

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 600 518**

51 Int. Cl.:

A61K 31/18 (2006.01)

A61P 9/04 (2006.01)

C07C 311/48 (2006.01)

C07C 317/14 (2006.01)

C07C 323/67 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.03.2007** **E 12195124 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.09.2016** **EP 2586435**

54 Título: **Derivados de N-hidroxilsulfonamida como nuevos donantes de nitroxilo fisiológicamente útiles**

30 Prioridad:

17.03.2006 US 783556 P

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

09.02.2017

73 Titular/es:

THE JOHNS HOPKINS UNIVERSITY (50.0%)
3400 North Charles Street
Baltimore, MD 21218, US y
CARDIOXYL PHARMACEUTICALS, INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

TOSCANO, JOHN, P.;
COHEN, ANDREW, D.;
COURTNEY, STEPHEN, MARTIN;
FROST, LISA, MARIE;
KALISH, VINCENT, JACOB y
BROOKFIELD, FREDERICK, ARTHUR

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 600 518 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de N-hidroxilsulfonamida como nuevos donantes de nitroxilo fisiológicamente útiles

La presente invención se realizó en parte con el apoyo del gobierno en virtud de la subvención N° CHE-0518406 de la National Science Foundation. El gobierno puede tener ciertos derechos en esta invención.

5 Antecedentes de la invención

Resumen sobre la insuficiencia cardiaca

La insuficiencia cardiaca congestiva (ICC) es una afección generalmente progresiva, con peligro para la vida, en la que la contractilidad miocárdica se reduce de manera que el corazón es incapaz de bombear de manera adecuada la sangre que retorna al mismo, a lo que también se denomina descompensación. Los síntomas incluyen dificultad respiratoria, fatiga, debilidad, inflamación de las piernas e intolerancia al ejercicio. En el examen físico, los pacientes con insuficiencia cardiaca suelen tener un ritmo cardíaco y respiratorio elevados (lo que indica la presencia de líquido en los pulmones), edema, distensión venosa yugular y el corazón agrandado. La causa más común de ICC es la aterosclerosis, que provoca obstrucciones en las arterias coronarias que proporcionan el flujo sanguíneo al músculo del corazón. En última instancia, dichos bloqueos pueden causar infarto de miocardio, con la consiguiente disminución de la función cardiaca y la insuficiencia cardiaca resultante. Otras causas de ICC incluyen la enfermedad valvular cardiaca, hipertensión, infecciones virales del corazón, el consumo de alcohol y diabetes. Algunos casos de ICC ocurren sin etiología clara, y se denominan idiopáticos. Los efectos de la ICC en un sujeto que experimenta la afección pueden ser fatales.

Existen varios tipos de ICC. Dos tipos de ICC se identifican de acuerdo a qué fase del ciclo de bombeo cardiaco se encuentra más afectada. La insuficiencia cardiaca sistólica se produce cuando disminuye la capacidad del corazón para contraerse. El corazón no puede bombear con suficiente fuerza como para impulsar una cantidad suficiente de sangre hacia la circulación, lo que conduce a una fracción reducida de eyección ventricular izquierda. La congestión pulmonar es un síntoma típico de la insuficiencia cardiaca sistólica. La insuficiencia cardiaca diastólica hace referencia a la incapacidad del corazón para relajarse entre las contracciones y permitir que entre suficiente sangre en los ventrículos. Se requieren presiones de llenado más altas para mantener el gasto cardiaco, pero la contractilidad medida por la fracción de eyección ventricular izquierda suele ser normal. La hinchazón (edema) del abdomen y las piernas es un síntoma típico de la insuficiencia cardiaca diastólica. A menudo, un individuo que experimenta insuficiencia cardiaca tendrá cierto grado tanto de insuficiencia cardiaca sistólica como de insuficiencia cardiaca diastólica.

La ICC también se clasifica de acuerdo con su gravedad. La Asociación Cardiaca de Nueva York clasifica la ICC en cuatro clases: la Clase I implica síntomas no aparentes, sin limitaciones en la actividad física; la Clase II implica algunos síntomas durante o después de la actividad normal, con limitaciones leves en la actividad física; la Clase III implica síntomas con una actividad inferior a la habitual, con limitaciones de moderadas a significativas en la actividad física; y la Clase IV implica síntomas significativos en reposo, con limitaciones de graves a totales en la actividad física. Normalmente, un individuo va avanzando de una clase a la siguiente a medida que viven con la afección.

Aunque la ICC se considera, en general, una afección progresiva crónica, también se puede desarrollar súbitamente. Este tipo de ICC se denomina ICC aguda, y es una emergencia médica. La ICC aguda puede estar causada por una lesión miocárdica aguda que afecta a cualquier función miocárdica, tal como el infarto de miocardio o la integridad de las válvulas y/o las cámaras, tal como la regurgitación mitral o la rotura del septo ventricular, lo que conduce a un aumento agudo de la presión del ventrículo izquierdo y diastólica, produciendo un edema pulmonar y disnea.

Los agentes comunes para tratar la ICC incluyen vasodilatadores (fármacos que dilatan los vasos sanguíneos), inotrópicos positivos (fármacos que aumentan la capacidad del corazón para contraerse) y diuréticos (fármacos para reducir el fluido). Además, los antagonistas beta (fármacos que antagonizan los receptores beta-adrenérgicos) se han convertido en agentes convencionales para el tratamiento de la insuficiencia cardiaca leve a moderada. Lowes et al, Clin. Cardiol, 23: III11-6 (2000).

Los agentes inotrópicos positivos incluyen agonistas beta-adrenérgicos, tales como dopamina, dobutamina, dopexamina e isoproterenol. Sin embargo, el uso de un agonista beta puede acarrear complicaciones tales como arritmogénesis y el aumento de la demanda de oxígeno por parte del corazón. Adicionalmente, a la mejora inicial de corta duración de la contractilidad miocárdica ofrecida por estos fármacos, le sigue una tasa de mortalidad acelerada como resultado, en gran medida, de una mayor frecuencia de muerte súbita. Katz, HEART FAILURE: PATHOPHYSIOLOGY, MOLECULAR BIOLOGY AND CLINICAL MANAGEMENT, Lippincott, Williams & Wilkins (1999).

Los antagonistas beta antagonizan la función del receptor beta-adrenérgico. Aunque contraindicados inicialmente en la insuficiencia cardiaca, en los ensayos clínicos, se ha observado que proporcionan una notable reducción de la mortalidad y la morbilidad. Bouzamondo et al., *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 15: 95-109 (2001). Por consiguiente, se han convertido en una terapia establecida para la insuficiencia cardiaca. Sin embargo, incluso los sujetos que mejoran con la terapia con antagonistas beta, se pueden descompensar posteriormente y requerir un tratamiento agudo con un agente inotrópico positivo. Desafortunadamente, como su propio nombre sugiere, los antagonistas beta bloquean el mecanismo de acción de los agonistas beta inotrópicos positivos que se utilizan en los centros de atención de emergencias. Bristow et al., *J. Card. Fail.*, 7: 8-12 (2001).

Los vasodilatadores, tales como la nitroglicerina, se han utilizado durante un largo período de tiempo para tratar la insuficiencia cardiaca. Sin embargo, la causa del efecto terapéutico de la nitroglicerina no fue conocida hasta finales del siglo pasado, cuando se descubrió que la molécula de óxido nítrico (NO) era la responsable de los efectos beneficiosos de la nitroglicerina. En algunos sujetos que experimentan insuficiencia cardiaca, se administra un donante de óxido nítrico en combinación con un agente inotrópico positivo tanto para producir vasodilatación como para aumentar la contractilidad miocárdica. Sin embargo, esta administración combinada puede perjudicar la eficacia de los agentes de tratamiento inotrópicos positivos. Por ejemplo, Hart et al., *Am J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 281:146-54 (2001) describieron que la administración del donante de óxido nítrico nitroprusiato de sodio, en combinación con el agonista beta-adrenérgico inotrópico positivo dobutamina, deterioró el efecto inotrópico positivo de la dobutamina. En Hare et al., *Circulation*, 92:2198-203 (1995) también se revela el efecto inhibitor del óxido nítrico sobre la eficacia de la dobutamina.

Tal como se describe en la patente de EE.UU. N° 6,936,639, los compuestos donantes de nitroxilo (HNO) en condiciones fisiológicas tienen efectos tanto inotrópicos como lusotrópicos positivos, y ofrecen ventajas significativas sobre los tratamientos existentes para la insuficiencia cardiaca. Debido a su acción inotrópica/lusotrópica positiva concomitante y a efectos de descarga, se describió que los donantes de nitroxilo son útiles en el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares que se caracterizan por una alta carga resistiva y un bajo rendimiento contráctil. En particular, se describió que los compuestos donantes de nitroxilo son útiles en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca, incluyendo la insuficiencia cardiaca en individuos que reciben terapia con antagonistas beta.

Resumen sobre la isquemia

La isquemia es una afección caracterizada por una interrupción o un suministro inadecuado de sangre a los tejidos, lo que provoca la falta de oxígeno en el tejido afectado. La isquemia miocárdica es una afección causada por un bloqueo o una constricción de una o más de las arterias coronarias, como puede ocurrir con una oclusión o ruptura de la placa aterosclerótica. El bloqueo o la constricción provocan la falta de oxígeno del tejido no perfundido, que puede dañar los tejidos. Además, tras la reperfusión con la subsiguiente reoxigenación del tejido, cuando la sangre es capaz de volver a fluir o disminuye la demanda de oxígeno del tejido, se puede producir una lesión adicional causada por estrés oxidativo.

Lesión por isquemia/reperfusión hace referencia al daño tisular causado por la falta de oxígeno seguida de una reoxigenación. Los efectos de la lesión por isquemia/reperfusión en un sujeto que experimenta la afección pueden ser fatales, en particular cuando la lesión se produce en un órgano vital tal como el corazón o el cerebro.

Por consiguiente, los compuestos y las composiciones eficaces en la prevención o la protección contra la lesión por isquemia/reperfusión serían productos farmacéuticos útiles. Los compuestos tales como la nitroglicerina se han utilizado durante un largo período de tiempo para ayudar a controlar el tono vascular y proteger contra la lesión por isquemia/reperfusión miocárdica. Se descubrió que la molécula de óxido nítrico era la responsable de los efectos beneficiosos de la nitroglicerina. Este descubrimiento impulsó el interés en la práctica médica por el óxido nítrico y las investigaciones sobre especies afines tales como el nitroxilo. Tal como se describió en la solicitud de patente de EE.UU. con N° de serie 10/463,084 (publicación de EE.UU. N° 2004/0038947), la administración de un compuesto donante de nitroxilo en condiciones fisiológicas, antes de la isquemia, puede atenuar la lesión por isquemia/reperfusión de los tejidos, por ejemplo, los tejidos miocárdicos. Este efecto beneficioso se describió como un resultado sorprendente, dado que ya se había descrito previamente que el nitroxilo aumentaba la lesión por isquemia/reperfusión (Véase, Ma et al., "Opposite Effects of Nitric Oxide and Nitroxyl on Postischemic Myocardial Injury," *Proc. Nat'l Acad. Sci.*, 96(25): 14617-14622 (1999), que describe que la administración de la sal de Angeli (un donante de nitroxilo en condiciones fisiológicas) a conejos anestesiados durante la isquemia y 5 minutos antes de la reperfusión, aumentó la lesión por isquemia/reperfusión miocárdica; y Takahira et al., "Dexamethasone Attenuates Neutrophil Infiltration in the Rat Kidney in Ischemia/Reperfusion Injury: The Possible Role of Nitroxyl", *Free Radical Biology & Medicine*, 31 (6):809-815 (2001), que describe que la administración de sal de Angeli durante la isquemia y 5 minutos antes de la reperfusión del tejido renal de rata contribuyó a la infiltración de neutrófilos en el tejido, lo que se cree que media en la lesión por isquemia/reperfusión). En particular, se ha descrito que la administración preisquémica de sal de Angeli e isopropilamina/NO previene o reduce la lesión por isquemia/reperfusión.

Resumen sobre los donantes de nitroxilo

Hasta la fecha, la gran mayoría de los estudios sobre el efecto biológico del HNO han utilizado el dioxotrintrato de sodio donante ("sal de Angeli" o "SA"). Sin embargo, la estabilidad química de la SA ha hecho que sea inadecuada para desarrollarse como un agente terapéutico. Ya se ha demostrado que la *N*-hidroxibencenosulfonamida ("ácido de Piloty" o "AP") es un donante de nitroxilo a un pH alto (> 9) (Bonner, F. T.; Ko, Y. Inorg. Chem. 1992, 31, 2514-2519). Sin embargo, en condiciones fisiológicas, el AP es un donante de óxido nítrico a través de una vía oxidativa (Zamora, R.; Grzesiok, A.; Weber, H.; Feelisch, M. Biochem. J. 1995, 312, 333-339). Por lo tanto, los efectos fisiológicos de la SA y del AP no son los mismos, porque la SA es un donante de nitroxilo en condiciones fisiológicas, mientras que el AP es un donante de óxido nítrico en condiciones fisiológicas.

Aunque la Patente de EE.UU. Nº 6,936,639 y la publicación de EE.UU. Nº 2004/0038947 describen el AP como un compuesto que dona nitroxilo, y señalan que otros ácidos sulfohidroxámicos y sus derivados también son, por tanto, útiles como donantes de nitroxilo, en realidad, el AP no dona cantidades significativas de nitroxilo en condiciones fisiológicas (véase Zamora, supra).

Se han descrito varias *N*-hidroxilbencenosulfonamidas sustituidas como inhibidores de la anhidrasa carbónica, sin mención alguna sobre la producción de HNO (véase, (a) Mincione, F.; Menabuoni, L.; Briganti, F.; Mincione, G.; Scozzafava, A.; Supuran, C.T. J. Enzyme Inhibition 1998, 13, 267-284; y (b) Scozzafava, A.; Supuran, C.T., J. Med. Chem. 2000, 43, 3677-3687).

Necesidad médica significativa

A pesar de los esfuerzos realizados hacia el desarrollo de nuevas terapias para el tratamiento de enfermedades y afecciones tales como la insuficiencia cardíaca y la lesión por isquemia/reperfusión, sigue existiendo un interés significativo en, y una necesidad de, compuestos adicionales o alternativos que traten o prevengan la aparición o la gravedad de estas y otras enfermedades o afecciones relacionadas. En particular, sigue existiendo una necesidad médica significativa de terapias alternativas o adicionales para el tratamiento de enfermedades o afecciones que responden a la terapia con nitroxilo. Por tanto, los nuevos compuestos que donan nitroxilo en condiciones fisiológicas y los métodos de uso de compuestos que donan nitroxilo en condiciones fisiológicas pueden encontrar uso como terapias para tratar, prevenir y/o retrasar la aparición y/o el desarrollo de enfermedades o afecciones que responden a la terapia con nitroxilo, incluyendo la enfermedad cardíaca y la lesión por isquemia/reperfusión. Preferiblemente, los agentes terapéuticos pueden mejorar la calidad de vida y/o prolongar el tiempo de supervivencia de los pacientes con la enfermedad o afección.

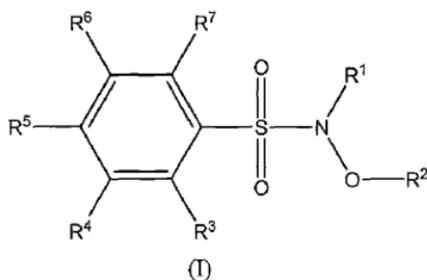
Breve resumen de la invención

Se describen métodos, compuestos y composiciones para el tratamiento y/o la prevención de la aparición o del desarrollo de enfermedades o afecciones que responden a la terapia con nitroxilo. Se describen derivados de *N*-hidroxilsulfonamida aromáticos que donan nitroxilo en condiciones fisiológicas. Mediante la modificación del AP con sustituyentes apropiados, tales como grupos aceptores de electrones o grupos que impiden estéricamente la fracción sulfonilo, se ha mejorado sustancialmente la capacidad de producción de HNO de estos derivados en condiciones fisiológicas. De manera significativa, en comparación con la SA, el AP tiene la capacidad de ser modificado ampliamente con sustituyentes, lo que permite la optimización de sus propiedades fisicoquímicas y farmacológicas. Dicha optimización se describe en la presente patente.

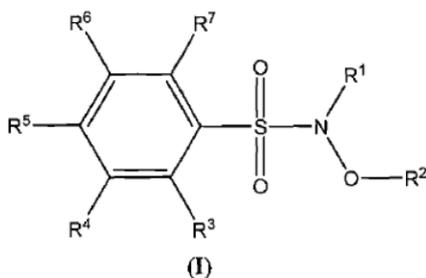
La presente revelación hace referencia a un método para administrar a un sujeto en necesidad de ello, una cantidad terapéuticamente efectiva de un derivado de AP, en donde el derivado dona nitroxilo en condiciones fisiológicas. La revelación hace referencia a un método de tratamiento o prevención de la aparición y/o el desarrollo de una enfermedad o afección que responde a la terapia con nitroxilo, donde el método comprende administrar a un individuo en necesidad de ello, una *N*-hidroxilsulfonamida que dona una cantidad efectiva de nitroxilo en condiciones fisiológicas. La revelación también hace referencia a métodos de tratamiento de insuficiencia cardíaca o de lesión por isquemia/reperfusión mediante la administración a un individuo en necesidad de ello, de una *N*-hidroxilsulfonamida que dona una cantidad efectiva de nitroxilo en condiciones fisiológicas.

También se describen kits que comprenden los compuestos, los cuales pueden contener opcionalmente un segundo agente terapéutico tal como un compuesto inotrópico positivo que puede ser, *por ejemplo*, un agonista del receptor beta-adrenérgico.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende (i) un compuesto de la fórmula (I):

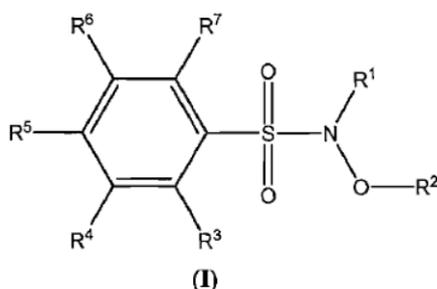


- o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con (ii) un soporte farmacéuticamente aceptable, en donde: R^1 es H; R^2 es H, aralquilo o heterociclilo; y R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en, alquilsulfonilo, perhaloalcoxi y N-hidroxilsulfonamidilo, y en donde al menos uno de entre R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 es distinto de H. En otra variación, el compuesto es de la fórmula (I) donde R^1 es H; R^2 es H; R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, alquilsulfonilo, N-hidroxilsulfonamidilo y perhaloalquilo, a condición de que al menos uno de entre R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 sea distinto de H. La presente invención también proporciona un compuesto de la fórmula (I) según se define anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un método para modular los niveles de nitroxilo *in vivo*, tratar una enfermedad o afección que responda a una terapia con nitroxilo, tratar una enfermedad o afección cardiovascular, o tratar la insuficiencia cardíaca. La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I), según se define anteriormente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la preparación de un medicamento para su uso en un método para modular los niveles de nitroxilo *in vivo*, tratar una enfermedad o afección que responda a la terapia con nitroxilo, tratar una enfermedad o afección cardiovascular, o tratar la insuficiencia cardíaca.
- 15 La presente invención también proporciona un compuesto de la fórmula (I)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde: R^1 es H; R^2 es H, aralquilo o heterociclilo; y R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, alquilsulfonilo y perhaloalcoxi, y en donde al menos uno de entre R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 es distinto de H.

- 20 También se describen métodos, que incluyen un método para tratar, prevenir o retrasar la aparición o el desarrollo de una enfermedad o afección que responde a la terapia con nitroxilo, que comprende administrar a un individuo en necesidad de ello, una N-hidroxilsulfonamida que dona nitroxilo en condiciones fisiológicas o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una variación, el método comprende administrar al individuo un compuesto de la fórmula:



- 25 donde R^1 es H; R^2 es H; R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, alquilsulfonilo, N-hidroxilsulfonamidilo, y perhaloalcoxi, a condición de que al menos uno de entre R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 sea distinto de H.

En un modo de realización la composición farmacéutica de la invención es susceptible de administrarse como inyección intravenosa. También se describen kits que comprenden un compuesto para su uso de acuerdo con la invención e instrucciones para su uso.

Breve descripción de las figuras

- 5 La Fig. 1 representa el análisis de espacio de cabeza (Headspace) del óxido nitroso de compuestos sometidos a ensayo como donantes de nitroxilo en comparación con el análisis de espacio de cabeza del óxido nitroso del donante de nitroxilo sal de Angeli (SA). El óxido nitroso (N₂O) es el producto de la dimerización del nitroxilo (HNO) y, por lo tanto, es indicativo de si un compuesto es donante de nitroxilo en las condiciones del ensayo.

Descripción detallada de la invención

10 Definiciones

A menos que se indique claramente lo contrario, los siguientes términos y expresiones tal como se utilizan en el presente documento tienen los significados indicados a continuación.

El uso de los términos "un", "uno", "una" y similares hacen referencia a uno o más.

- 15 "Aralquilo" hace referencia a un residuo en el que una fracción arilo está unida a la estructura parental a través de un residuo de alquilo. Entre los ejemplos se incluyen bencilo (-CH₂-Ph) y fenetilo (-CH₂CH₂Ph), y similares.

- 20 "Heterociclilo" o "heterocicloalquilo" hace referencia a un residuo cicloalquilo en el que de uno a cuatro de los carbonos se reemplazan por un heteroátomo tal como oxígeno, nitrógeno o azufre. Los ejemplos de heterociclos cuyos radicales son grupos heterociclilo incluyen tetrahidropirano, morfolina, pirrolidina, piperidina, tiazolidina, oxazol, oxazolona, isoxazol, dioxano, tetrahidrofurano y similares. Un ejemplo específico de un residuo heterociclilo es tetrahidropiran-2-ilo.

Los grupos cicloalquilo tienen, por ejemplo, de entre 1 a 20 átomos de carbono anulares, preferiblemente de entre 1 a 12 átomos de carbono anulares y más preferiblemente de entre 1 a 8 átomos de carbono anulares.

- 25 "Alquilo" hace referencia a estructuras lineales de hidrocarburos que tienen de entre 1 a 20 átomos de carbono, preferiblemente de entre 1 a 12 átomos de carbono y más preferiblemente de entre 1 a 8 átomos de carbono. Se abarcan los grupos alquilo de menos átomos de carbono, tales como los denominados grupos "alquilo inferior", que tienen de entre 1 a 4 átomos de carbono. "Alquilo" también hace referencia a estructuras ramificadas de hidrocarburos que tienen de entre 3 a 20 átomos de carbono, preferiblemente de entre 3 a 12 átomos de carbono y más preferiblemente de entre 3 a 8 átomos de carbono. Para cualquier uso del término "alquilo", a menos que se indique claramente lo contrario, se pretende abarcar todas las variaciones de los grupos alquilo revelados en el presente documento, según se mide por el número de átomos de carbono, igual que si se enumeraran de manera explícita e individual todos y cada uno de los grupos alquilo para cada uso del término. Por ejemplo, cuando un grupo tal como R³ puede ser un "alquilo", pretende significar un alquilo C₁-C₂₀ o un alquilo C₁-C₁₂ o un alquilo C₁-C₈ o un alquilo inferior o un alquilo C₂-C₂₀ o un alquilo C₃-C₁₂ o un alquilo C₃-C₈. Esto mismo se aplica para otros grupos que figuran en el presente documento, que pueden incluir grupos bajo otras definiciones, donde se detalla un cierto número de átomos en la definición. Cuando se nombra un residuo alquilo que tiene un número específico de carbonos, se pretende englobar a todos los isómeros geométricos que tienen ese número de carbonos; por tanto, por ejemplo, "butilo" pretende incluir *n*-butilo, *sec*-butilo, *iso*-butilo y *t*-butilo; "propilo" incluye *n*-propilo e *iso*-propilo. Entre los ejemplos de grupos alquilo se incluyen metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *t*-butilo, *n*-heptilo, octilo, y similares. Alquilo también se utiliza en el presente documento para indicar un residuo alquilo como parte de un grupo funcional mayor y, cuando se utiliza de ese modo, se toma junto con otros átomos para formar otro grupo funcional.

"Grupo aceptor de electrones" hace referencia a grupos que reducen la densidad de electrones de la fracción a la que están unidos (en relación a la densidad de la fracción sin el sustituyente). Tales grupos incluyen, por ejemplo, -S(O)₂NHOH, y similares.

"Halo" hace referencia a flúor, cloruro, bromo o yodo.

- 45 "Alquilsulfonilo" hace referencia a grupos -SO₂alquilo, donde alquilo es tal como se define en la presente patente.

"*N*-hidroxilsulfonamidilo" hace referencia a -S(O)₂NROH, donde R es H o alquilo.

"Perhaloalquilo" hace referencia a un grupo alquilo donde cada H del hidrocarburo se reemplaza con F. Entre los ejemplos de grupos perhalo se incluyen -CF₃ y -CF₂CF₃.

Un "perhaloalcoxi" hace referencia a un grupo perhaloalquilo unido a la estructura parental a través de un oxígeno, tal como el residuo -O-CF₃.

"Ariilo" pretende significar un anillo monocíclico, bicíclico o tricíclico aromático. Un grupo ariilo es preferiblemente un anillo aromático o heteroaromático de 5 o 6 miembros que contiene 0-3 heteroátomos anulares seleccionados de entre O, N o S; un sistema de anillo aromático o heteroaromático de 9 o 10 miembros bicíclico (lo que significa que el sistema de anillo tiene 9 o 10 átomos anulares), que contiene 0-3 heteroátomos anulares seleccionados de entre O, N o S; o un sistema de anillo aromático o heteroaromático de 13 o 14 miembros tricíclico (lo que significa que el sistema de anillo tiene 13 o 14 átomos anulares), que contiene 0-3 heteroátomos anulares seleccionados de entre O, N o S. Entre los ejemplos de grupos cuyos radicales son grupos ariilo se incluyen, por ejemplo, benceno, naftaleno, indano, tetralina, imidazol, piridina, indol, tiofeno, benzopirazona, tiazol, furano, bencimidazol, benzoxazol, benzotiazol, quinolina, isoquinolina, quinoxalina, pirimidina, pirazina, tetrazol y pirazol.

"Sal farmacéuticamente aceptable" hace referencia a sales farmacéuticamente aceptables de un compuesto descrito en el presente documento, sales que pueden obtenerse a partir de una variedad de contraiones orgánicos e inorgánicos bien conocidos en la técnica e incluyen, solamente a modo de ejemplo, sodio, potasio, calcio, magnesio, amonio, tetraalquilamonio, y similares; cuando la molécula contiene una funcionalidad básica, sales de ácidos orgánicos o inorgánicos tales como clorhidrato, bromhidrato, tartrato, mesilato, acetato, maleato, oxalato y similares. Entre las sales a modo ilustrativo se incluyen, pero sin limitarse a las mismas, sales de sulfato, citrato, acetato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, lactato, salicilato, citrato ácido, tartrato, oleato, tanato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, besilato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato y p-toluenosulfonato. Por consiguiente, se puede preparar una sal a partir de un compuesto de cualquiera de las fórmulas reveladas en el presente documento que tenga un grupo funcional ácido, tal como un grupo funcional ácido carboxílico, y una base inorgánica u orgánica farmacéuticamente aceptable. Entre las bases adecuadas se incluyen, pero sin limitarse a las mismas, hidróxidos de metales alcalinos tales como sodio, potasio y litio; hidróxidos de metales alcalinotérreos tales como calcio y magnesio; hidróxidos de otros metales, tales como aluminio y cinc; amoniaco y aminas orgánicas tales como mono-, di- o trialquilaminas no sustituidas o sustituidas con hidroxilo; dicitclohexilamina; tributilamina; piridina; N-metilo, N-etilamina; dietilamina; trietilamina; mono-, bis- o tris-(2-hidroxi-aminas de alquilo inferior) tales como mono-, bis- o tris-(2-hidroxi-etil)amina, 2-hidroxi-terc-butilamina o tris-(hidroximetil)metilamina, N,N-di-alquilo inferior-N-(hidroxialquilo inferior)-aminas, tales como N,N-dimetil-N-(2-hidroxi-etil)amina o tri-(2-hidroxi-etil)amina; N-metil-D-glucamina; y aminoácidos tales como arginina, lisina y similares. También se puede preparar una sal a partir de un compuesto la fórmula (I) revelado en el presente documento que tenga un grupo funcional básico, tal como un grupo funcional amino, y un ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptable. Los ácidos adecuados incluyen sulfato de hidrógeno, ácido cítrico, ácido acético, ácido clorhídrico (HCl), bromuro de hidrógeno (HBr), yoduro de hidrógeno (HI), ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido láctico, ácido salicílico, ácido tartárico, ácido ascórbico, ácido succínico, ácido maleico, ácido bésílico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido glucarónico, ácido fórmico, ácido benzoico, ácido glutámico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido bencenosulfónico y ácido p-toluenosulfónico.

A menos que se indique claramente lo contrario, "un individuo", tal como se usa en el presente documento, pretende significar un mamífero, incluyendo, pero sin limitarse a un ser humano.

La expresión "cantidad efectiva" pretende significar aquella cantidad de un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que, en combinación con sus parámetros de eficacia y toxicidad, así como en base a los conocimientos del experto en la práctica, debería ser efectiva en una forma terapéutica dada. Tal como se entiende en el arte, una cantidad efectiva puede estar en forma de una o más dosis.

Tal como se usa en el presente documento, "tratamiento" o "tratar" es un enfoque para la obtención de un resultado beneficioso o deseado, incluyendo resultados clínicos. Para los fines de la presente invención, los resultados beneficiosos o deseados incluyen, pero sin limitarse a los mismos, la inhibición y/o la supresión de la aparición y/o del desarrollo de una enfermedad o afección que responde a la terapia con nitroxilo o la reducción de la gravedad de dicha enfermedad o afección, tal como la reducción del número y/o de la gravedad de los síntomas asociados con la enfermedad o afección, el aumento de la calidad de vida de aquellos que padecen la enfermedad o afección, la disminución de la dosis de otros fármacos necesarios para tratar la enfermedad o afección, la mejora del efecto de otro fármaco que un individuo está tomando para la enfermedad o afección y la prolongación de la supervivencia de los individuos que padecen la enfermedad o afección. La enfermedad o afección puede ser una enfermedad o afección cardiovascular, que incluye, pero sin limitación, obstrucciones coronarias, enfermedad de la arteria coronaria (CAD), angina de pecho, ataque al corazón, infarto de miocardio, hipertensión arterial, miocardiopatía isquémica e infarto, insuficiencia cardíaca diastólica, congestión pulmonar, edema pulmonar, fibrosis cardíaca, enfermedad valvular cardíaca, enfermedad pericárdica, estados congestivos circulatorios, edema periférico, ascitis, enfermedad de Chagas, hipertrofia ventricular, enfermedad de las válvulas del corazón, insuficiencia cardíaca, incluyendo, pero sin limitarse a, insuficiencia cardíaca congestiva tal como insuficiencia cardíaca congestiva aguda e insuficiencia cardíaca aguda descompensada. Los síntomas relacionados que se pueden aliviar mediante los métodos del presente documento incluyen dificultad para respirar, fatiga, tobillos o piernas hinchadas, angina de

pecho, pérdida del apetito, aumento o pérdida de peso, asociados con las enfermedades o los trastornos mencionados anteriormente. La enfermedad o afección puede implicar la lesión por isquemia/reperfusión.

Tal como se utiliza en el presente documento, "prevenir" hace referencia a la reducción de la probabilidad de desarrollar un trastorno o una afección en un individuo que no tiene, pero que está en riesgo de desarrollar un trastorno o una afección".

Un individuo "en riesgo" puede o no tener una enfermedad o afección detectable, y puede o no haber mostrado una enfermedad o afección detectable antes de los métodos de tratamiento descritos en el presente documento. "En riesgo" denota que un individuo tiene uno o más de los denominados factores de riesgo, que son parámetros medibles que se correlacionan con el desarrollo de una enfermedad o afección, y son conocidos en el arte. Un individuo que tiene uno o más de estos factores de riesgo tiene una mayor probabilidad de desarrollar la enfermedad o afección que un individuo que carece de este o estos factores de riesgo.

"Nitroxilo" hace referencia a la especie HNO.

Tal como se utiliza en el presente documento, un compuesto es un "donante de nitroxilo" si dona nitroxilo en condiciones fisiológicas. Tal como se utiliza en el presente documento, los donantes de nitroxilo de la invención se pueden denominar alternativamente "un compuesto" o "el compuesto". Preferiblemente, el donante de nitroxilo es capaz de donar una cantidad eficaz de nitroxilo *in vivo* y tiene un perfil de seguridad que indica que el compuesto sería tolerado por un individuo en la cantidad necesaria para lograr un efecto terapéutico. Cualquier experto habitual en el arte sería capaz de determinar la seguridad de la administración de determinados compuestos y dosis a sujetos vivos. Un experto en el arte también puede determinar si un compuesto es un donante de nitroxilo evaluando si libera HNO en condiciones fisiológicas. Los compuestos se pueden someter a ensayo fácilmente para determinar su donación de nitroxilo con experimentos de rutina. Aunque no es práctico medir directamente si se dona nitroxilo, se aceptan varios ensayos para determinar si un compuesto dona nitroxilo. Por ejemplo, se puede disponer el compuesto de interés en solución, por ejemplo, en agua, en un recipiente cerrado herméticamente. Tras transcurrir un tiempo suficiente para la disociación, como por ejemplo, de varios minutos a varias horas, se retira el gas del espacio de cabeza y se analiza para determinar su composición, tal como mediante cromatografía de gases y/o espectroscopia de masas. Si se forma N₂O gaseoso (que se produce por la dimerización de HNO), el ensayo es positivo para la donación de nitroxilo y el compuesto es un donante de nitroxilo. El nivel de capacidad de donación de nitroxilo se puede expresar como un porcentaje del máximo teórico de un compuesto. Un compuesto que dona un "nivel significativo de nitroxilo" pretende significar un compuesto que dona el 40 % o más o 50 % o más de su cantidad máxima teórica de nitroxilo. En una variación, los compuestos para su uso en el presente documento donan un 60 % o más de la cantidad máxima teórica de nitroxilo. En otra variación, los compuestos para su uso en el presente documento donan un 70 % o más de la cantidad máxima teórica de nitroxilo. En otra variación, los compuestos para su uso en el presente documento donan un 80 % o más de la cantidad máxima teórica de nitroxilo. En otra variación, los compuestos para su uso en el presente documento donan un 90 % o más de la cantidad máxima teórica de nitroxilo. En otra variación más, los compuestos para su uso en el presente documento donan entre aproximadamente un 70 % y aproximadamente un 90 % de la cantidad máxima teórica de nitroxilo. En otra variación más, los compuestos para su uso en el presente documento donan entre aproximadamente un 85 % y aproximadamente un 95 % de la cantidad máxima teórica de nitroxilo. En otra variación más, los compuestos para su uso en el presente documento donan entre aproximadamente un 90 % y aproximadamente un 95 % de la cantidad máxima teórica de nitroxilo. Los compuestos que donan menos del 40 % o menos del 50 % de su cantidad teórica de nitroxilo siguen siendo donantes de nitroxilo, y se pueden utilizar en la invención revelada en el presente documento. Un compuesto que dona menos del 50 % de la cantidad teórica de nitroxilo se puede utilizar en los métodos descritos, y puede requerir niveles de dosificación más altos en comparación con un compuesto que dona un nivel significativo de nitroxilo. La donación de nitroxilo también se puede detectar mediante la exposición del compuesto de ensayo a metmioglobina (Mb³⁺). El nitroxilo reacciona con la Mb³⁺ para formar un complejo Mb²⁺-NO, que se puede detectar por los cambios en el espectro ultravioleta/visible o por Resonancia Paramagnética Electrónica (RPE). El complejo Mb²⁺-NO tiene una señal de RPE centrada en torno a un valor g de aproximadamente 2. Por otra parte, el óxido nítrico reacciona con Mb³⁺ para formar un complejo Mb³⁺-NO que no da señal en la RPE. Por consiguiente, si el compuesto candidato reacciona con Mb³⁺ para formar un complejo detectable mediante métodos comunes tales como ultravioleta/visible o de RPE, entonces el ensayo es positivo para la donación de nitroxilo. Los ensayos para determinar la donación de nitroxilo se pueden realizar a un pH fisiológicamente relevante.

Un "agente inotrópico positivo", tal como se utiliza en el presente documento, es un agente que provoca un aumento en la función contráctil del miocardio. Dicho agente incluye un agonista del receptor beta-adrenérgico, un inhibidor de la actividad de la fosfodiesterasa y sensibilizadores del calcio. Los agonistas de los receptores beta-adrenérgicos incluyen, entre otros, dopamina, dobutamina, terbutalina e isoproterenol. También se pretende englobar los análogos y derivados de dichos compuestos. Por ejemplo, la Patente de EE.UU. Nº 4,663,351 describe un fármaco de dobutamina que se puede administrar por vía oral. Cualquier experto habitual en la materia sería capaz de determinar si un compuesto es capaz de causar efectos inotrópicos positivos, y también otros compuestos agonistas beta adicionales. En realizaciones particulares, el agonista de los receptores beta es selectivo para el receptor beta-

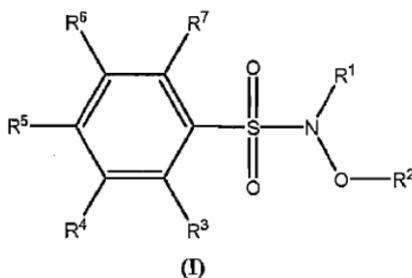
1. Sin embargo, en otras realizaciones, el agonista beta es selectivo para el receptor beta-2, o no es selectivo para ningún receptor en particular.

La expresión enfermedades o afecciones que "responden a la terapia con nitroxilo" pretende significar cualquier enfermedad o afección en la que la administración de un compuesto que dona una cantidad efectiva de nitroxilo en condiciones fisiológicas trata y/o previene la enfermedad o afección, según se definen estas expresiones en el presente documento. Una enfermedad o afección cuyos síntomas son suprimidos o disminuidos tras la administración de los donantes de nitroxilo es una enfermedad o afección que responde a la terapia con nitroxilo. Ejemplos no limitativos de enfermedades o afecciones que responden a la terapia con nitroxilo incluyen obstrucciones coronarias, enfermedad arterial coronaria (CAD), angina de pecho, ataque al corazón, infarto de miocardio, hipertensión arterial, cardiopatía isquémica e infarto, insuficiencia cardíaca diastólica, congestión pulmonar, edema pulmonar, fibrosis cardíaca, enfermedad valvular del corazón, enfermedad pericárdica, estados congestivos circulatorios, edema periférico, ascitis, enfermedad de Chagas, hipertrofia ventricular, enfermedad de la válvula del corazón, insuficiencia cardíaca, incluyendo, pero sin limitarse a, insuficiencia cardíaca congestiva tal como insuficiencia cardíaca congestiva aguda e insuficiencia cardíaca aguda descompensada. También se engloban otras enfermedades o afecciones cardiovasculares, como las enfermedades o afecciones que implican la lesión por isquemia/reperfusión.

Compuestos de N-Hidroxisulfonamida

Los compuestos de la fórmula (I) según se describe en el presente documento incluyen N-hidroxilsulfonamidas que donan nitroxilo en condiciones fisiológicas. Preferiblemente, los compuestos donan predominantemente nitroxilo en condiciones fisiológicas, lo que significa que un compuesto que dona tanto nitroxilo como óxido nítrico en condiciones fisiológicas dona más nitroxilo que óxido nítrico. Preferiblemente, los compuestos para su uso en el presente documento no donan niveles significativos de óxido nítrico en condiciones fisiológicas. De mayor preferencia, los compuestos para su uso en el presente documento donan niveles significativos de nitroxilo en condiciones fisiológicas.

25 En la fórmula (I):



R¹ es H; R² es H, aralquilo o heterociclilo; R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ son independientemente H, alquilsulfonilo, N-hidroxilsulfonamidilo o perhaloalcoxi, a condición de que al menos uno de entre R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ sea distinto de H.

In one embodiment, R¹ es H;

30 R² es H, aralquilo o heterociclilo; R⁴, R⁵ y R⁶ son independientemente H, alquilsulfonilo, N-hidroxilsulfonamidilo o perhaloalcoxi, y al menos uno de entre R³ y R⁷ es un grupo aceptor de electrones o un grupo que impide estéricamente la fracción sulfonilo. En una variación, al menos uno de entre R³ o R⁷ es un grupo aceptor de electrones. En otra variación, tanto R³ como R⁷ son grupos aceptores de electrones. En otra variación, al menos uno de entre R³ o R⁷ es un grupo que impide estéricamente la fracción sulfonilo del compuesto (I).

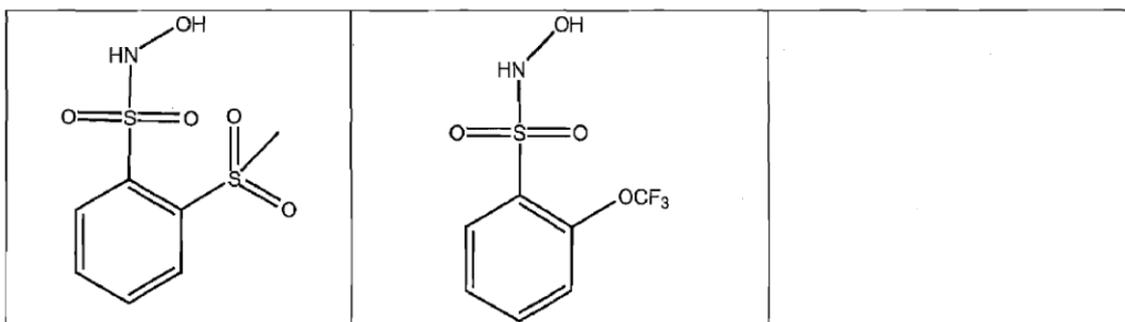
35 En otra realización, R¹ es H; R² es H,

bencilo o tetrahidropiran-2-ilo; R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, SO₂CH₃, SO₂NHOH y OCF₃, a condición de que al menos uno de entre R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ sea distinto de H.

Para cualquiera de las variaciones descritas para la fórmula (I), se incluyen las variaciones de la fórmula (I) donde R¹ es H y R² es H, bencilo o tetrahidropiran-2-ilo.

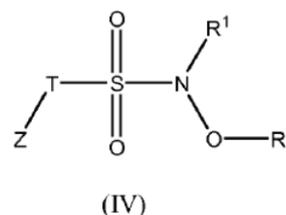
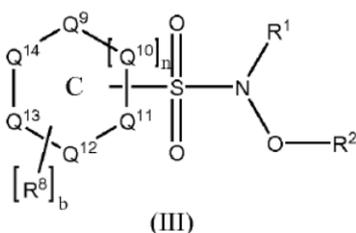
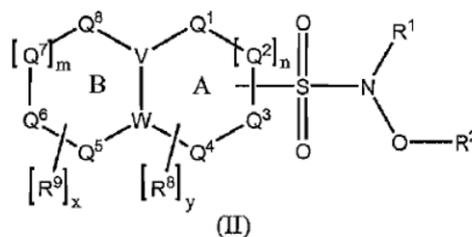
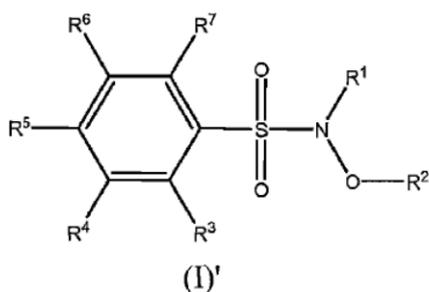
40 Entre los compuestos representativos de la fórmula (I) se incluyen, pero sin limitarse a, los siguientes compuestos que figuran en la Tabla 1.

Tabla 1. Compuestos representativos de la fórmula (I):



Compuestos para su uso en los métodos

- 5 Los métodos descritos emplean *N*-hidroxisulfonamidas que donan una cantidad efectiva de nitroxilo en condiciones fisiológicas. Cualquiera de los métodos puede emplear un compuesto de *N*-hidroxilsulfonamida descrito anteriormente en el apartado de “Compuestos de *N*-hidroxisulfonamida”. Los métodos también pueden emplear otras *N*-hidroxisulfonamidas que donen una cantidad efectiva de nitroxilo en condiciones fisiológicas, incluyendo las descritas con las fórmulas (I), (II), (III)' y (IV) que figuran a continuación:

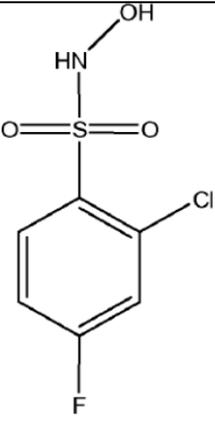
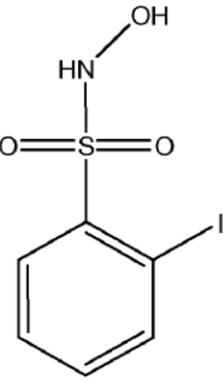
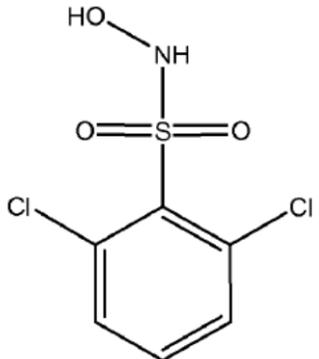
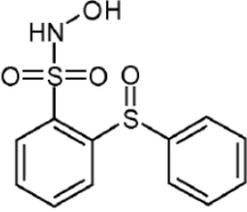
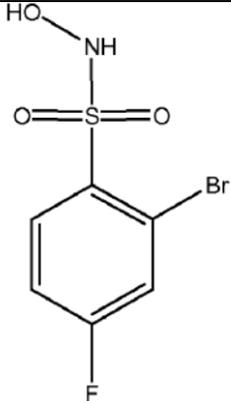
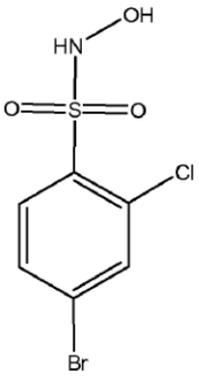
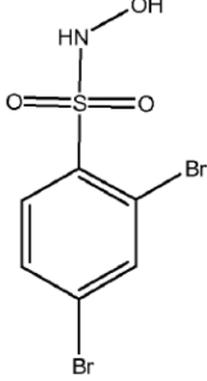
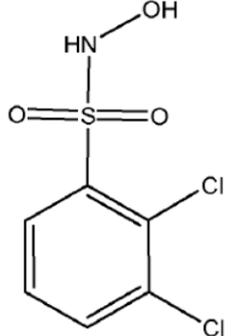


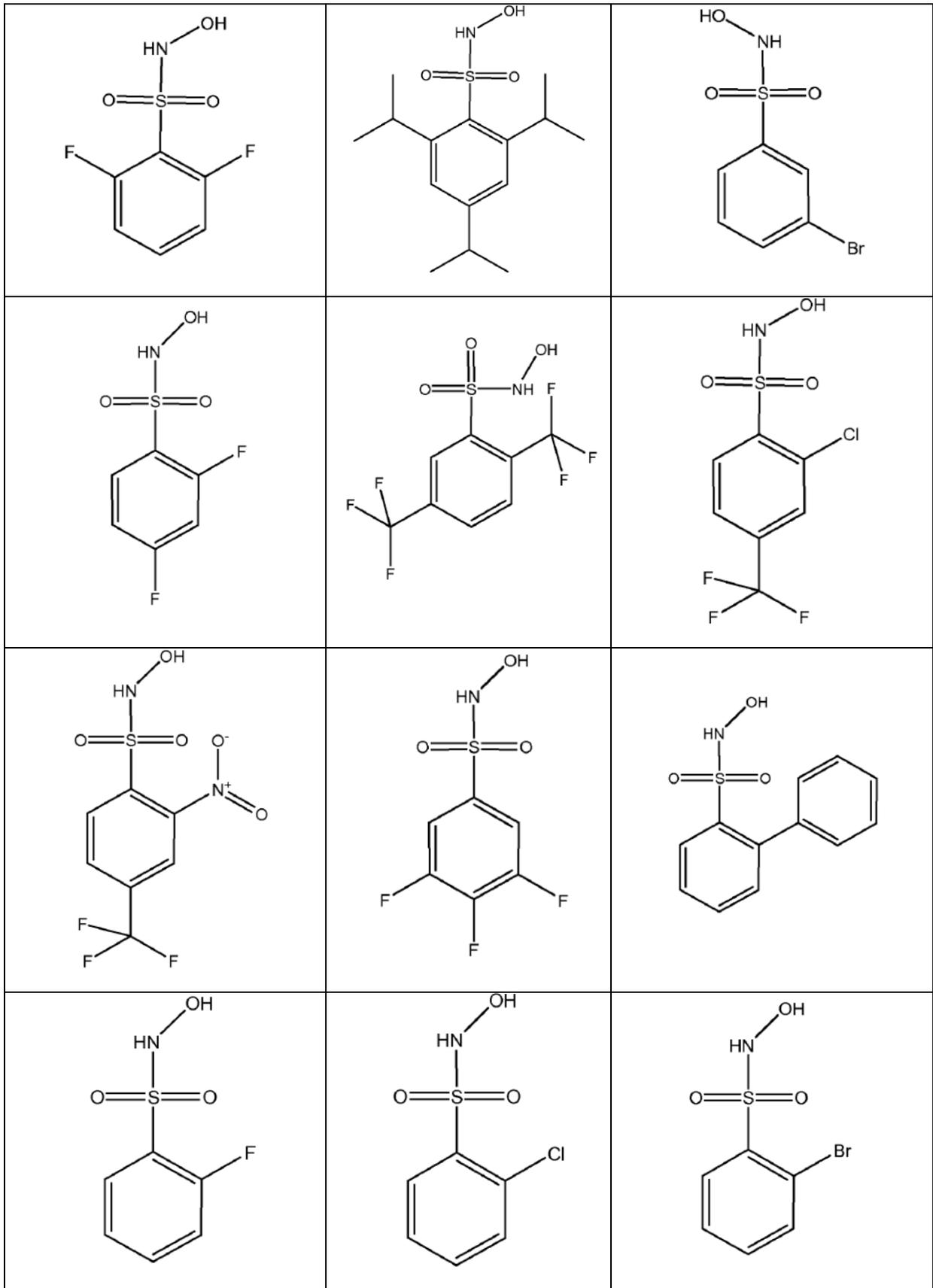
- 10 donde R^1 es H; R^2 es H; m y n son, de manera independiente, un número entero de entre 0 a 2; x y b son, de manera independiente, un número entero de entre 0 a 4; y es un número entero de 0 a 3; T es un alquilo o alquilo sustituido; Z es un grupo aceptor de electrones; R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 se seleccionan, de manera independiente, del grupo que consiste en H, halo, alquilsulfonilo, *N*-hidroxilsulfonamidilo, perhaloalquilo, nitro, arilo, ciano, alcoxi, perhaloalcoxi, alquilo, ariloxi sustituido, alquilsulfanilo, alquilsulfinilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilo sustituido,
- 15 dialquilamino, cicloalcoxi, cicloalquilsulfanilo, arilsulfanilo y arilsulfinilo, con la condición de que: (1) al menos uno de R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 sea distinto de H; cada R^8 y R^9 se selecciona, de manera independiente, del grupo que consiste en halo, alquilsulfonilo, *N*-hidroxilsulfonamidilo, perhaloalquilo, nitro, arilo, ciano, alcoxi, perhaloalcoxi, alquilo, ariloxi sustituido, alquilsulfanilo, alquilsulfinilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquilo sustituido, dialquimio, NH_2 , OH, C(O)OH, C(O)Oalquilo, NHC(O)alquilC(O)OH, C(O) NH_2 , NHC(O)alquilC(O)alquilo, NHC(O)alqueniilC(O)OH, NHC(O) NH_2 , OalquilC(O)Oalquilo; NHC(O)alquilo, C(=N-OH) NH_2 , cicloalcoxi, cicloalquilsulfanilo, arilsulfanilo y arilsulfinilo; A es un cicloalquilo, heterocicloalquilo, anillo aromático o heteroaromático, que contiene las fracciones anulares Q^1 , Q^2 , Q^3 y Q^4 , que se toman junto con los carbonos en las posiciones a y a' para formar el anillo A; B es un anillo cicloalquilo, heterocicloalquilo aromático o heteroaromático que contiene las fracciones anulares Q^5 , Q^6 , Q^7 y Q^8 , que se toman junto con los carbonos en las posiciones a y a' para formar el anillo B; Q^1 , Q^2 , Q^3 , Q^4 , Q^5 , Q^6 , Q^7 y Q^8 se seleccionan,
- 20 de manera independiente, del grupo que consiste en C, CH_2 , CH, N, NR^{10} , O y S; C es un anillo heteroaromático que contiene las fracciones anulares Q^9 , Q^{10} , Q^{11} , Q^{12} , Q^{13} y Q^{14} que se seleccionan, de manera independiente, del grupo que consiste en C, CH, N, NR^{10} , O y S; y R^{10} es H, alquilo, acilo o sulfonilo; en donde dicho “heterocicloalquilo”
- 25

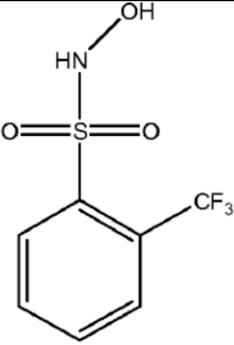
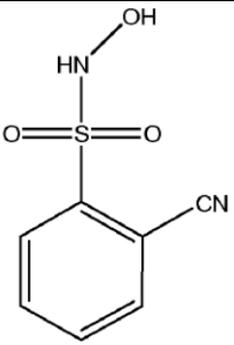
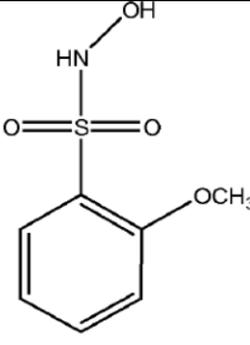
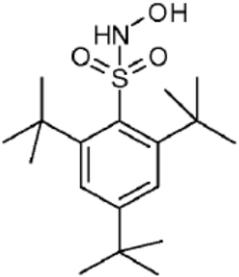
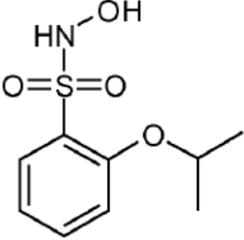
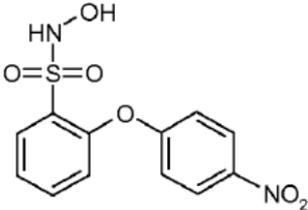
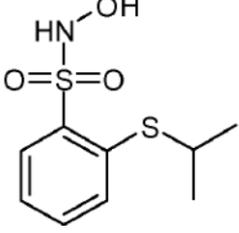
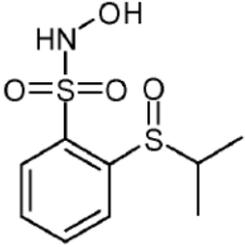
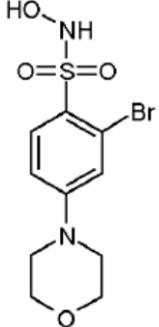
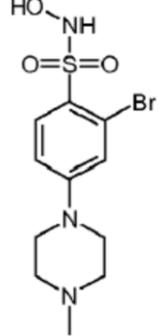
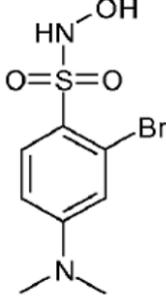
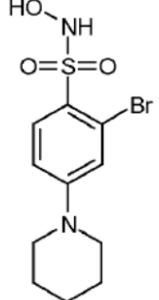
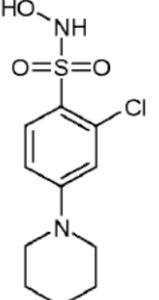
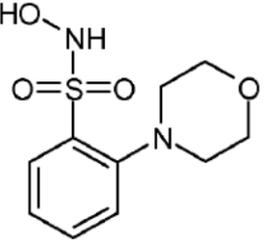
es un grupo heterociclilo sustituido con de 1 a 5 sustituyentes seleccionados de entre halo, nitro, ciano, oxo, arilo, alcoxi, alquilo, acilo, acilamino, amino, hidroxilo, carboxilo, carboxilalquilo, tiol, tioalquilo, heterociclilo y $-\text{OS}(\text{O})_2$ -alquilo; y dicho "ariloxi sustituido" es un grupo arilo conectado a la estructura parental a través de un átomo de oxígeno, grupo arilo que se sustituye con de 1 a 3 grupos seleccionados de entre halo, nitro, ciano, oxo, arilo, alcoxi, alquilo, acilo, acilamino, amino, hidroxilo, carboxilo, carboxilalquilo, tiol, tioalquilo, heterociclilo y $-\text{OS}(\text{O})_2$ -alquilo.

Cualquiera de los métodos también puede utilizar cualquiera de los compuestos de *N*-hidroxilsulfonamida específicos detallados en las Tablas 1'-4.

Tabla 1'. Compuestos representativos de la Fórmula (I)':



 <chem>OS(=O)(=O)c1ccccc1C(F)(F)F</chem>	 <chem>OS(=O)(=O)c1ccccc1C#N</chem>	 <chem>OS(=O)(=O)c1ccccc1OC</chem>
 <chem>OS(=O)(=O)c1c(C(C)(C)C)cc(C(C)(C)C)c1C(C)(C)C</chem>	 <chem>OS(=O)(=O)c1ccccc1OC(C)C</chem>	
 <chem>OS(=O)(=O)c1ccccc1Oc2ccc([N+](=O)[O-])cc2</chem>	 <chem>OS(=O)(=O)c1ccccc1SC(C)C</chem>	 <chem>OS(=O)(=O)c1ccccc1S(=O)(=O)C(C)C</chem>
 <chem>OS(=O)(=O)c1ccc(Br)cc1N2CCOCC2</chem>	 <chem>OS(=O)(=O)c1ccc(Br)cc1N2CCNCC2</chem>	 <chem>OS(=O)(=O)c1ccc(Br)cc1N(C)C</chem>
 <chem>OS(=O)(=O)c1ccc(Br)cc1N2CCNCC2</chem>	 <chem>OS(=O)(=O)c1ccc(Cl)cc1N2CCNCC2</chem>	 <chem>OS(=O)(=O)c1ccccc1N2CCOCC2</chem>

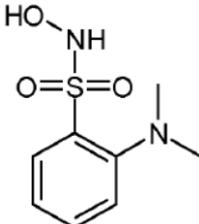
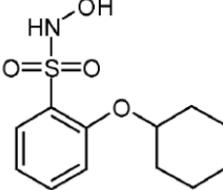
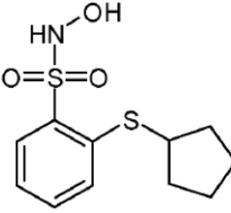
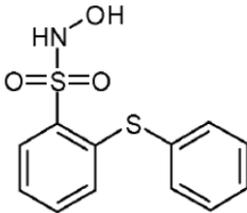
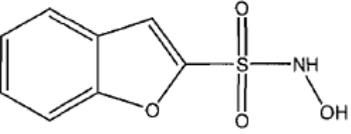
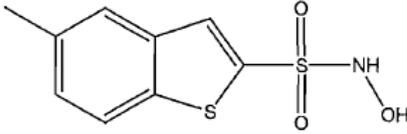
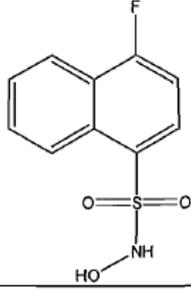
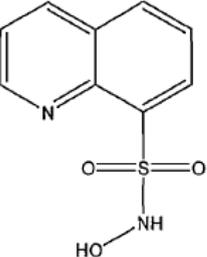
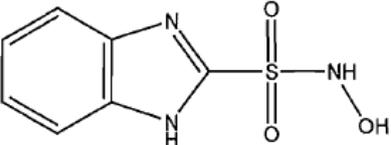
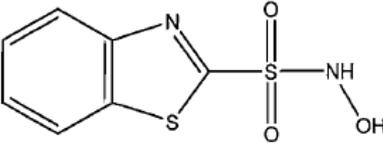
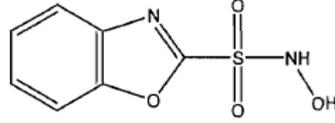
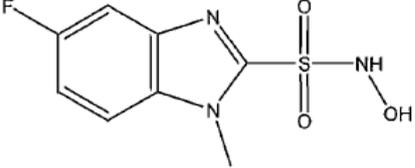
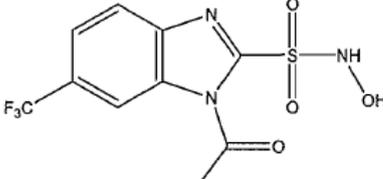
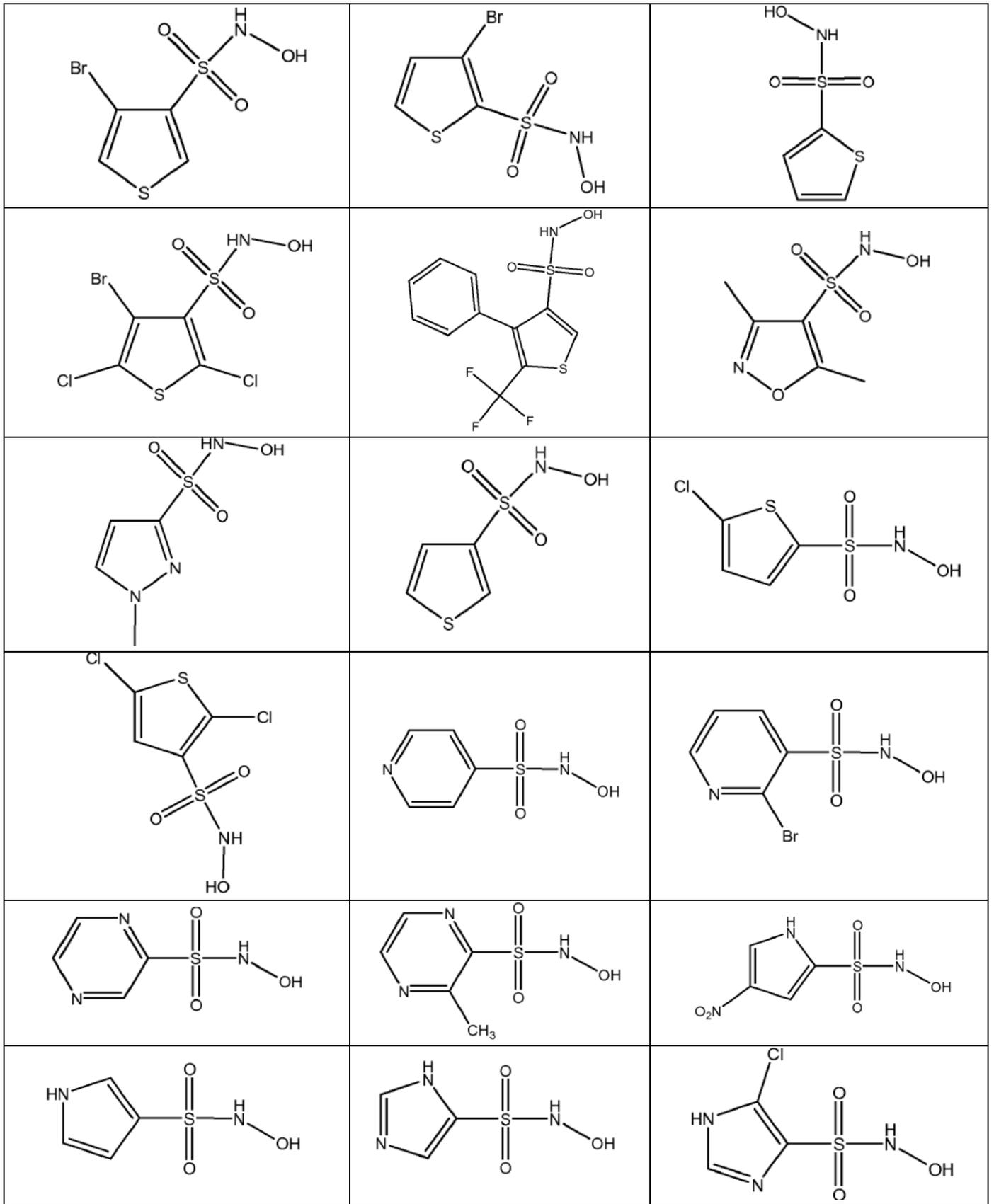
		
		

Tabla 2. Compuestos representativos de la Fórmula (II):

5

Tabla 3. Compuestos representativos de la Fórmula (III)



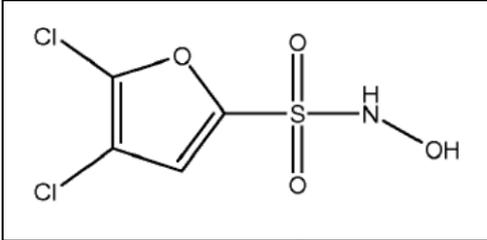
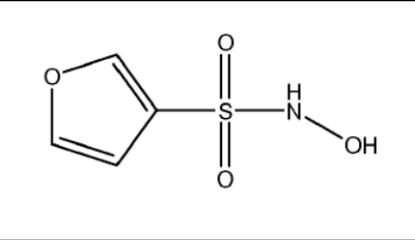
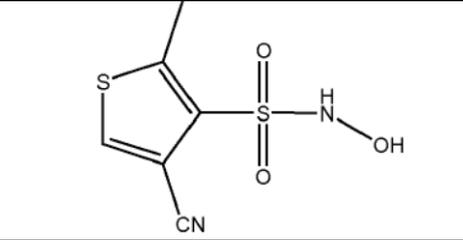
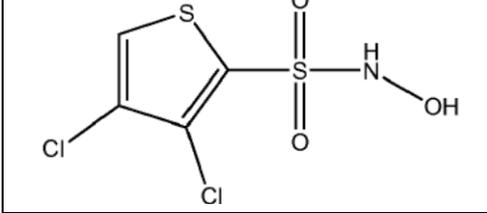
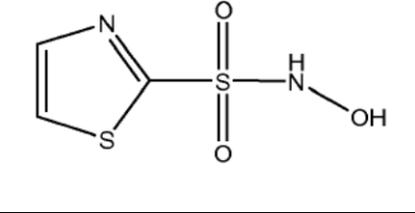
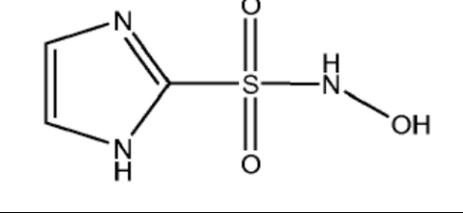
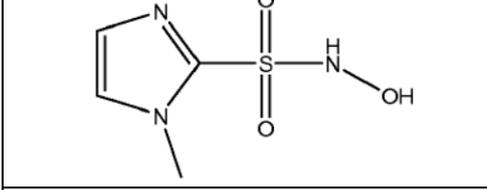
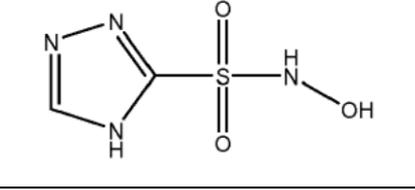
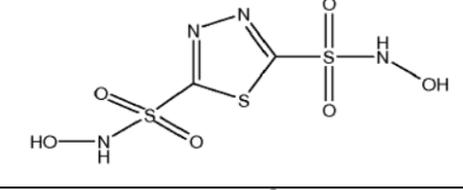
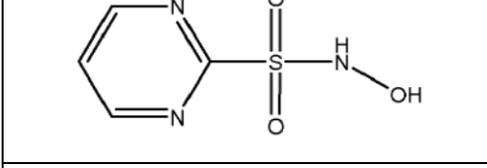
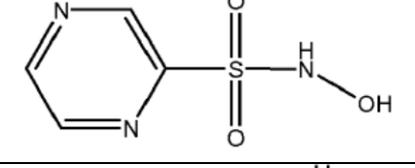
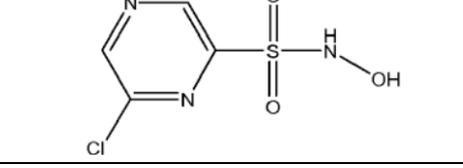
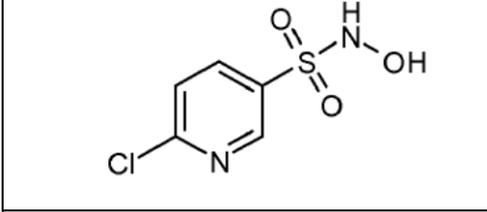
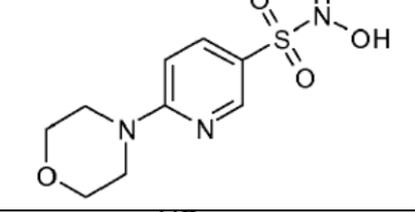
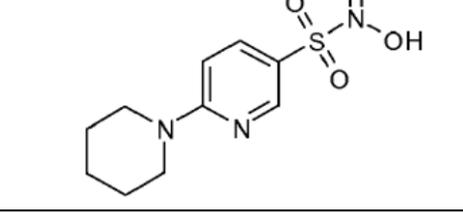
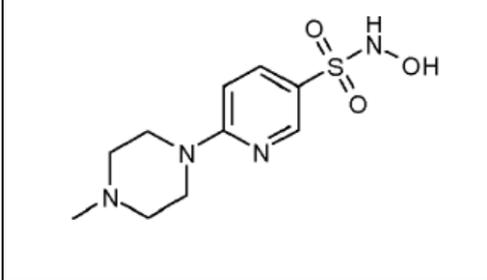
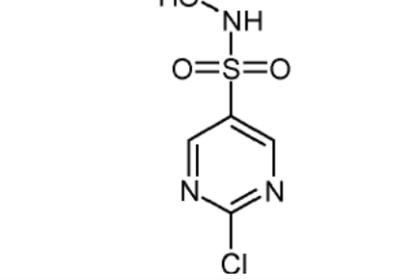
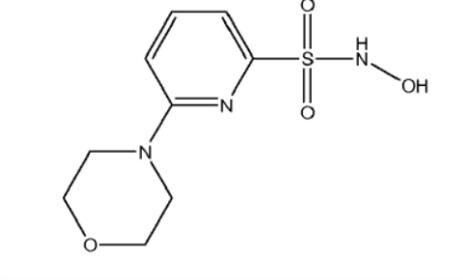
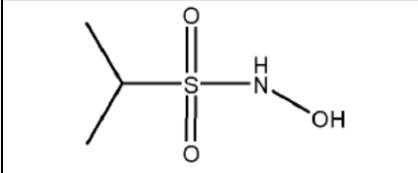
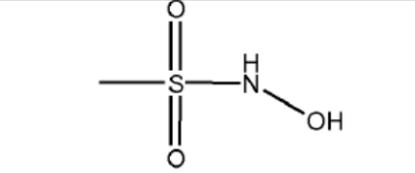
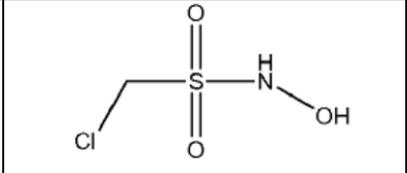
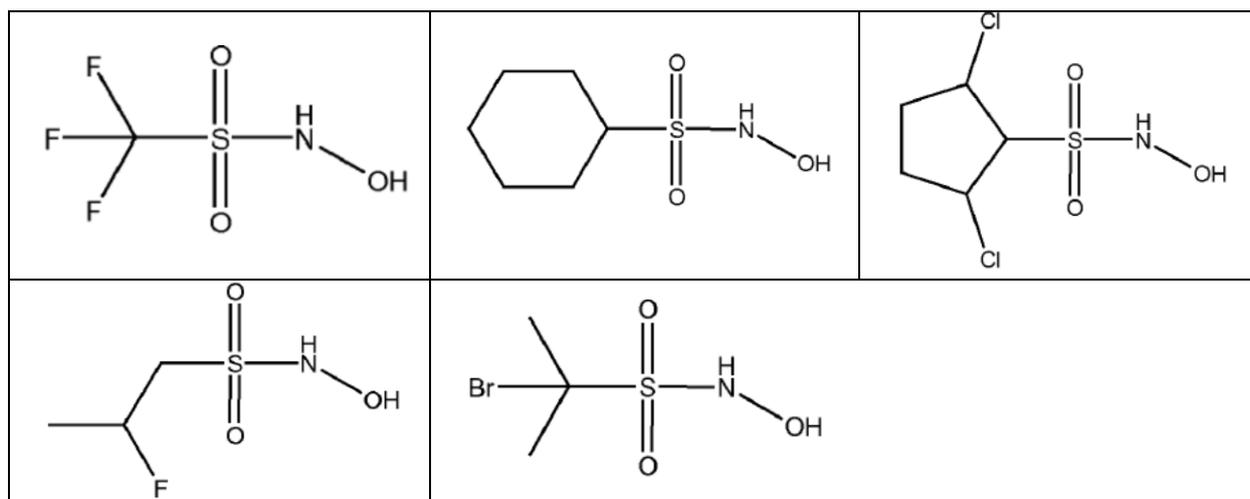
		
		
		
		
		
		

Tabla 4. Compuestos representativos de la Fórmula (IV).

		
---	--	---



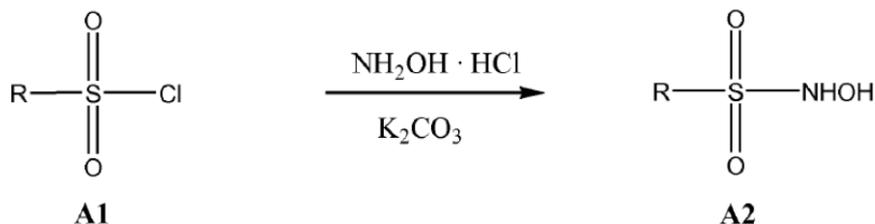
Para cualquiera de los compuestos de la Fórmula (I) para su uso en los métodos descritos en el presente documento, la relación o representación del compuesto parental pretende significar e incluir todas las sales, los solvatos, hidratos o polimorfos del mismo, cuando sea aplicable. Como tales, todas las sales, tales como las sales farmacéuticamente aceptables, los solvatos, hidratos y polimorfos de un compuesto están incluidos en la invención y se describen en el presente documento de la misma forma que si todas y cada una de las sales, los solvatos, hidratos y polimorfos se detallaran específica e individualmente.

Para todos los compuestos revelados en el presente documento, donde corresponda, debido a la presencia de un estereocentro, el compuesto pretende abarcar todos los posibles estereoisómeros del compuesto representado o descrito. Las composiciones que comprenden un compuesto con al menos un estereocentro también están incluidas en la invención, e incluyen las mezclas racémicas o mezclas que contienen un exceso enantiomérico de un enantiómero o diastereómeros individuales o mezclas diastereoméricas. La totalidad de dichas formas isoméricas de estos compuestos se incluyen expresamente en el presente documento, de la misma manera que si todas y cada una de las formas isoméricas se detallaran específica e individualmente. Los compuestos del presente documento también pueden contener enlaces (por ejemplo, enlaces carbono-carbono) en donde la rotación de los enlaces ser restringe en torno a ese enlace en particular, por ejemplo, la restricción como consecuencia de la presencia de un anillo o un doble enlace. Por consiguiente, todos los isómeros cis/trans y E/Z también se incluyen expresamente en la presente invención. Los compuestos del presente documento también se pueden representar en múltiples formas tautoméricas, en dichos casos, la invención incluye expresamente todas las formas tautoméricas de los compuestos descritos en el presente documento, a pesar de que solo se pueda representar una sola forma tautomérica. También se incluyen las composiciones de compuesto sustancialmente puro. Una composición de un compuesto sustancialmente puro significa que la composición no contiene más del 25 %, o no más del 15 %, o no más del 10 %, o no más del 5 %, o no más del 3 % de impurezas, o no más del 1 % de impurezas, tal como un compuesto biológicamente activo diferente, que puede incluir una forma estereoquímica diferente del compuesto si la composición contiene un solo isómero sustancialmente puro.

Los compuestos de la fórmula (I) se pueden elaborar de acuerdo con los métodos generales descritos en los Esquemas A-C o mediante procedimientos conocidos en el arte. Los materiales de partida para las reacciones bien se encuentran disponibles en el mercado o se pueden preparar mediante procedimientos conocidos o modificaciones obvias de los mismos. Por ejemplo, muchos de los materiales de partida se pueden obtener en proveedores comerciales tales como Sigma-Aldrich. Otros se pueden preparar mediante procedimientos o modificaciones obvias de los mismos que se describen en textos de referencia convencionales tales como "March's Advanced Organic Chemistry", (John Wiley and Sons) y "Larock's Comprehensive Organic Transformations" (VCH Publishers Inc.).

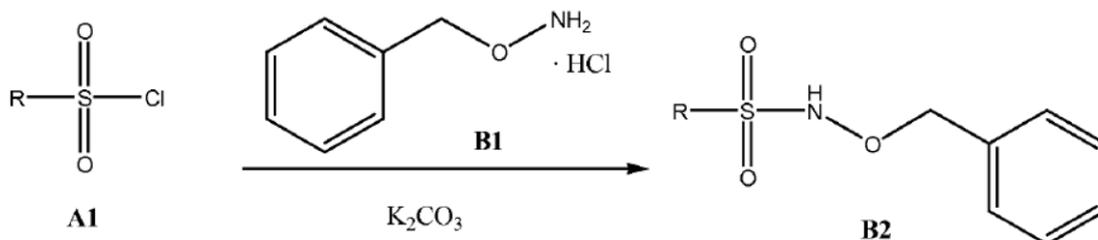
35

Esquema A. Síntesis general de *N*-hidroxisulfonamidas



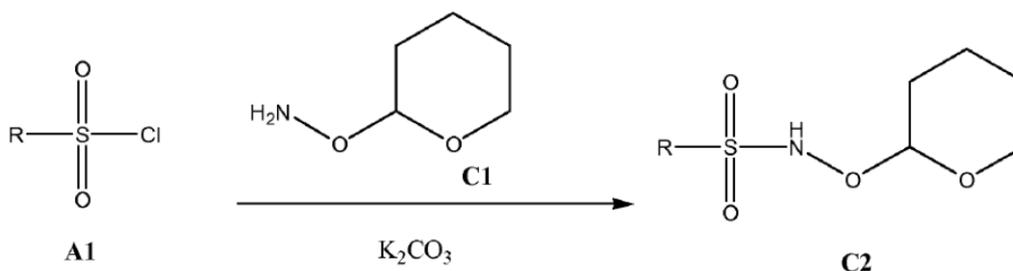
En el Esquema A, se enfría hasta 0 °C una solución de clorhidrato de hidroxilamina en agua. Se añade gota a gota una solución de carbonato de potasio en agua, manteniendo la temperatura interna de la reacción entre aproximadamente 5 °C y aproximadamente 15 °C. Se agita la mezcla de reacción durante aproximadamente 15 minutos, tras lo que se añaden tetrahidrofurano (THF) y metanol (MeOH). Se añade el compuesto A1 (donde R es un grupo alquilo, arilo o heterociclilo) en porciones manteniendo la temperatura por debajo de aproximadamente 15 °C y se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente hasta que se observa el consumo completo del cloruro de sulfonilo mediante cromatografía en capa fina (TLC). Se concentra la suspensión resultante para eliminar cualquier compuesto volátil y se extrae la suspensión acuosa con éter dietílico. Se seca la porción orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtra y se concentra *al vacío*, para producir la *N*-hidroxisulfonamida A2 en crudo. La purificación se puede realizar mediante métodos convencionales, tales como cromatografía, filtración, cristalización y similares.

Esquema B. Síntesis general de *N*-benciloxisulfonamidas intermedias



Las *N*-benciloxisulfonamidas son productos químicos intermedios que se utilizan como *N*-hidroxisulfonamidas protegidas para la modificación adicional de la fracción R del compuesto B2. En el Esquema B, se añade una suspensión de clorhidrato de *O*-bencilhidroxilamina B1 en metanol y agua a una solución enfriada de carbonato de potasio en agua, manteniendo la temperatura interna de reacción por debajo de aproximadamente 10 °C. Se agita la mezcla de reacción durante aproximadamente 5 minutos, tras lo que se añaden THF y A1 (donde R es un grupo alquilo, arilo o heterociclilo). Se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente hasta que se observa el consumo completo del cloruro de sulfonilo por TLC. Se concentra la suspensión resultante *al vacío* para eliminar cualquier compuesto volátil y se extrae la suspensión acuosa con éter dietílico. Se secó la capa orgánica sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró *al vacío*, para producir el compuesto B2 diana en crudo. La purificación se puede realizar mediante métodos convencionales, tales como cromatografía, filtración, cristalización y similares. El producto de reacción B2 se puede desproteger mediante la eliminación del grupo bencilo. Por ejemplo, se puede añadir una suspensión de paladio al 10 % sobre carbón vegetal a una suspensión de B2 en metanol. Se agita la mezcla de reacción en atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente y presión atmosférica durante una noche. Se filtra la mezcla de reacción a través de papel de microfibras de vidrio. Se concentra el filtrado resultante *al vacío*, y el residuo se purifica mediante métodos convencionales para producir la correspondiente *N*-hidroxisulfonamida.

Esquema C. Síntesis general de *N*-(tetrahydro-piran-2-ilo) sulfonamidas intermedias



Las *N*-(tetrahidro-piran-2-iloxi)sulfonamidas son productos químicos intermedios que se utilizan como *N*-hidroxisulfonamidas protegidas para las modificaciones adicionales de la fracción R del compuesto **C2**. En el Esquema C, a una solución de **C1** en agua a 0 °C, se añade una solución de carbonato de potasio en agua gota a gota, manteniendo una temperatura interna de reacción por debajo de aproximadamente 10 °C. Tras aproximadamente 15 minutos, se añaden metanol y THF gota a gota, seguido de A1 en partes. Se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente hasta que se observa el consumo completo del cloruro de sulfonilo mediante TLC. Se concentra la suspensión resultante para eliminar cualquier compuesto volátil y se extrae la suspensión acuosa con éter dietílico. Se seca la porción orgánica sobre sulfato de sodio, se filtra y se concentra *al vacío*, para producir el compuesto diana **C2** en crudo. La purificación se puede realizar mediante métodos convencionales, tales como cromatografía, filtración, cristalización y similares. La desprotección de **C2** para producir la correspondiente *N*-hidroxilsulfonamida se puede llevar a cabo de acuerdo con métodos conocidos en la técnica.

Los ejemplos en particular de los compuestos elaborados de acuerdo con los procedimientos generales de síntesis de los Esquemas A-C se encuentran en los Ejemplos 1-3.

Métodos de uso de los compuestos y las composiciones

15 Los compuestos y las composiciones del presente documento se pueden utilizar para tratar y/o prevenir la aparición y/o el desarrollo de una enfermedad o afección que responde a la terapia con nitroxilo.

La presente revelación hace referencia a métodos para la administración a un individuo (incluyendo un individuo identificado como uno en necesidad de dicho tratamiento) de una cantidad efectiva de un compuesto para producir un efecto deseado. La identificación de un sujeto en necesidad de dicho tratamiento puede depender de la opinión un médico, personal clínico, personal de respuesta de emergencia u otro profesional de atención sanitaria, y puede ser subjetiva (por ejemplo, opinión) u objetiva (por ejemplo, medible mediante un análisis o un método de diagnóstico).

25 En un aspecto la presente realización hace referencia a un método para modular (incluyendo aumentar) los niveles de nitroxilo *in vivo* en un individuo en necesidad de ello, donde el método comprende administrar al individuo un compuesto que dona nitroxilo en condiciones fisiológicas o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Un individuo está en necesidad de modulación del nitroxilo si tiene o se sospecha que tiene, o está en riesgo de tener o desarrollar una enfermedad o afección que responde a la terapia con nitroxilo.

30 Entre las enfermedades o afecciones relevantes en particular se incluyen enfermedades cardiovasculares tales como insuficiencia cardíaca o afecciones y enfermedades o afecciones que implican o pueden implicar la lesión por isquemia/reperfusión. Estos métodos se describen en mayor detalle a continuación.

La presente invención proporciona composiciones que comprenden un compuesto donante de nitroxilo. Sin embargo, los métodos descritos pueden utilizar más de un compuesto donante de nitroxilo; por ejemplo, los métodos pueden emplear sal de Angeli y una *N*-hidroxisulfonamida de la fórmula (I) según se ha definido anteriormente o dos o más *N*-hidroxisulfonamidas de la fórmula (I) según se ha definido anteriormente, que se pueden administrar conjunta o secuencialmente.

Enfermedades cardiovasculares

La presente revelación hace referencia a métodos de tratamiento de enfermedades cardiovasculares tales como la insuficiencia cardíaca mediante la administración de una cantidad efectiva de al menos un compuesto donante de nitroxilo a un individuo en necesidad del mismo. También hace referencia a métodos de administración de una dosis terapéuticamente efectiva de al menos un compuesto donante de nitroxilo en combinación con al menos otro agente inotrópico positivo, a un individuo en necesidad del mismo. También hace referencia a métodos de administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un compuesto donante de nitroxilo a un individuo que está recibiendo terapia de antagonista beta y que está experimentando insuficiencia cardíaca. También hace referencia a métodos para la administración de compuestos de la fórmula (I) según se ha definido anteriormente, en combinación con agonistas beta-adrenérgicos para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca. Dichos agonistas incluyen dopamina, dobutamina e isoproterenol, y análogos y derivados de dichos compuestos. También hace referencia a métodos de administración de donantes de nitroxilo a individuos que reciben tratamiento con agentes antagonistas beta tales como propranolol, metoprolol, bisoprolol, bucindolol y carvedilol. También hace referencia a métodos para el tratamiento de las clasificaciones específicas de la insuficiencia cardíaca, tales como la insuficiencia cardíaca de Clase III y la insuficiencia cardíaca aguda.

La presente revelación también hace referencia a un método de tratamiento de la insuficiencia cardíaca congestiva (ICC), incluyendo la insuficiencia cardíaca congestiva aguda, mediante la administración de una cantidad eficaz de al menos un compuesto donante de nitroxilo a un individuo en necesidad del mismo, individuo que puede estar experimentando insuficiencia cardíaca. También hace referencia a un método de tratamiento de la ICC mediante la

administración de una cantidad efectiva de al menos un compuesto donante de nitroxilo en combinación con una cantidad efectiva de al menos otro agente inotrópico positivo a un individuo en necesidad del mismo, individuo que puede estar experimentando insuficiencia cardiaca. En una variación, el otro fármaco inotrópico positivo es un agonista beta-adrenérgico tal como dobutamina. La administración combinada de un donante de nitroxilo y al menos otro agente inotrópico positivo comprende la administración del donante de nitroxilo bien secuencialmente con el otro agente inotrópico positivo, por ejemplo, el tratamiento con un primer agente y luego con un segundo agente, o la administración de ambos agentes sustancialmente al mismo tiempo, en donde hay un solapamiento en la realización de la administración. Con la administración secuencial, un individuo se expone a los agentes en diferentes momentos, mientras una cierta cantidad del primer agente, que es suficiente para ser terapéuticamente efectiva en combinación con el segundo agente, permanece en el sujeto cuando se administra el otro agente. El tratamiento con ambos agentes al mismo tiempo puede implicar la administración de los agentes en la misma dosis, tal como una dosis mezclada físicamente, o en dosis separadas administradas al mismo tiempo.

La presente revelación también hace referencia a un método en el que un donante de nitroxilo se administra a un individuo que experimenta insuficiencia cardiaca que está recibiendo terapia con antagonista beta. Un antagonista beta (también conocido como bloqueador beta) incluye cualquier compuesto que actúa de manera efectiva como un antagonista de los receptores beta-adrenérgicos de un sujeto y proporciona los resultados terapéuticos o farmacéuticos deseados, tales como la disminución del tono vascular y/o la frecuencia cardiaca. Un sujeto que está recibiendo terapia con antagonista beta es cualquier sujeto a quien se ha administrado una antagonista beta y en quien el antagonista beta sigue actuando como un antagonista en los receptores beta-adrenérgicos del sujeto. Se puede realizar una determinación de si un sujeto está recibiendo terapia con bloqueadores beta mediante un examen del historial clínico del sujeto. De forma alternativa, se puede realizar una exploración al sujeto en busca de la presencia de agentes bloqueadores beta mediante ensayos químicos tales como la cromatografía líquida de alta velocidad, según lo descrito en Thevis et al., *Biomed Chromatogr.*, 15:393-402 (2001).

La administración de un compuesto donante de nitroxilo ya sea solo, en combinación con un agente inotrópico positivo, o a un sujeto que recibe terapia con antagonista beta, se utiliza para tratar la insuficiencia cardiaca de todas las clasificaciones. La presente revelación también hace referencia a un método en el que un compuesto donante de nitroxilo se utiliza para tratar la insuficiencia cardiaca crónica en etapa temprana, tal como la insuficiencia cardiaca de Clase II. De forma alternativa, se puede utilizar un compuesto donante de nitroxilo en combinación con un agente inotrópico positivo, tal como el isoproterenol, para tratar la insuficiencia cardiaca de Clase IV. De forma alternativa, se puede utilizar un compuesto donante de nitroxilo en combinación con otro agente inotrópico positivo, tal como el isoproterenol, para tratar la insuficiencia cardiaca aguda. En algunos métodos, cuando se utiliza un donante de nitroxilo para tratar la insuficiencia cardiaca en etapa temprana, la dosis administrada es inferior a la utilizada para tratar la insuficiencia cardiaca aguda. En otros métodos la dosis es la misma que se utiliza para tratar la insuficiencia cardiaca aguda.

35 Lesión por isquemia/reperfusión

La presente revelación hace referencia a métodos de tratamiento o prevención o protección contra la lesión por isquemia/reperfusión. En particular, los compuestos de la fórmula (I) son beneficiosos para individuos en riesgo de sufrir un evento isquémico. Por lo tanto, en el presente documento se revela un método para la prevención o reducción de lesiones asociadas con la isquemia/reperfusión mediante la administración de una cantidad efectiva de al menos un compuesto donante de nitroxilo a un individuo, preferiblemente antes de la aparición de la isquemia. Se puede administrar un compuesto de la fórmula (I) a un individuo después de la isquemia, pero antes de la reperfusión. Un compuesto de la fórmula (I) también se puede administrar después de la isquemia/reperfusión, pero cuando la administración proteja contra una lesión mayor. La presente revelación también hace referencia a un método en el que se demuestra que el individuo está en riesgo de sufrir un evento isquémico. También hace referencia a un método de administración de un compuesto donante de nitroxilo a un órgano que va a ser trasplantado, en una cantidad efectiva para reducir la lesión por isquemia/reperfusión de los tejidos del órgano tras la reperfusión en el receptor del órgano trasplantado.

Los donantes de nitroxilo para su uso de acuerdo a la invención se pueden utilizar, por tanto, en métodos para la prevención o reducción de lesiones asociadas con una futura isquemia/reperfusión. Por ejemplo, la administración de un donante de nitroxilo antes de la aparición de la isquemia puede reducir la necrosis de los tejidos (el tamaño de infarto) en los tejidos en riesgo. En sujetos vivos, esto se puede lograr mediante la administración de una cantidad efectiva de un compuesto donante de nitroxilo a un individuo antes de la aparición de la isquemia. En los órganos que se van a transplantar, esto se logra poniendo en contacto el órgano con un donante de nitroxilo antes de la reperfusión del órgano en el receptor del trasplante. Las composiciones que comprenden más de un compuesto donante de nitroxilo también se podrían utilizar en los métodos descritos, por ejemplo, sal de Angeli y una *N*-hidroxisulfonamida de la fórmula (I), o dos o más *N*-hidroxisulfonamidas de la fórmula (I). El compuesto donante de nitroxilo también se puede utilizar en combinación con otras clases de agentes terapéuticos que están diseñados para minimizar la lesión isquémica, tales como bloqueadores beta, bloqueadores de los canales de calcio, terapia antiplaquetaria u otras intervenciones para la protección del miocardio en individuos con enfermedad en las arterias coronarias.

Un método de administración de un donante de nitroxilo a sujetos vivos incluye la administración del compuesto donante de nitroxilo antes de la aparición de la isquemia. Esto hace referencia solo a la aparición de cada caso de isquemia y no impediría la realización del método con los sujetos que hubieran tenido episodios isquémicos previos, es decir, el método también contempla la administración de compuestos donantes de nitroxilo a un sujeto que ha sufrido un episodio isquémico en el pasado.

Se pueden seleccionar individuos que estén en riesgo de sufrir un primer o posterior episodio isquémico. Los ejemplos incluyen individuos con hipercolesterolemia conocida, cambios en el ECG asociados con el riesgo de isquemia, estilo de vida sedentario, evidencia angiográfica de obstrucción parcial de las arterias coronarias, evidencia ecocardiográfica de daño miocárdico, o cualquier otra evidencia de un riesgo de sufrir un futuro o adicional episodio isquémico (por ejemplo, un episodio isquémico de miocardio tal como un infarto de miocardio (IM), o una isquemia neurovascular tal como un accidente cerebrovascular (ACV). En ejemplos particulares de los métodos, para el tratamiento se seleccionan individuos que están en riesgo de sufrir una futura isquemia, pero que no presentan evidencias de isquemia (tales como cambios electrocardiográficos relacionados con la isquemia (por ejemplo, ondas T en su pico máximo o invertidas, o elevaciones o depresión del segmento ST en un contexto clínico apropiado), la CKMB elevada o evidencia clínica de isquemia, tal como dolor opresivo subesternal en el pecho o dolor en el brazo, dificultad respiratoria y/o diaforesis). El compuesto donante de nitroxilo también se podría administrar antes de los procedimientos en los que puede ocurrir la isquemia de miocardio, por ejemplo, una angioplastia o cirugía (tal como una cirugía de injerto de derivación de la arteria coronaria). La presente revelación también hace referencia a un método de administración de un compuesto donante de nitroxilo a un individuo que tiene un riesgo demostrado de padecer un episodio isquémico. La selección de un individuo en dicho estado se podría realizar mediante una variedad de métodos, algunos de los cuales se han destacado anteriormente. Por ejemplo, un individuo con uno de más de un ECG anormal no asociado con isquemia activa, historia previa de infarto de miocardio, colesterol elevado en suero, etc., estaría en riesgo de sufrir una isquemia. Por lo tanto, se podría seleccionar un individuo en situación de riesgo mediante un ensayo físico o la obtención de la posible historia clínica del sujeto para determinar si el sujeto tiene cualquier indicación de riesgo de sufrir un episodio isquémico. Si se demuestra el riesgo en base a las indicaciones mencionadas anteriormente, o cualquier otra indicación apreciada por cualquier experto en el arte, entonces se consideraría que el individuo está en situación de riesgo demostrado de sufrir un episodio isquémico.

La isquemia/reperusión puede dañar otros tejidos distintos de los del miocardio, y la presente revelación hace referencia a métodos de tratamiento o prevención de dichos daños. En una variación, el método encuentra su uso en la reducción de lesiones por isquemia/reperusión en el tejido del cerebro, hígado, tracto gastrointestinal, riñón, intestino o en cualquier otro tejido. Los métodos implican preferiblemente la administración de un donante de nitroxilo a un individuo en riesgo de dichas lesiones. La selección de una persona en riesgo de sufrir isquemia no miocárdica podría incluir la determinación de los indicadores utilizados para evaluar el riesgo de isquemia miocárdica. Sin embargo, hay otros factores que pueden indicar un riesgo de isquemia/reperusión en otros tejidos. Por ejemplo, los pacientes sometidos a cirugía a menudo experimentan isquemia relacionada con la cirugía. Así pues, los individuos programados para una cirugía se podrían considerar en riesgo de sufrir un episodio isquémico. Los siguientes factores de riesgo para la apoplejía (o un subconjunto de estos factores de riesgo) demostrarían el riesgo de un sujeto para sufrir la isquemia del tejido cerebral: hipertensión, tabaquismo, estenosis de la arteria carótida, inactividad física, diabetes mellitus, hiperlipidemia, accidente isquémico transitorio, fibrilación auricular, enfermedad de las arterias coronarias, insuficiencia cardíaca congestiva, infarto de miocardio pasado, disfunción ventricular izquierda con trombo mural y estenosis mitral. Ingall, "Preventing ischemic stroke: current approaches to primary and secondary prevention", *Postgrad Med.*, 107(6):34.50 (2000). Además, las complicaciones de la diarrea infecciosa no tratada en ancianos pueden incluir isquemia miocárdica, renal, cerebrovascular e intestinal. Slotwiner-Nie y Brandt, "Infectious diarrhea in the elderly", *Gastroenterol, Clin. N. Am.*, 30(3):625-635 (2001). De manera alternativa, los individuos se podrían seleccionar en base a factores de riesgo de isquemia intestinal, renal o hepática. Por ejemplo, el tratamiento se iniciaría en sujetos de edad avanzada con riesgo de episodios de hipotensión (tales como la pérdida quirúrgica de sangre). Por lo tanto, los sujetos que presentan dicha indicación se considerarían en riesgo de sufrir un episodio isquémico. La presente revelación también hace referencia a un método de administración de un compuesto donante de nitroxilo de la fórmula (I) a un individuo que tiene una cualquiera o más de las afecciones detalladas en el presente documento, tales como la diabetes mellitus o hipertensión. Otras afecciones que pueden producir isquemia, tales como la malformación arteriovenosa cerebral, se tendrían en cuenta para demostrar el riesgo de sufrir un episodio isquémico.

El método de administración de nitroxilo a los órganos que se van a transplantar incluye la administración de nitroxilo antes de la extracción del órgano del donante, por ejemplo, a través de las cánulas de perfusión utilizadas en el proceso de extracción del órgano. Si el donante del órgano es un donante vivo, por ejemplo, un donante de riñón, el donante de nitroxilo se puede administrar al donante del órgano, según se ha descrito anteriormente para un sujeto en riesgo de sufrir un episodio isquémico. En otros casos, el donante de nitroxilo se puede administrar almacenando el órgano en una solución que comprende el donante de nitroxilo. Por ejemplo, el donante de nitroxilo se puede incluir en la solución de conservación de órganos, tal como la solución de la Universidad de Wisconsin "UW", que es una solución que comprende almidón de hidroxietilo sustancialmente libre de etilenglicol, etilenclorhidrina y acetona (véase la patente de EE.UU. N° 4,798,824).

Composición farmacéutica, formas de dosificación y pautas de tratamiento

La presente invención proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y cualquiera de los métodos revelados puede emplear los compuestos de la fórmula (I) como una composición farmacéuticamente aceptable. Una composición farmacéuticamente aceptable incluye uno o más de los compuestos de la fórmula (I) junto con un soporte farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen aquellas adecuadas para su administración por vía oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica).

Los compuestos o las composiciones se pueden preparar como cualquier forma de dosificación disponible. También se incluyen las formas de dosificación unitaria, que incluyen unidades discretas del compuesto o de la composición tales como cápsulas, sobres o comprimidos, donde cada una contienen una cantidad predeterminada del compuesto; en forma de polvo o gránulos; en forma de una solución o una suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o en forma de una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite, o envasadas en liposomas y en forma de un bolo, etc.

Se puede preparar un comprimido que contenga el compuesto o la composición mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes adyuvantes. Los comprimidos preparados por compresión se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada el principio activo en una forma suelta tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclada con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservante, agente tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden preparar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden estar opcionalmente recubiertos o ranurados y se pueden formular de manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del principio activo en los mismos. Los métodos de formulación de dichas composiciones de liberación lenta o controlada de principios farmacéuticamente activos, tales como los del presente documento y otros compuestos conocidos en el arte, se conocen en el arte y se describen en varias patentes de EE.UU. expedidas, algunas de las cuales incluyen, pero sin limitación, las patentes de EE.UU. Nº 4,369,174 y 4,842,866 y las referencias citadas en las mismas. Los recubrimientos se pueden utilizar para la administración de los compuestos en el intestino (véase, por ejemplo, las patentes de EE.UU. Nº 6,638,534, 5,217,720 y 6,569,457 y las referencias citadas en las mismas). Cualquier experto en el arte reconocerá que, además de comprimidos, se pueden formular otras formas de dosificación para proporcionar una liberación lenta o controlada del principio activo. Dichas formas de dosificación incluyen, pero sin limitación, cápsulas, granulados y cápsulas de gelatina.

Las composiciones adecuadas para la administración tópica incluyen pastillas que comprenden los ingredientes en una base aromatizada, normalmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto; y pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga.

Las composiciones adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones acuosas y no acuosas estériles para inyección que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que convierten la formulación en isotónica con la sangre del receptor deseado; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones se pueden presentar en recipientes monodosis o multidosis, por ejemplo, ampollas y viales cerrados herméticamente, y se pueden almacenar en condiciones de criodesecación (liofilización) que solamente requieren la adición del soporte líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso.

Se pueden preparar soluciones y suspensiones extemporáneas para inyección a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos.

La administración de los compuestos o las composiciones a un individuo puede implicar la exposición sistémica o puede ser la administración local, tal como cuando se va a administrar un compuesto o una composición en el sitio de interés. Se pueden utilizar diversas técnicas para proporcionar al sujeto las composiciones en el sitio de interés, tales como a través de inyección, uso de catéteres, trocares, proyectiles, gel pluronic, tubos, polímeros para la liberación sostenida de fármacos u otro dispositivo que proporcione el acceso interno. Cuando se puede acceder a un órgano o tejido debido a su extracción del paciente, dicho órgano o tejido se puede aplicar a un baño en un medio que contenga las composiciones objeto de la invención, se puede pintar el órgano con las composiciones objeto de la invención, o se pueden aplicar de cualquier manera conveniente. Los métodos relacionados con la presente revelación engloban la administración de los compuestos a un órgano que se vaya a donar (de una forma tal para prevenir lesiones por isquemia/reperfusión). Por consiguiente, los órganos que se extraen de un individuo para su trasplante en otro individuo se pueden introducir en un baño en un medio que contenga, o de otro modo exponerlos a, un compuesto o una composición según lo descrito en el presente documento.

Los compuestos de la fórmula (I) se pueden administrar en cualquier cantidad de dosificación adecuada, que puede incluir niveles de dosificación de aproximadamente 0,0001 a 4,0 gramos una vez al día (o múltiples dosis al día en dosis divididas) para adultos. Por lo tanto, en ciertos métodos, un compuesto del presente documento se administra

- a una dosis en cualquier rango de dosificación en el que el límite inferior del rango sea cualquier cantidad de entre 0,1 mg/día y 400 mg/día, y el límite superior del rango sea cualquier cantidad de entre de 1 mg/día y 4.000 mg/día (por ejemplo, 5 mg/día y 100 mg/día, 150 mg/día y 500 mg/día). En otros métodos, un compuesto del presente documento se administra a una dosis en cualquier rango de dosificación en el que el límite inferior del rango sea cualquier cantidad de entre 0,1 mg/kg/día y 90 mg/kg/día y el límite superior del rango sea cualquier cantidad de entre 1 mg/kg/día y 32.100 mg/kg/día (por ejemplo, 0,5 mg/kg/día y 2 mg/kg/día, 5 mg/kg/día y 20 mg/kg/día). El rango de dosificación se puede ajustar de acuerdo a las necesidades del individuo. Para intervalos de administración más prolongados, se pueden utilizar formulaciones de liberación prolongada o "depot". La dosificación puede ser proporcional a la administración intravenosa. Por ejemplo, el compuesto se puede administrar, por ejemplo, tal como en una composición farmacéutica que sea susceptible a la administración intravenosa, en una cantidad de entre aproximadamente 0,01 µg/kg/min y aproximadamente 100 µg/kg/min o entre aproximadamente 0,05 µg/kg/min y aproximadamente 95 µg/kg/min o entre aproximadamente 0,1 µg/kg/min y aproximadamente 90 µg/kg/min o entre aproximadamente 1,0 µg/kg/min y aproximadamente 80 µg/kg/min o entre aproximadamente 10,0 µg/kg/min y aproximadamente 70 µg/kg/min o entre aproximadamente 20 µg/kg/min y aproximadamente 60 µg/kg/min o entre aproximadamente 30 µg/kg/min y aproximadamente 50 µg/kg/min o entre aproximadamente 0,01 µg/kg/min y aproximadamente 1,0 µg/kg/min o entre aproximadamente 0,01 µg/kg/min y aproximadamente 10 µg/kg/min o entre aproximadamente 0,1 µg/kg/min y aproximadamente 1,0 µg/kg/min o entre aproximadamente 0,1 µg/kg/min y aproximadamente 10 µg/kg/min o entre aproximadamente 10 µg/kg/min o entre aproximadamente 1,0 µg/kg/min y aproximadamente 5 µg/kg/min o entre aproximadamente 70 µg/kg/min y aproximadamente 100 g/kg/min o entre aproximadamente 80 µg/kg/min y aproximadamente 90 µg/kg/min. En una variación, el compuesto se administra a un individuo, tal como en una composición farmacéutica que es susceptible a la administración intravenosa, en una cantidad de al menos aproximadamente 0,01 µg/kg/min o al menos aproximadamente 0,05 µg/kg/min o al menos aproximadamente 0,1 µg/kg/min o al menos aproximadamente 0,15 µg/kg/min o al menos aproximadamente 0,25 µg/kg/min o al menos aproximadamente 0,5 µg/kg/min o al menos aproximadamente 1,0 µg/kg/min o al menos aproximadamente 1 µg/kg/min o al menos aproximadamente 5,0 µg/kg/min o al menos aproximadamente 10,0 µg/kg/min o al menos aproximadamente 20,0 µg/kg/min o al menos aproximadamente 30,0 µg/kg/min o al menos aproximadamente 40,0 µg/kg/min o al menos aproximadamente 50,0 µg/kg/min o al menos aproximadamente 60,0 µg/kg/min o al menos aproximadamente 70,0 µg/kg/min o al menos aproximadamente 100,0 µg/kg/min o más. En otra variación, el compuesto se administra a un individuo, tal como en una composición farmacéutica que es susceptible a la administración intravenosa, en una cantidad de menos de aproximadamente 100,0 µg/kg/min o menos de aproximadamente 90,0 µg/kg/min o menos de aproximadamente 80,0 µg/kg/min o menos de aproximadamente 80,0 µg/kg/min o menos de aproximadamente 70,0 µg/kg/min o menos de aproximadamente 60,0 µg/kg/min o menos de aproximadamente 50,0 µg/kg/min o menos de aproximadamente 40,0 µg/kg/min o menos de aproximadamente 30,0 µg/kg/min o menos de aproximadamente 20,0 µg/kg/min o menos de aproximadamente 10,0 µg/kg/min o menos de aproximadamente 5,0 µg/kg/min o menos de aproximadamente 2,5 µg/kg/min o menos de aproximadamente 1,0 µg/kg/min o menos de aproximadamente 0,5 µg/kg/min o menos de aproximadamente 0,05 µg/kg/min o menos de aproximadamente 0,15 µg/kg/min o menos de aproximadamente 0,1 µg/kg/min o menos de aproximadamente 0,05 µg/kg/min o menos de aproximadamente 0,01 µg/kg/min.
- 40 La presente revelación hace referencia además a kits que comprenden uno o más compuestos según lo descrito en el presente documento. Los kits pueden emplear cualquiera de los compuestos revelados en el presente documento e instrucciones para su uso. El compuesto se puede formular en cualquier forma aceptable. Los kits se pueden utilizar para uno cualquiera o más de los usos descritos en el presente documento y, por consiguiente, pueden contener instrucciones para uno cualquiera o más de los usos indicados (*por ejemplo*, tratar y/o prevenir y/o retrasar la aparición y/o el desarrollo de una insuficiencia cardíaca o lesión por isquemia/reperfusión).
- 45

En general, los kits comprenden un envasado adecuado. Los kits pueden comprender uno o más recipientes que comprendan cualquier compuesto descrito en el presente documento. Cada componente (si hay más de un componente) puede estar envasado en recipientes separados o algunos componentes se pueden combinar en un recipiente cuando lo permitan la reactividad cruzada y la vida útil.

- 50 Los kits pueden incluir opcionalmente un conjunto de instrucciones, en general, instrucciones escritas, aunque también se aceptan los medios de almacenamiento electrónico (*por ejemplo*, un disco magnético o disco óptico) que contienen instrucciones, en relación con el uso del componente o componentes de los métodos relacionados con la presente revelación (*por ejemplo*, tratar, prevenir y/o retrasar la aparición y/o el desarrollo de enfermedad cardíaca o lesión por isquemia/reperfusión). Las instrucciones que se incluyen con el kit generalmente incluyen información sobre los componentes y su administración a un individuo.
- 55

Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar diversas realizaciones de la invención, y no pretenden limitar la invención en ningún modo.

Ejemplos

En los siguientes ejemplos, todos los análisis de HPLC se llevaron a cabo utilizando un automuestreador CTC PAL HTS con un detector UV 2487 de Waters accionado por una bomba binaria 01312A de Agilent. El siguiente método y columna se utilizaron para la determinación del tiempo de retención (TR) B al 0-100 % [MeCN: H₂O: HCO₂H al 0,2 %], gradiente de 2,5 min, mantenido durante 0,5 min, 215 nm, Atlantis dC18 2,1 x 50 mm, 5 µm.

5 Todas las RMN se registraron en un espectrómetro de 400 MHz Bruker AVANCE funcionando a temperatura ambiente, utilizando una sonda de bloqueo de deuterio interna. Los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón (ppm) en la frecuencia más baja con respecto al tetrametilsilano (TMS). A lo largo del presente documento, se utilizan las abreviaturas convencionales (s: singlete; br. s ancho: singlete ancho; d: doblete; dd: doblete de dobletes, t: triplete; q: cuádruplete; quin: quintuplete; m: múltiple). Las constantes de acoplamiento se indican en hertzios (Hz).

Todas las reacciones de microondas se llevaron a cabo utilizando un sistema explorador CEM siguiendo los métodos convencionales.

Ejemplo 1. Preparación de compuestos de acuerdo con la síntesis general del Esquema A.

15 A continuación, se detalla la preparación de 2-bromo-*N*-hidroxi-benceno-sulfonamida como un ejemplo de referencia del método de síntesis ejemplificado en el Esquema A.

A una solución de clorhidrato de hidroxilamina (0,82 g, 0,012 mol) en agua (1,2 ml) a 0 °C, se añadió una solución de carbonato de potasio (1,6 g, 0,012 mol) en agua (1,8 ml) gota a gota, manteniendo una temperatura interna de la reacción entre aproximadamente 5 °C y aproximadamente 15 °C. Se agitó la mezcla de reacción durante 15 minutos, tras lo que se añadió THF (6 ml) y MeOH (1,5 ml). Se añadió cloruro de 2-bromobenceno-sulfonilo (1,51 g, 0,006 mol) en partes, manteniendo la temperatura por debajo de 15 °C y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente hasta que se observó el consumo completo del cloruro de sulfonilo mediante TLC. Se concentró la suspensión resultante para eliminar cualquier compuesto volátil y se extrajo la suspensión acuosa con éter dietílico (2 x 100 ml). Se secó la porción orgánica sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró al vacío, produciendo la *N*-hidroxisulfonamida en crudo. La purificación se logró mediante cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con hexano:éter (a una relación 1:1, v:v), para obtener el compuesto parental en forma de un sólido blanco (0,30 g, rendimiento del 20 %) δ_H (400 MHz, DMSO) 9,81-9,84 (1H, m), 9,78-9,81 (1H, m), 7,99 (1H, dd, 7,7, 1,8 Hz), 7,86 (1H, dd, 7,6, 1,5 Hz), 7,55-7,64 (2H, m); TR = 1,44 min.

30 Utilizando las condiciones experimentales descritas anteriormente y los materiales de partida apropiados, que bien se encontraban disponibles en el mercado o bien se sintetizaron utilizando una metodología convencional, se prepararon los siguientes compuestos:

Nombre sistemático	1-H RMN	T _R
2,6-Dicloro- <i>N</i> -hidroxibencenosulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,92 (1H, d, 3,0 Hz), 9,77 (1H, d, 2,9 Hz), 7,59-7,69 (3H, m)	1,52
4-Bromo- <i>N</i> -hidroxibencenosulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,70-9,72 (1H, m), 9,67-9,69 (1H, m), 7,83-7,88 (2H, m), 7,73-7,78 (2H, m)	1,56
3-Bromo- <i>N</i> -hidroxibencenosulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,75 (1H, d, 8,1 Hz), 9,77 (1H, s), 7,92 (1H, d, 8,1 Hz), 7,95 (1H, t, 1,7 Hz), 7,84 (1H, d, 7,8 Hz), 7,60 (1H, t, 7,9 Hz)	t, 1,57
2-Bromo-4-fluoro- <i>N</i> -hidroxibencenosulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,86 (1H, d, 2,7 Hz), 9,81 (1H, d, 2,9 Hz), 8,04 (1H, dd, 8,9; 6,0 Hz), 7,88 (1H, dd, 8,6; 2,4 Hz), 7,52 (1H, td, 8,6; 2,4 Hz)	1,52
2,5-Di-trifluorometil- <i>N</i> -hidroxibencenosulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 10,49 (1H, s ancho), 10,18 (1H, s), 8,42 (1H, s), 8,25-8,33 (2H, m)	1,88
Tiofen-2- <i>N</i> -hidroxisulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,77 (1H, s), 9,67 (1H, s), 8,02 (1H, dd, 4,9; 1,2 Hz), 7,65 (1H, d, 3,7 Hz), 7,23 (1H, dd, 4,6; 3,9 Hz)	0,99
4-Bromo-tiofen-3- <i>N</i> -hidroxisulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,84 (1H, d, 3,2 Hz), 9,80-9,82 (1H, m), 8,06 (1H, d, 5,1 Hz), 7,30 (1H, d, 5,1 Hz)	1,32

ES 2 600 518 T3

Nombre sistemático	1-H RMN	T _R
2-Cloro-4-fluoro- <i>N</i> -hidroxibencenosulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,84 (1H, d, 2,9 Hz), 9,80 (1H, d, 2,9 Hz), 8,04 (1H, dd, 8,9; 6,0 Hz), 7,73 (1H, dd, 8,8; 2,7 Hz), 7,47 (1H, td, 8,5; 2,6 Hz)	1,46
2,3-Dicloro- <i>N</i> -hidroxibencenosulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 10,01 (1H, d, 2,7 Hz), 9,87 (1H, d, 2,7 Hz), 7,98 (1H, d, 7,8 Hz), 7,97 (1H, s), 7,60 (1H, t, 8,1 Hz)	1,63
2-Cloro-4-bromo- <i>N</i> -hidroxibencenosulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,90 (1H, s), 9,83 (1H, s), 8,01 (1H, d, 2,0 Hz), 7,86-7,91 (1H, m), 7,79-7,84 (1H, m)	1,70
Tiofen-3- <i>N</i> -hidroxisulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,60 (1H, d, 3,2 Hz), 9,53 (1H, d, 3,2 Hz), 8,24 (1H, dd, 2,8; 1,1 Hz), 7,75 (1H, dd, 5,0; 3,1 Hz), 7,36 (1H, dd, 5,1; 1,2 Hz)	0,90
2-Nitro-4-trifluorometil- <i>N</i> -hidroxibencenosulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 10,46 (1H, d, 1,7 Hz), 10,17 (1H, d, 2,3 Hz), 8,60 (1H, s), 8,36 (1H, s), 8,26 (1H, d, 8,2 Hz)	1,80
3,4,5-trifluoro- <i>N</i> -hidroxibencenosulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,89 (1H, d, 3,0 Hz), 9,88 (1H, d, 3,0 Hz), 7,76 (2H, t, 6,7 Hz)	1,58
2-Yodo- <i>N</i> -hidroxibencenosulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,78 (1H, d, 2,8 Hz), 9,72 (1H, d, 2,9 Hz), 8,15 (1H, dd, 7,8; 0,9 Hz), 7,96 (1H, dd, 8,0; 1,5H), 7,61 (1H, dd, 15,4; 0,9 Hz), 7,33 (1H, td, 7,6; 1,5 Hz)	1,50
4-Fenil-5-trifluorometil-tiofen-3- <i>N</i> -hidroxisulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,70 (1H, s), 9,58 (1H, s ancho), 8,60 (1H, s), 7,37-7,44 (3H, m), 7,31-7,33 (2H, m) ,	2,00
1,3-Di- <i>N</i> -hidroxibencenosulfonamida	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,88 (2H, s ancho), 9,81 (2H, s), 8,28 (1H, t, 1,7 Hz), 8,14 (2H, dd, 7,8; 1,8 Hz), 7,90 (1H, t, 7,9 Hz)	1,03
2,5-Di-fluoro- <i>N</i> -hidroxibencenosulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,91 (2H, s), 7,77 (1H, tt, 8,5; 6,1 Hz), 7,31 (2H, t, 8,9 Hz)	1,18
<i>N</i> -Hidroxi-2-metanosulfonilbencenosulfonamida	δ _H (400 MHz, DMSO) 10,12 (1H, d, 3,5 Hz), 8,96 (1H, d, 3,5 Hz), 8,25-8,27 (1H, m), 8,16-8,21 (1H, m), 7,99-8,04 (2H, m), 3,47 (3H, s)	1,31
2,4-Di-bromo- <i>N</i> -hidroxibencenosulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,93 (1H, d, 2,9H), 9,84 (1H, d, 2,9 Hz), 8,16 (1H, d, 1,5 Hz), 7,88 (1H, s), 7,87 (1H, d, 1,7 Hz)	1,76
2-Cloro-4-trifluorometil- <i>N</i> -hidroxibencenosulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 10,13 (1H, d, 2,9 Hz), 9,94 (1H, d, 2,7 Hz), 8,15 (1H, d, 1,0 Hz), 8,19 (1H, d, 8,3 Hz), 7,99 (1H, dd, 8,4, 1,1 Hz)	1,81
2,4,6-Tri-isopropil- <i>N</i> -hidroxibencenosulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,34 (1H, d, 3,0 Hz), 9,28 (1H, d, 2,9 Hz), 7,24 (2H, s), 4,05-4,19 (2H, sept, 6,8 Hz), 2,87-2,97 (1H, sept, 6,9 Hz), 1,20 (18H, t, 6,9 Hz)	2,30
3,5-Dimetil-isoxazol-4- <i>N</i> -hidroxisulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,80 (1H, d, 3,2 Hz), 9,64 (1H, d, 3,2 Hz), 2,60 (3H, s), 2,34 (3H, s)	1,16
2,4-Di-fluoro- <i>N</i> -hidroxibencenosulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,81 (1H, d, 2,9 Hz), 9,77 (1H, d, 2,9 Hz), 7,88 (1H, td, 8,6, 6,4 Hz), 7,56 (1H, ddd, 10,3; 9,4; 2,6 Hz), 7,33 (1H, td, 7,7; 1,7 Hz)	1,28
4-Bromo-2,5-dicloro-tiofen-3- <i>N</i> -hidroxisulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,92 (1H, d, 2,4 Hz), 9,86 (1H, d, 2,7 Hz)	1,79

Nombre sistemático	1-H RMN	T _R
Quinolin-8- <i>N</i> -hidroxisulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,83 (1H, d, 3,7 Hz), 9,21 (1H, d, 3,7 Hz), 9,09 (1H, dd, 4,4; 1,7 Hz), 8,60 (1H, dd, 8,3; 1,7 Hz), 8,39 (1H, s), 8,39 (1H, dd, 16,4; 1,2 Hz), 7,83 (1H, d, 7,8H), 7,76 (1H, dd, 8,4; 4,3 Hz)	1,34
5-Metil-benzo[<i>b</i>]tiofen-2- <i>N</i> -hidroxisulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,90 (1H, d, 3,2 Hz), 9,86 (1H, d, 3,1 Hz), 7,97-8,01 (2H, m), 7,87 (1H, s), 7,39 (1H, dd, 8,6, 1,5 Hz), 2,44 (3H, s)	1,81
Benzofuran-2- <i>N</i> -hidroxisulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 10,25 (1H, d, 2,8 Hz), 9,87 (1H, d, 2,8 Hz), 7,84 (1H, d, 7,8 Hz), 7,72 (1H, d, 0,8 Hz), 7,75 (1H, d, 8,5 Hz), 7,56 (1H, ddd, 8,4; 7,2, 1,3 Hz), 7,42 (1H, dd, 15,1; 0,6 Hz)	1,58
1-Metil-1 <i>H</i> -pirazol-3- <i>N</i> -hidroxisulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,61 (1H, d, 3,2 Hz), 9,49 (1H, d, 1,0 Hz), 7,89 (1H, d, 2,2 Hz), 6,68 (1H, d, 2,2 Hz), 3,94 (3H, s)	0,47
4-Fluoro-naftalen-1- <i>N</i> -hidroxisulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,87 (1H, d, 2,9 Hz), 9,64 (1H, d, 2,9 Hz), 8,75 (1H, d, 8,3 Hz), 8,19-8,25 (2H, m), 7,81 (2H, ddd, 12,0; 8,3, 1,2 Hz), 7,56 (1H, dd, 10,0; 8,3 Hz)	1,72
3-Bromo-tiofen-2- <i>N</i> -hidroxisulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,83-9,86 (1H, m), 9,81-9,83 (1H, m), 8,05 (1H, d, 5,1 Hz), 7,30 (1H, d, 5,1 Hz)	1,32
Propan-2- <i>N</i> -hidroxisulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,44 (1H, d, 2,2 Hz), 9,24 (1H, s), 3,39-3,50 (1H, sept, 6,9 Hz), 1,25 (6H, d, 6,9 Hz)	
Metil- <i>N</i> -hidroxisulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,56 (1H, d, 3,4 Hz), 9,03 (1H, d, 3,4 Hz), 2,92 (3H, s)	
Bifenil-2- <i>N</i> -hidroxisulfonamida*	δ _H (400 MHz, DMSO) 9,63 (1H, s ancho), 9,51 (1H, s), 8,00 (1H, dd, 7,8; 1,2 Hz), 7,67 (1H, dd, 7,5; 1,3 Hz), 7,62 (1H, dd, 7,7; 1,3 Hz), 7,34-7,41 (6H, m)	1,74
* Ejemplos de Referencia		

El siguiente procedimiento, que puede implicar modificaciones en la anterior reacción representativa, se utilizó en la preparación de los siguientes compuestos (1-10) [que son Ejemplos de Referencia]:

- 5 2-Fluoro-*N*-hidroxibencenosulfonamida (**1**). RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,78 (d, 1H), 9,73 (d, 1H), 7,81 (dt, 1H), 7,76 (m, 1H), 7,44 (m, 2H); p.f. = 127-129 °C.
- 2-Cloro-*N*-hidroxibencenosulfonamida (**2**). RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,80 (s, 1H), 9,78 (s ancho, 1H), 8,00 (d, 1H), 7,68 (d, 2H), 7,56 (m, 1H); p.f. = 152-155 °C con descomposición.
- 2-Bromo-*N*-hidroxibencenosulfonamida (**3**). RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,82 (s, 1H), 9,78 (s, 1H), 8,00 (dd, 1H), 7,86 (dd, 1H), 7,60 (m, 2H); p.f. = 156-159 °C con descomposición.
- 10 2-(Trifluorometil)-*N*-hidroxibencenosulfonamida (**4**). RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,12 (d, 1H), 9,91 (d, 1H), 8,12 (d, 1H), 8,01 (d, 1H), 7,93 (t, 1H), 7,87 (t, 1H); p.f. = 124-127 °C con descomposición.
- Ácido 5-clorotiofen-2-sulfohidroxámico (**5**). RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,90 (s ancho, 1H), 9,72 (s, 1H), 7,54 (d, 1H), 7,30 (d, 1H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ 136,0; 135,5; 133,4; 127,9; p.f. = 94-95 °C con descomposición.

Ácido 2,5-diclorotiofen-3-sulfohidroxámico (**6**). RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9,88 (s, 2H), 7,30 (s, 1H); RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ 133,3; 131,7; 127,1; 126,0; p. f. = 118-122 °C con descomposición.

4-Fluoro-*N*-hidroxibencenosulfonamida (**7**). RMN descrita anteriormente.

5 4-(Trifluorometil)-*N*-hidroxibencenosulfonamida (**8**). RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9,85 (d, 1H), 9,80 (d, 1H), 8,05 (m, 4H); p.f. = 117-121 °C con descomposición.

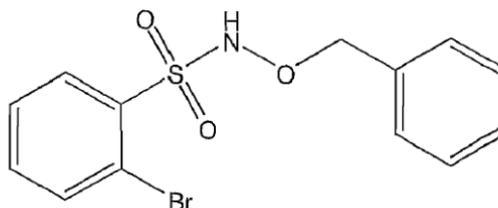
4-Ciano-*N*-hidroxibencenosulfonamida (**9**). RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9,88 (d, 1H), 9,81 (d, 1H), 8,12 (d, 2H), 8,00 (d, 2H); p.f. = 151-155 °C con descomposición.

4-Nitro-*N*-hidroxibencenosulfonamida (**10**). RMN descrita anteriormente.

10 Se disolvieron 60 mmol (2 eq.) de clorhidrato de hidroxilamina en 12 ml de agua y se enfrió a 0 °C en un baño de hielo. Se añadió una solución de 60 mmol (2 eq.) de carbonato de potasio en 18 ml de agua gota a gota con agitación. Se agitó la solución durante 15 min, momento en el que se añadieron secuencialmente 25 ml de metanol y 75 ml de tetrahidrofurano. Se añadió una solución de 30 mmol (1 eq.) de cloruro de sulfonilo en 10 ml de tetrahidrofurano gota a gota y la solución resultante se dejó calentar a temperatura ambiente con agitación durante 2-3 horas. Se evaporaron los compuestos volátiles a presión reducida y se añadieron 100 ml de agua. Se acidificó la solución acuosa hasta aproximadamente un pH 3 con ácido clorhídrico acuoso 1 N y se extrajo con éter dietílico (2 x 100 ml). Se secó la capa orgánica sobre sulfato de magnesio y se evaporó para producir en todos los casos, sólidos cristalinos con la pureza suficiente (rendimiento del 25-50 %).

Ejemplo 2. Preparación de compuestos de acuerdo con la síntesis general del Esquema B.

La preparación de *N*-benciloxi-2-bromo-bencenosulfonamida



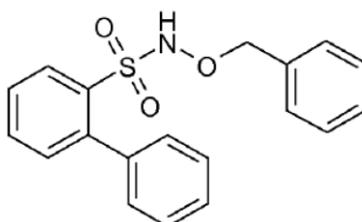
20

se detalla a continuación como un Ejemplo de Referencia del método de síntesis ejemplificado en el Esquema B.

25 A una suspensión de clorhidrato de *O*-bencilhidroxilamina (3,75 g, 23,48 mmol) en MeOH (3 ml) y agua (3,6 ml), se añadió una solución de carbonato de potasio (3,24 g, 23,48 mmol) en agua (3,6 ml), manteniendo la temperatura interna de la reacción por debajo de 10 °C. Se agitó la mezcla de reacción durante 5 minutos, tras lo que se añadieron THF (12 ml) y cloruro de 2-bromobencenosulfonilo (3 g, 11,74 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente hasta que se observó el consumo completo del cloruro de sulfonilo mediante TLC. Se concentró la suspensión resultante *al vacío* para eliminar cualquier compuesto volátil, y se extrajo la suspensión acuosa con éter dietílico (3 x 100 ml). Se secó la capa orgánica sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró al vacío, para producir el compuesto diana en crudo. La purificación se realizó mediante trituración del sólido en heptano, seguida de la filtración y el lavado adicional del sólido con heptano, para obtener el compuesto esperado

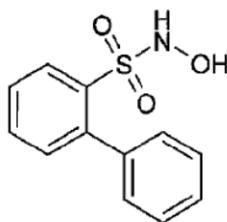
30 en forma de un sólido blanco (3,62 g, rendimiento del 90 %). δH (400 MHz, DMSO) 10,83 (1H, s), 8,04 (1H, d, 1,7 Hz), 8,02 (1H, d, 1,9 Hz), 7,57-7,66 (2H, m), 7,30-7,36 (5H, m), 4,87 (1H, s); $T_R = 2,15$.

A modo de Ejemplo de Referencia, la *N*-benciloxi-2-bromo-bencenosulfonamida se puede modificar adicionalmente tal como se detalla en la síntesis de *N*-benciloxi-2-fenil-bencenosulfonamida



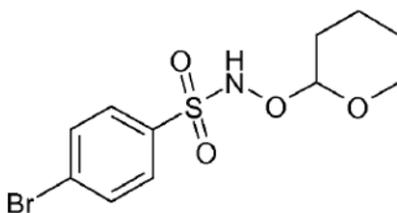
35

- Se cargó un vial para microondas sucesivamente con *N*-benciloxi-2-bromo-bencenosulfonamida (0,2 g, 0,58 mmol), ácido bencenoborónico (0,11 g, 0,88 mmol), Pd(dppf)Cl₂ (0,05 g, 0,06 mmol), THF (3 ml), y a continuación, una solución de carbonato de potasio en agua (2 N, 1,5 ml). Se calentó la mezcla en el microondas a 130 °C durante 15 minutos (duración de la rampa de 5 minutos, potencia = 150 W). Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (20 ml) y se lavó la capa orgánica con agua (2 x 20 ml). Se secó la capa orgánica sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró *al vacío*. A continuación, se purificó la mezcla en crudo mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con heptano:acetato de etilo (9:1 v:v), para obtener el compuesto diana en forma de un aceite incoloro (0,12 g, rendimiento del 60 %). δ_{H} (400 MHz, DMSO) 10,61 (1H, s), 8,06 (1H, dd, 7,8; 1,2 Hz), 7,77 (1H, td, 7,3; 1,5 Hz), 7,69 (1H, td, 7,5; 1,4 Hz), 7,40-7,46 (9H, m), 7,33-7,35 (2H, m), 4,82 (2H, s). $T_{\text{R}} = 1,74$ min.
- 10 A modo de Ejemplo de Referencia, la *N*-benciloxi-2-fenil-bencenosulfonamida se puede desproteger en la correspondiente *N*-hidroxisulfonamida tal como se detalla a continuación:



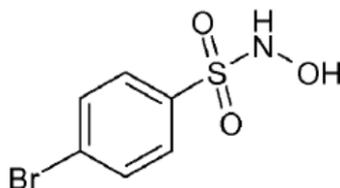
- A una suspensión de *N*-benciloxi-2-fenil-bencenosulfonamida (1,39 g, 4,1 mmol) en EtOH (20 ml), se añadió paladio al 10 % sobre carbón vegetal (0,14 g). Se agitó la mezcla de reacción en una atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente y presión atmosférica durante una noche. Se filtró la mezcla de reacción a través de papel de microfibras de vidrio. Se concentró el filtrado resultante *al vacío* y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con heptano:acetato de etilo (gradiente de 9:1 a 8:2 v:v), para obtener el compuesto diana en forma de un sólido blanco (0,24 g, rendimiento del 22 %). δ_{H} (400 MHz, DMSO) 9,68 (1H, s), 9,57 (1H, s), 8,06 (1H, dd, 7,8; 1,2 Hz), 7,74 (1H, td, 7,3; 1,5 Hz), 7,67 (1H, td, 7,6; 1,3 Hz), 7,40-7,46 (6H, m).
- 20 Ejemplo 3. Preparación de compuestos de acuerdo con la síntesis general del Esquema C

La preparación de 4-bromo-*N*-(tetrahidro-piran-2-iloxi)-bencenosulfonamida



se detalla a continuación como un Ejemplo de Referencia del método de síntesis ejemplificado en el Esquema C.

- A una solución de *O*-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)hidroxilamina (1,83g, 15,65 mmol) en agua (1,6 ml) a 0 °C, se añadió una solución de carbonato de potasio (1,1 g, 7,83 mmol) en agua (2,4 ml) gota a gota, manteniendo la temperatura interna de la reacción por debajo de 10 °C. Tras 15 minutos, se añadió MeOH (2 ml) y THF (8 ml) gota a gota, seguidos de cloruro de 4-bromobencenosulfonilo (2 g, 7,83 mmol) en partes. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente hasta que se observó el consumo completo del cloruro de sulfonilo por TLC. Se concentró la suspensión resultante para eliminar cualquier compuesto volátil, y se extrajo la suspensión acuosa con éter dietílico (3 x 100 ml). Se secó la porción orgánica sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró *al vacío*, para producir el compuesto diana en crudo. La purificación se logró mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con heptano:acetato de etilo (gradiente de 9:1 a 7:3 v:v), para obtener el compuesto diana en forma de un sólido blanco (2,1 g, rendimiento del 80 %). δ_{H} (400 MHz, DMSO) 10,53 (1H, s), 7,86-7,90 (2H, m), 7,75-7,79 (2H, m), 4,94 (1H, t, 2,93 Hz), 3,70-3,76 (1H, m), 3,48-3,52 (1H, m), 1,59-1,68 (1H, m), 1,39-1,52 (5H, m); $T_{\text{R}} = 2,03$ min.
- 35 A modo de Ejemplo de Referencia, se puede modificar la 4-bromo-*N*-(tetrahidro-piran-2-iloxi)-bencenosulfonamida adicionalmente en la bifenil-2-*N*-hidroxisulfonamida tal como se detalla a continuación:



- A una solución de 4-bromo-*N*-(tetrahidro-piran-2-iloxi)-bencenosulfonamida (0,1 g, 0,3 mmol) en MeOH (2 ml), se añadió resina de MP-ácido tósico (91 mg, 3,3 mmol/g de carga). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente hasta que se observó el consumo completo del material de partida mediante CL. Entonces, se separó la resina por filtración y se lavó con MeOH (2 x 5 ml). Se concentró el filtrado resultante *al vacío*, para proporcionar el compuesto diana en forma de un aceite incoloro (0,08 g, rendimiento del 100 %). δ_H (400 MHz, DMSO) 9,70 (1H, d, 3,2 Hz), 9,67 (1H, d, 3,4 Hz), 7,84-7,88 (2H, m), 7,73-7,77 (2H, m); $T_R = 1,60$ min.

Ejemplo 4. Cinética de la liberación de HNO

Las tasas de descomposición de los compuestos se pueden determinar mediante espectroscopia UV-Vis.

- Se monitorizó la descomposición de los compuestos **1-4** y **6** del Ejemplo 1 mediante espectroscopia UV-Vis en tampón PBS 0,1 M a un pH 7,4 y 37 °C. El comportamiento espectral fue isobéptico y el transcurso del tiempo se ajusta bien a una sola exponencial. La tasa de descomposición se aumenta en soluciones aireadas en comparación con las soluciones saturadas con argón debido a la introducción de una vía de descomposición dependiente del oxígeno que, para la *N*-hidroxibencenosulfonamida parental (PA), se ha demostrado que libera NO (Bonner, F. T., Ko. Y. Inorg. Chem. 1992, 31, 2514-2519). Las cinéticas de descomposición para los compuestos **5**, **7-10** del Ejemplo 1 no son de primer orden y, por lo tanto, solo se describe su vida media aproximada. Los compuestos con más de un número en una sola columna de la siguiente tabla indican los resultados de dos experimentos para el mismo compuesto.

Compuesto	$t_{1/2}$ (Ar) (min)	$t_{1/2}$ (aire) (min)	K_{O_2}/K_{Ar}
1*	17,5; 18,0	2,67; 4,0	5,82
2*	3,61; 4,0	1,75; 1,9	1,06
3*	1,05; 2,1	0,68; 1,2	0,55
4*	0,96; 1,2	0,55; 0,6	0,75
5*	18,8	6,3	
6*	9,17	2,60	2,52
7*	72,1; 72,2	10,0; 10,0	
8*	33,0; 33,0	7,0; 7,0	
9*	17,8	4,0	
10*	5,78; 19,2	3,3; 4,2	
*Ejemplo de Referencia			

Ejemplo 5. Producción de HNO a través de la cuantificación de N₂O

La producción de HNO de los compuestos se puede determinar mediante espectroscopia UV-Vis.

- El óxido nitroso se produce a través de la dimerización y la deshidratación del HNO y es el marcador más común para la producción de HNO (Fukuto, J. M.; Bartberger, M. D.; Dutton, A. S.; Paolucci, N.; Wink, D. A.; Houk, K. N. Chem. Res. Toxicol. 2005, 18, 790-801). El HNO, sin embargo, también se puede extinguir parcialmente con oxígeno, para producir un producto que no produce N₂O (Véase, (a) Minolone, F.; Mena-moni, L.; Briganti, F.; Mincione, G.; Scozzafava, A.; Supuran, C. T. J. Enzyme Inhibition 1998, 13, 267-284 y (b) Scozzafava, A.; Supuran, C. T. J. Med. Chem. 2000, 43, 3677-3687). A modo de Ejemplo de Referencia, utilizando la sal de Angeli (SA) como punto de referencia, se examinaron las cantidades relativas de N₂O liberadas de los compuestos **2-4** del Ejemplo 1 mediante análisis de espacio de cabeza de CG. Los resultados, mostrados en la Figura 1, muestran que las

cantidades liberadas de N₂O de los compuestos **2-4** son comparables con la cantidad liberada del SA tanto en atmósfera de argón como de aire.

Se evaluó la capacidad de los compuestos para donar nitroxilo a pH 7,4 en tampón PBS a 37 °C. En particular, se sometieron a ensayo los compuestos de las Tablas 1-3 y ciertos compuestos de la Tabla 4, y se evaluó su capacidad de donación de nitroxilo a pH 7,4 en tampón PBS a 37 °C. Todos los compuestos sometidos a ensayo, a excepción de la 2-fenil-*N*-hidroxilbencenosulfonamida, produjeron niveles detectables de N₂O, lo que indica su capacidad para donar nitroxilo. Se puede volver a someter a ensayo la 2-fenil-*N*-hidroxilbencenosulfonamida de nuevo para confirmar si se trata de un donante de nitroxilo.

Ejemplo 6. Uso de un modelo *in vitro* para determinar la capacidad de los compuestos de la fórmula (I) para tratar, prevenir y/o retrasar la aparición y/o el desarrollo de una enfermedad o afección que responde a la terapia con nitroxilo

a. Enfermedades o afecciones cardiovasculares.

También se pueden utilizar modelos *in vitro* de la enfermedad cardiovascular para determinar la capacidad de cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento para tratar, prevenir y/o retrasar la aparición y/o el desarrollo de una enfermedad o afección cardiovascular en un individuo. A continuación, se describe un ejemplo de modelo *in vitro* de la enfermedad cardíaca.

Se podrían utilizar modelos *in vitro* para ver las propiedades de vasodilatación de los compuestos. Es posible medir la tensión isométrica en segmento de anillo aórtico torácico aislado de rata, como se ha descrito previamente por Crawford, J. H., Huang, J., Isbell, T. S., Shiva, S., Chacko, B. K., Schechter, A., Darley-Usmar, V. M., Kerby, J. D., Lang, J. D., Krauss, D., Ho, C., Gladwin, M. T., Patel, R. P., Blood 2006, 107, 566-57. Tras sacrificar al animal, se extirpan segmentos de anillo aórtico y se limpian de grasa y tejido adherido. A continuación, se cortan los vasos en segmentos anulares individuales (2-3 mm de ancho) y se suspenden de un transductor de fuerza y desplazamiento en un baño de tejido. Se aplican los segmentos anulares a 37 °C en un baño con una solución de Krebs-Henseleit (K-H) tamponada con bicarbonato, de la siguiente composición (mM): NaCl 118; KCl 4,6; NaHCO₃ 27,2; KH₂PO₄ 1,2; MgSO₄ 1,2; CaCl₂ 1,75; Na₂EDTA 0,03; y glucosa 11,1, y se perfunden de manera continua con O₂ al 21 % /CO₂ al 5 %/N₂ al 74 %. Se aplica una carga pasiva de 2 g a todos los segmentos anulares y se mantiene a este nivel a lo largo de los experimentos. Al comienzo de cada experimento, se despolarizan segmentos anulares tratados con indometacina con KCl (70 mM) para determinar la capacidad contráctil máxima del vaso. Entonces, se lavan bien los anillos y se dejan equilibrar. Para los experimentos posteriores, los vasos contraen por debajo de la máxima (50 % de la respuesta de KCl) con fenilefrina (PE, 3 x 10⁻⁸-10⁻⁷ M), y también se añade L-NMMA 0,1 mM, para inhibir la producción de eNOS y de NO endógeno. Cuando el desarrollo de la tensión se estabiliza, se añaden acumulativamente compuestos donantes de nitroxilo al baño del vaso y se monitorizan los efectos sobre la tensión.

Se pueden utilizar modelos *in vitro* para determinar los efectos de los compuestos donantes de nitroxilo en los cambios en la fuerza desarrollada y el calcio intracelular en los músculos cardíacos. La fuerza desarrollada y el calcio intracelular se pueden medir en trabéculas de ratas normales a enfermas (es decir, ratas con insuficiencia cardíaca congestiva o hipertrofia) según lo escrito previamente (Gao W. D., Atar D., Backx P. H., Marbán E. Circ Res. 1995; 76: 1036-1048). En estos experimentos, se utilizan ratas (Sprague-Dawley, 250-300 g). Se anestesian las ratas con pentobarbital (100 mg/kg) mediante inyección intra-abdominal, se descubre el corazón por esternotomía media, se extirpa rápidamente y se coloca en una placa de disección. Se canula la aorta y se perfunde el corazón de forma retrógrada (~15 mM/min) con solución de disección de Krebs-Henseleit (HK) equilibrada con O₂ al 95 % y CO₂ al 5 %. La solución de disección de K-H está compuesta de (mM): NaCl 120, NaHCO₃ 20, KCl 5, MgCl 1,2, glucosa 10, CaCl₂ 0,5 y naonoximina de 2,3-butanodiona (BDM) 20, pH 7,35-7,45 a temperatura ambiente (21-22 °C). Se diseccionan las trabéculas del ventrículo derecho del corazón y se montan entre un transductor de fuerza y un brazo de motor, y se superfunden con solución normal de KH (KCl, 5 mM) a una tasa de ~10 ml/min y se estimulan a 0,5 Hz. Se miden las dimensiones de los músculos con una retícula de calibración en el ocular del microscopio de disección (x 40, resolución de ~10 μm).

Se mide la fuerza utilizando un sistema transductor de fuerza y se expresa en milinewtons por milímetro cuadrado de área transversal. Se mide la longitud del sarcómero mediante difracción de láser. La longitud del sarcómero en reposo se fija en 2,20 a 2,30 μm a lo largo de los experimentos.

Se mide el calcio intracelular utilizando la forma de ácido libre de fura-2 tal como se describe en estudios previos (Gao W. D., Backx P. H., Azan-Backx M., Marban E. Myofilament Ca²⁺ sensitivity in intact versus skinned rat ventricular muscle. Circ Res 1994; 74:408-415. [PubMed: 8118949]; Backx P. H., Gao W. D., Azan-Backx M. D., Marban E. "The relationship between contractile force and intracellular [Ca²⁺] in intact rat cardiac trabeculae". J Gen Physiol 1995; 105:1-19. [PubMed: 7730787]; Gao W. G., Perez N. G., Marban E. Calcium cycling and contractile activation in intact mouse cardiac muscle. J Physiol 1998; 507:175-184. [PubMed: 9490835]). Se microinyecta sal de potasio Fura-2 por iontoforesis en una célula y se deja que se extienda a lo largo de todo el músculo (a través de las

uniones comunicantes o uniones "gap"). Se llena la punta del electrodo (~0,2 µm de diámetro) con sal fura-2 (1 mM) y el resto del electrodo se llena con 150 mM de KCl. Tras un empalamiento con éxito en una célula superficial de músculo no estimulado, se hace pasar una corriente de hiperpolarización de 5-10 nA de forma continua durante ~15 min. Se mide la epifluorescencia de Fura-2 mediante excitación a 380 y 340 nm. Se recoge la luz fluorescente a 510 nm con un tubo fotomultiplicador. Se recoge y se digitaliza la salida del fotomultiplicador. Se utiliza rianodina (1,0 µM) para permitir la activación del estado estacionario. Tras 15 minutos de exposición a la rianodina, se inducen brevemente diferentes niveles de tetanizaciones (-4-8 segundos) mediante la estimulación de los músculos a 10 Hz a varias concentraciones de calcio extracelular (0,5-20 mM). Todos los experimentos se realizan a temperatura ambiente (20-22 °C).

- 10 b. Enfermedades o afecciones que implican isquemia/reperfusión.

También se pueden utilizar modelos *in vitro* para determinar la capacidad de cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento para tratar, prevenir y/o retrasar la aparición y/o el desarrollo de una enfermedad o afección que implica lesión por isquemia/reperfusión en un individuo.

- 15 Ejemplo 7. Uso de modelos *in vivo* y/o *ex vivo* para determinar la capacidad de los compuestos de la fórmula (I) para tratar, prevenir y/o retrasar la aparición y/o el desarrollo de una enfermedad o afección que responde a la terapia con nitroxilo

- a. Enfermedades o afecciones cardiovasculares

- 20 También se pueden utilizar modelos *in vivo* de enfermedad cardiovascular para determinar la capacidad de cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento para tratar, prevenir y/o retrasar la aparición y/o el desarrollo de una enfermedad o afección cardiovascular en un individuo. A continuación, se describe un ejemplo de modelo animal de la enfermedad cardíaca.

Se pueden medir los efectos cardiovasculares *in vivo* obtenidos con un compuesto donante de nitroxilo en un perro de control (normal). El estudio se realiza en perros (macho) mestizos adultos (25 kg) dotado de forma crónica de instrumentos para el análisis hemodinámico consciente y la toma de muestras sanguíneas, según lo descrito previamente (Katori, T.; Hoover, D. B.; Ardell, J. L.; Helm, R. H.; Belardi, D. F.; Tocchetti, C. G.; Forfia, P. R.; Kass, D. A.; Paolucci, N. *Circ. Res.* 96(2): 2005 páginas 234-243). Los transductores micromanométricos en el ventrículo izquierdo proporcionan la presión, mientras que los catéteres aórticos auriculares y descendentes derechos proporcionan presiones de fluidos y conductos de muestreo. Los sonomicrómetros endocárdicos (anteroposterior, lateral-septal) miden las dimensiones del eje corto, y un ocluser neumático alrededor de la vena cava inferior facilitó las manipulaciones de precarga para el análisis en relación con la presión. Se colocaron cables de estimulación epicárdicos en la aurícula derecha y otro par en la pared libre del ventrículo derecho conectado a un marcapasos permanente para inducir la insuficiencia cardíaca por estimulación rápida. Tras 10 días de recuperación, se evalúan los animales al ritmo sinusal de referencia y con estimulación auricular (120-160 ppm). Las mediciones incluyen registros hemodinámicos conscientes de la mecánica cardíaca.

- 35 Los compuestos de la fórmula (I) se administran a un perro sano de control a razón de una dosis de 1-5 µg/kg/min y se obtienen los datos cardiovasculares resultantes.

40 Demostración de que un compuesto de la fórmula (I) mejora la hemodinámica cardíaca en corazones con insuficiencia congestiva: una vez completados los protocolos en condiciones basales, se induce la insuficiencia cardíaca congestiva por estimulación rápida (210 lpm x 3 semanas, 240 lpm x 1 semana), según lo descrito previamente (Katori, T.; Hoover, D. B.; Ardell, J. L.; Helm, R. H.; Belardi, - 37 D. F.; Tocchetti, C. G.; Forfia, P. R.; Kass, D. A.; Paolucci, N. *Circ. Res.* 96(2): 2005 páginas 234-243). En resumen, se miden la presión diastólica terminal y + dP/dt,máx semanalmente para monitorizar la progresión de la insuficiencia. Cuando los animales demuestran un aumento de EDP superior a 2X (al doble), y dP/dt,máx de > 50 % del valor inicial, se considera que están preparados para los estudios de insuficiencia cardíaca congestiva.

- 45 Los valores para los compuestos de ensayo se obtienen después de 15 min de infusión i.v. continua (2,5 o 1,25 µg/kg/min) en las preparaciones de control y de insuficiencia cardíaca, respectivamente, tanto en ausencia como en presencia de restauración del volumen. Para su comparación, se obtienen las mismas mediciones hemodinámicas con SA en preparaciones de insuficiencia cardíaca.

- b. Enfermedades o afecciones que implican isquemia/reperfusión.

- 50 También se pueden utilizar modelos de isquemia/reperfusión *ex vivo* para determinar la capacidad de cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento para tratar, prevenir y/o retrasar la aparición y/o el desarrollo de una enfermedad o afección que implique lesión por isquemia/reperfusión en un individuo. A continuación, se describe un ejemplo de modelo *ex vivo* de lesión por isquemia/reperfusión.

Se alojan ratas Wistar macho en jaulas idénticas y se les permite el acceso a agua corriente y a una dieta convencional para roedores a voluntad. Cada animal se anestesia con 1 g/kg de uretano i.p. 10 min después del tratamiento con heparina (2.500 U, i.m.). Se abre el tórax y se extirpa rápidamente el corazón, se coloca en solución de tampón enfriada con hielo y se pesa. Se conectan los corazones de rata aislados a un aparato de perfusión y se perfunden de forma retrógrada con solución tampón oxigenada a 37 °C. Los corazones se dotan de instrumentos tal como se ha descrito anteriormente en Rastaldo et al., "P-450 metabolite of arachidonic acid mediates bradykinin-induced negative inotropic effect", *Am. J. Physiol.*, 280:H2823-H2832 (2001), y Paolucci et al. "cGMP-independent inotropic effects of nitric oxide and peroxyinitrite donors: potential role for nitrosylation", *Am. J. Physiol.*, 279: H1982-H1988 (2000). Se mantiene el flujo constante (aproximadamente 9 ml/min/g de peso húmedo) hasta que se alcanza una presión típica de perfusión coronaria de 85-90 mm de Hg. Se aplica una proporción constante del 10 % del caudal mediante una de dos bombas de perfusión (Terumo, Tokio, Japón) utilizando una jeringuilla de 50 ml conectada a la cánula aórtica. Las administraciones de fármaco se realizan cambiando la jeringuilla que contiene solo tampón por la jeringuilla de la otra bomba que contiene el fármaco (compuesto donante de nitroxilo) disuelto en un vehículo a una concentración de 10 veces la concentración final deseada en el corazón. Un pequeño orificio en la pared ventricular izquierda permite el drenaje del flujo de Tebesio, y se coloca un balón de cloruro de polivinilo en el ventrículo izquierdo y se conecta a un electromanómetro para el registro de la presión ventricular izquierda (PVI). Se estimulan eléctricamente los corazones a 280-300 lpm y se mantienen en una cámara de temperatura controlada (37 °C). La presión de perfusión coronaria (PPC) y el flujo coronario se controlan con un segundo electromanómetro y una sonda de flujo electromagnético, respectivamente, ambos colocados a lo largo de la línea de perfusión. Se registran la presión ventricular izquierda, el flujo coronario y la presión de perfusión coronaria utilizando un registrador TEAC R-71, digitalizado a 1.000 Hz y se analizan fuera de línea con el programa informático DataQ-Instruments/CODAS, que permite cuantificar la velocidad máxima del aumento de la PVI durante la sístole ($dP/dt_{m\acute{a}x}$).

Se perfunden los corazones con solución de Krebs-Henseleit gasificada con O₂ al 95 % y CO₂ al 5 % de la siguiente composición: bicarbonato de sodio 17,7 mM, NaCl 127 mM, KCl 5,1 mM, CaCl₂ 1,5 mM, MgCl₂ 1,26 mM, D-glucosa 11 mM, complementado con 5 µg/ml de lidocaína.

Compuestos experimentales. Se diluyen los donantes de nitroxilo en tampón inmediatamente antes de su uso.

Protocolos experimentales. Se deja que se establezcan los corazones durante 30 min y se registran los parámetros iniciales. Por lo general, el flujo coronario se ajusta en los primeros 10 min y se mantiene constante desde ese momento. Tras 30 min de estabilización, se asignan aleatoriamente los corazones a uno de los grupos de tratamiento y se someten a 30 min de isquemia de no flujo global, seguida de 30 min de reperfusión (I/R). La estimulación de los corazones se detiene al comenzar el período isquémico y se reinicia tras el tercer minuto de la reperfusión.

Se perfunden los corazones de un grupo de control con tampón durante 29 minutos más después de la estabilización. Se exponen los corazones tratados a un donante de nitroxilo (por ejemplo, concentración final de 1 µM durante aproximadamente 20 min seguidos de un período de lavado con tampón de 10 min).

En todos los corazones, la estimulación se suspende al iniciarse la isquemia y reinicia a los 3 minutos de la reperfusión. Como las preparaciones de corazón aislado se pueden deteriorar con el tiempo (por lo general, después de 2 a 2,5 horas de perfusión), la duración del reflujo se limita a 30 minutos con el fin de minimizar los efectos producidos por la perfusión de cristaloides en el rendimiento cardíaco y en concordancia con otros informes.

Evaluación de la función ventricular. Para obtener la PVI máxima desarrollada, el volumen del balón intraventricular se ajusta a una PVI diastólica terminal de 1,33 kPa (10 mm de Hg) durante el período de estabilización, como se informa en Paolucci, supra y Hare et al., "Pertussis toxin-sensitive G proteins influence nitric oxide synthase III activity and protein levels in rat hearts", *J. Clin. Invest.*, 101:1424-31 (1998). Se monitorizan de manera continua los cambios en la PVI desarrollada, $dP/dt_{m\acute{a}x}$ y el valor diastólico terminal inducido por el protocolo de I/R. La diferencia entre la PVI diastólica terminal antes de finalizar el período isquémico y en condiciones pre-isquémicas se utiliza como un índice de la extensión del desarrollo de la contractura. La recuperación máxima de la PVI desarrollada y $dP/dt_{m\acute{a}x}$ durante la reperfusión se compara con los respectivos valores pre-isquémicos.

Evaluación de la lesión miocárdica. La liberación de enzimas es una medida de la lesión miocárdica severa que todavía tiene que avanzar hacia la lesión celular irreversible. Se extraen muestras del efluente coronario (2 ml) con un catéter insertado en el ventrículo derecho a través de la arteria pulmonar. Se toman muestras inmediatamente antes de la isquemia y a los 3, 6, 10, 20 y 30 min de la reperfusión. Se mide la liberación de LDH según lo descrito previamente por Bergmeyer y Bernt, "Methods of Enzymatic Analysis", Verlag Chemie (1974). Los datos se expresan como valores acumulativos para todo el período de reflujo.

Para corroborar los datos relativos a la lesión miocárdica, determinada por la liberación de LDH, también se evalúan las superficies de infarto de manera ciega. Al final del episodio (30 min de reperfusión), se retiran rápidamente todos

los corazones del aparato de perfusión y se disecciona el LV en cortes circunferenciales de 2-3 mm. Después de 15 min de incubación a 37 °C en solución de tetrazolio nitro azul al 0,1 % en tampón fosfato como se describe en Ma et al., "Opposite effects of nitric oxide and nitroxyl on postischemic myocardial injury", Proc. Natl. Acad. Sci., 96:14617-14622 (1999), se separa el tejido necrótico sin tinción del tejido viable con tinción. Las áreas de tejido viable y necrótico se separan cuidadosamente por un observador independiente que desconoce la procedencia de los corazones. A continuación, se determina el peso de los tejidos necróticos y no necróticos, y se expresa la masa necrótica como un porcentaje de la masa total del ventrículo izquierdo.

Los datos se pueden someter a métodos estadísticos tales como ANOVA seguido de la corrección de Bonferroni para ensayos t post hoc.

10 Ejemplo 8. Uso de ensayos clínicos en humanos para determinar la capacidad de las terapias de combinación relacionadas con la presente revelación para tratar, prevenir y/o retrasar la aparición y/o el desarrollo de una enfermedad o afección que responde a la terapia con nitroxilo.

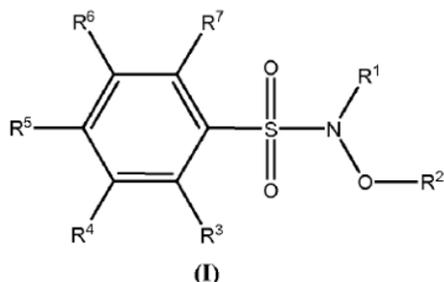
Si se desea, también se pueden someter a ensayo cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento en humanos para determinar la capacidad del compuesto para tratar, prevenir y/o retrasar la aparición y/o el desarrollo de una enfermedad o afección que responde a la terapia con nitroxilo. Para estos ensayos clínicos, se pueden utilizar métodos convencionales. En un método a modo de ejemplo, se inscriben los sujetos con una enfermedad o afección tal como la insuficiencia cardiaca congestiva en un estudio de fase I de la tolerabilidad, farmacocinética y farmacodinámica de una terapia que utiliza los compuestos revelados en el presente documento en protocolos convencionales. A continuación, se lleva a cabo un ensayo controlado aleatorio doble ciego en fase II para determinar la eficacia de los compuestos utilizando protocolos convencionales.

Aunque la invención anterior se haya descrito con cierto detalle a modo ilustrativo y de ejemplo con el fin de facilitar su comprensión, es evidente para los expertos en el arte que se pueden realizar ciertos cambios y modificaciones de menor importancia. Por lo tanto, la descripción y los ejemplos no se deben interpretar como limitativos del alcance de la invención.

25

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica que comprende (i) un compuesto de fórmula (I):



5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con (ii) un soporte farmacéuticamente aceptable, en donde:

R¹ es H;

R² es H, aralquilo o heterociclilo; y

10 R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, alquilsulfonilo, perhaloalcoxi y N-hidroxilsulfonamidilo, y en donde al menos uno de entre R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ es distinto de H.

2. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, en donde.

R² es H, bencilo o tetrahidropiran-2-ilo; y

R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, SO₂CH₃, SO₂NHOH y OCF₃.

15 3. Composición farmacéutica según la reivindicación 2, en donde R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H y SO₂CH₃.

4. Composición farmacéutica según la reivindicación 2, en donde R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H y OCF₃.

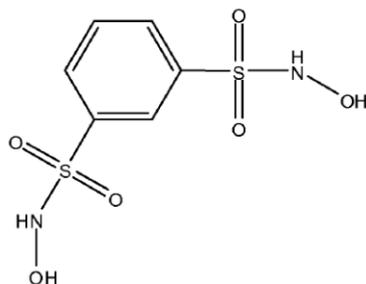
20 5. Composición farmacéutica según la reivindicación 2, en donde R³, R⁷ y R⁵ son H, uno de entre R⁴ y R⁶ es H, y el R⁴ o R⁶ que no es H es distinto de SO₂NHOH.

6. Composición farmacéutica según la reivindicación 5, en donde el R⁴ o R⁶ que no es H es SO₂CH₃.

7. Composición farmacéutica según la reivindicación 5, en donde el R⁴ o R⁶ que no es H es OCF₃.

8. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 7, en donde R² es H.

9. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, en donde el compuesto de la fórmula (I) es



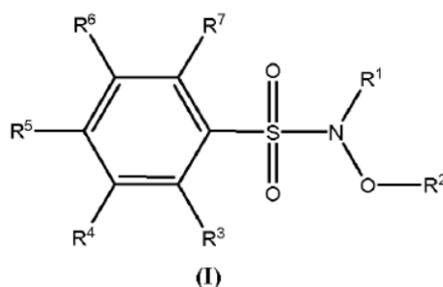
10. Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable, según se define en una de las reivindicaciones 1 a 9, para su uso en un método para modular los niveles de nitroxilo *in vivo*, tratar una enfermedad o afección que responde a la terapia con nitroxilo, tratar una enfermedad o afección cardiovascular, o tratar la insuficiencia cardíaca.

5 11. Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 10 para su uso según se define en la reivindicación 10, en donde dicha insuficiencia cardíaca es insuficiencia cardíaca aguda descompensada.

12. Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 10 para su uso según se define en la reivindicación 10 u 11, en donde el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable es según se define en la reivindicación 6 o 9.

10 13. Uso de un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable, según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la preparación de un medicamento para su uso en un método según se define en la reivindicación 10 u 11.

14. Compuesto de la fórmula (I)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

R¹ es H;

15 R² es H, aralquilo o heterociclilo; y

R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, alquilsulfonilo y perhaloalcoxi, y en donde al menos uno de entre R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ es distinto de H.

15. Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 14, en donde:

R² es H, bencilo o tetrahidropiran-2-ilo; y

20 R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, SO₂CH₃ y OCF₃.

16. Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 14, que es tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 3, 4, 5, 6, 7 y 8.

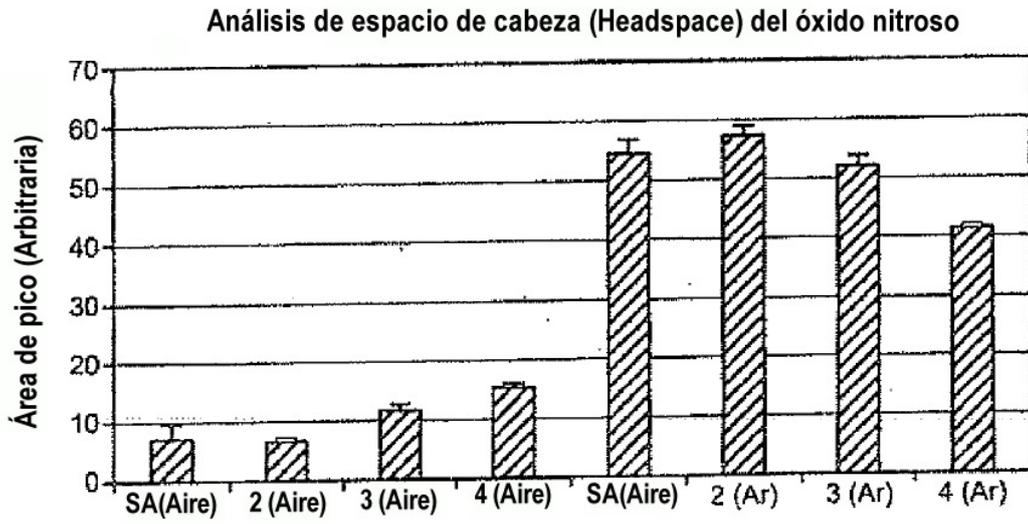


FIG. 1