

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 593 463**

51 Int. Cl.:

C07D 217/04	(2006.01)	C07D 213/30	(2006.01)
C07D 333/12	(2006.01)	C07D 213/53	(2006.01)
C07D 333/16	(2006.01)	C07D 213/61	(2006.01)
C07D 205/04	(2006.01)	C07D 307/10	(2006.01)
C07D 207/16	(2006.01)	C07D 307/12	(2006.01)
C07C 251/48	(2006.01)	C07D 307/52	(2006.01)
C07C 251/52	(2006.01)	C07D 333/22	(2006.01)
C07C 251/54	(2006.01)		
C07D 295/06	(2006.01)		
C07D 211/60	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.05.2004 PCT/US2004/015603**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **02.12.2004 WO04103306**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.05.2004 E 04752597 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.06.2016 EP 1633336**

54 Título: **Compuestos y composiciones inmunosupresoras**

30 Prioridad:

19.05.2003 US 471931 P
14.04.2004 US 561968 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.12.2016

73 Titular/es:

NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH

72 Inventor/es:

PAN, SHIFENG;
GAO, WENQI;
GRAY, NATHANAEL S.;
MI, YUAN y
FAN, YI

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 593 463 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos y composiciones inmunosupresoras

Antecedentes de la invención

Campo de la invención

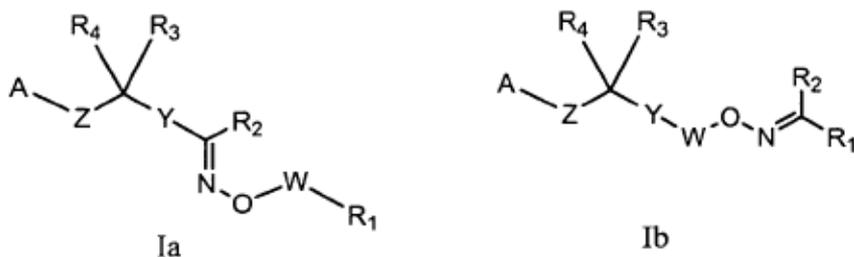
- 5 La invención proporciona una clase novedosa de compuestos inmunosupresores útiles en el tratamiento o la prevención de enfermedades o trastornos mediados por interacciones de linfocitos, particularmente enfermedades asociadas con la transducción de señales mediadas por el receptor EDG.

Antecedentes

- 10 Los receptores EDG pertenecen a una familia de receptores acoplados a proteína G activados por lípidos estrechamente relacionados. EDG-1, EDG-3, EDG-5, EDG-6, y EDG-8 (también denominados respectivamente S1P1, S1P3, S1P2, S1P4, y S1P5) son identificados como receptores específicos para esfingosina-1-fosfato (S1P). EDG2, EDG4, y EDG7 (también denominados LPA1, LPA2, y LPA3, respectivamente) son receptores específicos para lisofosfatídico (LPA). Entre los isotipos del receptor S1P, EDG-1, EDG-3 y EDG-5 se expresan ampliamente en diversos tejidos, mientras que la expresión de EDG-6 se limita en gran medida a los tejidos linfoides y plaquetas, y la
- 15 de EDG-8 al sistema nervioso central. Los receptores EDG son responsables de la transducción de señales y se cree que desempeñan un papel importante en los procesos celulares que implican el desarrollo, la proliferación, el mantenimiento, la migración, la diferenciación, la plasticidad y la apoptosis celular. Ciertos receptores EDG están asociados con enfermedades mediadas por interacciones de linfocitos, por ejemplo, en el rechazo de trasplante, enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades infecciosas y cáncer. Una alteración en la
- 20 actividad del receptor EDG contribuye a la patología y/o sintomatología de estas enfermedades. De acuerdo con lo anterior, las moléculas que por sí mismos alteran la actividad de los receptores EDG son útiles como agentes terapéuticos en el tratamiento de tales enfermedades. El documento GB 1379533 revela derivados de fenil oxima con actividad inmunosupresora y antiinflamatoria.

Resumen de la invención

- 25 Esta solicitud describe compuestos seleccionados de fórmula Ia y Ib:



en la cual:

A se selecciona entre $-C(O)OR_5$, $-OP(O)(OR_5)_2$, $-P(O)(OR_5)_2$, $-S(O)_2OR_5$, $-P(O)(R_5)OR_5$ y 1H-tetrazol-5-il; en donde cada R_5 se selecciona independientemente de hidrógeno y alquilo C_{1-6} ;

- 30 W se selecciona entre un enlace, alquileo C_{1-3} , alquilenilo C_{2-3}

Y se selecciona entre arilo C_{6-10} y heteroarilo C_{2-9} ; en donde cualquier arilo o heteroarilo de Y pueden estar opcionalmente sustituidos con 1 a 3 radicales seleccionados de halo, hidroxilo, nitro, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alquilo C_{1-6} sustituido con halo y alcoxi C_{1-6} sustituido con halo;

Z se selecciona entre:

La invención proporciona compuestos que son útiles en el tratamiento y/o prevención de enfermedades o trastornos mediados por interacciones de linfocitos.

Definiciones

En esta memoria descriptiva, a menos que se definan de otra manera:

5 "Alquilo" como un grupo y como un elemento estructural de otros grupos, por ejemplo, alquilo sustituido con halógeno, alcoxilo, acilo, alquiltio, alquilsulfonilo y alquilsulfínilo, puede ser de cadena ya sea lineal o ramificada. "Alquenilo" como un grupo y como un elemento estructural de otros grupos contiene uno o más dobles enlaces carbono-carbono, y puede ser de cadena ya sea lineal o ramificada. Cualquier doble enlace puede estar en la configuración cis o trans. "Alquinilo" como un grupo y como un elemento estructural de otros grupos y compuestos
10 contiene al menos un triple enlace $C\equiv C$ y también puede contener uno o más dobles enlaces $C=C$, y también, mientras sea posible, puede ser de cadena ya sea lineal o ramificada. Cualquier grupo cicloalquilo, solo o como un elemento estructural de otros grupos puede contener de 3 a 8 átomos de carbono, preferiblemente de 3 a 6 átomos de carbono. "Alquilenilo" y "alquenilenilo" son radicales divalentes derivados de los grupos "alquilo" y "alquenilo", respectivamente. En esta solicitud, cualquier grupo alquilo de R^1 puede estar opcionalmente interrumpido por un miembro del grupo seleccionado de $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $NR^{20}-$ y $-O-$ (en donde R^{20} es hidrógeno o alquilo C_{1-6}).
15 Estos grupos incluyen $-CH_2-O-CH_2-$, $-CH_2-S(O)_2-CH_2-$, $-(CH_2)_2-NR^{20}-CH_2-$, $-CH_2-O-(CH_2)_2-$, y similares.

"Ariilo" significa un conjunto de anillos aromáticos monocíclicos o bicíclicos condensados que contienen de seis a diez átomos de carbono en el anillo. Por ejemplo, ariilo C_{6-12} puede ser fenilo, bifenilo o naftilo, preferiblemente fenilo. Un anillo bicíclico condensado puede estar parcialmente saturado, por ejemplo, 1,2,3,4-tetrahidro-naftaleno, y
20 similares. "Arileno" significa un radical divalente derivado de un grupo ariilo. Por ejemplo, arileno como se usa en esta solicitud puede ser fenileno, bifenileno, naftileno y similares.

"Halo" o "halógeno" significa F, Cl, Br o I, preferiblemente F o Cl. Los compuestos y grupos alquilo sustituido con halo pueden ser parcialmente halogenados o perhalogenados, mediante lo cual en el caso de halogenación múltiple, los sustituyentes de halógeno pueden ser idénticos o diferentes. Un grupo alquilo perhalogenado preferido es, por
25 ejemplo, trifluorometilo o trifluorometoxi.

"Heteroarilo" significa ariilo, tal como se define en esta solicitud, con la adición de al menos una unidad estructural heteroátomo seleccionado de N, O o S, y cada anillo comprende de 5 a 6 átomos en el anillo, a menos que se indique lo contrario. Por ejemplo, heteroarilo C_2 incluye oxadiazol, triazol, y similares. El heteroarilo C_9 incluye quinolina, 1,2,3,4-tetrahidroquinolina, y similares. El heteroarilo C_{2-9} como se usa en esta solicitud incluye tienilo, piridinilo, furanilo, isoxazolilo, benzoxazolilo o benzo [1,3] dioxolilo, preferiblemente tienilo, furanilo o piridinilo.
30 "Heteroarilenilo" significa heteroarilo, tal como se define en esta solicitud, a condición de que el conjunto de anillos comprende un radical divalente. Un sistema de anillos de heteroarilo bicíclico condensado puede estar parcialmente saturado, por ejemplo, 2,3-dihidro-1H-isoindol, 1,2,3,4-tetrahidro-quinolina, y similares.

Como se utiliza en la presente invención, un compuesto selectivo de EDG-1 (agente o modulador) tiene una especificidad que es selectiva para EDG-1 sobre EDG-3 y sobre uno o más de EDG-5, EDG-6, y EDG-8. Como se utiliza en este documento, la selectividad para un receptor EDG (un "receptor selectivo") sobre otro receptor de EDG (un "receptor no selectivo") significa que el compuesto tiene una potencia mucho mayor en la inducción de las actividades mediadas por el receptor EDG selectivo (por ejemplo, EDG-1) que la del receptor EDG-S1P específico no selectivo. Si se mide en un ensayo de unión a GTP- γ S (como se describe en el ejemplo a continuación), un
35 compuesto selectivo de EDG-1 por lo general tiene una EC50 (concentración eficaz que provoca el 50% de la respuesta máxima) para un receptor selectivo (EDG-1) que es al menos 5, 10, 25, 50, 100, 500, o 1000 veces menor que su EC50 para un receptor no selectivo (por ejemplo, uno o más de EDG-3, EDG-5, EDG-6, y EDG- 8).

Descripción detallada de la invención

45 La invención proporciona compuestos que son útiles para tratar o prevenir enfermedades o trastornos que están mediados por interacciones de linfocitos.

El compuesto de la invención puede existir en forma libre o en forma de sal, por ejemplo, sales de adición con ácidos inorgánicos u orgánicos. Cuando los grupos hidroxilo están presentes, estos grupos también pueden estar presentes en forma de sal, por ejemplo, una sal de amonio o sales con metales tales como litio, sodio, potasio, calcio, zinc o magnesio, o una mezcla de los mismos. El compuesto de la invención y sus sales en forma de hidrato o de solvato son también parte de la invención.
50

La presente invención también abarca enantiómeros, racematos, diastereoisómeros y mezclas de los mismos. Por otra parte, cuando los compuestos de la invención incluyen isómeros geométricos, la presente invención abarca compuestos cis, compuestos trans y mezclas de los mismos. Consideraciones similares se aplican en relación con materiales de partida que presentan átomos de carbono asimétricos o enlaces insaturados como se mencionó anteriormente.
55

Métodos y composiciones farmacéuticas para tratar condiciones inmunomoduladoras

El compuesto de la invención en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, presentan propiedades farmacológicas valiosas, por ejemplo, propiedades para la modulación de la recirculación de linfocitos, por ejemplo, como se indica por las pruebas *in vitro* e *in vivo* del ejemplo 3 y por lo tanto se indican para terapia. Los compuestos de la invención preferiblemente muestran una EC50 en el rango de 1×10^{-11} a 1×10^{-5} M, preferiblemente menos de 50 nM. Los compuestos presentan selectividad para uno o más receptores EDG/S1P, preferiblemente EDG-1/S1P-1. Los moduladores selectivos EDG-1/S1P-1 de la presente invención se pueden identificar mediante el ensayo de unión de un compuesto con EDG-1/S1P-1 y uno o más de los otros receptores EDG/S1P (por ejemplo, EDG-3/S1P-3, EDG-5/S1P-2, EDG-6/S1P-4, y EDG-8/S1P-5). Un modulador selectivo de EDG-1/S1P-1 por lo general tiene una EC50 para el receptor EDG-1/S1P-1 en el rango de 1×10^{-11} a 1×10^{-5} M, preferiblemente menos de 50 nM, más preferiblemente menos de 5 nM. También tiene un EC50 para uno o más de los otros receptores EDG/S1P que es al menos 5, 10, 25, 50, 100, 500, o 1000 veces mayor que su EC50 para EDG-1/S1P-1. Por lo tanto, algunos de los compuestos moduladores de EDG-1/S1P-1 tendrá una EC50 para EDG-1/S1P-1 de menos de 5 nM, mientras que su EC50 para uno o más de los otros receptores EDG/S1P son al menos 100 nM o superior. Además del ensayo de la actividad de unión a los receptores EDG/S1P, los agentes selectivos EDG-1/S1P-1 también se pueden identificar mediante el examen de la capacidad de un agente de prueba para modificar un proceso celular o actividad mediada por un receptor EDG/S1P.

Los compuestos de la invención son, por lo tanto, útiles en el tratamiento y/o prevención de enfermedades o trastornos mediados por interacciones de linfocitos, por ejemplo en trasplantes, tales como rechazo agudo o crónico de alo o xenoinjertos de células, tejidos u órganos o función retrasada del injerto, enfermedad injerto contra huésped, enfermedades autoinmunes, por ejemplo, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, tiroiditis de Hashimoto, esclerosis múltiple, miastenia grave, diabetes tipo I o II y trastornos asociados con las mismas, vasculitis, anemia perniciosa, síndrome de Sjogren, uveítis, psoriasis, oftalmopatía de Graves, alopecia areata y otras enfermedades alérgicas, por ejemplo, asma alérgica, dermatitis atópica, rinitis alérgica/conjuntivitis, dermatitis alérgica de contacto, enfermedades inflamatorias opcionalmente con reacciones aberrantes subyacentes, por ejemplo, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa, asma intrínseca, lesión pulmonar inflamatoria, lesión hepática inflamatoria, lesión glomerular inflamatoria, aterosclerosis, osteoartritis, dermatitis irritante de contacto y otras dermatitis eccematosas, dermatitis seborreica, manifestaciones cutáneas de trastornos mediados inmunológicamente, enfermedad ocular inflamatoria, queratoconjuntivitis, miocarditis o hepatitis, lesión por isquemia/reperfusión, por ejemplo, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, isquemia intestinal, insuficiencia renal o choque hemorrágico, choque traumático, linfomas de células T o leucemias de células T, enfermedades infecciosas, por ejemplo, shock tóxico (por ejemplo superantígeno inducida), choque séptico, síndrome de afección respiratoria del adulto o infecciones virales, por ejemplo SIDA, hepatitis viral, infección bacteriana crónica, o demencia senil. Ejemplos de trasplantes de células, tejidos u órganos sólidos incluyen, por ejemplo, islotes pancreáticos, células madre, médula espinal, tejido de la córnea, tejido neuronal, corazón, pulmón, corazón-pulmón combinado, riñón, hígado, intestino, páncreas, tráquea o esófago. Para los usos anteriores la dosis requerida, por supuesto, varían en función del modo de administración, la afección particular que se va a tratar y el efecto deseado.

Además, los compuestos de la invención son útiles en la quimioterapia del cáncer, en particular para la quimioterapia de cáncer de tumores sólidos, por ejemplo, cáncer de mama, o como un agente antiangiogénico.

La dosificación requerida variará por supuesto dependiendo del modo de administración, la afección particular que se va a tratar y el efecto deseado. En general, se indica que los resultados satisfactorios se obtienen sistémicamente a dosificaciones diarias de aproximadamente 0.03 a 2.5 mg/kg por peso corporal. Una dosificación diaria indicada para un mamífero más grande, por ejemplo, seres humanos, está en el rango desde aproximadamente 0.5 mg a aproximadamente 100 mg, administrados convenientemente, por ejemplo, en dosis divididas hasta cuatro veces al día o en forma retardada. Las formas de dosificación unitarias adecuadas para la administración oral comprenden desde aproximadamente 1 a 50 mg de ingrediente activo.

Los compuestos de la invención se pueden administrar por cualquier ruta convencional, en particular por vía enteral, por ejemplo, por vía oral, por ejemplo, en forma de comprimidos o cápsulas, o por vía parenteral, por ejemplo, en forma de soluciones o suspensiones inyectables, por vía tópica, por ejemplo, en forma de lociones, geles, ungüentos o cremas, o en forma nasal o un supositorio. Las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable en asociación con al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable se pueden fabricar de manera convencional mezclándolas con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

El compuesto de la invención se puede administrar en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, como se indicó anteriormente. Tales sales se pueden preparar de una manera convencional y presentan el mismo orden de actividad que los compuestos libres.

De acuerdo con lo anterior la presente invención proporciona, además:

- 5 1.1 Un compuesto de la invención en forma libre o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y una composición farmacéutica que comprende el compuesto en forma libre o una forma de sal farmacéuticamente aceptable en asociación con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable para el mismo para su uso en la prevención o el tratamiento de trastornos o enfermedades mediadas por los linfocitos, por ejemplo, tal como se indicó anteriormente, en un sujeto en necesidad de tal tratamiento;
- 1.2 Un compuesto de la invención y una composición farmacéutica para uso en la prevención o el tratamiento del rechazo de trasplante agudo o crónico o enfermedades inflamatorias o autoinmunes mediada por células T, por ejemplo, como se indicó anteriormente, en un sujeto en necesidad de tal tratamiento;
- 10 1.3 Un compuesto de la invención y una composición farmacéutica para uso en la inhibición o control de angiogénesis desregulada, por ejemplo, angiogénesis mediada por la esfingosina-1-fosfato (S1P), en un sujeto en necesidad del mismo;
- 1.4 Un compuesto de la invención y una composición farmacéutica para uso en la prevención o el tratamiento de enfermedades mediadas por un proceso de neoangiogénesis o asociadas con angiogénesis desregulada en un sujeto en necesidad del mismo;
- 15 Los compuestos de la invención se pueden administrar como el único ingrediente activo o en combinación con, por ejemplo, como un adyuvante para, otros fármacos, por ejemplo, agentes inmunosupresores o inmunomoduladores u otros agentes anti-inflamatorios, por ejemplo, para el tratamiento o la prevención de rechazo agudo o crónico de alo- o xenoinjertos o trastornos inflamatorios o autoinmunes, o un agente quimioterapéutico, por ejemplo, un agente anti-proliferativo de células malignas. Por ejemplo, los compuestos de la invención se pueden utilizar en combinación con
- 20 un inhibidor de calcineurina, por ejemplo, ciclosporina A o FK 506; un inhibidor de mTOR, por ejemplo, rapamicina, 40-O- (2-hidroxietil)-rapamicina, CCI779, ABT578 o AP23573; una ascomicina que tiene propiedades inmunosupresoras, por ejemplo, ABT-281, ASM981, etc.; corticosteroides; ciclofosfamida; azatiopreno; metotrexato; leflunomida; mizoribina; ácido micofenólico; micofenolato de mofetilo; 15-desoxiespergualina o un homólogo, análogo o derivado inmunosupresor de la misma; anticuerpos monoclonales inmunosupresores, por ejemplo,
- 25 anticuerpos monoclonales para receptores de leucocitos, por ejemplo MHC, CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD25, CD28, CD40, CD45, CD58, CD80, CD86 o sus ligandos; otros compuestos inmunomoduladores, por ejemplo, una molécula de unión recombinante que tiene al menos una parte del dominio extracelular de CTLA4 o un mutante del mismo, por ejemplo, al menos una parte extracelular de CTLA4 o un mutante de la misma unido a una secuencia de proteína no CTLA4, por ejemplo, CTLA4Ig (por ejemplo, designado ATCC 68629) o un mutante del mismo, por
- 30 ejemplo, LEA29Y; inhibidores de moléculas de adhesión, por ejemplo, antagonistas de LFA-1, antagonistas de ICAM-1 o -3, antagonistas de VCAM-4 o antagonistas de VLA-4; o un agente quimioterapéutico.
- Por el término "agente quimioterapéutico" se entiende cualquier agente quimioterapéutico e incluye, pero no se limita a,
- i. un inhibidor de aromatasas,
- 35 ii. un antiestrógeno, un antiandrógeno (especialmente en el caso de cáncer de próstata) o un agonista de gonadorelina,
- iii. un inhibidor de topoisomerasa I o un inhibidor de topoisomerasa II,
- iv. un agente activo de microtúbulos, un agente de alquilación, un antimetabolito antineoplásico o un compuesto de platino,
- 40 v. un compuesto de direccionamiento/disminución de la actividad de proteína o lípido quinasa o una actividad de la proteína o lípido fosfatasa, un compuesto antiangiogénico más o un compuesto que induce procesos de diferenciación celular,
- vi. un receptor de bradiquinina 1 o un antagonista de la angiotensina II,
- 45 vii. un inhibidor de la ciclooxigenasa, un bisfosfonato, un inhibidor de la histona desacetilasa, un inhibidor de la heparanasa (previene la degradación de sulfato de heparano), por ejemplo, PI-88, un modificador de la respuesta biológica, preferiblemente una linfoquina o interferones, un inhibidor de la ubiquitinación, o un inhibidor que bloquea las rutas antiapoptóticas,
- viii. un inhibidor de isoformas oncogénicas Ras, por ejemplo, H-Ras, K-Ras o N-Ras, o un inhibidor de farnesil transferasa, por ejemplo, L-744,832 o DK8G557,
- 50 ix. un inhibidor de telomerasa, por ejemplo, telomestatina,

x. un inhibidor de proteasa, un inhibidor de metaloproteinasas de matriz, un inhibidor de aminopeptidasa metionina, por ejemplo, bengamida o un derivado del mismo, o un inhibidor de proteosoma, por ejemplo, PS-341, y/o

xi. un inhibidor de mTOR.

5 El término "inhibidor de aromatasa" tal como se usa en este documento se refiere a un compuesto que inhibe la producción de estrógeno, esto es, la conversión de los sustratos de androstenediona y testosterona a estrona y estradiol, respectivamente. El término incluye, pero no se limita a esteroides, especialmente atamestano, exemestano y formestano y, en particular, no esteroides, especialmente aminoglutetimida, rogletimida, piridoglutetimida, trilostano, testolactona, quetaconazol, vorozol, fadrozol, anastrozol y letrozol. Una combinación de la invención que comprende un agente quimioterapéutico que es un inhibidor de aromatasa es particularmente útil para el tratamiento de tumores positivos del receptor de hormonas, por ejemplo, tumores de mama.

10 El término "antiestrógeno" como se usa en este documento se refiere a un compuesto que antagoniza el efecto de los estrógenos en el nivel de receptor de estrógeno. El término incluye, pero no se limita a tamoxifeno, fulvestrant, raloxifeno y clorhidrato de raloxifeno. Una combinación de la invención que comprende un agente quimioterapéutico que es un antiestrógeno es particularmente útil para el tratamiento de tumores positivos del receptor de estrógeno, por ejemplo, tumores de mama.

15 El término "antiandrógenos" como se usa en este documento se refiere a cualquier sustancia que es capaz de inhibir los efectos biológicos de las hormonas androgénicas e incluye, pero no se limita a, bicalutamida.

El término "agonista de gonadotropina" como se utiliza en este documento incluye, pero no se limita a abarelix, goserelina y acetato de goserelina.

20 El término "inhibidor de topoisomerasa I" tal como se utiliza en este documento incluye, pero no se limita a topotecan, irinotecan, 9-nitrocampotecina y el conjugado campotecina macromolecular PNU-166148 (compuesto A1 en WO99/17804).

25 El término "inhibidor de topoisomerasa II" tal como se usa en este documento incluye, pero no se limita a las antraciclinas tales como doxorubicina, daunorubicina, epirubicina, idarubicina y nemorubicina, las antraquinonas mitoxantrona y losoxantrona, y las podofilotoxinas etopósido y tenipósido.

30 El término "agente activo de microtúbulos" se refiere a los agentes estabilizadores de microtúbulos y desestabilizadores de microtúbulos que incluyen, pero no se limitan a taxanos, por ejemplo, paclitaxel y docetaxel, alcaloides de la vinca, por ejemplo, vinblastina, especialmente sulfato de vinblastina, vincristina especialmente sulfato de vincristina, y vinorelbina, discodermolidas y epotilonas y derivados de los mismos, por ejemplo, epotilona B o un derivado del mismo.

El término "agente de alquilación" como se utiliza en este documento incluye, pero no se limita a busulfán, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalán o nitrosourea (BCNU o Gliadel™).

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

35 El término "compuesto de platino" como se utiliza en este documento incluye, pero no se limita a carboplatino, cisplatino y oxaliplatino.

40 El término "compuestos de direccionamiento/disminución una actividad de proteína o lípido quinasa o compuestos antiangiogénicos adicionales" tal como se utiliza en este documento incluye, pero no se limita a inhibidores de proteína tirosina quinasa y/o inhibidores de serina y/o treonina quinasa o inhibidores de lípido quinasa, por ejemplo compuestos que dirigen, reducen o inhiben la actividad de la familia del factor de crecimiento epidérmico del receptor de tirosina quinasas (EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4 como homo- o heterodímeros), la familia vascular endotelial factor de crecimiento del receptor de tirosina quinasas (VEGFR), los receptores del factor de crecimiento derivados de plaquetas (PDGFR), los receptores del factor de crecimiento de 45 fibroblasto (FGFR), el receptor 1 del factor de crecimiento de tipo insulina (IGF-1R), la familia del receptor de tirosina quinasa Trk, la familia del receptor de la tirosina quinasa AX1, el receptor de la tirosina quinasa Ret, el receptor de la tirosina quinasa Kit/SCFR, los miembros de la familia c-Ab1 y sus productos de fusión de gen (por ejemplo, BCR-Abl), miembros de la proteína quinasa C (PKC), y la familia Raf de serina/treonina quinasas, miembros de la familia de quinasa MEK, SRC, JAK, FAK, PDK o PI(3), o de la familia de quinasa relacionada con quinasa PI(3), y/o miembros de la familia quinasa dependiente de ciclina (CDK) y compuestos antiangiogénicos que tienen otro mecanismo para su actividad, por ejemplo, no relacionados con la inhibición de proteína o lípido quinasa.

Los compuestos que dirigen, reducen o inhiben la actividad de VEGFR son especialmente compuestos, proteínas o anticuerpos que inhiben el receptor de tirosina quinasa VEGF, inhiben un receptor VEGF o se unen a VEGF, y son en particular los compuestos, proteínas o anticuerpos monoclonales genérica y específicamente revelados en WO

98/35958, por ejemplo, 1-(4- cloroanilino)-4-(4-piridilmetil)ftalazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, por ejemplo, el succinato, en WO 00/27820, por ejemplo, un derivado de amida del ácido N-aril(tio) antranílico por ejemplo 2-[(4-piridil)metil]amino-N-[3-metoxi-5-(trifluorometil) fenil]benzamida o 2-[(1-oxido-4-piridil)metil]amino-N-[3-trifluorometilfenil]benzamida, o en WO 00/09495, WO 00/59509, WO 98/11223, WO 00/27819 y EP 0 769 947; aquellos como se describe por M. Prewett et al en Cancer Research 59 (1999) 5209-5218, por F. Yuan et al en Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 93, pp. 14765- 14770, diciembre 1996, por Z. Zhu et al en Cancer Res. 58, 1998, 3209-3214, y por J. Mordenti et al en Toxicologic Pathology, Vol. 27, no. 1, pp 14-21, 1999; en WO 00/37502 y WO 94/10202; Angiostatin™, descrito por M. S. O'Reilly et al, Cell 79, 1994, 315-328; endostatina™, descrito por M. S. O'Reilly et al, Cell 88, 1997, 277-285; amidas del ácido antranílico; ZD4190; ZD6474; SU5416; SU6668; o anticuerpos anti-VEGF o anticuerpos del receptor anti-VEGF, por ejemplo, RhuMab.

Por anticuerpo se entiende anticuerpos monoclonales intactos, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos formados a partir de al menos 2 anticuerpos intactos, y fragmentos de anticuerpos, siempre que presentan la actividad biológica deseada.

Los compuestos que dirigen, reducen o inhiben la actividad de la familia de receptores del factor de crecimiento epidérmico son especialmente compuestos, proteínas o anticuerpos que inhiben los miembros de la familia del receptor de tirosina quinasa de EGF, por ejemplo, receptor EGF, ErbB2, ErbB3 y ErbB4 o se unen a EGF o ligandos relacionados con EGF, o que tienen un efecto inhibitor doble sobre la quinasa del receptor ErbB y VEGF y son en particular aquellos compuestos, proteínas o anticuerpos monoclonales genérica y específicamente revelados en WO 97/02266, por ejemplo, el compuesto del ejemplo 39, o en EP 0 564 409, WO 99/03854, EP 0520722, EP 0 566 226, EP 0 787 722, EP 0 837 063, US 5,747,498, WO 98/10767, WO 97/30034, WO 97/49688, WO 97/38983 y, especialmente, WO 96/30347 (por ejemplo compuesto conocido como CP 358774), WO 96/33980 (por ejemplo compuesto ZD 1839) y WO 95/03283 (por ejemplo compuesto ZM105180) o PCT/EP02/08780; por ejemplo trastuzumab (HerpetinR), cetuximab, Iressa, OSI-774, CI-1033, EKB-569, GW-2016, E1.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6.3 o E7.6.3.

Los compuestos que dirigen, reducen o inhiben la actividad de PDGFR son especialmente compuestos que inhiben el receptor PDGF, por ejemplo, un derivado de N-fenil-2-pirimidina-amina, por ejemplo, imatinib.

Los compuestos que dirigen, reducen o inhiben la actividad de los miembros de la familia c-Abl y sus productos de fusión de genes son, por ejemplo, un derivado de N-fenil-2-pirimidina-amina, por ejemplo, imatinib; PD180970; AG957; o NSC 680410.

Los compuestos que dirigen, reducen o inhiben la actividad de la proteína quinasa C, Raf, MEK, SRC, JAK, FAK y miembros de la familia PDK, o quinasa PI(3) o miembros de la familia relacionados con la quinasa PI (3), y/o miembros de la familia quinasa dependiente de ciclina (CDK) son especialmente aquellos derivados de estaurosporina revelados en EP 0 296 110, por ejemplo, midostaurina; ejemplos de compuestos adicionales incluyen, por ejemplo, UCN-01, safingol, BAY 43-9006, Briostatina 1, Perifosina; ilmfosina; RO 318220 y RO 320432; GO 6976; Isis 3521; o LY333531/LY379196

Los compuestos antiangiogénicos adicionales son, por ejemplo, talidomida (THALOMID) y TNP-470.

Los compuestos que dirigen, reducen o inhiben la actividad de una proteína o lípido fosfatasa son, por ejemplo, inhibidores de fosfatasa 1, fosfatasa 2A, PTEN o CDC25, por ejemplo, ácido ocadaico o un derivado de los mismos.

Los compuestos que inducen procesos de diferenciación celular son, por ejemplo, ácido retinoico, α -, γ - o δ -tocoferol o α -, γ - o δ -tocotrienol.

El término inhibidor de la ciclooxigenasa como se utiliza en este documento incluye, pero no se limita a, por ejemplo, celecoxib (Celebrex^R), rofecoxib (Vioxx^R), etoricoxib, valdecoxib o un ácido 5-alkil-2-arilaminofenilacético, por ejemplo, ácido 5-metil-2- (2'-cloro-6'-fluoroanilino)fenil acético.

El término "inhibidor de la histona deacetilasa" tal como se utiliza en este documento incluye, pero no se limita a MS-27-275, SAHA, piroxamida, FR-901228 o ácido valproico.

El término "bisfosfonatos" como se utiliza en este documento incluye, pero no se limita a, ácido etridrónico, clodrónico, tiludrónico, pamidrónico, alendrónico, ibandrónico, risedrónico y zoledrónico.

El término "inhibidor de metaloproteinasas de la matriz" como se utiliza en este documento incluye, pero no se limita a inhibidores peptidomimético y no peptidomiméticos de colágeno, derivados de tetraciclina, por ejemplo, inhibidor peptidomimético de hidroxamato batimastat y su análogo biodisponible por vía oral, marimastat, prinomastat, BMS-279251, BAY 12-9566, TAA211 o AAJ996.

El término "inhibidor de mTOR" como se utiliza en este documento incluye, pero no se limita a rapamicina (sirolimus) o un derivado de la misma, por ejemplo, 32-deoxorapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32-deoxorapamicina, 16-pent-2-

5 iniloxi-32(S)-dihidro-rapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32(S)-dihidro-40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina y, más preferiblemente, 40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina. Ejemplos adicionales de derivados de rapamicina incluyen, por ejemplo, CCI779 o 40-[3-hidroxi-2-(hidroximetil)-2-metilpropanoato] rapamicina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se describe en USP 5,362,718, ABT578 o 40-(tetrazolil)-rapamicina, particularmente 40-epi-(tetrazolil)-rapamicina, por ejemplo, como se revela en WO 99/15530, o rapálogos como se revela, por ejemplo, en WO 98/02441 y WO01/14387, por ejemplo, AP23573.

10 Cuando los compuestos de la invención se administran en combinación con otra terapia inmunosupresora/inmunomoduladora, terapia anti-inflamatoria o quimioterapéutica, las dosificaciones del compuesto inmunosupresor, inmunomodulador, antiinflamatorio o quimioterapéutico coadministrado variará por supuesto dependiendo del tipo de cofármaco empleado, por ejemplo, ya se trate de un esteroide o un inhibidor de calcineurina, del fármaco específico empleado, de la afección que está siendo tratada y así sucesivamente.

De acuerdo con lo anterior la presente invención proporciona aún en un aspecto adicional:

15 2. Un compuesto de la invención que es opcionalmente coadministrado, por ejemplo, concomitantemente o en secuencia, con al menos una segunda sustancia farmacéutica, por ejemplo, un fármaco inmunosupresor, inmunomodulador, antiinflamatorio o quimioterapéutico, por ejemplo, como se indica anteriormente.

20 3. Una combinación farmacéutica, por ejemplo, un kit, que comprende a) un primer agente que es un compuesto de la invención como se revela en este documento, en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, y b) al menos un coagente, por ejemplo, un fármaco inmunosupresor, inmunomodulador, antiinflamatorio o quimioterapéutico, por ejemplo, como se revela anteriormente. El kit puede comprender instrucciones para su administración.

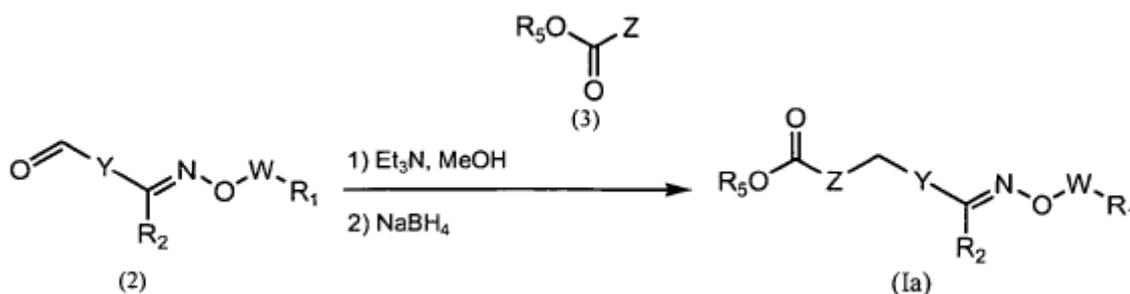
Los términos "coadministración" o "administración combinada" o similares como se utiliza en este documento, abarcan la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un paciente individual, y están destinados a incluir regímenes de tratamiento en los que los agentes no necesariamente se administran por la misma vía de administración o al mismo tiempo.

25 El término "combinación farmacéutica" como se usa en este documento significa un producto que resulta de la mezcla 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 los ingredientes activos, por ejemplo, un compuesto de la invención y un coagente, se administran ambos a un paciente simultáneamente en forma de una sola entidad o dosificación. El término "combinación no fija" significa que los ingredientes activos, por ejemplo, un compuesto de la
30 invención y un coagente, se administran ambos a un paciente como entidades separadas, ya sea simultánea, concurrente o secuencialmente sin límites de tiempo específicos, en donde tal administración proporciona niveles terapéuticamente eficaces de los 2 compuestos en el cuerpo del paciente. Este último también se aplica a terapia de cóctel, por ejemplo, la administración de 3 o más ingredientes activos.

Métodos para preparar compuestos de la invención

35 La presente invención también incluye procesos para la preparación de compuestos inmunomoduladores de la invención. En las reacciones descritas, puede ser necesario proteger grupos funcionales reactivos, por ejemplo, grupos hidroxilo, amino, imino, tio o carboxilo, cuando éstos se desean en el producto final, para evitar su participación no deseada en las reacciones. Los grupos protectores convencionales se pueden utilizar de acuerdo con la práctica estándar, por ejemplo, véase T.W. Greene and P. G. M. Wuts in "Protective Groups in Organic Chemistry", John
40 Wiley and Sons, 1991.

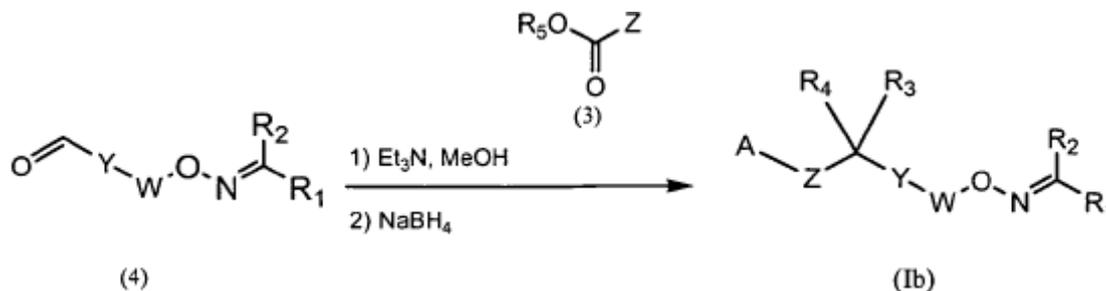
Los compuestos de fórmula Ia, en la que A es $R_5OC(O)-$ y R_3 y R_4 son hidrógeno, se pueden preparar procediendo como en el siguiente esquema de reacción:



45 en el que W, Y, Z, R_1 , R_2 y R_5 son como se definen para la fórmula Ia anteriormente. Los compuestos de fórmula I se pueden preparar mediante la reacción de un compuesto de fórmula 2, con un compuesto de fórmula 3 en presencia

de un solvente apropiado (por ejemplo, metanol, y similares), una base apropiada (por ejemplo, trietilamina, y similares) y un agente reductor apropiado (por ejemplo, borohidruro de sodio). La reacción procede a una temperatura de aproximadamente 0 a aproximadamente 60 °C y puede tomar hasta aproximadamente 48 horas en completarse.

- 5 Los compuestos de fórmula Ib, en la que A es R₅OC (O) - y R₃ y R₄ son hidrógeno, se pueden preparar procediendo como en el siguiente esquema de reacción:



- 10 en la que W, Y, Z, R₁, R₂ y R₅ son como se definen para la Fórmula Ib anteriormente. Los compuestos de fórmula I se pueden preparar mediante la reacción de un compuesto de fórmula 4 con un compuesto de fórmula 3 en presencia de un solvente apropiado (por ejemplo, metanol, y similares), una base apropiada (por ejemplo, trietilamina, y similares) y un agente reductor apropiado (por ejemplo, borohidruro de sodio). La reacción procede a una temperatura de aproximadamente 0 a aproximadamente 60 °C y puede tomar hasta aproximadamente 48 horas en completarse.

Procesos adicionales para preparar los compuestos de la invención:

- 15 Un compuesto de la invención se puede preparar como una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable haciendo reaccionar la forma de base libre del compuesto con un ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptable. Alternativamente, una sal de adición de base farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención se puede preparar haciendo reaccionar la forma de ácido libre del compuesto con una base inorgánica u orgánica farmacéuticamente aceptable. Alternativamente, las formas de sal de los compuestos de la invención se pueden preparar utilizando sales de los materiales de partida o intermedios.

- 20 Las formas de ácido libre o de base libre de los compuestos de la invención se pueden preparar a partir de la sal de adición de base correspondiente o sal de adición de ácido, respectivamente. Por ejemplo, un compuesto de la invención en una forma de sal de adición de ácido se puede convertir en la correspondiente base libre por tratamiento con una base apropiada (por ejemplo, solución de hidróxido de amonio, hidróxido de sodio, y similares).
- 25 Un compuesto de la invención en una forma de sal de adición de base puede convertirse en el ácido libre correspondiente por tratamiento con un ácido apropiado (por ejemplo, ácido clorhídrico, etc.).

- 30 Los compuestos de la invención en forma no oxidada se pueden preparar a partir de N-óxidos de compuestos de la invención por tratamiento con un agente reductor (por ejemplo, azufre, dióxido de azufre, trifenilfosfina, borohidruro de litio, borohidruro de sodio, tricloruro de fósforo, tribromuro, o similares) en un solvente orgánico inerte apropiado (por ejemplo, acetonitrilo, etanol, dioxano acuoso o similares) a de 0 a 80 °C.

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar convenientemente, o formarse durante el proceso de la invención, como solvatos (por ejemplo, hidratos). Los hidratos de los compuestos de la presente invención se pueden preparar convenientemente por recristalización en una mezcla de solvente acuoso/orgánico, utilizando solventes orgánicos tales como dioxina, tetrahidrofurano o metanol.

- 35 Los compuestos de la invención se pueden preparar como sus estereoisómeros individuales mediante la reacción de una mezcla racémica del compuesto con un agente de resolución ópticamente activo para formar un par de compuestos diastereoisoméricos, separando los diastereómeros y recuperando los enantiómeros ópticamente puros. Aunque la resolución de enantiómeros se puede llevar a cabo utilizando derivados diastereoméricos covalentes de los compuestos de la invención, se prefieren los complejos disociables (por ejemplo, sales diastereoméricas cristalinas). Los diastereómeros tienen propiedades físicas distintas (por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidades, reactividad, etc.) y se pueden separar fácilmente aprovechando estas diferencias. Los diastereómeros se pueden separar por cromatografía, o preferible, mediante técnicas de separación/resolución basadas en diferencias en solubilidad. El enantiómero ópticamente puro se recupera entonces, junto con el agente de resolución, por cualquier medio práctico que no daría lugar a racemización. Una descripción más detallada de las técnicas aplicables a la resolución de estereoisómeros de compuestos a partir de su mezcla racémica puede encontrarse en Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley And Sons, Inc., 1981.

En resumen, los compuestos de la invención se pueden preparar mediante un procedimiento, que implica:

- (a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula 2 o 4 con un compuesto de fórmula 3; y
 - (b) convertir opcionalmente un compuesto de la invención en una sal farmacéuticamente aceptable;
 - (c) convertir opcionalmente una forma de sal de un compuesto de la invención a una forma no de sal;
 - 5 (d) convertir opcionalmente una forma no oxidada de un compuesto de la invención en un N-óxido farmacéuticamente aceptable;
 - (e) convertir opcionalmente una forma de N-óxido de un compuesto de la invención en su forma no oxidada;
 - (f) resolver opcionalmente un isómero individual de un compuesto de la invención a partir de una mezcla de isómeros.
- 10 En la medida que la producción de los materiales de partida no se describe particularmente, los compuestos son conocidos o se pueden preparar análogamente a métodos conocidos en la técnica o como se describe en los ejemplos a continuación en este documento.

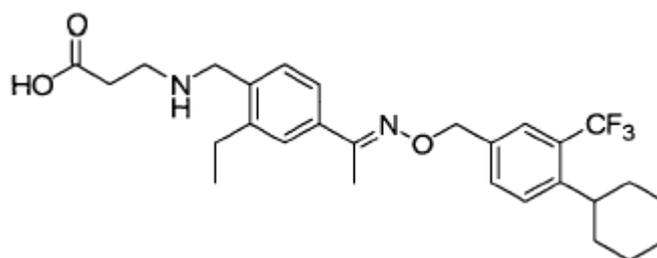
Un experto en el arte apreciará que las transformaciones anteriores son sólo representativas de los métodos para la preparación de los compuestos de la presente invención, y que se pueden utilizar de manera similar otros métodos bien conocidos.

Ejemplos

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

Ejemplo de referencia 1

- 20 Ácido 3-{4-[1-(4-Ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2-etil-bencilamino}-propiónico



Una mezcla de 4-amino-3-etil-benzonitrilo (5 mmol) y agua (10 mL) se coloca en un matraz equipado con un agitador magnético y una sonda de termómetro. Se adiciona lentamente ácido clorhídrico concentrado (1.2 mL). Después de que la mayor parte del sólido se disuelve, se adiciona hielo (20 g) y la temperatura se mantiene a 0 °C utilizando un baño de hielo-sal. A la mezcla agitada se adiciona una solución de nitrito de sodio (5 mmol) en agua (2.5 mL), gota a gota. La mezcla se agita a 0 °C durante 30 minutos. Se adiciona una solución de acetato de sodio hidratado en agua para ajustar el pH a neutro.

En un matraz separado, se prepara una mezcla de clorhidrato de formaldoxima trímero (7.5 mmol), sulfato cúprico hidratado (0.52 mmol), sulfito de sodio (0.15 mmol) y una solución de acetato de sodio (20 mmol), y se enfría a 0 °C.

30 Se adiciona lentamente la mezcla de la sal de diazonio a la mezcla anterior. Después de la adición, la mezcla se agita a 0 °C durante 1.5 horas, se trató con ácido clorhídrico concentrado (4.4 mL) y se calentó a reflujo durante la noche.

La mezcla se enfría a temperatura ambiente, y se extrajo con acetato de etilo. Las capas de acetato de etilo combinadas se lavan con una solución acuosa saturada de NaHCO₃, salmuera, se secó sobre MgSO₄, y se concentró para dar un aceite oscuro. El 3-Etil-4- formil-benzonitrilo se aisló por cromatografía en columna (gradiente de EtOAc/hexano).

35 A una solución de 3-etil-4-formil-benzonitrilo (1.7 mmol) en etanol (10 mL) a 0 °C, se le adiciona NaBH₄ (1.7 mmol). La mezcla se agita a 0 °C durante 0.5 horas, se adiciona ácido cítrico al 5% (5 mL) y el solvente se eliminó a presión reducida. La mezcla se disuelve en EtOAc (50 mL), se lava con NaHCO₃ acuoso saturado, y salmuera. La capa

orgánica separada se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra. El 3-etil-4-hidroxiimil-benzonitrilo se purifica por cromatografía en columna.

5 A una solución de 3-etil-4-hidroxiimil-benzonitrilo (1.21 mmol) en THF seco en atmósfera de N₂ se le adiciona bromuro de metil magnesio (3.63 mmol, 3.0 M en éter dietílico). La mezcla se calienta a reflujo durante la noche. La mezcla se enfría, se adiciona HCl concentrado (10 mL) y la mezcla se extrae con EtOAc. Las capas de EtOAc combinadas se lavan con NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera. La capa orgánica se separa, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra. El producto en bruto de 1- (3-etil-4-hidroxiimil-fenil)-etanona se lleva a la siguiente etapa sin purificación adicional.

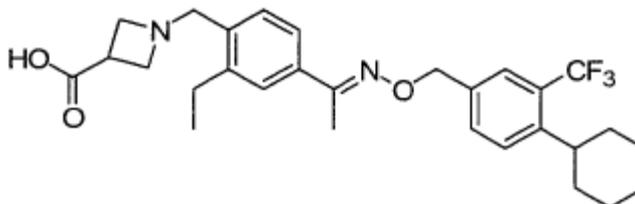
10 A una solución de 1- (3-etil-4-hidroxiimil-fenil) -etanona (1 eq) en metanol se le adiciona O-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-bencil)-hidroxilamina (1 eq) seguido por la adición de ácido acético (0.05 eq). La mezcla se agitó a temperatura ambiente, durante 12 horas. Después de la concentración, el residuo se purifica por cromatografía en columna (30% de EtOAc en hexano) para dar 1- (3-etil-4-hidroxiimil-fenil)-etanona O- (4-ciclohexil-3-trifluorometil-bencil)-oxima como un aceite [MS: (ES +) 434.2 (M + 1)⁺].

15 A una suspensión de MnO₂ (10 eq) en dioxano, se le adiciona 1- (3-etil-4-hidroxiimil-fenil) etanona O- (4- ciclohexil-3-trifluorometil-bencil) oxima (1 eq). La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 10 minutos. Después de la filtración y concentración, el residuo se disuelve en MeOH y se trató con β-alanina (2 eq) y Et₃N (1.5 eq). La mezcla resultante se calienta a 50 °C, durante 30 minutos. Después de enfriar a temperatura ambiente, se adiciona en porciones NaBH₄ (3 eq). La purificación por LCMS preparativa resulta en ácido 3-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2-etil-bencilamino}-propiónico; ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 1.25 (t, 3H), 1.45 (m, 5H), 1.85 (m, 5H), 2.28 (s, 3H), 2.79 (m, 4H), 2.95 (m, 1H), 3.36 (t, 2H), 4.31 (s, 2H), 5.26 (s, 2H) 7.42-7.68 (m, 6H). MS: (ES+): 505.3 (M+1)⁺.

20

Ejemplo 2

Ácido 1-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2-etil-bencil}-azetidina-3-carboxílico



25 A una suspensión de MnO₂ (10 eq) en dioxano, se le adiciona 1-(3-etil-4-hidroxiimil-fenil) etanona O-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-bencil) oxima (1 eq). La mezcla resultante se calienta a reflujo durante 10 minutos. Después de la filtración y concentración, el residuo se disuelve en MeOH y se trata con ácido azetidina-3-carboxílico (2 eq) y Et₃N (1.5 eq). La mezcla resultante se calienta a 50 °C, durante 30 minutos. Después de enfriar a temperatura ambiente, se adiciona en porciones NaBH₃CN (3 eq). La purificación por LCMS preparativa resulta en ácido 1-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2- etil-bencil}-azetidina-3-carboxílico; ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 1.24 (t, 3H), 1.30-1.60 (m, 5H), 1.74-1.92 (m, 5H), 2.28 (s, 3H), 2.79 (q, 2H), 2.92 (m, 1H), 3.68 (m, 1H), 4.32 (m, 4H), 4.51 (s, 2H) 5.22 (s, 2H), 7.38 (d, 1H), 7.50-7.68 (m, 5H). MS: (ES+): 517.3 (M+1)⁺.

30

Ejemplo 3

Ejemplo 2 presenta actividad biológica

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

Ensayo de unión a EDG-1 (S1P1) GTP [γ-³⁵S]: se preparan membranas homogeneizadas a partir de clones de células CHO que expresan de manera estable una etiqueta c-myc EDG-1 N-terminal humana. Las células se cultivan en suspensión en dos frascos rotatorios de 850 cm² durante tres o cuatro días antes de la cosecha. Las células se centrifugan, se lavan una vez con PBS frío, y se vuelven a suspender en ≤20 mL de solución reguladora A (HEPES 20 mM, pH 7.4, EDTA 10 mM, cóctel de inhibidor de proteasa completo libre de EDTA [1 comprimido/25 mL]). Se homogeniza la suspensión de células sobre hielo, utilizando un homogeneizador Polytron a 30000 rpm en tres intervalos de 15 segundos cada uno. En primer lugar, el homogeneizado se centrifuga a 2000 rpm en una centrifuga de baja velocidad de mesa, durante 10 minutos. El sobrenadante, después de pasar a través de un filtro de células, se vuelve a centrifugar a 50,000 x g, durante 25 minutos a 4 °C. El sedimento se vuelve a suspender en solución reguladora B (15% de glicerol, HEPES 20 mM, pH 7.4, EDTA 0.1 mM, cóctel de inhibidor de proteasa completo libre de EDTA [1 comprimido/10 mL]). La concentración de proteína de la preparación se determina utilizando el kit de

40

45

ensayo de proteínas BCA (Pierce) utilizando BSA como estándar. Las membranas se dividen en partes alícuotas y se mantienen congeladas a -80 °C.

5 Las soluciones de los compuestos de ensayo que varían desde 10 mM a 0.01 nM se preparan en DMSO. Se diluye S1P en solución de BSA al 4% como controles positivos. La cantidad deseada de preparación de membrana se diluyó con solución reguladora de ensayo enfriada con hielo (HEPES 20 mM, pH 7.4, NaCl 100 mM, MgCl₂ 10 mM, BSA libre de ácido graso al 0.1%, GPD 5 μM) y se agitó bien con vórtex. Se distribuyen 2 μL o menos del compuesto en cada pozo de una placa de ensayo de poliestireno de fondo redondo de 96 pozos, seguido de la adición de 100 μL de membranas diluidas (3-10 μg/pozo) y se mantienen en hielo hasta la adición de GTPγS caliente. Se diluye [³⁵S]-GTPγS 1: 1000 (v/v) con solución reguladora de ensayo fría y se adicionan 100 μL en cada pozo. La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente durante 90 minutos antes de que las membranas se cosechan en placa de filtro Perkin-Elmer Unifilter® GF/B-96 utilizando un Packard Filtermate Harvester. Después de varios lavados con solución reguladora de lavado (HEPES 20 mM, pH 7.4, NaCl 100 mM, MgCl₂ 10 mM), y un enjuague con etanol al 95%, el filtro se seca en un horno de 37 °C, durante 30 minutos. Se adiciona MicroScint-20 y la placa de sellado para el recuento de centelleo en TopCount. Los valores de EC₅₀ se obtienen mediante el ajuste de las curvas de unión GTP [³⁵S] (datos brutos) con la herramienta de ajuste de curvas dosis-respuesta de GraphPad Prism. Se utilizan seis o doce concentraciones diferentes para generar una curva de respuesta de concentración (utilizando tres puntos de datos por concentración).

10 Los ensayos de unión de EDG-3, -5, -6 y -8 GTP [³⁵S] se llevan a cabo de una manera comparable con el ensayo de unión de EDG-1 GTP [³⁵S] utilizando membranas a partir de células CHO que expresan de forma estable receptores etiquetados o no etiquetados con c-myc c-terminal. Para cada preparación de membrana, en primer lugar, se realizan experimentos de titulación con control de S1P para determinar la cantidad óptima de membranas que se va a adicionar por cada pozo de ensayo. El compuesto de la invención se ensayó de acuerdo con el ensayo anterior y se observó que presentan selectividad para el receptor EDG-1. El ácido 1-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2-etil-bencil}-azetidina-3-carboxílico (ejemplo 2) tiene una EC₅₀ de 0.2 nM en el ensayo anterior y es al menos 1000 veces más selectivo para EDG-1 en comparación con uno o más de los otros receptores incluyendo EDG-3, EDG-5, EDG-6 y EDG-8.

B. In vitro: ensayo de flujo de calcio FLIPR

15 Los compuestos de la invención se ensayan para determinar la actividad agonista sobre EDG-1, EDG-3, EDG-5, y EDG-6 con un ensayo de flujo de calcio FLIPR. En resumen, se mantienen las células CHO que expresan un receptor EDG en medio F-12K (ATCC), que contiene 5% de FBS, con 500 ug/mL de G418. Antes del ensayo, las células se sembraron en 384 placas de fondo claras negras en la densidad de 10,000 células/pozo/25 μL en el medio de F-12K que contiene 1% de FBS. El segundo día, las células se lavan tres veces (25 μL/cada una) con solución reguladora de lavado. Se adicionan aproximadamente 25 μL de colorante a cada pozo y se incubaron durante 1 hora a 37 °C y 5% de CO₂. Después, las células se lavan cuatro veces con solución reguladora de lavado (25 μL/cada uno). Se somete a ensayo el flujo de calcio después de adicionar 25 μL de solución SEQ2871 a cada pozo de células. El mismo ensayo se realiza con células que expresan cada uno de los diferentes receptores EDG. La titulación en el ensayo de flujo de calcio FLIPR se registra en un intervalo de 3 minutos, y se cuantificó como porcentaje de respuesta de altura de pico máximo relativo a la activación de EDG-1.

20 C. In vivo: Ensayos de selección para la medición del agotamiento de linfocitos de sangre y evaluación de efecto del corazón

Medición de linfocitos circulantes: El compuesto se disuelve en DMSO y se diluye hasta obtener una concentración final de DMSO al 4% (v/v, concentración final) y después se diluyó adicionalmente en un volumen constante de Tween80 al 25%/H₂O, v/v. Se incluyen Tween80 al 25%/H₂O (200 μL), DMSO al 4%, y FTY720 (10 μg) como controles negativos y positivos, respectivamente. Se administran los ratones (C57BL/6 macho, 6-10 semanas de edad) con 250-300 μL de la solución del compuesto por vía oral mediante alimentación bajo anestesia con isoflurano corta.

25 Se recoge sangre del seno retro-orbital a las 6 y 24 horas después de la administración del fármaco bajo anestesia con isoflurano corta. Se someten las muestras de sangre entera a análisis de hematología. Se determinan los recuentos de linfocitos periféricos utilizando un analizador automatizado. Las subpoblaciones de linfocitos de sangre periférica se tiñen por anticuerpos específicos conjugados con fluorocromo y se analizan utilizando un clasificador de células de activación fluorescente (FACSCalibur). Se utilizan dos ratones para evaluar la actividad depleción de linfocitos de cada compuesto seleccionado. El resultado es una ED₅₀, que se define como la dosis eficaz requerida que presenta 50% de agotamiento de linfocitos de sangre. Se someten a ensayo los compuestos de la invención de acuerdo con el ensayo anterior y se encontró que preferiblemente presentan una ED₅₀ de menos de 1 mg/kg, más preferiblemente una ED₅₀ de menos de 0.5 mg/kg. El ácido 1-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2-etil-bencil}-azetidina-3-carboxílico (ejemplo 2) presenta una ED₅₀ de 0.1 mg/kg.

5 Evaluación del efecto del corazón: Los efectos de los compuestos sobre la función cardíaca se controlan mediante el sistema de selección Anony-MOUSE ECG. Los electrocardiogramas se registran en ratones conscientes (C57BL/6 macho, 6-10 semanas de edad) antes y después de la administración del compuesto. Las señales de ECG son procesadas y analizadas utilizando el software e-MOUSE. Se inyectan IP 90 µg del compuesto diluido aún más en 200 µL de agua, 15% de DMSO. Cuatro ratones se usan para evaluar el efecto del corazón de cada compuesto.

D: In vivo: Actividad antiangiogénica

10 Se implantan por vía subcutánea cámaras porosas que contienen (i) esfingosina-1-fosfato (5 µM/cámara) o (ii) VEGF humano (1 µg/cámara) en 0.5 mL de 0.8% p/v de agar (que contiene heparina, 20 U/mL) en el flanco de los ratones. S1P o VEGF inducen el crecimiento del tejido vascularizado alrededor de la cámara. Esta respuesta es dependiente de la dosis y se puede cuantificar mediante la medición del peso y contenido de la sangre del tejido. Los ratones se trataron una vez al día por vía oral o por vía intravenosa con un compuesto de la invención a partir de 4-6 horas antes de la implantación de las cámaras y continuando durante 4 días. Los animales son sacrificados para la medición de los tejidos vascularizados 24 horas después de la última dosis. Se determina el peso y el contenido de sangre de los tejidos vascularizados alrededor de la cámara. Los animales tratados con un compuesto de la invención muestran una reducción de peso y/o el contenido de sangre de los tejidos vascularizados en comparación con los animales tratados con vehículo solo. Los compuestos de la invención son antiangiogénicos, cuando se administran a una dosis de aproximadamente 0.3 a aproximadamente 3 mg/kg.

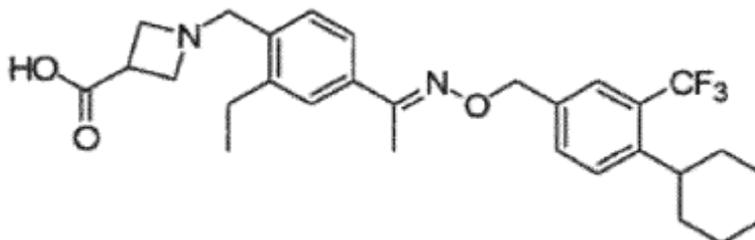
E: In vitro: Actividad antitumoral

20 Se utiliza una línea celular de cáncer de mama de ratón originalmente aislada de carcinomas mamarios, por ejemplo, JygMC(A). Se ajusta el número de células a 5×10^5 para la siembra en placas en un medio fresco antes del procedimiento. Se incuban las células con medio fresco que contenía 2.5 mM de timidina sin FCS durante 12 horas y después se lavan dos veces con PBS, seguido de la adición de medio fresco con 10% de FCS y se incubaron adicionalmente durante otras 12 horas. A continuación, se incuban las células con medio fresco que contenía 2.5 mM de timidina sin FCS durante 12 horas. Para liberar las células del bloque, las células se lavan dos veces con PBS y se vuelven a sembrar en medio fresco con 10% de FCS. Después de la sincronización, las células se incubaron con o sin diversas concentraciones de un compuesto de la invención para 3, 6, 9, 12, 18 o 24 horas. Se recogen las células después del tratamiento con EDTA al 0.2%, se fijan con solución de etanol al 70% enfriado en hielo, se hidrolizan con 250 µg/mL de ARNasa A (tipo 1-A: Sigma Chem Co.) a 37 °C, durante 30 minutos y se tiñen con yoduro de propidio a 10 mg/mL, durante 20 minutos. Después del período de incubación, el número de células se determina tanto a través del recuento de células en un contador Coulter como a través del ensayo de SRB colorimétrico. En estas condiciones los compuestos de la invención inhiben la proliferación de las células tumorales a concentraciones que varían desde 10^{-12} a 10^{-6} M.

REIVINDICACIONES

5 1. Ácido 1-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2-etil-bencil}-azetidina-3-carboxílico y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, de fórmula:



y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

10 3. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en combinación con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

4. Una combinación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2 en combinación con un agente inmunosupresor, un agente inmunomodulador, un agente anti-inflamatorio o un agente quimioterapéutico.

15 5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2 o la combinación de acuerdo con la reivindicación 4 para uso en el tratamiento o la prevención de rechazo agudo o crónico de alo-o xenoinjertos o trastornos inflamatorios o autoinmunes.

6. Una combinación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en combinación con uno o más de:

i. un inhibidor de aromatasas,

20 ii. un antiestrógeno, un antiandrógeno (especialmente en el caso de cáncer de próstata) o un agonista de gonadotropina,

iii. un inhibidor de topoisomerasa I o un inhibidor de topoisomerasa II,

iv. un agente activo de microtúbulos, un agente de alquilación, un antimetabolito antineoplásico o un compuesto de platino,

25 v. un compuesto de direccionamiento/disminución de la actividad de la proteína o lípido quinasa o una actividad de la proteína o lípido fosfatasa, un compuesto antiangiogénico adicional o un compuesto que induce procesos de diferenciación celular,

vi. un receptor 1 de bradiquinina o un antagonista de angiotensina II,

30 vii. un inhibidor de la ciclooxigenasa, un bisfosfonato, un inhibidor de histona desacetilasa, un inhibidor de heparanasa (previene la degradación de sulfato de heparano), preferiblemente PI-88, un modificador de la respuesta biológica, preferiblemente una linfoquina o interferones, un inhibidor de la ubiquitinación, o un inhibidor que bloquea las rutas antiapoptóticas,

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

35 ix. un inhibidor de telomerasa, preferiblemente telomestatina,

x. un inhibidor de proteasa, un inhibidor de metaloproteinasas de matriz, un inhibidor de la metionina aminopeptidasa, preferiblemente bengamida o un derivado de la misma, o un inhibidor de proteosoma, preferiblemente PS-341, y/o

xi. un inhibidor de mTOR.

7. Una combinación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4 o 6, que comprende uno o más de inhibidor de la calcineurina, preferiblemente ciclosporina A o FK 506; un inhibidor de mTOR, preferiblemente rapamicina, 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, CCI779, ABT578 o AP23573; una ascomicina que tiene propiedades inmunosupresoras, preferiblemente ABT-281, ASM981; corticosteroides; ciclofosfamida; azatiopreno; metotrexato; leflunomida; mizoribina; ácido micofenólico; micofenolato de mofetilo; 15-desoxiespergualina o un homólogo inmunosupresor, análogo o derivado de los mismos; anticuerpos monoclonales inmunosupresores, preferiblemente anticuerpos monoclonales para receptores de leucocitos, preferiblemente MHC, CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD25, CD28, CD40, CD45, CD58, CD80, CD86 o sus ligandos; otros compuestos inmunomoduladores, preferiblemente una molécula de unión recombinante que tiene al menos una parte del dominio extracelular de CTLA4 o un mutante del mismo, preferiblemente una al menos parte extracelular de CTLA4 o un mutante del mismo unido a una secuencia de proteína no-CTLA4, preferiblemente CTLA4Ig o un mutante de la misma, preferiblemente LEA29Y; inhibidores de moléculas de adhesión, preferiblemente de LFA-1, antagonistas de ICAM- 1 o -3, antagonistas de VCAM-4 o antagonistas de VLA-4; esteroides, especialmente atamestano, exemestano y formestano y, en particular, no esteroides, especialmente aminoglutetimida, rogletimida, piridoglutetimida, trilostano, testolcatona, quetaconazol, vorozol, fadrozol, anastrozol y letrozol; tamoxifeno, fulvestrant, raloxifeno y clorhidrato de raloxifeno; bicalutamida; abarelix, goserelina y acetato de goserelina; topotecan, irinotecan, 9-nitrocampotecina y el conjugado campotecina macromolecular PNU-166148; antraciclinas tales como doxorubicina, daunorubicina, epirubicina, idarubicina y nemorubicina, las antraquinonas mitoxantrona y losoxantrona, y el podofilotoxinas etopósido y tienipósido; taxanos, preferiblemente paclitaxel y docetaxel, alcaloides de la vinca, preferiblemente, vinblastina, especialmente sulfato de vinblastina, vincristina especialmente sulfato de vincristina, y vinorelbina, discodermolidas y epotilonas y derivados de los mismos, preferiblemente epotilona B o un derivado de la misma; busulfán, clorambucil, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalán o nitrosourea; 5-fluorouracilo, capecitabina, gemcitabina, citarabina, fludarabina, tioguanina, metotrexato y edatrexato; carboplatino, cisplatino y oxaliplatino; proteína tirosina quinasa y/o inhibidores de la serina y/o treonina quinasa o inhibidores de lípido quinasa o, preferiblemente compuestos que dirigen, reducen o inhiben la actividad de la familia del factor de crecimiento epidérmico del receptor de tirosina quinasa (EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4 como homo- o heterodímeros), la familia factor de crecimiento vascular endotelial del receptor de tirosina quinasa (VEGFR), los receptores del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGFR), los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR), el receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1R), la familia Trk del receptor de tirosina quinasa, la familia Axl del receptor de tirosina quinasa, la Ret del receptor de tirosina quinasa, el receptor de tirosina quinasa Kit/SCFR, miembros de la familia c-Abl y sus productos de genes de fusión, preferiblemente BCR-Abl, miembros de la proteína quinasa C (PKC) y familia Raf de serina/treonina quinasa, miembros de la familia MEK, SRC, JAK, FAK, PDK o PI(3) quinasa, o de la familia de quinasa relacionadas PI(3)- quinasa, y/o miembros de la familia quinasa dependiente de ciclina (CDK) y compuestos antiangiogénicos que tienen otro mecanismo para su actividad, preferiblemente no relacionado con la proteína o la inhibición de lípidos quinasa; preferiblemente 1-(4-cloroanilino)-4-(4-piridilmetil)ftalazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, preferiblemente un derivado de amida del ácido N-aril(tio) antranílico preferiblemente 2-[(4-piridil)metil]amino-N-[3-metoxi-5-(trifluorometil)fenil]benzamida o 2-[(1-oxido-4-piridil)metil]amino-N-[3-trifluorometilfenil] benzamida; endostatina, amidas del ácido antranílico; ZD4190; ZD6474; SU5416; SU6668; o anticuerpos anti-VEGF o anticuerpos del receptor anti-VEGF, preferiblemente RhuMab; compuestos, proteínas o anticuerpos que inhiben los miembros de la familia del receptor de tirosina quinasa EGF, preferiblemente receptor EGF, ErbB2, ErbB3 y ErbB4 o se unen a ligandos relacionados con EGF o EGF, o que tienen un efecto dual inhibidor sobre la quinasa del receptor ErbB y VEGF como preferiblemente trastuzumab, cetuximab, Iressa, OSI-774, CI-1033, EKB-569, GW-2016, E1.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6.3 o E7.6.3; compuestos que inhiben el receptor PDGF, preferiblemente un derivado de N-fenil-2-pirimidina-amina, preferiblemente imatinib; compuestos que dirigen, reducen o inhiben la actividad de miembros de la familia c-Abl y sus productos de fusión génica, preferiblemente un derivado de N-fenil-2-pirimidina-amina, preferiblemente imatinib; PD180970; AG957; o NSC 680410; compuestos que dirigen, reducen o inhiben la actividad de la proteína quinasa C, miembros de la familia Raf, MEK, SRC, JAK, FAK, PDK, o PI(3) quinasa o miembros de la familia relacionada con PI(3) quinasa, y/o miembros de la familia de las quinasa dependientes de ciclina (CDK) como derivados de estaurosporina, preferiblemente midostaurina; UCN-01, safingol, BAY 43-9006, Bryostatina 1, Perifosina, ilmofosina; RO 318220 y RO 320432; GO 6976; Isis 3521; o LY333531/LY379196; talidomida y TNP-470; inhibidores de fosfatasa 1, fosfatasa 2A, PTEN o CDC25, preferiblemente ácido ocadaico o un derivado de los mismos; ácido retinoico, α -, γ -, δ -tocoferol o α -, γ - o δ -tocotrienol; celecoxib, rofecoxib, etoricoxib, valdecoxib o un ácido 5-alquil-2-amilaminofenilacético, preferiblemente ácido 5-metil-2-(2'-cloro-6'-fluoroanilino)fenil acético; MS-27-275, SAHA, piroxamida, FR-901228 o ácido valproico; ácido etridónico, clodrónico, tiludrónico, pamidrónico, alendrónico, ibandrónico, risedrónico y zoledrónico; inhibidores peptidomimético y no peptidomiméticos de colágeno, derivados de la tetraciclina, preferiblemente inhibidor peptidomimético hidroxamato batimastat y su análogo biodisponible por vía oral marimastat, prinomastat, BMS-279251, BAY 12-9566, TAA211 o AAJ996; rapamicina (sirolimus) o un derivado de la misma, preferiblemente 32-desoxorapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32-desoxorapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32(S)-dihidro-rapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32(S)-dihidro-40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina y, más preferiblemente, 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, CCI779 o 40-[3-hidroxi-2-(hidroximetil)-2-metilpropanoato]-rapamicina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, ABT578 o 40-(tetrazolilo)-rapamicina, en particular 40-epi-(tetrazolil)-rapamicina.

8. El compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2 y la composición de acuerdo con la reivindicación 3, para uso en el tratamiento y/o prevención de enfermedades o trastornos, en donde las enfermedades o trastornos se seleccionan de enfermedades o trastornos mediados por interacciones de linfocitos, rechazo del trasplante agudo o crónico de alo-o xenoinjertos de célula, tejido u órgano o función retrasada del injerto, enfermedad de injerto contra huésped, enfermedades autoinmunes, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, tiroiditis de Hashimoto, esclerosis múltiple, miastenia grave, diabetes tipo I o II y los trastornos asociados con la misma, vasculitis, anemia perniciosa, síndrome de Sjogren, uveítis, psoriasis, oftalmopatía de Graves, alopecia areata y otras, enfermedades alérgicas, asma alérgica, dermatitis atópica, rinitis alérgica/conjuntivitis, dermatitis alérgica de contacto, enfermedades inflamatorias, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa, asma intrínseca, lesión pulmonar inflamatoria, lesión hepática inflamatoria, lesión glomerular inflamatoria, aterosclerosis, osteoartritis, dermatitis irritante de contacto y otras dermatitis eccematosas, dermatitis seborreica, manifestaciones cutáneas de trastornos mediados inmunológicamente, enfermedad inflamatoria ocular, queratoconjuntivitis, miocarditis o hepatitis, lesión por isquemia/reperfusión, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, isquemia intestinal, insuficiencia renal o choque hemorrágico, choque traumático, linfomas de células T o leucemias de células T, enfermedades infecciosas, choque tóxico, choque séptico, síndrome de insuficiencia respiratoria en adultos o infecciones virales, SIDA, hepatitis viral, infección bacteriana crónica, o demencia senil.