales. La señal de fluorescencia de punto de partida inicial se mide con un lector de placas $FLIPR^{384}$ (Molecular Devices). Se agregan 5 µL de calcio 12X en HBSS (12 mM) y se miden los cambios en la fluorescencia celular con el lector de placas $FLIPR^{384}$. En cada pocillo, se determina el cambio en la señal de fluorescencia en función del tiempo debido a la entrada de calcio en la célula calculando la diferencia entre la señal fluorescente medida 7 segundos después de la adición de calcio y la señal de fluorescencia de punto de partida inicial en tiempo cero (t = 0). Este parámetro es designado Upslope. El valor IC_{50} es calculado como la concentración a la cual se inhibe el 50% del Upslope.

C. Ensayo basado en Fluorescencia de Entrada de calcio activado por depósitos intracelulares en Células Jurkat.

Células:

Células Jurkat E6–1 son obtenidas de ATCC y se mantuvieron en medio completo con 10% FBS a 37ºC /6% CO_2.

Ensayo:

El día anterior a la realización del ensayo, las células Jurkat E6–1 son sembradas a una densidad de 2 millones de células /mL en medio completo en un frasco T–175. Las células son cultivadas a 37ºC/6% CO_2 durante toda la noche. Al día siguiente, se agrega y se incuba 1,5 □M de colorante Fluo–4–AM (Invitrogen) en medio completo durante 1 hora a TA. Las células son recolectadas, lavadas do veces en buffer de HBSS libre de Ca2+ y colocadas en placas en 35 □L de buffer HBSS libre de Ca^{2+} en una placa de 384 pocillos. Se agregan 10 □L de un compuesto de ensayo preparado en una solución de HBSS libre de Ca^{2+} a 4,5X de la concentración deseada a un pocillo y se incuban durante 5 minutos a TA. Se agregan 10 □L de tapsigargina preparada en una solución de HBSS libre de Ca^{2+} a 5,5X de la concentración deseada (5,5 uM) a cada pocillo y se incuban durante 25 minutos más. La señal de fluorescencia de punto de partida inicial se mide con un lector de placas $FLIPR^{384}$ (Molecular Devices). Se agregan 5 □L de 12X calcio en HBSS (12 mM) y se miden los cambios en la fluorescencia celular con el lector de placas $FLIPR^{384}$. En cada pocillo, se determina el cambio en la señal fluorescente en función del tiempo debido a la entrada de calcio en la célula calculando la diferencia entre la señal fluorescente medida 7 segundos después de la adición del calcio y la señal de fluorescencia de punto de partida inicial en tiempo cero (t = 0). Este parámetro es designado Upslope. El valor IC_{50} es calculado como la concentración a la cual se inhibe un 50% del Upslope.

Ejemplo 69: Ensayo de Patch Clamp I_{CRAC} *In Vitro*

Objetivo

El objetivo de este ensayo consiste en examinar los efectos in vitro de los compuestos de ensayo sobre los canales de CRAC clonados (genes de Orai1 y STIM1 expresados establemente en células HEK293), responsables de I_{CRAC}, la corriente de los canales de calcio activada por la liberación de calcio.

Artículos de Ensayo y Control

Formulación: se preparan solución iniciales de artículos de ensayo en sulfóxido de dimetilo (DMSO) y se almacenan congeladas. Las concentraciones de artículos de ensayo son preparadas diariamente frescas diluyendo las soluciones iniciales en un buffer de registro externo apropiado. En caso apropiado, las formulaciones de los artículos de ensayo son sonicadas (Modelo 2510, Branson Ultrasonics, Danbury, CT), a temperatura ambiente para facilitar la disolución. En ciertos casos, las soluciones de ensayo contienen hasta 0,1% de DMSO y la presencia de 0,1% DMSO no afecta la corriente de los canales.

Concentraciones y Cantidad de Artículos de Ensayo

Típicamente, los efectos de tres (3) concentraciones de cada artículo de ensayo son evaluados (0,1, 1, y 10 □M). Los artículos de ensayo son pesados y preparados como soluciones iniciales de 30 mM o 10 mM en DMSO. La solución inicial de DMSO se diluye en buffer de registro externo para preparar una solución de ensayo de 10 □M (DMSO final 0,03% o 0,1%). La solución de ensayo de 10 □M es diluida en buffer de registro externo para preparar soluciones de ensayo de 1 □M y 0,1 □M. Las soluciones de ensayo contienen hasta 0,1% de DMSO a la concentración más alta a la cual se diluyen en soluciones de ensayo a concentraciones inferiores.

Artículo Control Positivo

Se preparan soluciones iniciales del artículo control positivo en tandas, distribuidas en alícuotas para uso individual, almacenadas congeladas y empleadas dentro de los seis meses. Se prepara la concentración de control positivo diariamente fresca diluyendo soluciones iniciales en buffer de registro externo. La concentración final de DMSO en el artículo de control positivo de ensayo es de hasta 0,1% de la solución.

Artículo Control Negativo

El artículo control negativo es 0,1% DMSO en buffer de registro externo.

Sistemas de Ensayo de Canales de Iones Clonados

Las células se mantienen en incubadoras de cultivo tisular según los protocolos estándares de CalciMedica. Las soluciones iniciales se mantienen en almacenamiento criogénico. Las células empleadas para electrofisiología son plaqueadas en platos de cultivo tisular de plástico.

Células HEK293

Las células HEK293 son establemente transfectadas con los ADNc de canales de iones apropiados (Orai1/STIM1). Las células son cultivadas en DMEM (Gibco 11960) suplementado con suero bovino fetal 10% (Gibco 10082), 100 U/mL de penicilina G sódica, piruvato de Na 1 mM (Gibco 11360), 100 □g/mL de sulfato de estreptomicina (Gibco 10378), 0,5 mg/ml de geneticina (Gibco 10131–035) y 50 □g/ml de zeocina (Invitrogen 45–0430). Las células deberían mantenerse a ≤80% de confluencia. El día antes del ensayo, las células en platos de cultivo se lavan una vez con D-PBS libre de calcio/ magnesio, se tratan con tripsina/EDTA y se resuspenden en medio de cultivo y se cuentan. Luego las células son diluidas en medio de cultivo con 1% de suero bovino fetal y se colocan en placas a baja densidad (5–10K) sobre tiras de cubierta de vidrio recubiertas con poli–D–lisina en platos de cultivo tisular de 24 pocillos y colocadas en un incubador de cultivo tisular a 37°C en una atmósfera de aire 95% humidificado, 6% CO_2.

Métodos de Ensayo

Cámara de Registro y Perfusión de Artículo de Ensayo

Los cubreobjetos de vidrio que contenían las células son transferidos a una cámara de registro (Warner Instruments) con perfusión continua de buffer de registro externo. Durante los registros de I_{CRAC}, todos los tratamientos son administrados mediante perfusión de baño alimentada por gravedad de reservorios de jeringas descartables por medio de alimentación por entubamiento de polietileno descartable en un múltiple de Teflón. El índice de flujo es fijado entre 1,2–1,5 ml/min asegurando un intercambio de solución completo en ~1 min. Todos los experimentos se llevan a cabo a temperatura ambiente.

Grupos de Tratamiento de Artículos de Ensayo

Para los experimentos en los cuales el artículo de ensayo es aplicado durante 10 minutos, el paradigma de tratamiento es resumido en la Tabla 2. El buffer de registro control es sometido a perfusión durante cinco (5) minutos mientras que I_{CRAC} se desarrolla y se establece un punto de partida estable; cada célula es empleada como su propio control. Cada artículo de ensayo es aplicado a células "naïve" (sin tratamiento) (n □ 2, donde n = la cantidad de células/ concentración; a 1 concentración/ célula) durante una duración de diez (10) minutos (Tabla 2). El artículo de ensayo es removido por lavado durante diez (10) minutos para observar la reversibilidad del efecto. La solución salina de registro externa sin calcio es sometida a perfusión durante dos (2) minutos para determinar la corriente de fondo en ausencia de I_{CRAC}. Se vuelve a aplicar la solución salina control que contiene calcio durante tres (3) minutos.

Para los experimentos donde el artículo de ensayo es aplicado durante 30 minutos con anterioridad al registro de I_{CRAC}, el paradigma de tratamiento es sintetizado en la Tabla 3. Con anterioridad al inicio de cada experimento, las células son incubadas con compuesto durante 30 minutos a temperatura ambiente, y el compuesto sigue estando presente a lo largo de los registros de I_{CRAC}. Las células control son expuestas a vehículo solamente. Después de ingreso ("break–in") y establecimiento de la configuración de patch clamp de células enteras, se somete a perfusión buffer de registro ± compuesto durante diez (10) minutos. Al final del período de 10 min. se mide la amplitud de I_{CRAC}. Los efectos de los compuestos se determinan comparando la señal de I_{CRAC} en células previamente tratadas con compuesto a la señal en células previamente tratadas con vehículo.

Tabla 2. Programa de Artículos de Ensayo para Estudios de Aplicación de 10 minutos

Epoch	**Solución**	**Tiempo de exposición**
1	control de punto de partida / estabilización	5 minutos
2	Artículo de ensayo	10 minutos
3	Lavado	10 minutos
4	0 calcio	2 minutos
5	control	3 minutos

Tabla 3. Programa de Artículos de Ensayo para Estudios de Aplicación de 40 minutos

Epoch	**Solución**	**Tiempo de exposición**
	Artículo de ensayo	30 minutos
1	Artículo de ensayo	10 minutos
2	Lavado	10 minutos
3	0 calcio	2 minutos
4	control	3 minutos

Grupos de Tratamiento Control

Como un control negativo, se aplicó 0,1% DMSO a células "naïve" (sin tratamiento") (n □□2, donde n = la cantidad de células. Esto se emplea para monitorear la magnitud de agotamiento de I_{CRAC}. Como un control positivo, 1 □M de ácido 4–(4–bromofenil)–2–(3–fluorbenzamido)tiofen–3–carboxílico es aplicado rutinariamente a células "naïve" (n □ 2, donde n = la cantidad de células).

Procedimientos de "Patch Clamp" (Pinzamiento Local) de Células Enteras

Se emplean procedimientos de "Patch Clamp" (Pinzamiento Local) de células enteras convencionales. Las composiciones de las soluciones extracelulares e intracelulares son mostradas en las **Tablas 4** y **5**. Las células son visualizadas en un microscopio invertido (Olympus IX71) y son sometidas a pinzamiento dependiente del voltaje empleando un amplificador Multiclamp 700B y programa informático PClamp (Axon Instruments). Brevemente, se colocan pipetas de patch de borosilicato recargadas con solución intracelular (Apéndice 1) sobre la membrana celular. Una vez formado un cierre G□, se aplica succión hasta que el patch se rompe y se establece la configuración de las células enteras. La calidad de la configuración será evaluada con el "ensayo

de membrana" en Clampex para determinar la capacitancia celular (Cm), resistencia de entrada (Rm), resistencia de acceso (Ra), y corriente de retención a –50 mV (Ih). Los datos son almacenados en la red informática de CalciMedica (y se hace un backup cada noche) para análisis off–line (fuera de línea).

Tabla 4 Composición de Solución Extracelular (concentración en mM)

NaCl	120
TEA–Cl	10
HEPES	10
CaCl2	10 (y 0)
MgCl2	2 (y 12)
glucosa	10

El pH es ajustado hasta 7.2 con NaOH y la osmolaridad final se ajusta a 325 con sacarosa. Las soluciones son preparadas diariamente. Los productos químicos empleados en la preparación de las soluciones son adquiridos en Sigma–Aldrich (St. Louis, MO), a menos que se indique lo contrario, y son de una pureza de grado de reactivo ACS o superior.

Tabla 5 Composición de Solución Intracelular (concentración en mM)

Cs–glutamato	120
HEPES	10
BAPTA	20
$MgCl_2$	3

El pH es ajustado hasta 7,2 con CsOH. Las soluciones son preparadas en tandas, divididas en alícuotas y refrigeradas hasta su uso. Se emplea una alícuota fresca cada día y se almacena en hielo a lo largo del día. Los productos químicos empleados en la preparación de las soluciones son adquiridos en Sigma–Aldrich (St. Louis, MO), a menos que se indique lo contrario y son de calidad de reactivo ACS.

Procedimiento de Ensayo de I_{CRAC}

I_{CRAC} del complejo de canales de Orai1/STIM1 es activada mediante depleción pasiva de depósitos de calcio intracelulares empleando BAPTA 20 mM en la solución intracelular. Los datos de pinzamiento de voltaje son adquiridos empleando el programa informático Clampex para producir un protocolo de voltaje de estímulo (mostrado en la **Tabla 6**) aplicado cada seis (6) segundos. Las corrientes son digitalizadas a 10 kHz y filtradas a 2 kHz. Se emplea compensación capacitiva de células enteras. Las trazas representativas de I_{CRAC} se muestran en la **Figura 2.**

Tabla 6 Protocolo de Pinzamiento de Voltaje

Voltaje	Descripción
Vh +30 mV	para miniminizar la entrada de calcio entre barridos
Vpaso a 0 mV durante 10 ms	para evaluar la corriente "cero"
Vpaso a –100 mV durante 10 ms	para medir I_{CRAC} a fuerza de impulso elevada
Vrampa a +100 mV durante 50 ms	para monitorear perfil de rectificación hacia adentro de I_{CRAC}
Vpaso a +50 mV durante 10 ms	para estimar corriente de pérdida

Análisis de Datos

El análisis de datos se lleva a cabo empleando el programa informático Clampfit. I_{CRAC} se mide a –100 mV y la corriente medida después de 5 min se emplea como el control de punto de partida. Para estudios de aplicación de 10 minutos, la corriente medida luego de aplicación de 10 min del artículo de ensayo es normalizada a la corriente de punto de partida y expresada como % control. Para estudios de aplicación de 40 min, la corriente medida al final de 10 minutos de tiempo de registro de I_{CRAC} se emplea como el comparador. La corriente

medida en buffer de “0 calcio” se emplea para sustraer la corriente de pérdida de fondo. Los puntos de información para cada concentración de artículo de ensayo (n ≥ 2) son ajustados a una función sigmoidal (SigmaPlot) para determinar la IC_{50} y la inclinación Hill.

Ejemplos *In Vivo*

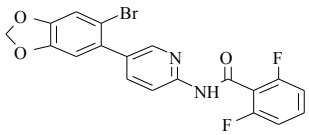
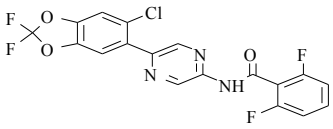
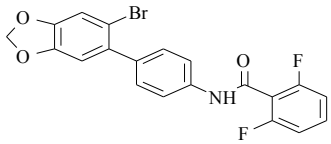
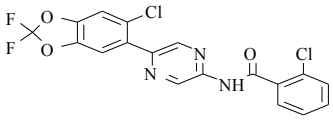
Ejemplo 70. Estabilidad Microsómica de Compuestos Descritos en Esta Invención

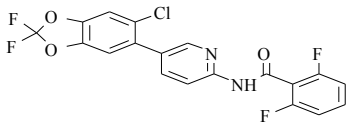
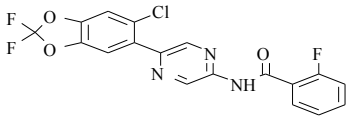
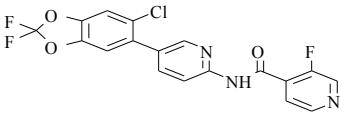
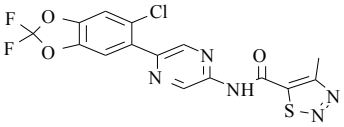
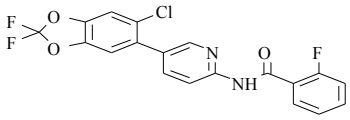
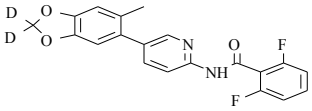
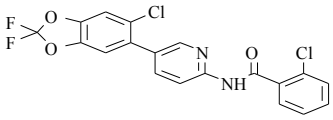
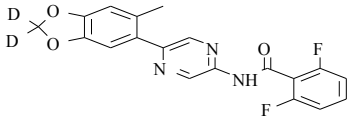
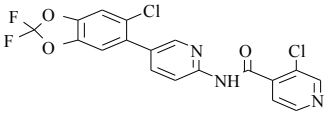
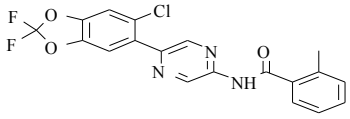
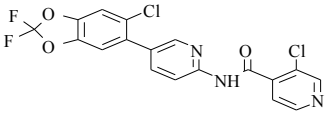
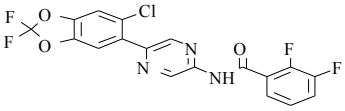
Materiales: Los microsomas hepáticos son adquiridos de XenoTech, LLC (Lenexa, KS). Otros productos químicos son obtenidos de Sigma–Aldrich (Milwaukee, WI). Los solventes para las fases móviles LC/MS/MS y los implementos de laboratorio descartables son obtenidos de diversos vendedores.

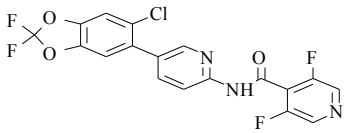
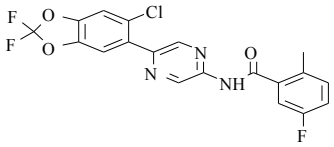
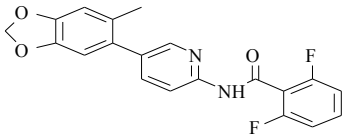
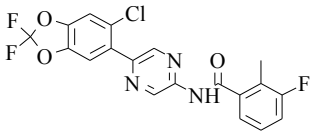
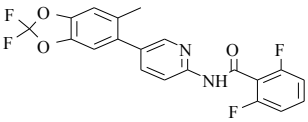
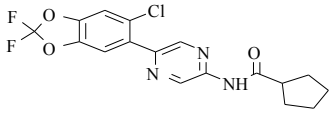
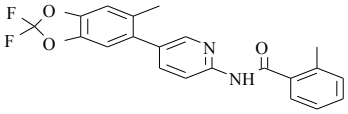
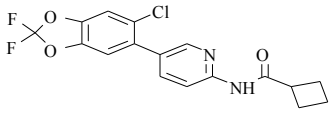
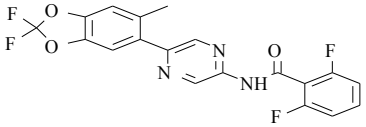
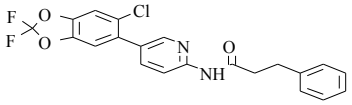
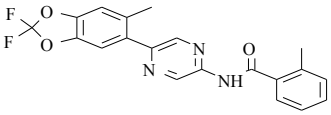
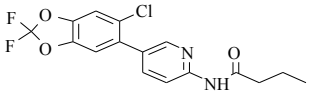
Protocolo de Estudio Fase I solamente (metabolismo oxidativo en presencia de sistema regenerador de *NADPH pero sin UDPGA):* Una mezcla del compuesto de ensayo y microsomas hepáticos (475 µL total) se pre-incuba durante 5 minutos a 37°C. Las reacciones son iniciadas mediante la adición de 25 µL del sistema regenerador de NADPH de co–factor) y se dejan proseguir a 37°C durante hasta 60 minutos. Las concentraciones finales en el ensayo fueron: 5 µM de compuesto de ensayo, 1 mg/mL de proteína microsómica, NADP 1 mM +, glucosa–6–fosfato 5 mM y 1 U/mL de glucosa–6–fosfato deshidrogenasa en fosfato potásico 50 mM (pH 7,4) que contenía $MgCl_2$ 3.3 mM y 100 µM de EDTA. Se introduce DMSO en las mezclas de reacción con solución inicial del compuesto de ensayo; su concentración no excedió 0,4% (v/v). En puntos temporales predeterminados, las reacciones son terminadas removiendo alícuotas de 50 µL y templándolas con 200 mL de mezcla de ACN que contenía 0,5 µM del patrón interno (carbamazepina) para lograr precipitación proteica. Las muestras son sometidas a vórtice, centrifugadas a 4000 rpm (3400 rcf) durante 15 minutos, y se analizan los sobrenadantes transparentes por LC/MS/MS.

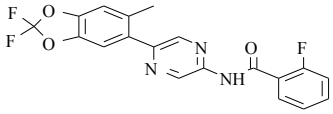
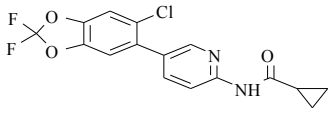
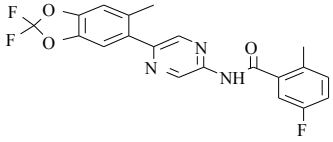
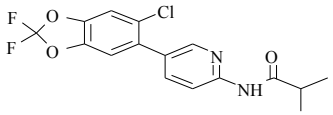
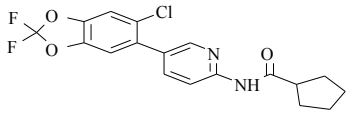
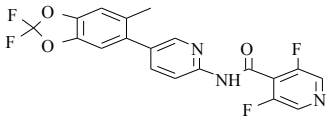
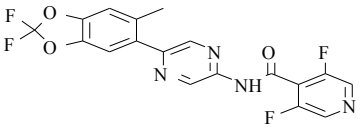
Fase I y II: (metabolismo oxidativo y conjugación en presencia de sistema regenerador de NADPH y UDPGA): Las mezclas de reacción son preparadas en forma similar a lo descrito anteriormente, excepto que también se agregaron 6,6 mM de UDPGA, 6,25 µg/mL de alameticina, y 1,25 mM de D–ácido sacárico 1,4–lactona (concentraciones finales de ensayo) junto con el sistema regenerador de NADPH. Se emplean midazolam y 4–metilumbeliferona como controles positivos para la Fase I y la Fase II, respectivamente.

Bioanálisis El bioanálisis se lleva a cabo empleando un método de LC/MS/MS no GLP. No se generan curvas de calibración y las relaciones del área pico de compuesto de ensayo al área pico estándar interno se emplean para determinar las cantidades relativas de compuesto de ensayo que quedan en cada punto temporal.

No.	Compuesto	Microsómico t ½ (min)	No.	Compuesto	Microsómico t ½ (min)
1		6	**11**		Estable
2		3	**12**		Estable

3		Estable	**13**		Estable
4		281	**14**		Estable
5		Estable	**15**		36
6		Estable	**16**		17
7		339	**17**		Estable
8		Estable	**18**		Estable

9		Estable	**19**		Estable
10		22	**20**		74
21		Estable	**29**		38
22		109	**30**		11
23		Estable	**31**		26
24		67	**32**		19

25		Estable	**33**		81
26		47	**34**		Estable
27		40	**35**		Estable
28		Estable			

Estable es definido en esta invención como menos de 10% de degradación

Ejemplo 71. Ensayo *in vitro* de desgranulación de células cebadas

Células:

Las células RBL–2H3 son obtenidas de ATCC y se mantuvieron en medio completo con 10% FBS a 37ºC /6% CO2.

Ensayo:

Estimulación con 1 μM de tapsigargina/20 nM TPA

El día anterior a la realización del ensayo, las células RBL–2H3 son plaqueadas en una placa de 96 pocillos. Las células son cultivadas a 37ºC/6% CO2 durante toda la noche. Al día siguiente, las células son lavadas dos veces en Buffer de HBSS con 1,8 mM de CaCl2 y 1,75% de suero bovino fetal (FBS). Se agregan 70 μL de un compuesto de ensayo preparado en Buffer de HBSS con 1,8 mM de CaCl2 + 1,75% FBS y se incuba durante 10 minutos a 37ºC/6% CO2. Las células son estimuladas mediante la adición de 7 μL de 11X tapsigargina/TPA (11 μM de tapsigargina/220 nM TPA) y se incubaron a 37ºC/6% CO2 durante 120 minutos. El medio es recolectado y los lisados celulares son preparados mediante la adición de 70 μL de 0,05% Triton X–100 en HBSS con $CaCl_2$ 1.8 mM. Se miden los niveles de □–hexosaminidasa en el medio y en los lisados celulares. El ensayo de □ –hexosaminidasa se lleva a cabo agregando 40 μL de sustrato de p–nitrofenil–acetil–glucosamida 1 mM en 0,05M de citrato sódico (pH 4,5) hasta 10 μL de muestra (medio acondicionado o lisado celular), incubando durante 60 minutos a 37ºC, luego agregando 100 μL de carbonato sódico 0,05M /bicarbonato sódico 0,05M (pH 10,5), mezclando vigorosamente y leyendo la absorbancia a 405 nm. Se

calcula el porcentaje de –hexosaminidasa liberada de la siguiente manera: A405 (medio)/[A405 (medio) + A405 (lisado)]. El valor de IC_{50} se calcula como la concentración a la cual se inhibe 50% de la –hexosaminidasa liberada en células tratadas con vehículo.

b) Estimulación con IgE–DNP

El día anterior a la realización del ensayo, las células RBL–2H3 se plaquean en 200 µL de medio completo en una placa de 96 pocillos durante 1 hora. Se agregan 20 µL de 11X DNP–IgE y las células se cultivan a 37ºC/6% CO2 durante toda la noche. Al día siguiente, las células se lavan dos veces en Buffer de HBSS con CaCl2 1,8 mM y 1,75% de suero bovino fetal (FBS). Se agregan 70 µL de un compuesto de ensayo preparado en Buffer de HBSS con CaCl2 1.8 mM y 1,75% y se incuba durante 10 minutos a 37ºC/6% CO_2. Las células son estimuladas mediante la adición de 7 µL de 11X DNP–BSA y se incuban a 37ºC/6% CO2 durante 30 minutos. El medio se recolecta y los lisados celulares son preparados mediante la adición de 70 ul de 0,05% Triton X–100 en HBSS con $CaCl_2$ 1.8 mM. Los niveles de –hexosaminidasa se miden en el medio y en los lisados celulares. El ensayo de –hexosaminidasa se lleva a cabo agregando 40 µL de sustrato de p–nitrofenil–acetil–glucosamida 1 mM en citrato sódico 0,05M (pH 4,5) a 10 µL de muestra (medio acondicionado o lisado celular), incubando durante 60 minutos a 37ºC, luego agregando 100 µL de carbonato sódico 0,05M /bicarbonato sódico 0,05M (pH 10,5), mezclando vigorosamente y leyendo la absorbancia a 405 nm. El porcentaje de –hexosaminidasa liberada se calcula de la siguiente manera: A405 (medio)/[A405 (medio) + A405 (lisado)]. El valor de IC_{50} se calcula como la concentración a la cual se inhibe 50% de la –hexosaminidasa liberada en células tratadas con vehículo.

Ejemplo 72: Ensayo i*n vitro* de liberación de citoquinas de células T

Células:

Se obtuvieron las células Jurkat E6–1 de ATCC y se mantuvieron en medio completo con 10% FBS a 37ºC /6% CO2.

Ensayo:

El día anterior a la realización del ensayo, las células T Jurkat son plaqueadas en 90 µL de Buffer de HBSS con $CaCl_2$ 1.8 mM y 1,75% de suero bovino fetal (FBS) en una placa de 96 pocillos a una densidad de 1,5x105 células/pocillo durante 3 horas. Se agregan 10 µL de compuesto de ensayo 10X preparado en HBSS y se incuba durante 10 minutos a 37ºC/6% CO2. Las células son estimuladas mediante la adición de 10 µL de 11X PHA/TPA (27,5 µg/mL de PHA/880 nM TPA) y se incuba a 37ºC/6% CO_2 durante 20 horas. Al día siguiente, los sobrenadantes son recolectados y analizados para determinar los niveles de IL–2 mediante ELISA de acuerdo con los protocolos del fabricante. El valor de IC_{50} es calculado como la concentración a la cual se inhibe el 50% de IL-2 secretada en células tratadas con vehículo.

Ejemplo 73. Efectos de Respuesta a la Dosis de un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), CSA o Rapamicina en DTH de Pata de Ratón

Propósito: Determinar los efectos de respuesta a la dosis de Compuesto de Ensayo sobre respuesta de DTH inducida por mBSA en almohadillas de pata cuando se realizan dosificaciones durante la sensibilización así como también la fase de inducción.

Animales: Ratones Webster Suizos Machos aprox. 20–25 gramos al inicio del estudio.

Materiales: BSA metilada (Sigma) adyuvante completo de Freund (Difco) más M. tuberculosis H37 RA suplemental (Difco).

Diseño del Estudio General:

Los ratones son anestesiados con Isoflurano y se les dio inyecciones intradérmicas de antígeno de 0,1 ml en la base de la cola (D0, D07). El antígeno es preparado preparando una solución de 4 mg/ml en agua estéril. Volúmenes iguales de antígeno y adyuvante completo de Freund a los cuales se le agregan 4 mg/ml MTB (sonicación durante 5 minutos luego del agregado de MTB al aceite), se emulsionan mediante mezclado a mano hasta que una perla de este material retiene su forma cuando se coloca en agua. El tratamiento con compuesto de ensayo es iniciado en el día 0, qd (intervalos de 24 hr) y es continuado hasta el día 10 cuando se realiza el desafío.

El día 10 los animales son inyectados en la almohadilla de la pata trasera derecha con 20µl de 10mg/ml mBSA. Cinco machos no sensibilizados son inyectados con mBSA en la almohadilla de la pata. Veinticuatro horas más tarde (día 11) las patas traseras derecha e izquierda son cortadas transversalmente en el maléolo medio y lateral y se pesan y se determina la diferencia de peso inducida por inyección de antígeno.

Análisis Estadístico. Los pesos de las patas (medio±SE) para cada grupo son analizados para determinar las diferencias empleando una prueba t de Student o ANOVA con post ensayo de Dunnett. La importancia estadística se fija en p≤0,05.

Tabla 7. Machos de Grupos de Tratamiento

Grupo	N	Tratamiento 10 ml/kg cada día, po
1	5	Controles normales (sin sensibilización) Inyección de mBSA en pata derecha solamente
2	8	DTH+Vehículo (70% PEG400/30%Agua)
3	8	DTH+ Compuesto de Ensayo (50 mg/kg, po, cada día)
4	8	DTH+ Compuesto de Ensayo (100 mg/kg, po, cada día)
5	8	DTH+ Compuesto de Ensayo (200 mg/kg, po, cada día)
6	8	DTH+ Compuesto de Ensayo (300 mg/kg, po, cada día)
7	8	DTH+ CSA (100 mg/kg cada día, ip)
8	8	DTH+Rapamicina (5 mg/kg cada día, ip)

Los Compuestos de fórmula (I)–(VIIA) se espera que sean eficaces en este modelo.

Ejemplo 74: Datos Farmacocinéticos de un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) en Ratas

La biodisponibilidad y propiedades farmacocinéticas en plasma en ratas del compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) administrado oralmente en 25% PEG400/20% etanol/55% H_2O vehículo. Dos grupos de tratamiento, 1) un grupo de dosis i.v. a 2 mg/kg; y 2) un grupo de dosis oral a 10 mg/kg se administran a ratas machos Sprague–Dawley (3 ratas por grupo), con un peso aproximado de 250–300 g. Se recolectan hasta 10 puntos temporales para cada grupos. Los puntos temporales típicos son: pre dosis, 15, 30 minutos, 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 hrs. Se recolectan hasta 300 □L de sangre entera por medio de cánula de vena yugular en cada punto temporal. La sangre entera es recolectada en tubos de microcentrifugación que contienen anticoagulante y se centrifuga a 5000 rpm en una microcentrífuga durante 5 minutos antes de transferir el plasma a un tubo de microcentrífuga limpio. Las muestras de plasma sufren análisis bioanalítico.

Ejemplo 75: Modelo de Asma de Rata – Ver la Figura 4

Preparación de Soluciones de Sensibilización y Desafío

Solución de Sensibilización: Se prepara solución 1% OVA en PBS (1 g de OVA se disuelve en 100 mL de PBS. La concentración final es de 10 mg/mL). Se agregan 6 mL de solución de 1% OVA y 54 mL de solución de alumbre en una botella para generar una solución con la relación de 1:9, luego se agita en una agitadora horizontal a 37°C durante 30 min.

Solución de Desafío: La solución 1% OVA se prepara en PBS (1 g de OVA se disuelve en 100 mL PBS. La concentración final es 10 mg/mL).

Sensibilización y Desafío de Ratas: 50 Animales son distribuidos al azar en 5 grupos (n = 10 por grupo). Las ratas en los grupos 2, 3, 4, y 5 son sensibilizadas mediante inyección i.p (1 mL/rata) de solución de sensibilización en los días 1, 2, y 3. Las ratas en el grupo 1 recibieron 1 mL PBS mediante inyección i.p. en los días 1, 2, y 3. En el día 21, las ratas en los grupos 2, 3, 4, y 5 son desafiadas con solución de desafío durante 20 min con un sistema de dosificación en masa (Buxco). Las ratas en el grupo 1 son desafiadas con PBS.

Mediciones del Peso Corporal: Los animales son pesados en los días 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, y 22. Cada peso corporal del animal es registrado en tiempo real Biobook y el registro se mantuvo en una base de datos del archivo. Los pesos corporales son ingresados en la planilla de Excel que se emplea para determinar los volúmenes de dosificación para cada animal.

Administración de Fármaco: Los compuestos de ensayo y el fármaco de referencia son administrados de acuerdo con los siguientes protocolos de dosificación: Grupo 1 (grupo Vehículo 2 – sensibilizado Sham), Vehículo 2 (22,5% PEG400/1,25% Tween–80/1,25% PVP40/75% CMC (1%)) son administrados oralmente dos

veces al día en los días 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 y 21 (2 horas antes del desafío con PBS en el día 21); Grupo 2 (grupos Vehículo 2 – sensibilizado con OVA), el Vehículo 2 es administrado oralmente dos veces al día en los días 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 y 21 (2 horas antes del desafío con OVA en el Día 21); Grupo 3 (grupo de fármaco de referencia), Dexametasona (0,3 mg/kg) en Vehículo 1 (0,5% CMC) es administrada por vía oral dos veces al día en los días 18, 19, 20 y 21 (2 horas antes del desafío con OVA en el día 21); Grupo 4, una dosificación de Compuesto de Ensayo (57 mg/kg) en Vehículo 2 se administra oralmente dos veces al día en los días 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 y 21 (2 horas antes del desafío con OVA en el día 21); Grupo 5, una dosificación de compuesto de Ensayo (57 mg/kg) en Vehículo se administra oralmente una vez al día en los días 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 y 21 (2 horas antes del desafío con OVA en el día 21).

Recolección de Muestras: En el día 22, los animales son anestesiados mediante inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico al 1% (60 mg/kg). Las muestras de sangre son recolectadas en tubos EDTA–K2 de la aorta abdominal bajo anestesia con pentobarbital.

Inmediatamente después del muestreo de sangre, los animales son sacrificados mediante dislocación cervical. Los pulmones son lavados mediante cánula traqueal con 3 ml de PBS (que contenía 1% FBS) la primera vez. Luego, el curso se repite dos veces más con 5 mL PBS (que contenía 1% FBS) para cada vez. El BALF se almacena en hielo y se mantiene por separado de los lavados posteriores. Los pellets celulares de los tres lavados se agrupan y se ajustarán al volumen de 15 ml para recuento de número de células. Las cantidades totales de células en BALF son estimuladas empleando un hemocitómetro y ensayo de exclusión con azul tripan. El BALF luego se centrifuga a 4°C a 300 xg durante 5 min y las células son resuspendidas en PBS (que contenían 1% FBS) para la preparación de las frotis. Las frotis se preparan diluyendo células (hasta aproximadamente 10^7 células/ml) y colocando en pipeta una alícuota (100 □l) en una cámara de muestras de citocentrífuga, y se centrifugaron a 800 rpm durante 5 min. Los portaobjetos se secan al aire, se fijan en metanol durante 1 minuto, y luego se manchan en solución de mancha de Wright (1 minuto) seguido por solución de mancha Giemsa (7 minutos) a fin de diferenciar los eosinófilos, neutrófilos, macrófagos y linfocitos. Se cuentan un total de 200 células por frotis bajo microscopía luminosa.

Todas las muestras de sangre son recolectadas en tubos de EDTA–K2. Después de aislamiento de plasma, 3 alícuotas de 0,5 mL plasma y se almacenan en –80°C.

Ejemplo 76: Efecto de Compuesto de Ensayo en modelo de Artritis Inducida por Colágeno (CIA, por sus siglas en inglés) en Rata- ver la Figura 3

Propósito: Determinar la eficacia del Compuesto de Ensayo administrado por dosificación oral qd, en la inhibición del desarrollo de la inflamación, formación de pannus, destrucción de cartílago y resorción ósea de artritis de colágeno tipo II en ratas.

Animales: Ratas Lewis hembras (Charles River), con un peso de 125–150 g al inicio del estudio. Las ratas son inyectadas con colágeno para obtener respondedores sólidos en los días 10 y 11. Cuatro animales no inmunizados sirven como controles normales.

Materiales: Compuesto de Ensayo, colágeno Tipo II, adyuvante incompleto de Freund, ácido acético. El Compuesto de Ensayo es preparado a una concentración de 10 mg/ml en 22,5% PEG400 / 1,25% Tween80 / 1,25% polivinilpirrolidona 40 / 0,75% carboximetilcelulosa para 5 ml/kg, 50 mg/kg de dosificación. El colágeno es preparado haciendo una solución de 4 mg/ml en ácido acético 0,01N. Volúmenes iguales de colágeno y adyuvante incompleto de Freund son emulsionados mezclando a mano hasta que una perla de este material mantiene su forma cuando se coloca en agua.

Diseño de Estudio General: Animales (10 ratas/grupo para artritis, 4 ratas/grupo para control normal).

Los animales en los grupos de artritis son anestesiados con isoflurano y administrados inyecciones de colágeno (D0); cada animal recibe 400 µl de la mezcla esparcida sobre 3 sitios subcutáneos en la espalda. En el día 6 (D6) los animales son anestesiados nuevamente y se les administra una segunda inyección de colágeno de 200 µl de la mezcla esparcida sobre 3 sitios subcutáneos en la espalda, como anteriormente.

La dosificación oral de Compuesto de Ensayo en intervalos de 12 horas (dos veces al día) o intervalos de 24 horas (una vez al día) es iniciada en el Día 0 empleando un volumen de dosis de 5 ml/kg para soluciones orales de 10 mg/ml para dosificación de 50 mg/kg. Las ratas son pesadas en los Días 0, 3, 6, y 9–17 de artritis, y se toman mediciones de calibre de tobillos cada día comenzando el Día 9 hasta el Día 17. Los pesos corporales finales se toman en el Día 17 de artritis. En el Día 17, todos los animales son anestesiados para extracción de sangre terminal y luego son sacrificados por eutanasia. Posteriormente, se extraen las patas traseras y las rodillas, las patas traseras se pesan y luego (con las rodillas) se colocan en formalina para el procesamiento para microscopia. También se extraen los hígados, bazos y timos y riñones, se les retira el tejido extraño y se pesan. Los riñones son retenidos en formalina para histopatología.

El muestreo farmacocinético se lleva a cabo en el Día 16.

Ejemplo 77: Efecto de los compuestos de fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) sobre Colitis Inducida por DNBS en Ratas

Procedimiento: Ratas Wistar machos con un peso de 200 ± 20 g se someten a ayuno durante 24 horas con anterioridad a su uso. La colitis distal es inducida mediante instilación intra–colónica de DNBS (ácido 2,4–dinotrobencensulfónico, 20 mg en 0,5 ml etanol 30%) con un catéter de 12 cm de largo, seguido por suave inyección de aire (2 ml) a través del catéter para asegurar que la solución permanezca en el colon. Los animales son divididos en grupos de 5 cada uno. La sustancia de ensayo y vehículo son administrados diariamente o dos veces al día por ruta apropiada de administración 24 horas y 1 hora antes de la instilación de DNBS y luego durante 6 días consecutivos a continuación. Un grupo control normal es tratado con 0,9% NaCl solo sin desafío con DNBS. Los animales son sacrificados 12 horas después de la dosis final de dos veces al día y 24 horas después de la dosis diaria final y el colon es extraído y pesado. Durante el experimento, se monitorean en forma diaria el peso corporal, sangre oculta en materia fecal y consistencia de las heces. Por añadidura, cuando se abre la cavidad abdominal antes de la extracción del colon, se notan adhesiones entre el colon y otros órganos al igual que la presencia de ulceración colónica después de la extracción y peso de cada colon (se registra un puntaje de daño macroscópico de acuerdo con criterios de puntajes establecidos). La relación de pesos de colon a cuerpo se calcula de acuerdo con la fórmula: Colon (g)/Peso Corporal (BW, por sus siglas en inglés) x 100. El aumento “neto” en la relación de grupo vehículo–control + DNBS con relación al grupo vehículo–control se emplea como una base para la comparación con grupos tratados individuales y expresado como “Dism. (%)” (porcentaje de disminución). Una reducción del 30% o más (≥30%) en la relación de colon a peso corporal, con relación al grupo control tratado con vehículo es considerada significativa.

Se emplea sulfasalazina como el agente de ensayo estándar. (Hogaboam CM, *et al.*, An orally active non–selective endothelin receptor antagonist, bosentan, markedly reduces injury in a rat model of colitis. *Eur J Pharmacol*. 309: 261–269, 1996; Yue G, *et al.*, En algunas instancias, el mesilato de tririlazida de 21 aminoesteroides disminuye la enfermedad intestinal inflamatoria en ratas. *J Pharmacol Exp Ther*. 276: 265–270, 1996.)

El compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) se espera que reduzca la colitis en este modelo.

Ejemplo 78. Efecto de los compuestos de las fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) en Rechazo de Trasplante de Piel en Ratas

Procedimiento. Se adquieren ratas Lewis y Brown Norway libres de patógenos específicos con 10 semanas de vida de Charles River y se alojan bajo condiciones convencionales de limpieza. Los animales son manipulados y se dejan aclimatar durante un período de dos semanas. Donantes de piel: ratas Brown Norway hembras, 10 semanas de edad. Destinatarios de piel: ratas Lewis hembras, 10 semanas de edad.

Se matan las ratas Brown Norway donantes para servir como donantes de 5 a 8 trasplantes cutáneos. Directamente después de haber matado a las ratas Brown Norway, se afeita la piel abdominal de las ratas y se extraen trasplantes cutáneos de 20 mm de diámetro en tamaño. Después de la extracción de tejido conectivo, estos injertos son trasplantados en ratas Lewis. Esto es realizado por afeitado de la piel dorsal superior de la rata Lewis bajo anestesia de isoflurano, extrayendo un trozo de piel de un diámetro de 15 mm por punción y reemplazo con un trasplante cutáneo derivado de la rata Brown Norway.

Durante el estudio, cada injerto es fijado por 4–6 puntos empleando Safil 6/0 violet (B Braun, Aesculap) y cubierto por Paraffin Gauze Dressing BP (3 x 3cm, Smith & Nephew), un trozo de gasa y cinta quirúrgica. Esta adaptación reduce al mínimo la posibilidad de perder un trasplante por razones diferentes al rechazo.

En todos los casos, los trasplantes son protegidos con un vendaje; esto son retirados después de seis días para permitir una inspección diaria del trasplante.

El rechazo es monitoreado evaluando los primeros signos de inflamación (enrojecimiento) y necrosis (endurecimiento y oscurecimiento del injerto).

Ejemplo 79: Ensayo Clínico de Fase II de la Seguridad y Eficacia de los Compuestos de las fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) en Pacientes con Artritis Reumatoidea Activa.

El propósito de este ensayo de fase II consiste en investigar la seguridad, tolerabilidad, PK, PD y eficacia de una sola infusión intravenosa e infusiones intravenosas repetidas de un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) en pacientes con artritis reumatoidea activa.

Pacientes: Los sujetos elegibles serán hombres y mujeres con edades entre los 18 y 75 años

Criterios:

Criterios de Inclusión:

- Todos los sujetos deben usar anticonceptivo aceptable para asegurar que no se produzcan embarazos durante el transcurso del estudio durante por lo menos 12 semanas después de la dosificación para hombres y durante 32 semanas después de la dosificación para las mujeres;

- El índice de masa corporal dentro del rango 18,5 – 35 kg/m^2 inclusive, además de un rango de peso de 55 – 95kg;

- El sujeto debe ser capaz de proporcionar un consentimiento informado y de poder cumplir con los requerimientos y horarios del estudio;

- El sujeto debe tener un diagnóstico de AR de acuerdo con los criterios de 1987 revisados de the American College of Rheumatology (ACR);

- El sujeto debe tener un puntaje de actividad de la enfermedad DAS28 de más de 4.2 en la selección y pre–dosis;

- El sujeto debe tener un nivel en suero de CRP de >/0,5 mg/dl o un nivel de ESR de 28mm/hora en la selección y pre–dosis;

- El sujeto NO ha recibido ninguna terapia biológica en el pasado, incluyendo productos biológicos para el tratamiento de la artritis reumatoidea;

- El sujeto debe tener ensayos de función hepática incluyendo alanina transaminasa (ALT) y aspartato transaminasa (AST) dentro de 1,5 veces el límite superior de normal (ULN, por sus siglas en inglés) y fosfatasa alcalina (ALP, por sus siglas en inglés) dentro de 3 veces ULN a la selección. El paciente también debe tener bilirrubina total dentro del ULN a la selección;

- El sujeto debe haber recibido al menos 3 meses de metotrexano y debe estar con una dosis estable de metotrexato (hasta 25 mg/ semana) durante al menos 8 semanas con anterioridad a la selección y debe querer permanecer con esta dosis a lo largo de todo el estudio;

- Si se está tomando sulfasalazina además del metotrexato, el sujeto debe estar con una dosis estable durante al menos 4 semanas con anterioridad a la selección y debe querer continuar con esta dosis a lo largo de todo el estudio;

- Si se está tomando hidroxicloroquina o cloroquina además del metotrexato, el sujeto debe estar con una dosis estable durante al menos 3 meses con anterioridad a la selección y debe querer continuar con esta dosis a lo largo de todo el estudio;

- Aquellos sujetos que reciben otras terapias antirreumáticas orales, las cuales pueden incluir Drogas Antiinflamatorias No Esteroides (AINES), inhibidores de COX–2, glucocorticoides orales por ej. prednisolona (~10mg/día) deben estar bajo regímenes de dosificación estable durante al menos 4 semanas con anterioridad a la selección y deben querer continuar con esta dosis a lo largo de todo el estudio. Los sujetos que reciben glucocorticoides intramusculares, por ej. metilprednisolona (~120 mg/mes) deben estar con un régimen de dosificación estable durante al menos 3 meses con anterioridad a la selección y deben querer continuar con este régimen a lo largo de todo el estudio;

- El sujeto debe estar recibiendo una dosis estable de suplementos de folato (5 mg/semana) durante al menos 4 semanas antes.

Criterios de Exclusión:

- Cualquier anormalidad clínicamente relevante identificada en la evaluación médica de selección, examen de laboratorio (por ej. parámetro hematológico fuera de los límites normales), o ECG (12 Lead o Holter);

- el sujeto tiene un resultado positivo de antígeno de superficie de Hepatitis B o anticuerpo de Hepatitis C en la selección;

- El sujeto tiene una historia de ensayos de función hepática elevada en más de una ocasión (ALT, AST y ALP > 3 x Límite Superior de Normal (ULN); bilirrubina total > 1,5 x ULN) en los últimos 6 meses;

- Exposición previa o infección pasada causada por Mycobacterium tuberculosis;

- El sujeto tiene una infección aguda;

- El sujeto tiene una historia de infecciones repetidas, crónicas o oportunísticas que, a opinión del investigador y/o supervisor médico de GSK coloca al sujeto en un riesgo inaceptable como un participante en este ensayo;

- El sujeto tiene una historia de enfermedad maligna, excepto por carcinoma de células basales quirúrgicamente curado o mujeres con carcinoma de cuello uterino curado (> 2 años antes);

- El sujeto tiene una historia de virus de inmunodeficiencia humana (VIH) u otra enfermedad de inmunodeficiencia;

- El sujeto cuyo clearance de creatinina calculado es inferior a 50ml/min;

- El sujeto tiene afecciones significativas cardíacas, pulmonares, metabólicos, renales, hepáticas o gastrointestinales que, a opinión del investigador o supervisor médico GSK coloca al sujeto bajo un riesgo inaceptable como participante del ensayo;

- El sujeto ha tomado ciclosporina, leflonomida, ciclofosfamida o azatioprina dentro de 1 mes de la selección. Los sujetos que han tomado ciclosporina, leflonomida, ciclofosfamida o azatioprina en el pasado han de haberse recuperado de todo evento adverso relacionado con el fármaco;

- El sujeto ha tomado sales de oro o d–penicilamina dentro de 1 mes anterior a la selección. Los sujetos que han tomado sales de oro o d–penicilamina en el pasado deben estar recuperados de todo evento adverso relacionado con el fármaco;

- El sujeto ha recibido glucocorticoides intra–articulares dentro de 1 mes de la selección;

- Historia reciente de trastornos de sangrado, anemia, enfermedad de úlcera péptica, hematemesis o sangrado gastrointestinal;

- Sujetos con una historia de enfermedad hematológica o trastornos plaquetarios adquiridos, incluyendo trombocitopenia inducida por fármaco, trombocitopenia idiopática aguda o enfermedad de von Willebrand;

- Sujetos con un riesgo conocido de hemorragia intra–craneal incluyendo cirugía de Sistema Nervioso Central (SNC) dentro de los últimos 12 meses, malformaciones vasculares arteriales, aneurismas, trauma cerebral cerrado significativo dentro de los 6 meses o cualquier otro incidente que el investigador y/o supervisor médico considere relevante;

- El sujeto tiene Hb <10 g/decilitro (dL) y recuento de plaquetas < 150 x 109/Litro (L);

- Donación de sangre en exceso de 500 ml dentro de un período de 56 días con anterioridad a la dosificación;

- Una falta de deseo por parte de los hombres de abstenerse de tener relaciones sexuales con mujeres embarazadas o en lactancia; o una falta de deseo del hombre de usar un preservativo con espermicida además de hacer que su pareja mujer emplee otra forma de contracepción tal como un dispositivo intrauterino (DIU), diafragma con espermicida, anticonceptivos orales, progesterona inyectable, implantes subdérmicos de levonorgestrel o una ligadura de trompas si la mujer podría quedar embarazada durante al menos 12 semanas después de la dosificación;

- El sujeto mujer con posibilidad de dar a luz no quiere usar un anticonceptivo adecuado, según lo definido en la sección de restricciones del estudio. En caso necesario, las mujeres sin potencial de quedar embarazadas (es decir, pos-menopáusicas o quirúrgicamente estériles por ej. con ligadura de trompas o histerectomía o ooforectomía bilateral) serán confirmadas. El estado posmenopáusico será confirmado por las concentraciones en suero de la hormona estimuladora de folículos (FSH, por sus siglas en inglés) y estradiol en la selección. La esterilidad quirúrgica será definida como mujeres quienes han tenido una histerectomía, ligadura de trompas o ooforectomía bilateral documentada;

- El sujeto tiene una historia de uso de drogas de abuso dentro de los 12 meses anteriores a la selección;

- Historia de consumo de alcohol regular que excede la ingesta semanal promedio de más de 21 unidades o una ingesta diaria promedio de más de 3 unidades (hombres) o una ingesta semanal promedio de más de 14 unidades o una ingesta diaria promedio de más de 2 unidades

(mujeres). Sujetos quieren consumen regularmente más de 12 unidades de alcohol en un período de 24 h también serán excluidos. 1 unidad es equivalente a mitad de pinta (220ml) de cerveza /lager o 1 (25ml) medida de licor o 1 vaso (125ml) de vino;

- Test de embarazo positivo o dando pecho al momento de la selección;

- Participación en un ensayo con cualquier fármaco bajo investigación dentro de los 3 meses o 5 vidas medias (lo que sea más largo) antes.

Diseño del Estudio: Este es un estudio de búsqueda de dosis, adaptativo controlado con placebo, de doble ciego, aleatorizado para investigar la seguridad, tolerabilidad, PK, PD y eficacia de infusiones únicas y repetidas intravenosas de un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) en pacientes con artritis reumatoidea activa. El estudio está dividido en 2 partes: Parte A es una fase de hallazgo de dosis, adaptativa la cual proporcionará seguridad , tolerabilidad, PK y PD con infusiones intravenosas únicas. La Parte B es una fase de dosis repetidas la cual proporcionará la seguridad, tolerabilidad, PK, PD y eficacia luego de infusiones intravenosas repetidas de un nivel de dosis seleccionado.

Mediciones Primarias de Resultado:

- Seguridad y Tolerabilidad luego de dosis ascendentes únicas de un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) a 1 mes y luego de 2 dosis repetidas de un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) a 3 meses. Eficacia clínica (puntaje DAS28 ("28 Días Después del Estudio") de un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) a 1 mes

Mediciones Secundarias de Resultado:

- Media ponderada DAS28 luego de dosis intravenosas únicas y repetidas

- Parámetros PK plasmáticos de un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) luego de dosis intravenosas únicas y repetidas incluyendo concentraciones (séricas) de compuesto libre y unido de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA), $AUC_{(0-\infty)}$, C_{max}, clearance, volumen de distribución y relación de acumulación

- Criterios de respuesta de DAS28 y EULAR después de dosis intravenosas únicas y repetidas

- Respuesta ACR20/ACR50/ACR70 después de dosis intravenosas únicas y repetidas

- Cantidad de articulaciones hinchadas evaluadas empleando recuentos de 28 articulaciones

- Cantidad de articulaciones blandas/ dolorosas evaluadas empleando recuentos de 28 articulaciones

- Evaluación de dolor del sujeto

- Evaluación global del médico de la condición de artritis

- Evaluación global del paciente de la condición de artritis

- Índice de incapacidad funcional (Cuestionario de Evaluación de Salud)

- Proteína C–reactiva (CRP)

- ESR

- Índice de Fatiga Global

- Índice de incapacidad HAQ

- Biomarcadores farmacodinámicos después de dosis intravenosas únicas y repetidas

- AUC_{50} y EC_{50} características para cambios de puntos de referencia clínicos con modelo de exposición plasmática, según lo evaluado por modelos PK/PD de E_{max} sigmoidal y respuesta indirecta.

- Inmunogenicidad (Anticuerpos humanos anti-compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA))

Ejemplo 80: Ensayo Clínico de Fase II de la Seguridad y Eficacia de los Compuestos de fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) en Pacientes con Soriasis tipo Placas, Recalcitrante, Severo.

El propósito de este ensayo en fase II consiste en investigar la seguridad, eficacia y tolerabilidad de un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) en pacientes con soriasis tipo placa, recalcitrante, severa.

Pacientes: los sujetos elegibles serán hombres y mujeres entre 18 y 75 años de edad

Criterios:

Criterios de inclusión:

- El paciente tiene soriasis tipo placa, recalcitrante, severa y no obtuvo resultados en al menos 1 terapia sistémica (para los propósitos de este estudio psoralen con luz ultravioleta A es considerado una terapia sistémica);
  - El paciente tiene involucramiento soriático de al menos 10% de BSA;
  - El paciente tiene un puntaje PSGA de 4 o más;
- El paciente, si es una mujer, es quirúrgicamente estéril o es posmenopáusica de 2 años, o si tiene posibilidades de quedar embarazada está empleando actualmente un método médicamente aceptado de anticoncepción, y está de acuerdo con continuar usando este método durante toda la duración del estudio (y durante 30 días después de la participación en el estudio). Los métodos aceptables de anticoncepción incluyen: abstinencia, contraceptivo esteroidal (oral, transdérmico, implantado, o inyectado) en conjunto con un método de barrera, o dispositivo intrauterino (DIU);
  - El paciente, si es un hombre, es quirúrgicamente estéril o si es capaz de producir descendencia, está empleando actualmente un método aprobado de control natal, y está de acuerdo en continuar usando este método durante toda la duración del estudio (y durante 60 días después de tomar la última dosis de un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) debido a los efectos posibles en espermatogénesis);
  - El paciente debe estar de acuerdo y debe ser capaz de cumplir con los procedimientos y restricciones del estudio y debe querer regresar a la clínica para la evaluación de seguimiento según lo especificado en este protocolo.

Criterios de Exclusión:

- El paciente ha recibido tratamiento con tratamientos para soriasis sistémicos (especialmente, retinoides, metotrexato, ciclosporina A, etanercept, efalizumab, otros agentes biológicos u otros inmunomoduladores) dentro de las 4 semanas, o terapia basada en UV dentro de las 2 semanas, o alefacept dentro de las 6 semanas del 1er día planeado de tratamiento del estudio;
- El paciente ha recibido tratamiento con inhibidores potentes de CYP3A4 incluyendo ciclosporina, clotrimazol, fluconazol, itraconazol, ketoconazol, voriconazol, eritromicina, claritromicina, y troleandomicina, inhibidores de proteasa del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) o nefazodona dentro de 1 semana (7 días) del 1er día planeado de tratamiento del estudio;
- El paciente está actualmente recibiendo warfarina;
- El paciente tiene hipersensibilidad a un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) o a cualquier componente de un compuesto de Fórmula (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA);
- El paciente tiene uno o más de los siguientes valores químicos séricos según lo determinado en la visita de selección (visita 1):
  - niveles de bilirrubina superiores a 2 veces el límite superior de normal (ULN, por sus siglas en inglés);
  - niveles de ALT o AST superiores a 2 veces el ULN;
  - niveles de creatinina en suero o más de 2mg/dL;
  - El paciente requiere tratamiento actual para VIH con inhibidores de proteasa;

- El paciente está tomando medicación por un diagnóstico clínico de ulceración gastrointestinal o ha experimentado melena o hematemesis en las 3 semanas previas;

- El paciente es una mujer quien está embarazada o dando el pecho;

- El paciente ha recibido tratamiento con un fármaco de investigación dentro de las 4 semanas del 1er día planeado de tratamiento del estudio.

Diseño del Estudio: Este es un estudio de aumento progresivo de la dosis, no aleatorizado, de etiqueta abierta, exploratorio de la eficacia, seguridad y tolerabilidad de un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) en pacientes con soriasis tipo placa, recalcitrante, severa.

Ejemplo 81: Ensayo Clínico de Fase II de la Seguridad y Eficacia de Compuestos de fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) para Profilaxis de Rechazo Agudo después de Trasplante Renal

El tratamiento inmunosupresivo estándar después de trasplante renal es una combinación de tacrolimus, micofenolato mofetilo, y prednisolona. Con este régimen, la incidencia de rechazo agudo dentro de los primeros seis meses después de trasplante puede caer hasta aproximadamente 20%. El desafío principal en la actualidad sigue siendo mejorar el resultado a largo plazo evitando la nefropatía de aloinjerto crónica (CAN, por sus siglas en inglés). Puesto que el rechazo agudo es un pronosticador fuerte de CAN, una disminución adicional en la incidencia del rechazo agudo puede mejorar la supervivencia de injerto a largo plazo. El propósito de este ensayo clínico de fase II consiste en investigar la eficacia y seguridad de un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) para profilaxis de rechazo agudo después del trasplante renal.

Pacientes: Los sujetos elegibles serán hombres y mujeres de 18 años de edad o mayores

Criterios**:**

Criterios de inclusión:

- Destinatarios de trasplante renal;
- consentimiento informado aprobado por IRB firmado, fechado y testimoniado;

Criterios de Exclusión:

- Embarazo;
- Donante vivo, quien es idéntico HLA;
- Síndrome urémico hemolítico como enfermedad renal original;
- Glomeruloesclerosis segmental focal que se ha repetido en un injerto previo;
- Más de dos injertos previamente fallidos y/o PRA > 85%;
- Diabetes mellitus que actualmente no está bajo tratamiento con insulina;
- Recuento de glóbulos blancos total <3,000/mm3 o recuento de plaquetas <75,000/mm3;
- Infección activa con hepatitis B, hepatitis C, o VIH;
- Historia de tuberculosis.

Diseño del Estudio: Este es un estudio de intervención controlada por placebo, de doble ciego, aleatorizado sobre la eficacia y seguridad del uso profiláctico de un compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA). Un grupo recibirá una sola dosis de un compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) por vía intravenosa al momento del trasplante y el otro grupo recibe una infusión con placebo.

Resultado Primario: Determinar la incidencia y severidad de rechazo agudo confirmado por biopsia dentro de los primeros seis meses luego de trasplante

Resultados Secundarios:

- Función renal según lo estimado por el clearance de creatinina endógeno a 6 meses
- Ocurrencia de nefropatía de aloinjerto crónica a los 6 meses

- Incidencia acumulativa de infecciones y enfermedades malignas a los 6 meses
- costos médicos durante los primeros 6 meses luego del trasplante
- Supervivencia del paciente e injerto

Ejemplo 82: Ensayo Clínico en Fase II de la Seguridad y Tolerabilidad de un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) en Pacientes con Colitis Ulcerativa (CU) Aguda

El propósito de este ensayo en fase II consiste en investigar la seguridad, tolerabilidad de un compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) régimen en pacientes con colitis ulcerativa aguda.

Pacientes: Los sujetos elegibles serán hombres y mujeres de 18 años de edad y mayores

Criterios:

Criterios de inclusión:

- CU activa bajo terapia con 5–ASA y también tratada con 6–MP y/o corticosteroides o quienes han sido tratados previamente con AZA, 6–MP o corticosteroides y no los pudieron tolerar;
- Puntaje Mayo de 6 a 10 puntos con enfermedad moderada a severa en endoscopía (puntaje Mayo de al menos 2) realizado ≤ 14 días de la administración del fármaco bajo estudio;
- Los sujetos tomando las siguientes medicaciones pueden ser inscriptos en el estudio si las medicaciones eran acordes a los siguientes programas con anterioridad a la administración del fármaco bajo estudio y si no se anticipan cambios durante el estudio;

prednisolona ≤ 20 mg diariamente (o equivalente) (la dosis debe ser estable durante por lo menos 2 semanas previas a la administración del fármaco bajo estudio);

5–ASA (la dosis debe ser estable durante por lo menos 4 semanas previas a la administración del fármaco bajo estudio);

AZA o 6–MP (la dosis debe ser estable durante por lo menos 3 meses previos a la administración del fármaco bajo estudio);

Esteroides rectales o 5–ASA (deben haber sido estables durante al menos 4 semanas con anterioridad al fármaco bajo estudio);

- Los sujetos que emplean medicaciones rectales deben tener enfermedad visible en sigmoidoscopía a ≥ 20 cm;
- Los valores de laboratorio de selección deben cumplir ciertos criterios:
- Las mujeres deben ser posmenopáusicas (> 12 meses sin menstruaciones) o quirúrgicamente estériles (por ej., por histerectomía y/o ooforectomía bilateral) o deben estar empleando contracepción eficaz (por ej., anticonceptivos orales, dispositivo intrauterino (DIU), método de barrera doble de condón y espermicida) durante al menos 4 semanas previas a la administración del fármaco bajo estudio y deben estar de acuerdo en continuar con los métodos anticonceptivos durante la duración de su participación en el estudio; y
- Los sujetos hombres sexualmente activos deben utilizar un método de barrera anticonceptivo durante la duración del estudio

Criterios de Exclusión:

- Terapia anti–TNF dentro de 8 semanas antes de la administración del fármaco bajo estudio;
- cualquier terapia experimental más terapia ≤ 4 semanas anteriores a la administración del fármaco bajo estudio;
- Tratamiento previo con cualquier anticuerpo monoclonal o proteínas de fusión basadas en inmunoglobulina ≤ 8 semanas anteriores al tratamiento de estudio;
- Presencia de síndrome de Cushing;
- Enfermedad de megacolon tóxica o fulminante que requiera probablemente colectomía;

- Contraindicación a colonoscopía o sigmoidoscopía;
- Inmunodeficiencia primaria o secundaria;
- Enfermedad autoinmune además de CU, con las excepciones de síndrome de Sjogren o hipotiroidismo;
- Historia de enfermedad maligna, excluyendo carcinoma de célula escamosa o balsa de la piel o cuello uterino in situ;
- Enfermedad siquiátrica grave (sujetos con depresión estable que reciben manejo apropiado serán admitidos en el estudio);
- Evidencia de infección aguda o crónica según lo evidenciado por:

cultivo de heces positivo para patógenos y/o toxina Clostridium difficile;

- hallazgos en radiografía de pecho de Selección tales como infiltrado(s) pulmonares) o adenopatía;
- tratamiento actual para infección de tuberculosis, evidencia clínica o radiológica de TB activa, o para sujetos en América del Norte, un PPD positivo sin profilaxis previa;
- Herpes zoster ≤ 3 meses antes de la administración del fármaco bajo estudio;
- enfermedad infecciosa activa que requiere antibióticos i.v. dentro de 4 semanas previas al tratamiento del estudio o antibióticos orales en el momento de la inscripción;

VIH o SIDA;

- ensayos positivos para VHB o VHC que indican infección activa o crónica;
- Enfermedad cardíaca clínicamente significativa que requiere medicación, angina inestable, miocárdica dentro de 6 meses o insuficiencia cardíaca congestiva;
- Arritmia que requiere terapia activa, con la excepción de anormalidades de conducción clínicamente insignificantes o menores;
- Historia de enfermedad cerebrovascular que requiere medicación/ tratamiento;
- terapia de anticoagulación o un trastorno de sangrado conocido;
- Trastorno de ataque que requiere terapia activa;
- Abuso de droga o alcohol conocido;
- Embarazada o amamantando;
- Cualquier afección médica subyacente que en la opinión del Investigador Principal tornará al fármaco de estudio peligroso para el sujeto u obscurecería la interpretación de la eficacia o seguridad del tratamiento; o
- Incapacidad o falta de voluntad de regresar para visitas de seguimiento y de cumplir con el protocolo del estudio

Medidas de Resultados Primarias:

- Cambio en puntaje Mayo en el Día 57 comparado con Selección

Medidas de Resultados Secundarias:

- índice de remisión

Diseño del Estudio: Este es un estudio de múltiples dosis, aleatorizado, controlado por placebo, de doble ciego, de fase II de un compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) en sujetos con CU activa que experimentan recrudecimiento. Todos los sujetos tendrán enfermedad activa mientras se encuentran con una medicación que contiene 5–ASA y están bajo dosis estable de corticosteroides y/o azatioprina o 6–mercaptopurina, o quienes han estado previamente bajo estas medicaciones pero no pudieron tolerarlos. Recrudecimiento es definido como un puntaje Mayo de 6 a 10 con actividad de la enfermedad moderada a severa en endoscopía (subpuntaje endoscópico Mayo de al menos 2)

dentro de las 2 semanas de recibir administración del fármaco bajo estudio. Las dosis de medicaciones concomitantes permitidas (compuestos que contienen corticosteroides, azatioprina (AZA), 6–mercaptopurina (6–MP), y 5–aminosalicilatos (5–ASA)) deberían permanecer constantes durante el transcurso del estudio. Los sujetos serán distribuidos al azar para recibir placebo o un compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) intravenosamente en los Días 1, 15, 29, y 43. Todos los sujetos serán observados en la clínica en intervalos regulares hasta el Día 85 para evaluaciones de seguridad, eficacia, farmacocinéticas, y/o farmacodinámicas. Todos los sujetos serán contactados 70 días después de la última dosis de fármaco de estudio. La evaluación de la seguridad será determinada por mediciones de signos vitales, ensayos de laboratorio clínicos, exámenes físicos, evaluaciones de inmunogenicidad, rayos x de pecho, electrocardiogramas, y la incidencia y severidad de eventos adversos emergentes del tratamiento. La evaluación clínica primaria de actividad será determinada por el cambio en el puntaje Mayo en el Día 57 en comparación con la Selección. Los puntos de referencia secundarios incluyen determinación del índice de remisión por el puntaje Mayo en el Día 57, evaluación de curación de mucosa y cambio del punto de partida en el puntaje IBDQ.

Ejemplo 83: Ensayo Clínico de Fase II de la Seguridad y Eficacia de Compuestos de fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) en Pacientes con Esclerosis Múltiple

El propósito de este ensayo en fase II consiste en investigar la seguridad, eficacia y tolerabilidad de un compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) en pacientes con Esclerosis Múltiple Recurrente- Remitente.

Pacientes: Los sujetos elegibles serán hombres y mujeres con edades entre 18 y 65.

Criterios:

Criterios de inclusión:

- Tener un diagnóstico definido de Esclerosis múltiple remitente recurrente
- Tener una historia de al menos 1 de los siguientes: a. Un mínimo de 2 recaídas de EM dentro de los 2 años previos pero no dentro del período de 1 mes antes de la selección. b. Una recaída de EM dentro de los 6 meses previos pero no dentro del período de 1 mes antes de la selección

Criterios de Exclusión:

- Tener una enfermedad de SNC (por ej., linfoma de SNC, lupus eritematoso sistémico)
- Tener involucramiento bulbar significativo de EM o de otros déficits neurológicos
- Tener una úlcera decúbito
- Haber recibido terapias inmunomoduladoras dentro de 3 meses de selección

Medidas de Resultado Primarias:

- La cantidad acumulativa de lesiones T1-pesadas potenciadoras de Gd recientes en MRIs craneales a la semana 23

Medidas de Resultado Secundarias:

- La cantidad total de recaídas de EM a la semana 23; cambio de punto de partida en puntaje de Escala de Estatus de Incapacidad Expandida (EDSS, por sus siglas en inglés) a la semana 23

Diseño del Estudio: Este es un estudio de rango de dosis, aleatorizado, controlado por placebo, de doble ciego, de fase II de inyecciones subcutáneas múltiples de un compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) en pacientes con esclerosis múltiple recurrente- remitente. Los pacientes recibirán inyecciones subcutáneas de un compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) o placebo a las semanas 0, 1, 2, 3, 7, 11, 15, y 19 o 100.

Composiciones Farmacéuticas

Composición Parenteral

Para preparar una composición farmacéutica parenteral adecuada para administración por inyección, se disuelven 100 mg de un compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) en DMSO y luego se mezclan con 10 mL de solución salina estéril al 0,9%. La mezcla es incorporada en una forma de dosificación unitaria adecuada para la administración por inyección.

En otra instancia, se mezclan los siguientes ingredientes para formar una formulación inyectable:

Ingrediente	Cantidad
Compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA)	1,2 g
solución tampón de acetato sódico (0.4 M)	2.0 mL
HCl (1 N) o NaOH (1 M)	c.s. hasta pH adecuado
agua (destilada, estéril)	c.s. hasta 20 mL

Todos los ingredientes antes mencionados, excepto el agua, son combinados y se agitaron y en caso necesario, con ligero calentamiento si es necesario. Luego, se agrega una cantidad suficiente de agua.

Composición Oral

Para preparar una composición farmacéutica para administración oral, 100 mg de un compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) se mezclan con 750 mg de almidón. La mezcla es incorporada en una unidad de dosificación oral, tal como una cápsula de gelatina dura, la cual es adecuada para la administración oral.

En otra instancia, se mezclan los siguientes ingredientes y se comprimen en tabletas ranuradas únicas.

Ingrediente	Cantidad por tableta, mg
Compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA)	200
Almidón de maíz	50
croscarmelosa sódica	25
Lactosa	120
Estearato de magnesio	5

En aun otra instancia, los siguientes ingredientes se mezclan íntimamente y se cargan en una cápsula de gelatina de vaina dura.

Ingrediente	Cantidad por tableta, mg
Compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA)	200
lactosa, liofilizada	148
estearato magnésico	2

En aun otra instancia, los siguientes ingredientes se mezclan para formar una solución/ suspensión para administración oral:

Ingrediente	**Cantidad**
Compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA)	1 g
Carbonato Sódico Anhidro	0,1 g
Etanol (prueba 200), USP	10 mL
Agua Purificada, USP	90 mL
Aspartamo	0,003g

Composición Sublingual (Pastilla Dura)

Para preparar una composición farmacéutica para administración bucal, tal como una pastilla dura, mezclar 100 mg de un compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) con 420 mg de azúcar en polvo mezclada con 1,6 mL de jarabe de maíz liviano, 2,4 mL de agua destilada, y 0,42 mL de extracto de menta. La mezcla se combina suavemente y se vierte en un molde para formar una pastilla adecuada para la administración bucal.

Composición para Inhalación

Para preparar una composición farmacéutica para administración por inhalación se mezclan 20 mg de un compuesto de Formulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) con 50 mg de ácido cítrico anhidro y 100 mL de solución de cloruro sódico al 0,9%. La mezcla se incorpora en una unidad de administración por inhalación, tal como un nebulizador, la cual es adecuada para administración por inhalación.

Composición en Gel Rectal

Para preparar una composición farmacéutica para administración rectal, se mezclan 100 mg de un compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) con 2,5 g de metilcelulosa (1500 mPa), 100 mg de metilparabeno, 5 g de glicerina y 100 mL de agua purificada. La mezcla de gel resultante es luego incorporada en unidades de administración rectal, tales como jeringas, que son adecuadas para la administración rectal.

Formulación de Supositorio

Se prepara un supositorio de peso total 2,5 g mezclando un compuesto de las Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) con Witepsol™ H–15 (triglicéridos de ácido graso vegetal saturado; Riches–Nelson, Inc., Nueva York), y tiene la siguiente composición:

Ingrediente	Cantidad por supositorio, mg
Compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA)	500
Witepsol® H–15	resto

Composición de Gel Tópica

Para preparar una composición en gel tópica farmacéutica, se mezclan 100 mg de un compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) con 1,75 g de hidroxipropilcelulosa, 10 mL de propilenglicol, 10 mL de miristato de isopropilo y 100 mL de alcohol purificado USP. La mezcla en gel resultante luego se incorpora en contenedores, tales como tubos, los cuales son adecuados para la administración tópica.

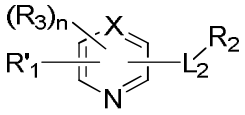
Composición de Solución Oftálmica

Para preparar una composición farmacéutica de solución oftálmica, se mezclan 100 mg de un compuesto de Fórmulas (I), (IA), (II), (IIA), (III), (IIIA), (IV), (IVA), (V), (VA), (VI), (VIA), (VII), o (VIIA) con 0,9 g de NaCl en 100 mL de agua purificada y se filtra empleando un filtro de 0,2 micrones. Luego, la solución isotónica resultante es incorporada en unidades de administración oftálmica, tales como contenedores de gotas oculares, las cuales son adecuadas para la administración oftálmica.

Los ejemplos e instancias descritos en esta invención tienen fines ilustrativos solamente y en algunas instancias, han de incluirse diversas modificaciones o cambios dentro del ámbito de descripción y alcance de las reivindicaciones adjuntas.

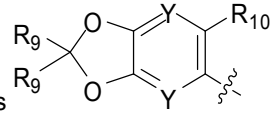
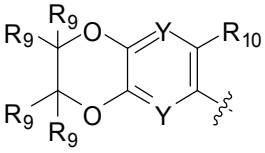
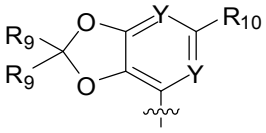
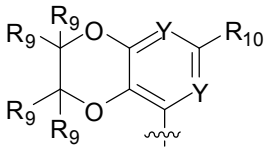
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (VI):



Fórmula (VI);

donde:

R'$_1$ es  ,  ,  , o  ;

L_2 es –NH–C(=O)–, o –C(=O)NH–;

X es CR_3 o N;

Y se selecciona independientemente entre CR_9 o N;

R_2 es alquilo C_1–C_6, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC_1–C_4heterocicloalquiloC_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado; donde alquilo C_1–C_6, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, alquilenC_1–C_4heterocicloalquiloC_2–C_8, arilo, heteroarilo, arilo fusionado o heteroarilo fusionado es opcionalmente sustituido con por lo menos un R_3;

R_3 se selecciona independientemente entre H, F, D, Cl, Br, I, –CN, –NO_2, –OH, –CF_3, –OCF_3, –OR_5, alquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, heteroalquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, heterocicloalquilo C_2–C_8, arilo opcionalmente sustituido, O–arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido,

n es un número entero seleccionado entre 0–2;

R_9 se selecciona independientemente entre H, D, halógeno, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, –OR_5, –OCF_3, carbonilalquilo C_1–C_6, o –CF_3; o dos R_9 unidos al mismo átomo de carbono forman un anillo oxetano;

R_{10} se selecciona entre halógeno, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, –OR_5, –OCF_3, carbonilalquilo C_1–C_6, o –CF_3;

R_5 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_1–C_6, haloalquilo C_1–C_6, cicloalquilo C_3–C_8, fenilo y bencilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, donde X es N.

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, donde arilo es fenilo.

4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 3 donde fenilo es sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre Cl, Br, F, I, CF_3, alquilo C_1–C_6, o Oalquilo C_1–C_6.

5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 4 donde alquilo C_1–C_6 es metilo, etilo, n–propilo, iso–propilo, n–butilo, iso–butilo, o tercbutilo.

6. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 3 donde fenilo es sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre Cl, Br, F, y I.

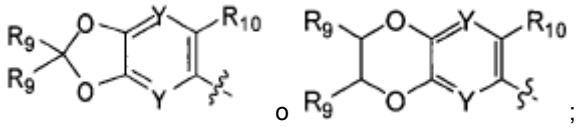
7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 donde R_{10} es un halógeno.

8. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 donde R_2 es un heteroarilo seleccionado entre tienilo, tiantrenilo, furilo, piranilo, tiadiazolilo, benzotiadiazolilo, isobenzofuranilo, cromenilo, xantenilo, fenoxatiinilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, indolizinilo, isoindolilo, 3*H*-indolilo, indolilo, indazolilo, purinilo, 4*H*-quinolizinilo, isoquinolilo, quinolilo, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, oxazolilo, cinnolinilo, pteridinilo, 4a*H*-carbazolilo, carbazolilo, carbolinilo, fenantridinilo, acridinilo, perimidinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenarsazinilo, fenotiazinilo, furazanilo, and fenoxazinilo.

9. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 8 donde el heteroarilo es sustituido con por lo menos un R_3 seleccionado entre F, Cl, Br, I, -OH, -CN, $-NO_2$, y alquilo C_1–C_6.

10. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 9 donde el heteroarilo es sustituido con por lo menos un F.

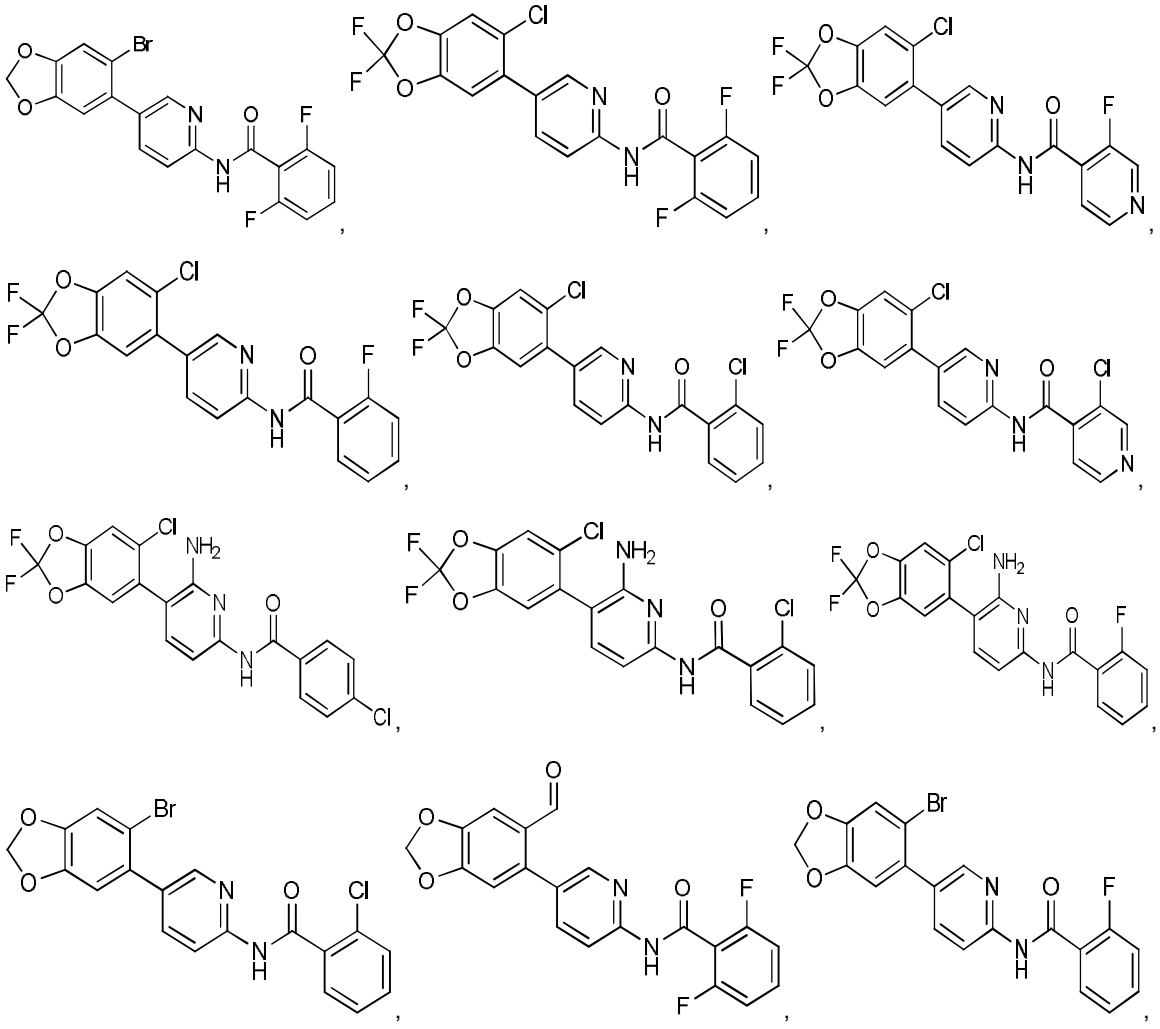
11. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 donde R'_1 es

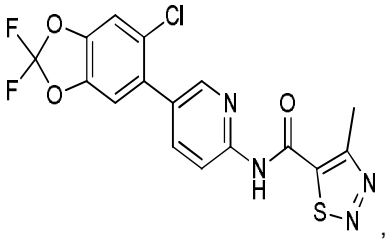
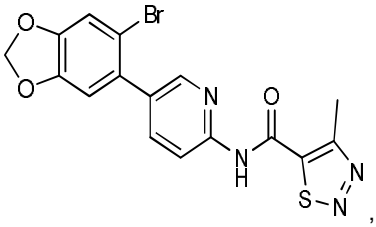
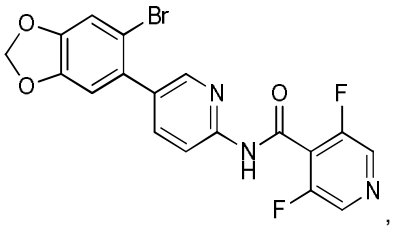
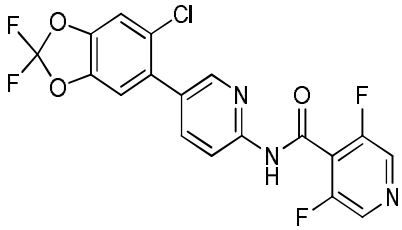
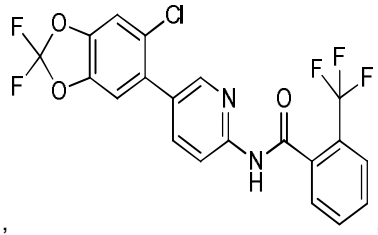
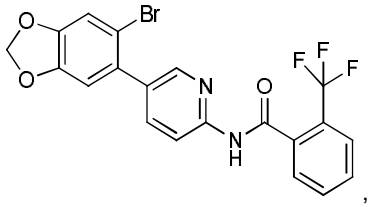
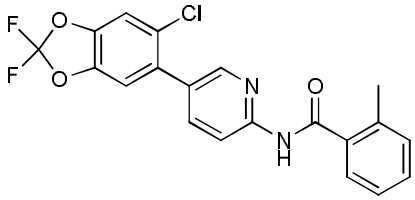
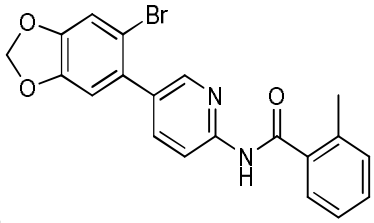
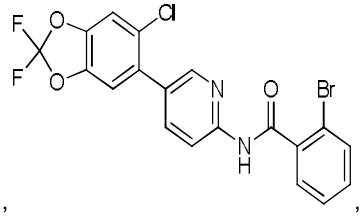
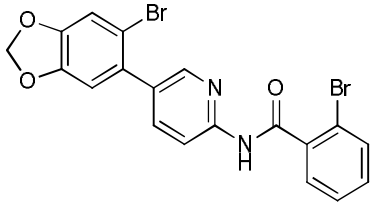
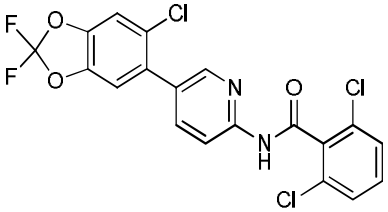
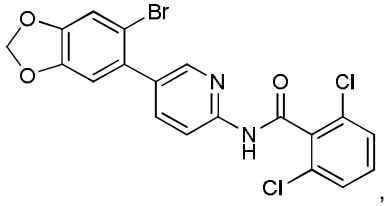
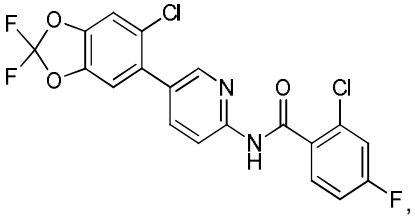
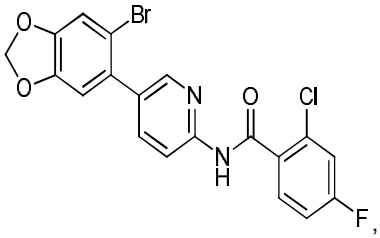
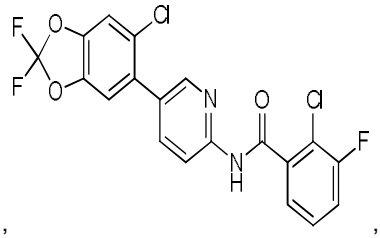


y R_9 es H, D, alquilo C_1-C_6, halógeno, carboniloalquilo C_1-C_6, o $-CF_3$.

12. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 11 donde R_{10} es un halógeno seleccionado entre F, Cl, Br, y I.

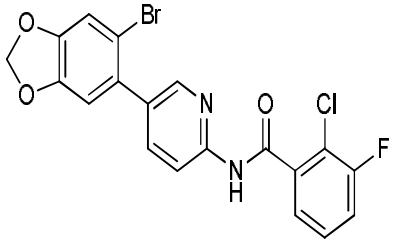
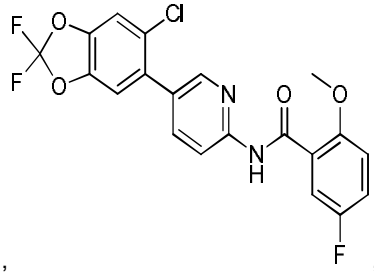
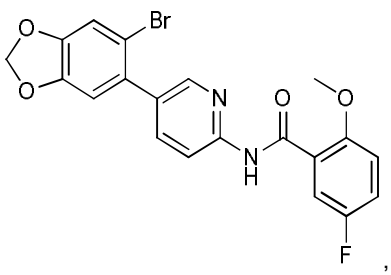
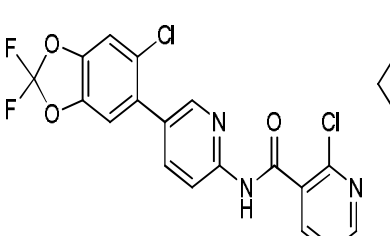
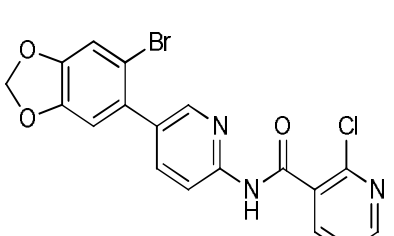
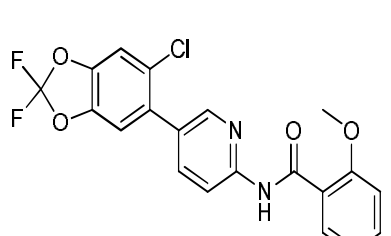
13. Un compuesto seleccionado entre

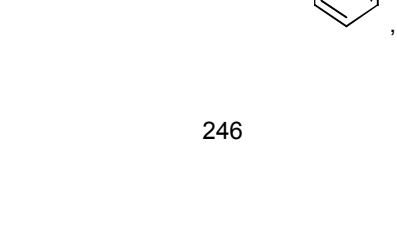



,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

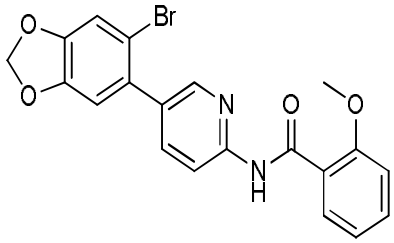
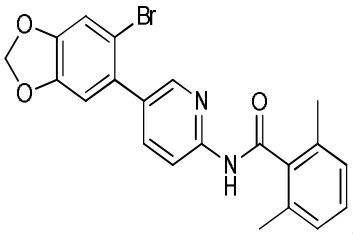
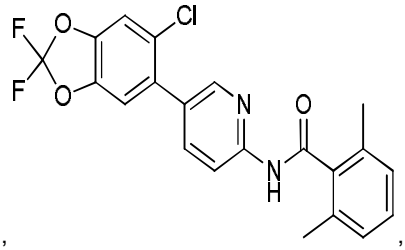
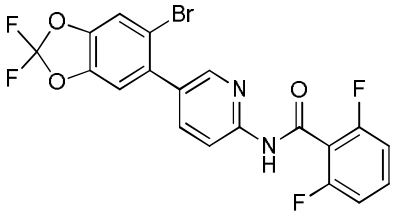
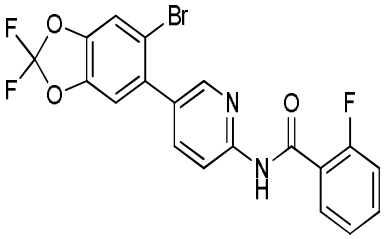
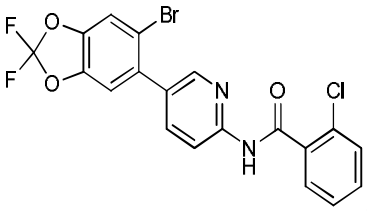
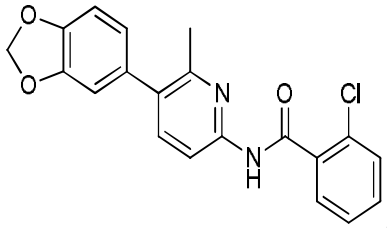
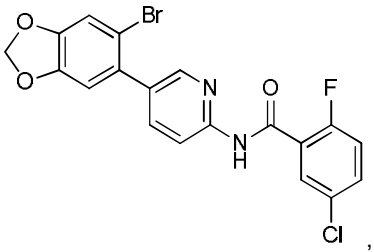
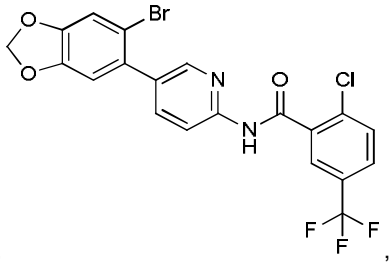
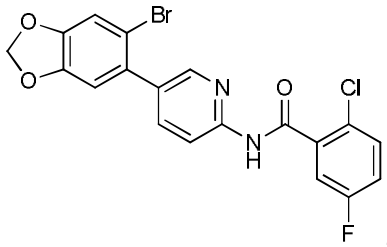
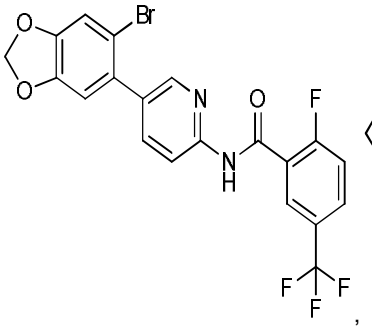
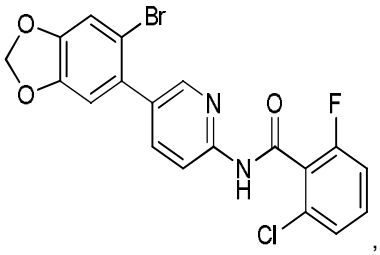
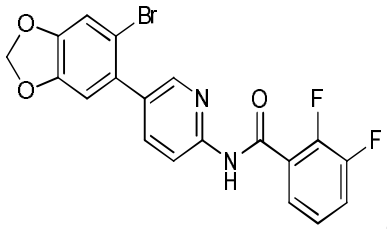
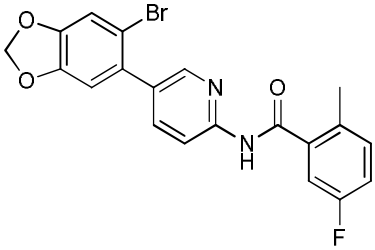
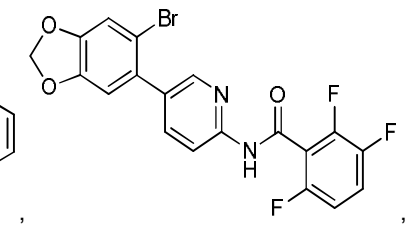
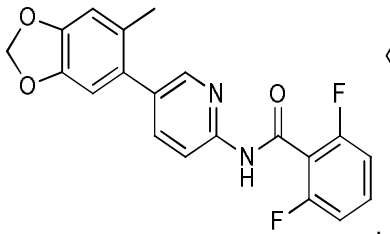
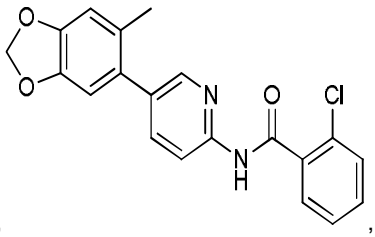
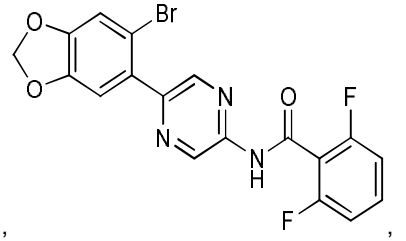
,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

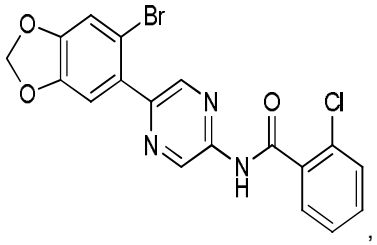
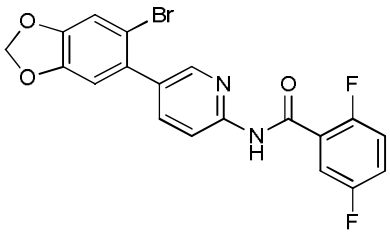
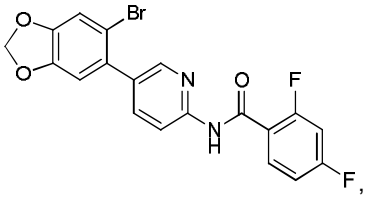
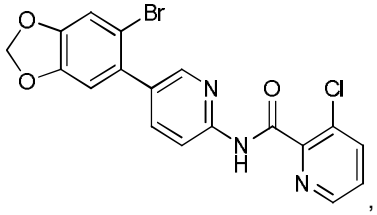
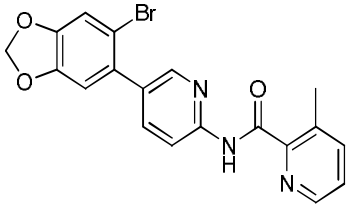
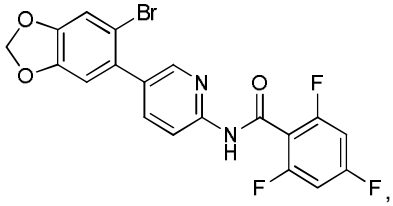
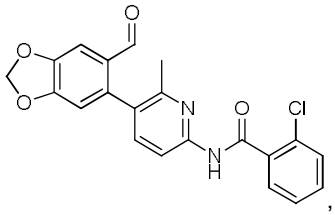
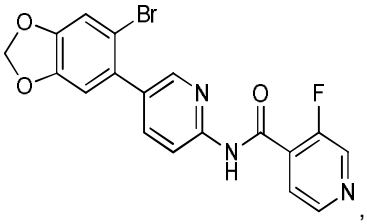
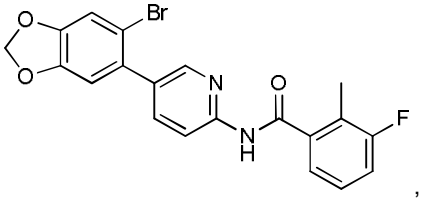
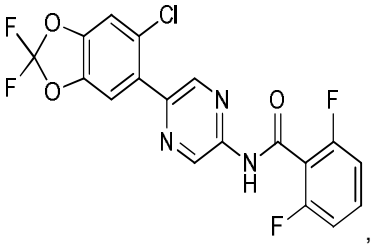
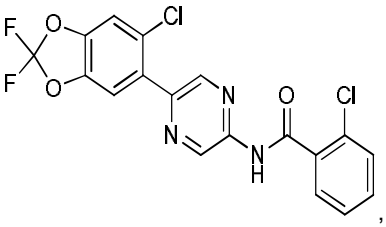
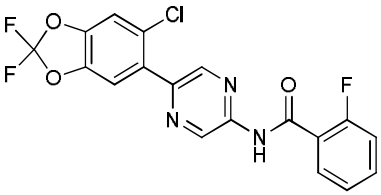
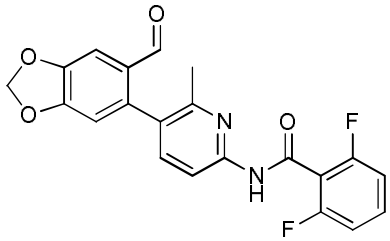
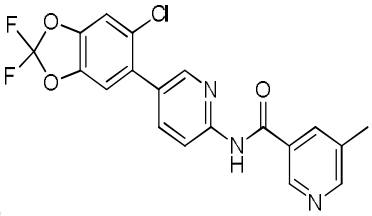
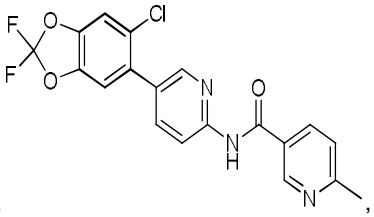
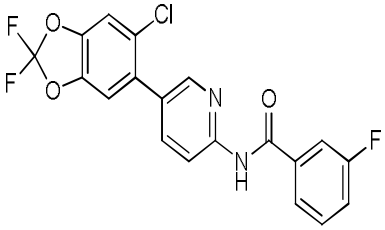
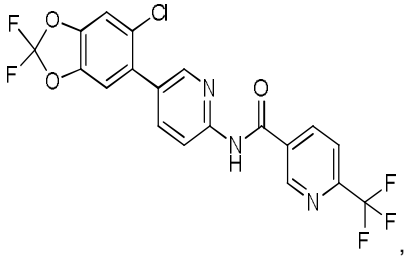
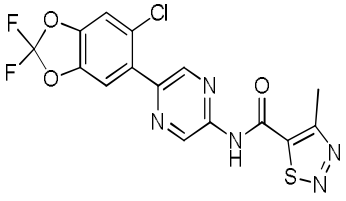
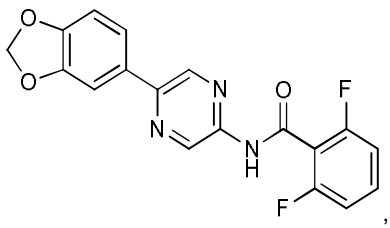
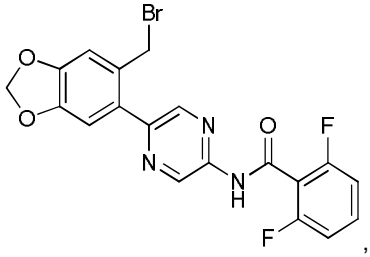
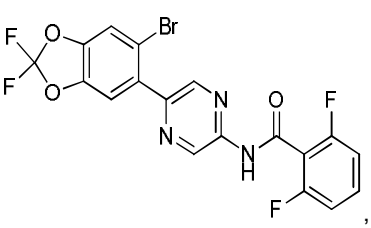
,

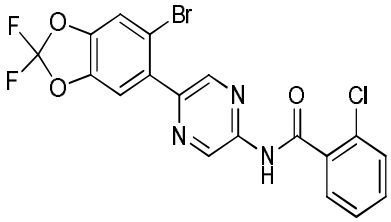
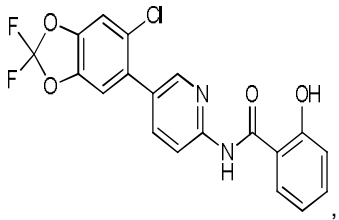
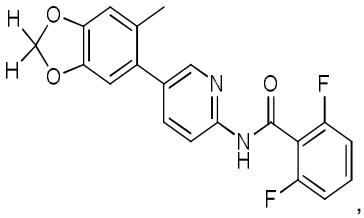
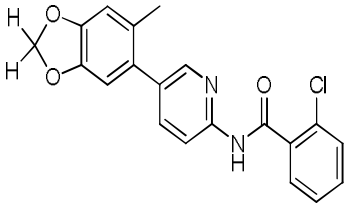
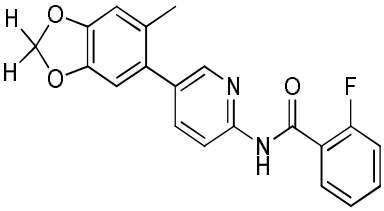
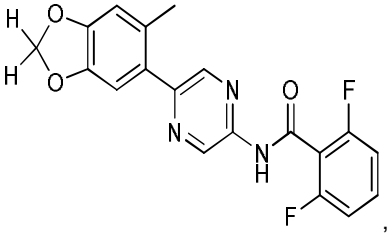
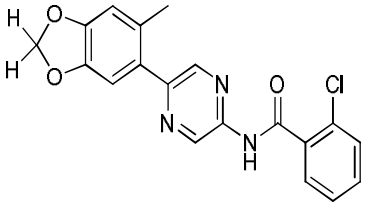
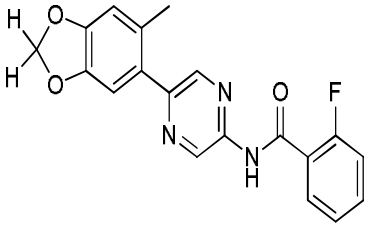
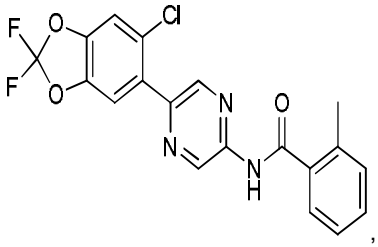
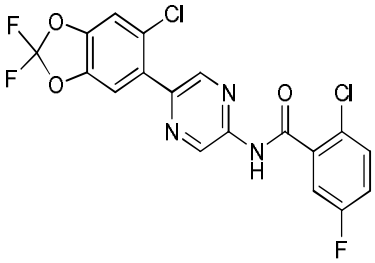
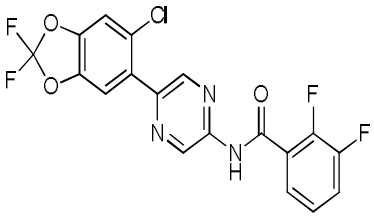
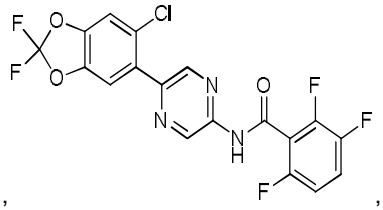
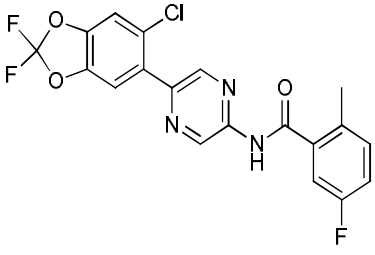
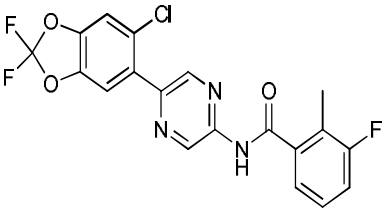
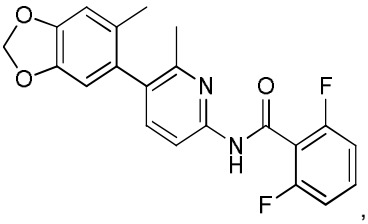

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

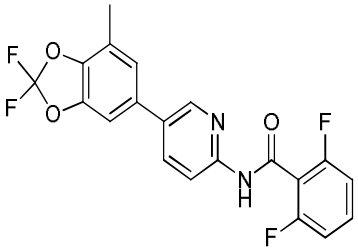
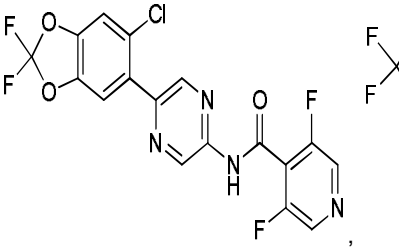
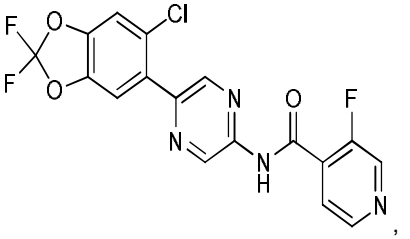
,

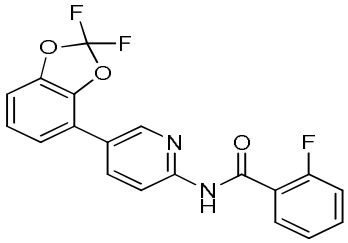
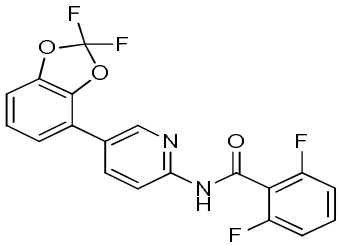
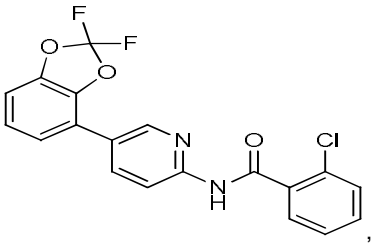
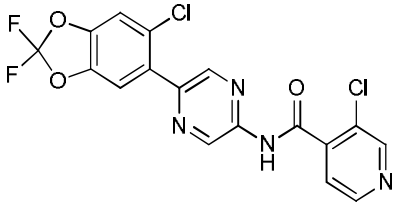
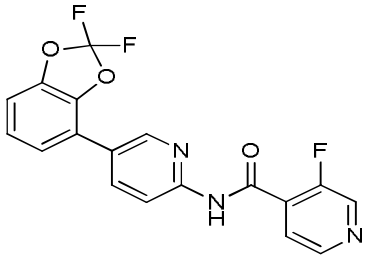
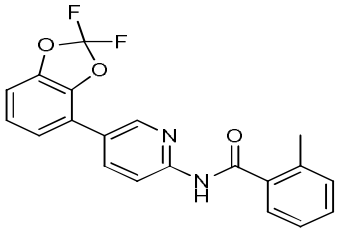
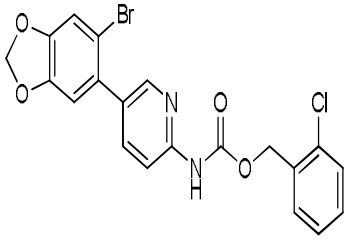
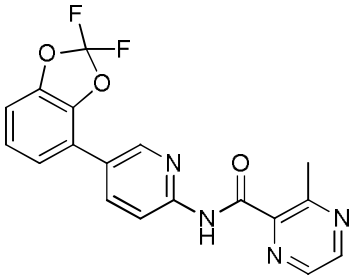
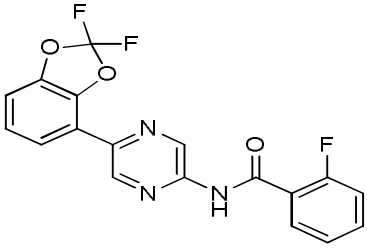
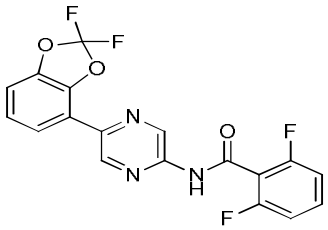
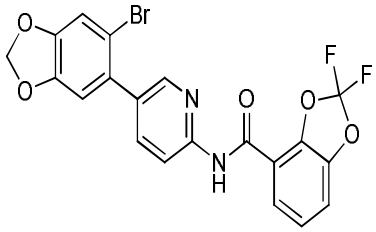
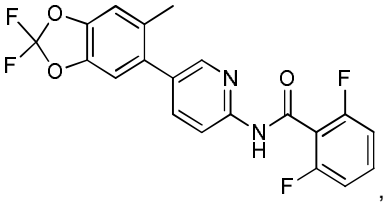
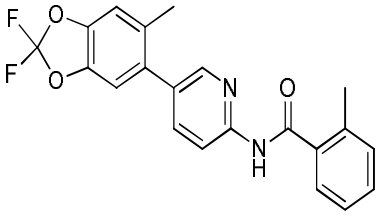
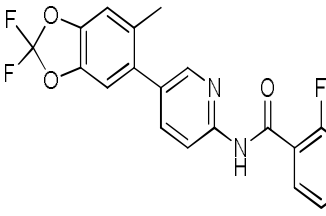
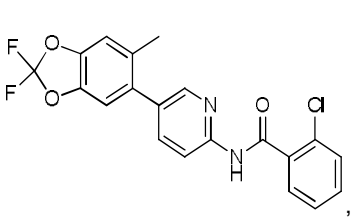

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

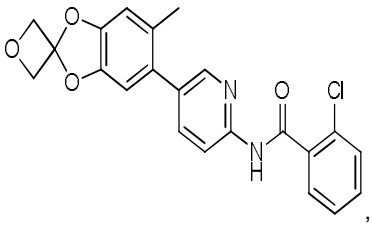
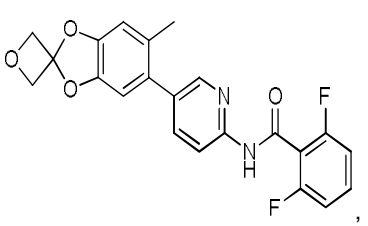
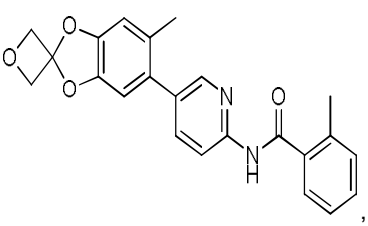
,

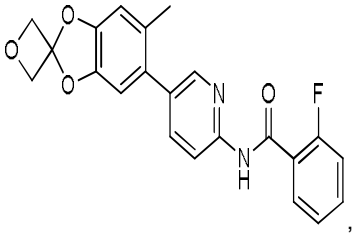
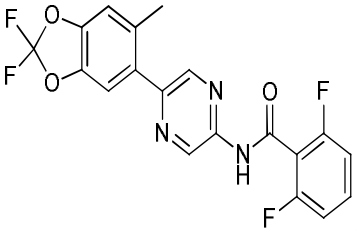
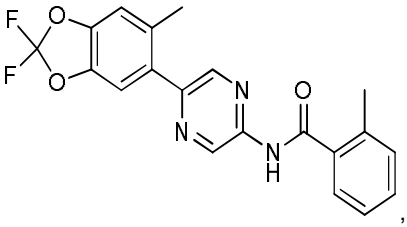
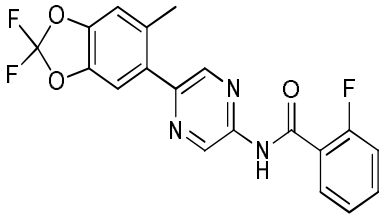
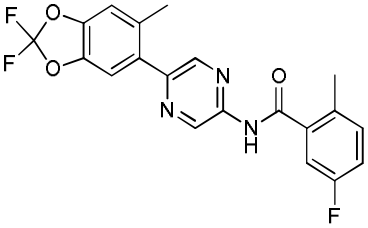
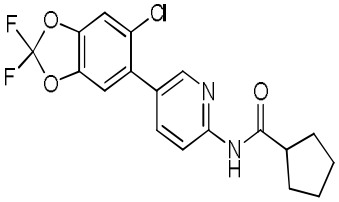
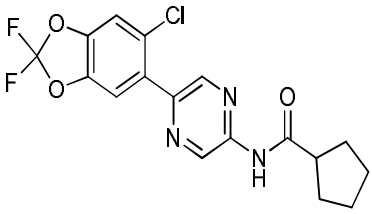
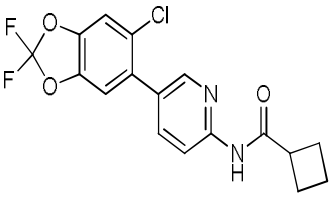
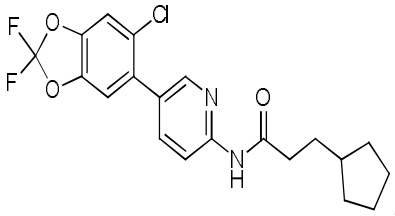
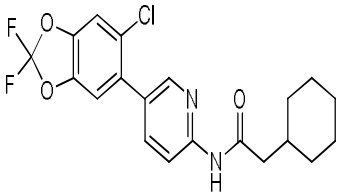
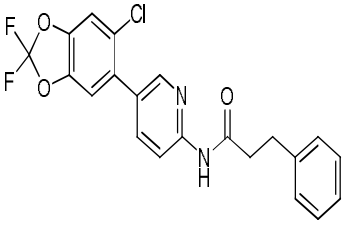
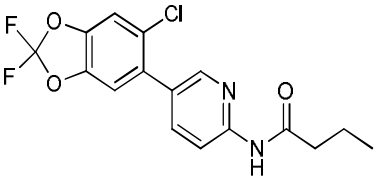
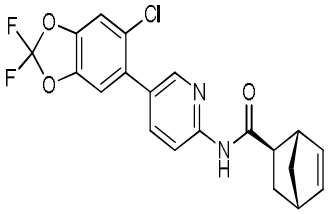
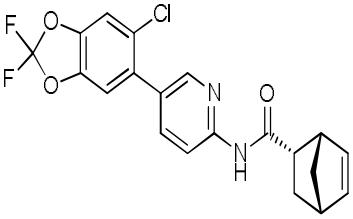
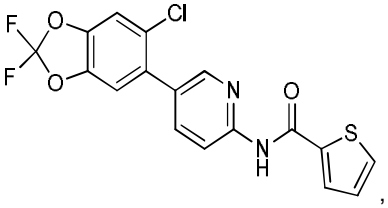
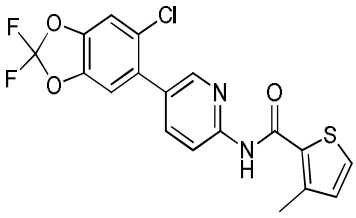
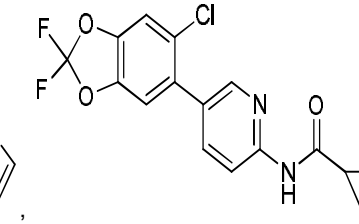
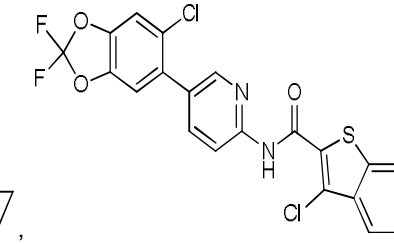
,

,

,

,


,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

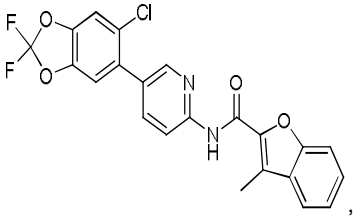
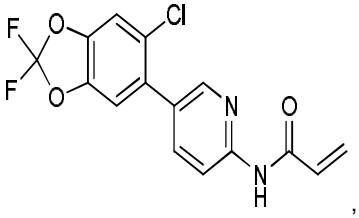
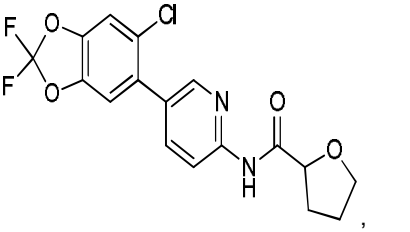
,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

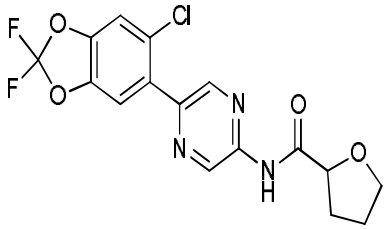
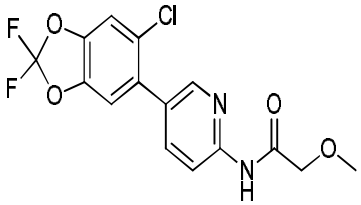
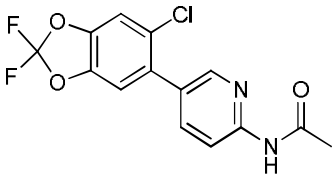
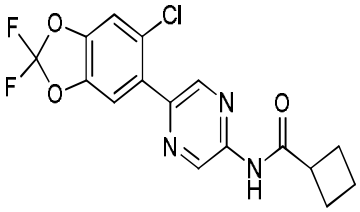
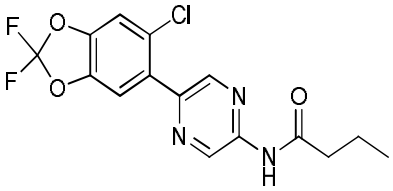
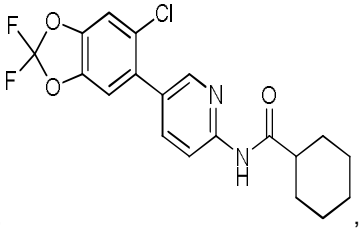
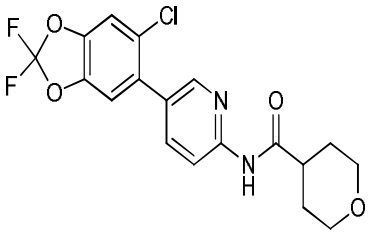
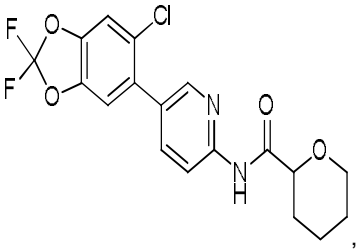
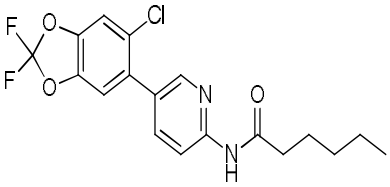
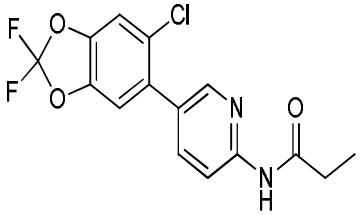
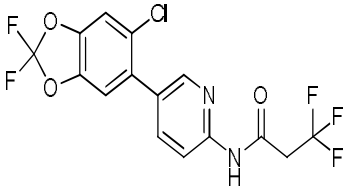
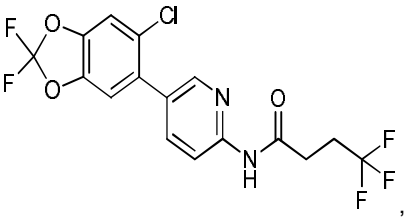
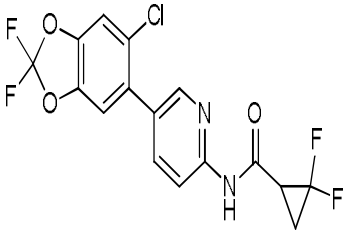
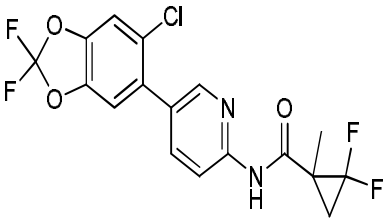
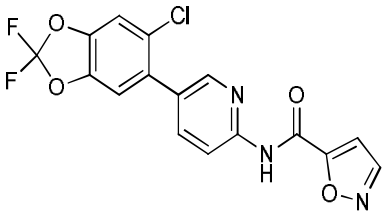
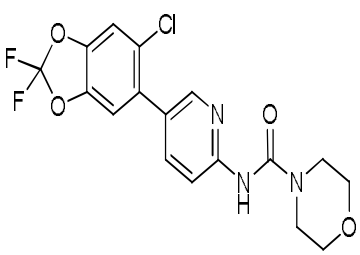
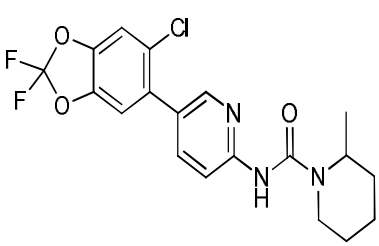
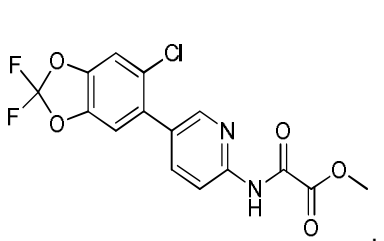
,

,

,

,

,

,

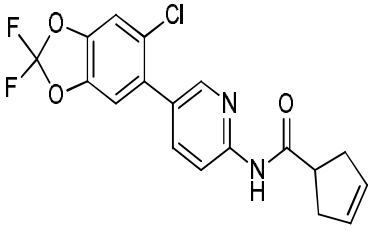
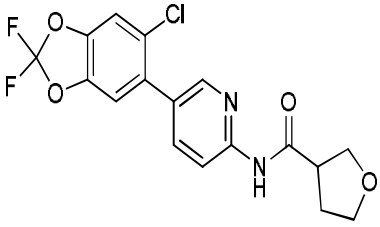
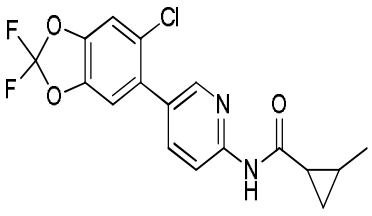
,

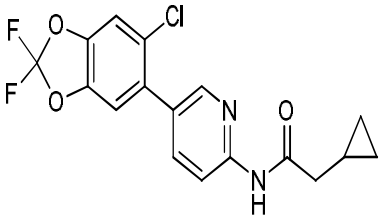
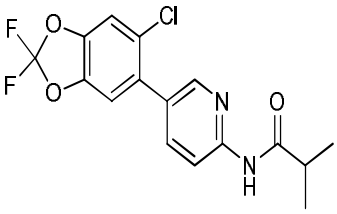
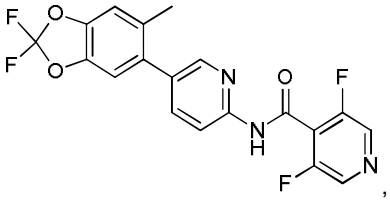
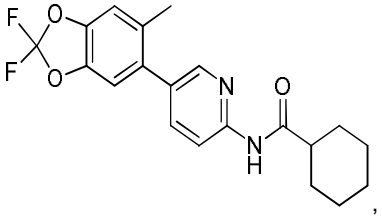
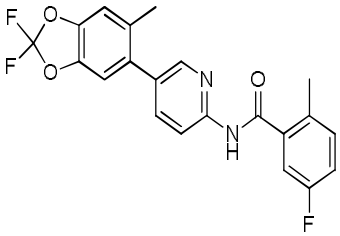
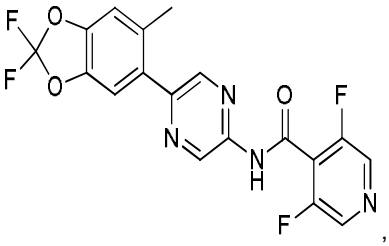
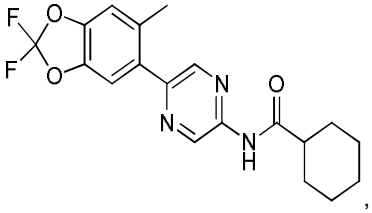
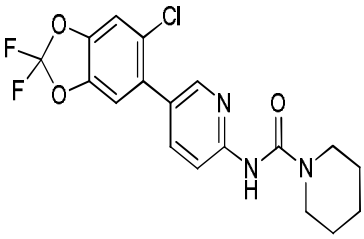
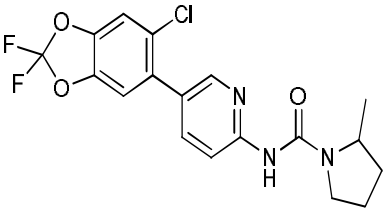
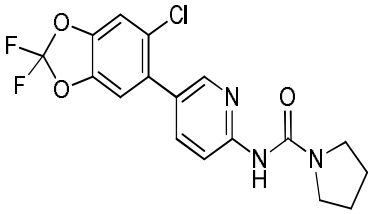
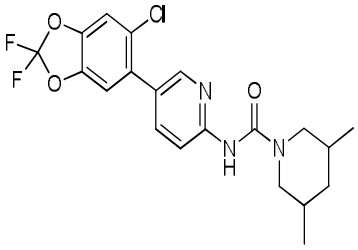
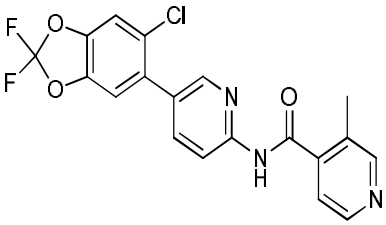
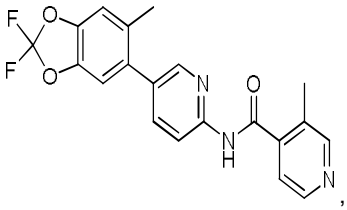
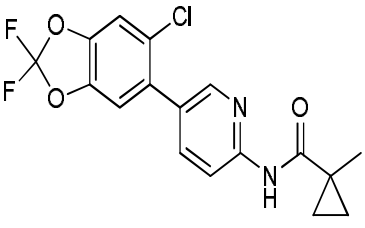
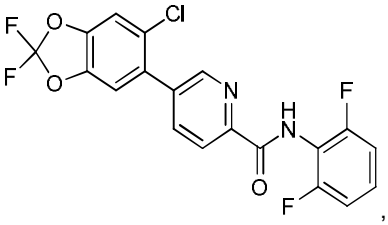
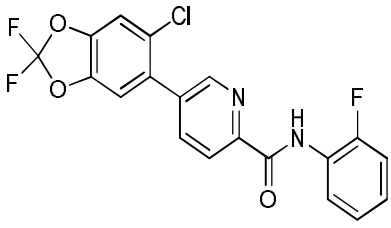
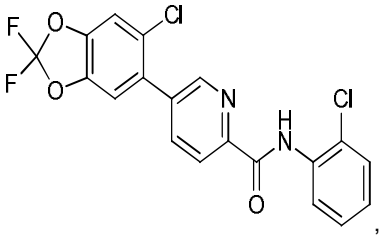
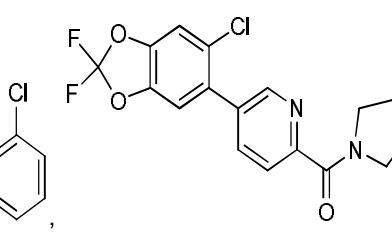
,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

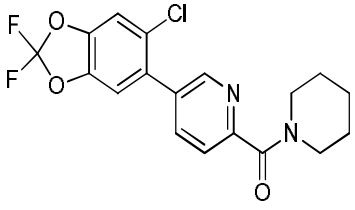
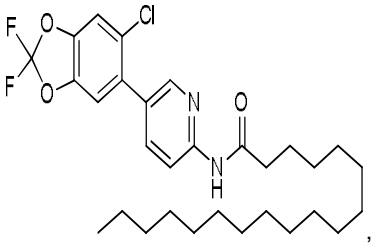
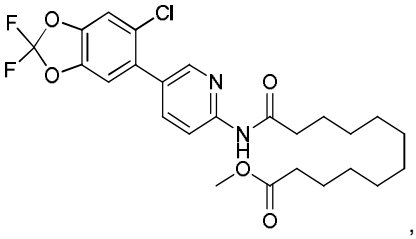
,

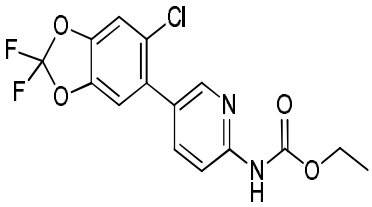
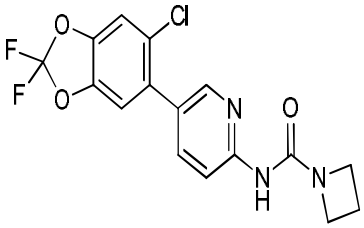
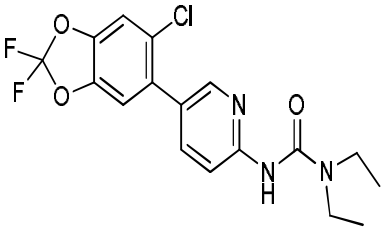
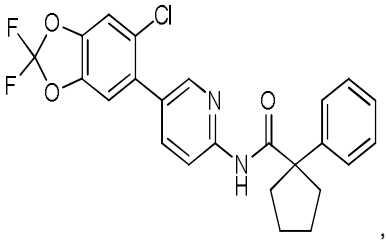
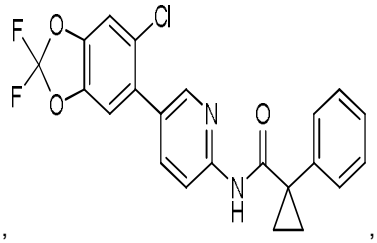
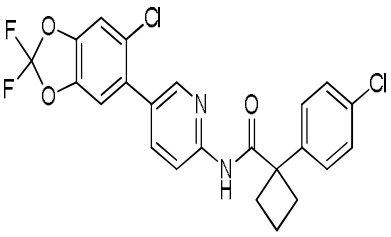
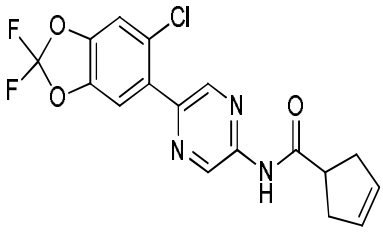
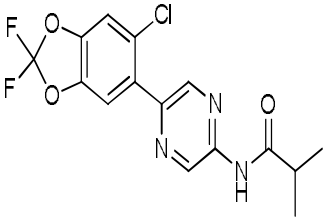
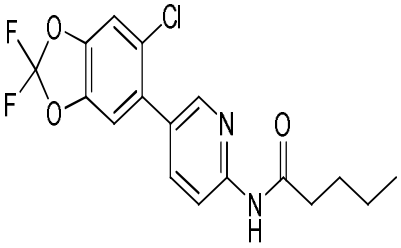
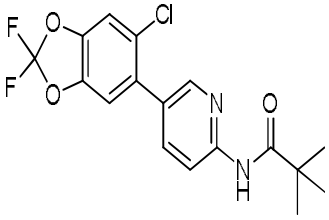
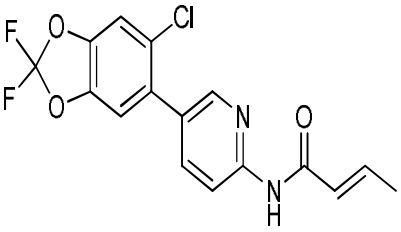
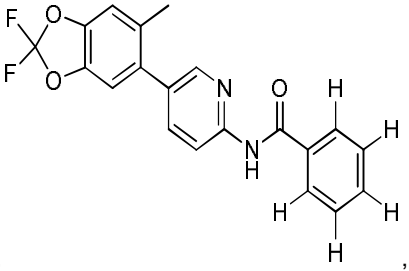
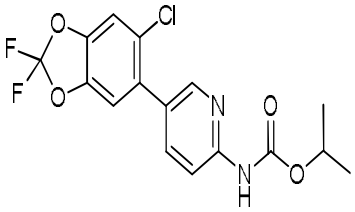
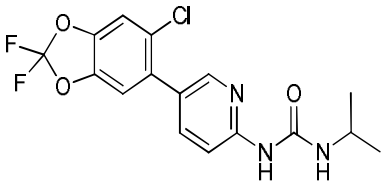
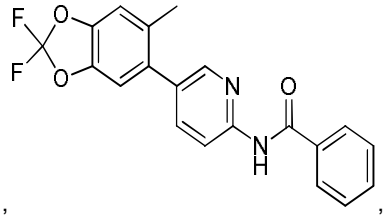
,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

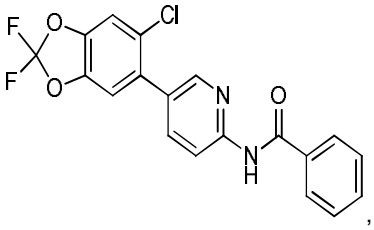
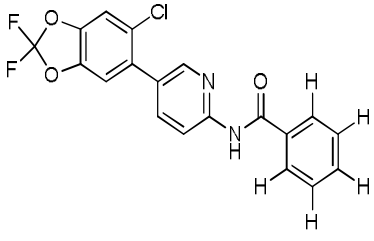
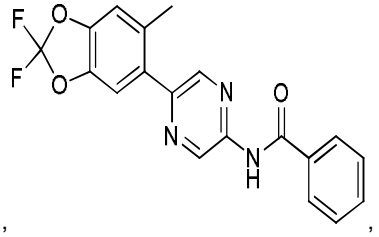
,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

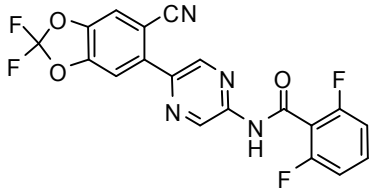
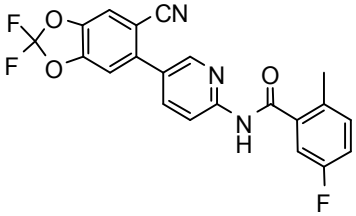
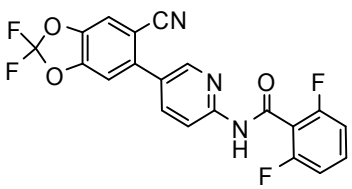
,

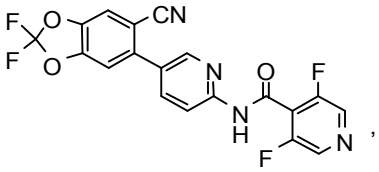
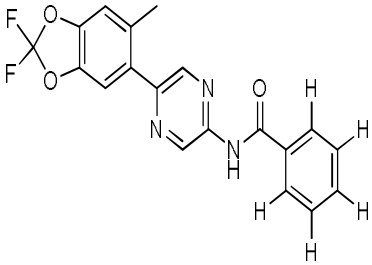
,

,

,

,

,

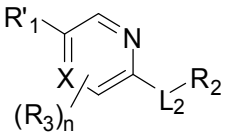
,

,

,

,

,

,


, y

; o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

14. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 de Fórmula (VIA):


;

Fórmula (VIA)

donde

R'_1, R_2, R_3, L_2 y n son como están definidos en la reivindicación 1.

15. Una composición farmacéutica que comprende un diluyente, excipiente o aglutinante farmacéuticamente aceptable, y un compuesto de la reivindicación 1 o su sal farmacéuticamente aceptable, o su solvato farmacéuticamente aceptable.

Figura 1

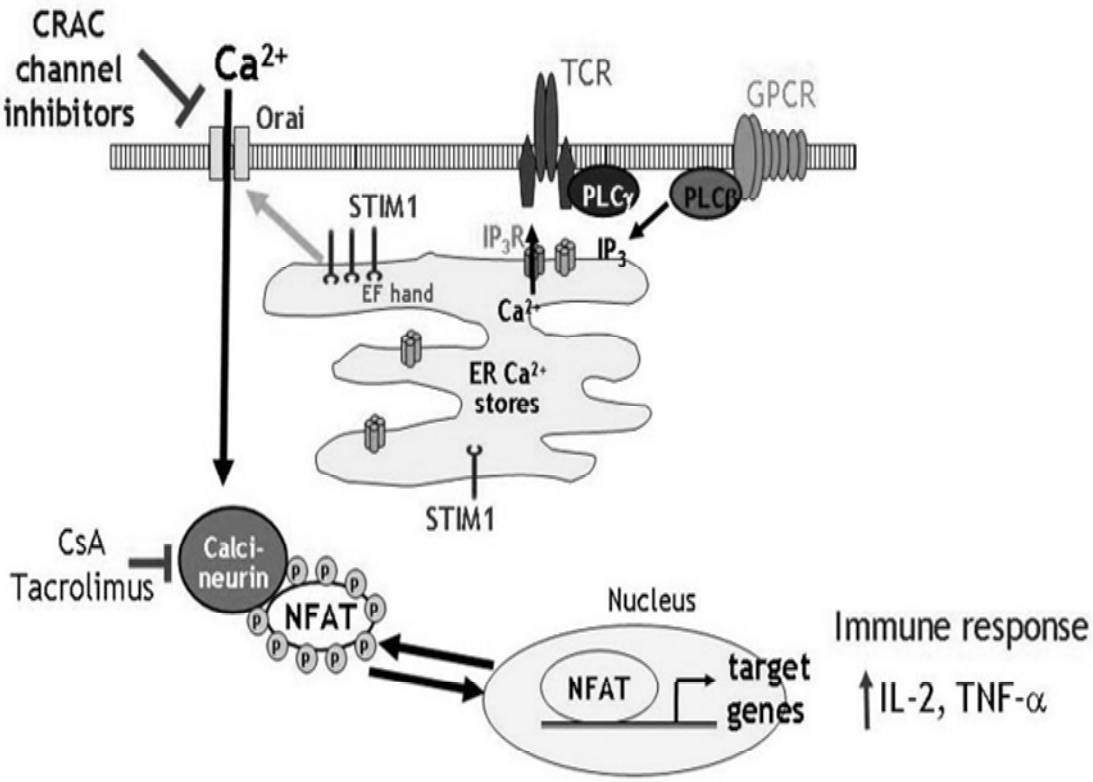
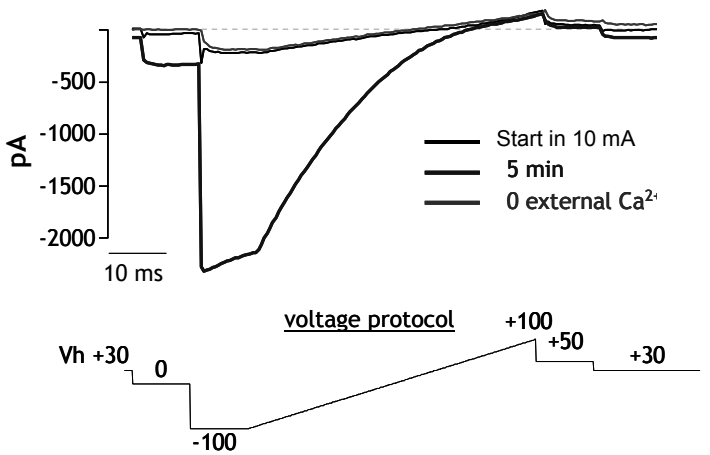
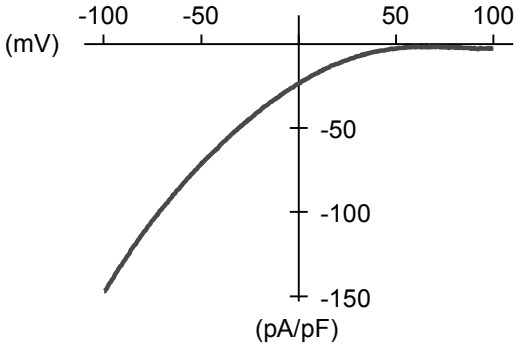

CRAC
channel
inhibitors
Ca2+
Orai
TCR
GPCR
PLCγ
PLCβ
STIM1
IP3R
IP3
EF hand
Ca2+
ER Ca2+
stores
STIM1
CsA
Tacrolimus
Calci-
neurin
NFAT
Nucleus
NFAT
target
genes
Immune response
IL-2, TNF-α

Figura 2



Typical endogenous I_{CRAC} in T cells is <25 pA in 20 mM Ca^{2+}

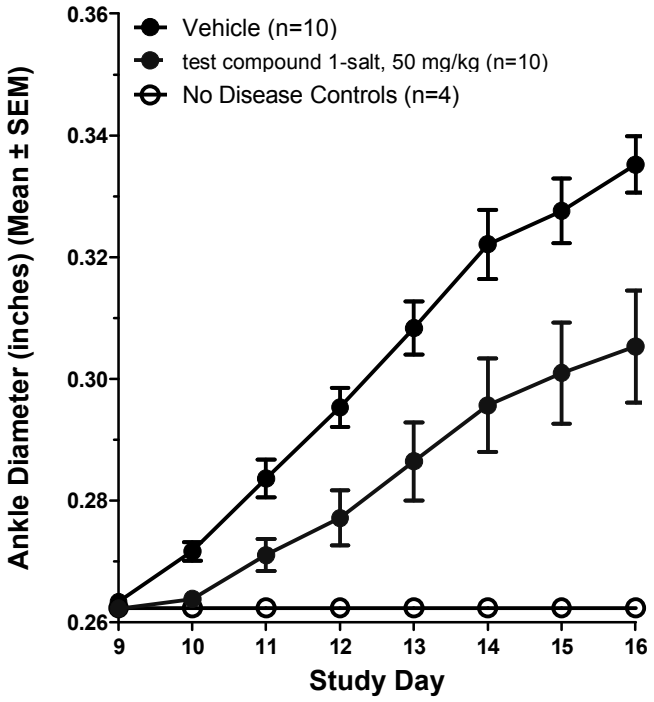


	Mean ± SEM
Cap (pF)	18.2 ± 3.4
I_{CRAC} amplitude (pA)	1314 ± 43
I_{CRAC} density (pA/pF)	91.5 ± 3.0

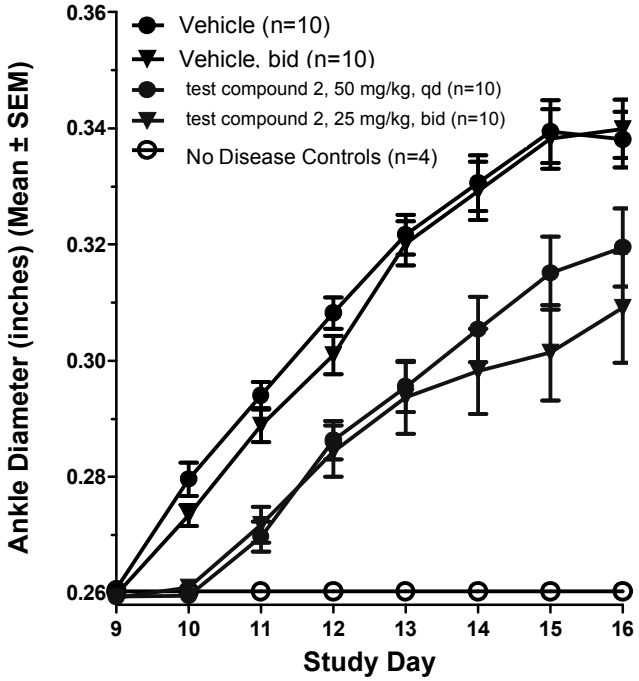
Trazas I_{CRAC} típicas como respuesta al estímulo de tensión inmediatamente después de la irrupción, antes que I_{CRAC} se active y a los 5 minutos después de que I_{CRAC} esté completamente activada por el agotamiento de las reservas de calcio intracelular.

Figura 3

A.

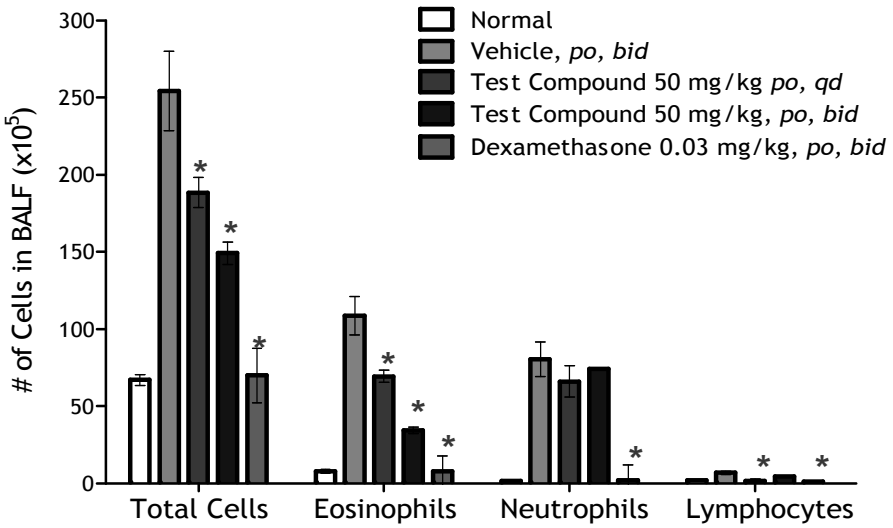


B.



n = número de animales

Figura 4



	% Inhibición OVA-inducida Células #		
	Cpsto test 50 mg/kg qd	**Cpsto test 50 mg/kg bid**	**Dex 0.03 mg/kg bid**
Cél. totales	35%*	56%*	98%*
Eosinófilos	39%*	74%*	100%*
Neutrófilos	18%	8%	100%*
Linfocitos	109%*	46%	124%*

- Animales inmunizados con OVA en los Días 1,2,3
- Animales tratados con el compuesto de ensayo o Dexametasona en los Días 14-21
- Animales provocados con OVA inhalada en el Día 21, 2 h después de la última dosis
- Fluido de lavado broncoalveolar (BALF en inglés) recogido 24 h después y examinado para la detección de células