

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 614 557**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/55** (2006.01)

**C07K 5/08** (2006.01)

**C07D 417/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.03.2010 E 14178725 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.11.2016 EP 2813241**

54 Título: **Inhibidores de proteasa de epoxi-cetona tripeptídica cristalina**

30 Prioridad:

**20.03.2009 US 162196 P**

**22.05.2009 US 180561 P**

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

**31.05.2017**

73 Titular/es:

**ONYX THERAPEUTICS, INC. (100.0%)**

**One Amgen Center Drive**

**Thousand Oaks, CA 91320-1799, US**

72 Inventor/es:

**PHIASIVONGSA, PASIT y**

**SEHL, LOUIS C.**

74 Agente/Representante:

**MARTÍN BADAJOZ, Irene**

**ES 2 614 557 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

Inhibidores de proteasa de epoxi-cetona tripeptídica cristalina

5 **Solicitudes relacionadas**

Esta solicitud reivindica el beneficio de prioridad de la solicitud provisional estadounidense n.º de serie 61/162.196, presentada el 20 de marzo de 2009, y la solicitud provisional estadounidense n.º de serie 61/180.561, presentada el 22 de mayo de 2009.

10

**Antecedentes de la invención**

En eucariotas, la degradación de proteínas se media predominantemente a través de la ruta de ubiquitina en la que proteínas seleccionadas como diana para destrucción se ligan al polipéptido de 76 aminoácidos ubiquitina. Una vez seleccionadas como diana, las proteínas ubiquitinadas sirven entonces como sustratos para el proteasoma 26S, una proteasa multicatalítica, que escinde proteínas para dar péptidos cortos a través de la acción de sus tres actividades proteolíticas principales. Aunque tiene una función general en el recambio proteico intracelular, la degradación mediada por proteasomas también desempeña un papel clave en muchos procesos tales como presentación de antígenos por el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase I, apoptosis, regulación del crecimiento celular, activación de NF- $\kappa$ B, procesamiento de antígenos y transducción de señales proinflamatorias.

El proteasoma 20S es un complejo de proteasas multicatalítico de forma cilíndrica de 700 kDa compuesto por 28 subunidades organizadas en cuatro anillos. En la levadura y otros eucariotas, 7 subunidades  $\alpha$  diferentes forman los anillos exteriores y 7 subunidades  $\beta$  diferentes comprenden los anillos interiores. Las subunidades  $\alpha$  sirven como sitios de unión para los complejos reguladores 19S (PA700) y 11S (PA28), así como de barrera física para la cámara proteolítica interior formada por los dos anillos de subunidades  $\beta$ . Por tanto, *in vivo*, se cree que el proteasoma existe como una partícula 26S ("el proteasoma 26S"). Experimentos *in vivo* han mostrado que la inhibición de la forma 20S del proteasoma puede correlacionarse fácilmente con la inhibición del proteasoma 26S. La escisión de prosequencias amino terminales de las subunidades  $\beta$  durante la formación de la partícula expone residuos de treonina amino terminales, que sirven como nucleófilos catalíticos. Las subunidades responsables de la actividad catalítica en los proteasomas tienen por tanto un residuo nucleófilo amino terminal, y estas subunidades pertenecen a la familia de las nucleófilo hidrolasas N-terminales (Ntn) (en las que el residuo nucleófilo N-terminal es, por ejemplo, Cys, Ser, Thr y otros restos nucleófilos). Esta familia incluye, por ejemplo, penicilina G acilasa (PGA), penicilina V acilasa (PVA), glutamina PRPP amidotransferasa (GAT) y glucosilasparaginasa bacteriana. Además de las subunidades  $\beta$  expresadas de manera ubicua, los vertebrados superiores también tienen tres subunidades  $\beta$  inducibles por interferón- $\gamma$  (LMP7, LMP2 y MECL1), que reemplazan a sus homólogos normales,  $\beta_5$ ,  $\beta_1$  y  $\beta_7$  respectivamente, alterando así las actividades catalíticas del proteasoma. A través del uso de diferentes sustratos peptídicos, se han definido tres actividades proteolíticas principales para el proteasoma 20S de eucariotas: actividad de tipo quimotripsina (CTL), que escinde después de grandes residuos hidrófobos; actividad de tipo tripsina (T-L), que escinde después de residuos básicos; y actividad hidrolizante del péptido de peptidilglutamilo (PGPH), que escinde después de residuos ácidos. También se han atribuido al proteasoma dos actividades menos caracterizadas adicionales: actividad BrAAP, que escinde después de aminoácidos de cadena ramificada; y actividad SNAAP, que escinde después de aminoácidos neutros pequeños. Las principales actividades proteolíticas del proteasoma parecen recibir la contribución de diferentes sitios catalíticos, puesto que inhibidores, mutaciones puntuales en subunidades  $\beta$  y el intercambio de subunidades  $\beta$  que se inducen por interferón- $\gamma$  alteran estas actividades en diversos grados.

La preparación de compuestos amorfos a base de péptidos para formular inhibidor(es) de proteasomas se describe en el documento WO 2008/140782. Sin embargo, se necesitan composiciones y métodos mejorados para preparar y formular inhibidor(es) de proteasomas.

50 **Sumario de la invención**

La invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende (a) un portador farmacéuticamente aceptable y (b) un compuesto cristalino que tiene una estructura de fórmula (II) tal como se expone en la reivindicación 1.

55 **Breve descripción de las figuras**

60 La figura 1 muestra un termograma de DSC (calorimetría diferencial de barrido) del compuesto 1 cristalino.

La figura 2 muestra un espectro de XRPD (difracción de rayos X de polvo) del compuesto 1 cristalino.

La figura 3 muestra un termograma de TG del compuesto 1 cristalino.

65

La figura 4 muestra termogramas modulados del compuesto 1 amorfo, flujo de calor reversible (abajo) y flujo de calor no reversible (arriba).

5 La figura 5 muestra una comparación de termogramas de DSC del compuesto 1 cristalino preparado según el ejemplo 2 (centro), el ejemplo 3 (arriba) y el ejemplo 4 (abajo).

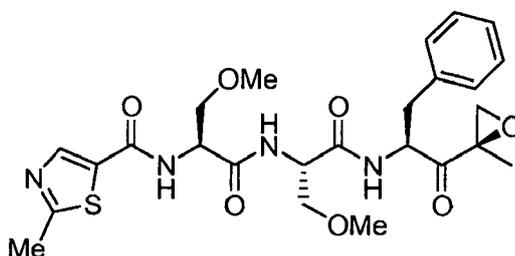
La figura 6 muestra un espectro de XRPD del compuesto 1 amorfo preparado según el ejemplo 1 (abajo), en comparación con los espectros de XRPD del compuesto 1 cristalino preparados según el ejemplo 2 (arriba), el ejemplo 3 (2° desde abajo) y el ejemplo 4 (2° desde arriba).

10

La figura 7 muestra un termograma de TG del compuesto 1 amorfo.

### Descripción detallada de la invención

15 La invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende (a) un portador farmacéuticamente aceptable y (b) un compuesto cristalino de fórmula (II)



(II)

20 También se da a conocer un método para la preparación de un compuesto cristalino de fórmula (II), en el que el método comprende uno o más de: (i) preparar el compuesto amorfo, por ejemplo, según la solicitud de patente estadounidense n.º 11/595.804; (ii) disolver el compuesto amorfo en un disolvente orgánico; (iii) llevar la disolución a supersaturación; (iv) aislar los cristales, por ejemplo, mediante filtración de los cristales, mediante decantación de fluidos de los cristales, o mediante cualquier otra técnica de separación adecuada; y (v) lavar los cristales. En determinadas realizaciones, la preparación comprende además inducir cristalización. En determinadas realizaciones, la preparación comprende además secar, preferiblemente a presión reducida, tal como a presión de vacío.

En determinadas realizaciones, el compuesto amorfo puede disolverse en un disolvente seleccionado de acetonitrilo, acetato de etilo, heptanos, hexanos, acetato de isopropilo, metanol, metil etil cetona, tetrahidrofurano, tolueno y agua, o cualquier combinación de los mismos. En determinadas realizaciones, el compuesto amorfo de fórmula (II) puede disolverse en un disolvente orgánico seleccionado de acetonitrilo, heptanos, hexanos, metanol, tetrahidrofurano y tolueno, o cualquier combinación de los mismos. En determinadas realizaciones preferidas, el disolvente orgánico es tolueno, tetrahidrofurano o acetonitrilo, preferiblemente acetonitrilo o tolueno.

35 En determinadas realizaciones, llevar la disolución a supersaturación comprende la adición lenta de un antidisolvente, tal como agua, heptanos, hexanos u otro líquido polar o no polar miscible con el disolvente orgánico, permitir que la disolución se enfríe (con o sin siembra de la disolución), reducir el volumen de la disolución, o cualquier combinación los mismos. En determinadas realizaciones, llevar la disolución a supersaturación comprende añadir un antidisolvente, enfriar la disolución hasta temperatura ambiental o inferior, y reducir el volumen de la disolución, por ejemplo, mediante la evaporación del disolvente de la disolución. En determinadas realizaciones, permitir que la disolución se enfríe puede realizarse de manera pasiva (por ejemplo, permitiendo que la disolución permanezca a temperatura ambiental) o activa (por ejemplo, enfriando la disolución en un baño de hielo o congelador).

45 En determinadas realizaciones, el método comprende además inducir precipitación o cristalización. En determinadas realizaciones, inducir precipitación o cristalización comprende una nucleación secundaria, en la que la nucleación se produce en presencia de cristales simiente o interacciones con el entorno (paredes del cristalizador, impulsores de agitación, sonicación, etc.).

50 En determinadas realizaciones, lavar los cristales comprende lavar con un líquido seleccionado de antidisolvente, acetonitrilo, heptanos, hexanos, metanol, tetrahidrofurano, tolueno, agua, o una combinación de los mismos. En determinadas realizaciones, los cristales se lavan con una combinación de antidisolvente y el disolvente orgánico. En determinadas realizaciones, el antidisolvente es agua, mientras que en otras realizaciones es un disolvente de alcano, tal como hexano o pentano, o un disolvente hidrocarbonado aromático, tal como benceno, tolueno o xileno.

55

En determinadas realizaciones, lavar los cristales comprende lavar el compuesto cristalino de fórmula (II) con una mezcla de tetrahidrofurano y un disolvente de alcano, tal como hexanos o heptanos, o con una mezcla de acetonitrilo y agua. En determinadas realizaciones, lavar los cristales comprende lavar el compuesto cristalino de fórmula (II) con tolueno. En tales realizaciones preferidas, el tolueno se enfría antes del lavado.

En determinadas realizaciones, un compuesto cristalino de fórmula (II) es sustancialmente puro. En determinadas realizaciones, el punto de fusión del compuesto cristalino de fórmula (II) está en el intervalo de aproximadamente 135 a aproximadamente 160°C, de aproximadamente 140 a aproximadamente 155°C, de aproximadamente 145 a aproximadamente 150°C, o incluso de aproximadamente 147 a aproximadamente 149°C, por ejemplo, aproximadamente 149°C.

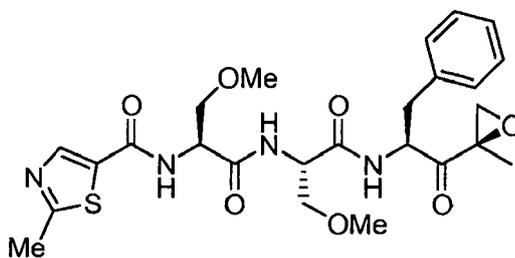
En determinadas realizaciones, la DSC de un compuesto cristalino de fórmula (II) tiene un valor máximo endotérmico definido a aproximadamente 147°C, por ejemplo, que resulta de la fusión y la descomposición de la forma cristalina tal como se muestra en la figura 1.

En determinadas realizaciones, el espectro de rayos X de polvo de un compuesto cristalino de fórmula (II) es ( $\theta$ -2 $\theta$ ): 8,94; 9,39; 9,76; 10,60; 11,09; 12,74; 15,27; 17,74; 18,96; 20,58; 20,88; 21,58; 21,78; 22,25; 22,80; 24,25; 24,66; 26,04; 26,44; 28,32; 28,96; 29,65; 30,22; 30,46; 30,78; 32,17; 33,65; 34,49; 35,08; 35,33; 37,85; 38,48 tal como se muestra en la figura 2.

En determinadas realizaciones, el termograma de TG de un compuesto cristalino de fórmula (II) muestra desde un 0,0 hasta un 0,3% de pérdida de peso en el intervalo de temperatura de 25 a 125°C tal como se muestra en la figura 3.

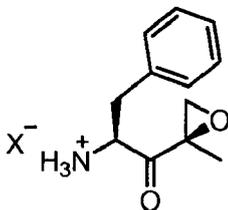
En determinadas realizaciones, un compuesto cristalino de fórmula (II) no está solvatado (por ejemplo, la red cristalina no comprende moléculas de disolvente). En determinadas realizaciones alternativas, un compuesto cristalino de fórmula (II) está solvatado.

También se da a conocer un método para la preparación de un compuesto cristalino de fórmula (II),



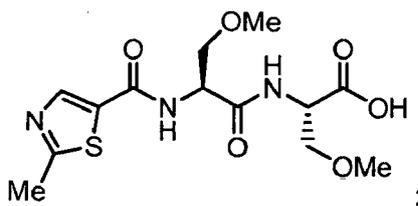
(II)

que comprende (i) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (III)



(III)

en la que X es cualquier contraión adecuado, con un compuesto de fórmula (IV) en un disolvente orgánico



(IV)

(ii) preparar una disolución de un compuesto de fórmula (II) en el disolvente orgánico; (iii) llevar la disolución a supersaturación para permitir la formación de cristales; y (iv) aislar los cristales para proporcionar un compuesto cristalino de fórmula (II), por ejemplo, mediante filtración de los cristales, mediante decantación, o mediante cualquier otra técnica de separación adecuada.

En determinadas realizaciones, un compuesto de fórmula (II) no se purifica mediante cromatografía antes de la preparación de la disolución en el disolvente orgánico.

En determinadas realizaciones, la preparación comprende además inducir cristalización. En determinadas realizaciones, la preparación comprende además lavar los cristales, por ejemplo, con un fluido disolvente o no disolvente. En determinadas realizaciones, la preparación comprende además secar, preferiblemente a presión reducida, tal como a presión de vacío.

En determinadas realizaciones, X es un contraión seleccionado de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, fosfato, nitrato, acetato, trifluoroacetato, citrato, metanosulfonato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, succinato, tosilato, malonato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, mesilato, 2-hidroxietanosulfonato, y similares. (Véase, por ejemplo, Berge *et al.* (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66: 1-19.) En determinadas realizaciones, X se selecciona de trifluoroacetato, metanosulfonato, toluenosulfonato, acetato, cloruro y bromuro, preferiblemente trifluoroacetato.

En determinadas realizaciones, el disolvente orgánico se selecciona de acetonitrilo, acetato de etilo, heptanos, hexanos, acetato de isopropilo, metanol, metil etil cetona, tetrahidrofurano, tolueno y agua, o cualquier combinación de los mismos. En determinadas realizaciones, el compuesto amorfo de fórmula (II) puede disolverse en un disolvente orgánico seleccionado de acetonitrilo, heptanos, hexanos, metanol, tetrahidrofurano y tolueno, o cualquier combinación de los mismos. En determinadas realizaciones preferidas, el disolvente orgánico es tolueno, tetrahidrofurano o acetonitrilo, preferiblemente acetonitrilo o tolueno.

En determinadas realizaciones, la preparación comprende además lavar los cristales de fórmula (II). En determinadas realizaciones, lavar los cristales comprende lavar con un líquido seleccionado de antidisolvente, acetonitrilo, heptanos, hexanos, metanol, tetrahidrofurano, tolueno, agua, o una combinación de los mismos. En determinadas realizaciones, los cristales se lavan con una combinación de antidisolvente y el disolvente orgánico. En determinadas realizaciones, el antidisolvente es agua, mientras que en otras realizaciones es un disolvente de alcano, tal como hexano o pentano, o un disolvente hidrocarbonado aromático, tal como benceno, tolueno o xileno.

En determinadas realizaciones, la preparación comprende además secar los cristales de ambas fórmulas (II), preferiblemente a presión reducida, tal como a presión de vacío.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto cristalino de fórmula (II) y un portador farmacéuticamente aceptable. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica se selecciona de comprimidos, cápsulas e inyecciones.

#### Usos de epoxi-cetonas tripeptídicas cristalinas

La degradación de proteínas ordenada es crucial para el mantenimiento de funciones celulares normales, y el proteasoma es esencial para el proceso de degradación de proteínas. El proteasoma controla los niveles de proteínas que son importantes para la progresión del ciclo celular y la apoptosis en células normales y malignas; por ejemplo, ciclinas, caspasas, BCL2 y  $\text{nF-}\kappa\text{B}$  (Kumatori *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. (1990) 87: 7071-7075; Almond *et al.*, Leukemia (2002) 16: 433-443). Por tanto, no es sorprendente que la inhibición de la actividad del proteasoma pueda traducirse en terapias para tratar diversos estados patológicos, tales como neoplasia maligna, benigna y enfermedades autoinmunitarias, dependiendo de las células implicadas.

Modelos tanto *in vitro* como *in vivo* han mostrado que las células malignas, en general, son susceptibles de inhibición de proteasomas. De hecho, la inhibición de proteasomas ya se ha validado como estrategia terapéutica para el tratamiento de mieloma múltiple. Esto podría deberse, en parte, a la dependencia del sistema de proteasoma de las células malignas altamente proliferativas para eliminar rápidamente proteínas (Rolfe *et al.*, J. Mol. Med. (1997)

75: 5-17; Adams, Nature (2004) 4: 349-360). Por tanto, determinadas realizaciones de la invención se refieren a un método de tratamiento de un cáncer, que comprende administrar a un sujeto que necesita tal tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de inhibidor de proteasomas dado a conocer en el presente documento. Tal como se usa en el presente documento, el término "cáncer" incluye, pero no se limita a, tumores de transmisión hemática y sólidos. Cáncer se refiere a una enfermedad de la sangre, hueso, órganos, tejido de la piel y el sistema vascular, incluyendo, pero sin limitarse a, cánceres de la vejiga, de la sangre, de hueso, de cerebro, de mama, de cuello uterino, de tórax, de colon, de endometrio, de esófago, ocular, de cabeza, de riñón, de hígado, de pulmón, de los ganglios linfáticos, de boca, de cuello, de ovarios, de páncreas, de próstata, de recto, renal, de piel, de estómago, de testículo, de garganta y de útero. Los cánceres específicos incluyen, pero no se limitan a, leucemia (leucemia linfocítica aguda (ALL), leucemia mielógena aguda (AML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mielógena crónica (CML), leucemia de células pilosas), neoplasias de células B maduras (linfoma linfocítico pequeño, leucemia prolinfocítica de células B, linfoma linfoplasmacítico (tal como macroglobulinemia de Waldenström), linfoma esplénico de la zona marginal, mieloma de células plasmáticas, plasmacitoma, enfermedades por depósito de inmunoglobulina monoclonal, enfermedades de cadena pesada, linfoma extraganglionar de células B de zona marginal (linfoma MALT), linfoma ganglionar de células B de zona marginal (NMZL), linfoma folicular, linfoma de células del manto, linfoma difuso de células B, linfoma mediastínico (tímico) de células B grandes, linfoma intravascular de células B grandes, linfoma de efusión primaria y linfoma/leucemia de Burkitt), neoplasias de linfocitos citolíticos naturales y células T maduras (leucemia prolinfocítica de células T, leucemia linfocítica granular de células T grandes, leucemia agresiva de linfocitos citolíticos naturales, leucemia/linfoma de células T en adultos, linfoma extraganglionar de células T/linfocitos citolíticos naturales, linfoma de tipo de enteropatía de células T, linfoma hepatoesplénico de células T, linfoma blástico de linfocitos citolíticos naturales, micosis fungoide (síndrome de Sézary), linfoma anaplásico de células grandes cutáneo primario, papulosis linfomatoide, linfoma angioinmunoblástico de células T, linfoma de células T periféricas no especificado y linfoma anaplásico de células grandes), linfoma de Hodgkin (esclerosis nodular, celularidad mixta, rico en linfocitos, con reducción o no de linfocitos, predominante en linfocitos nodulares), mieloma (mieloma múltiple, mieloma indolente, mieloma latente), enfermedad mieloproliferativa crónica, enfermedad mielodisplásica/mieloproliferativa, síndromes mielodisplásicos, trastornos linfoproliferativos asociados a inmunodeficiencia, neoplasias histiocíticas y de células dendríticas, mastocitosis, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, fibrosarcoma, tumor maligno de células gigantes, enfermedad ósea del mieloma, osteosarcoma, cáncer de mama (dependiente de hormonas, independiente de hormonas), cánceres ginecológicos (de cuello uterino, de endometrio, de trompa de Falopio, enfermedad trofoblástica gestacional, de ovario, de peritoneo, uterino, de vagina y de vulva), carcinoma de células basales (BCC), carcinoma de células escamosas (SCC), melanoma maligno, dermatofibrosarcoma protuberante, carcinoma de células de Merkel, sarcoma de Kaposi, astrocitoma, astrocitoma pilocítico, tumor neuroepitelial disembrionario, oligodendrogliomas, ependimoma, glioblastoma multiforme, gliomas mixtos, oligoastrocitomas, meduloblastoma, retinoblastoma, neuroblastoma, germinoma, teratoma, mesotelioma maligno (mesotelioma del peritoneo, mesotelioma pericárdico, mesotelioma pleural), tumor gastro-entero-pancreático o neuroendocrino gastroenteropancreático (GEP-NET), carcinoide, tumor endocrino pancreático (PET), adenocarcinoma colorrectal, carcinoma colorrectal, tumor neuroendocrino agresivo, leiomiomas, adenocarcinoma mucinoso, adenocarcinoma de células en anillo de sello, carcinoma hepatocelular, colangiocarcinoma, hepatoblastoma, hemangioma, adenoma hepático, hiperplasia nodular focal (hiperplasia regenerativa nodular, hamartoma), carcinoma de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) (carcinoma de pulmón de células escamosas, adenocarcinoma, carcinoma de pulmón de células grandes), carcinoma de pulmón de células pequeñas, carcinoma de tiroides, cáncer de próstata (resistente al tratamiento hormonal, independiente de andrógenos, dependiente de andrógenos, insensible a hormonas), carcinoma de células renales y sarcomas de tejidos blandos (fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, dermatofibrosarcoma, liposarcoma, rhabdomiomas, leiomiomas, hemangiosarcoma, sarcoma sinovial, tumor/neurofibrosarcoma maligno de la vaina del nervio periférico, osteosarcoma extraesquelético).

Muchos tumores de los tejidos hematopoyéticos y linfoides se caracterizan por un aumento en la proliferación celular, o un tipo particular de célula. Las enfermedades mieloproliferativas crónicas (CMPD) son trastornos de células madre hematopoyéticas clonales caracterizados por la proliferación en la médula ósea de uno o más de los linajes mieloides, lo que da como resultado números aumentados de granulocitos, glóbulos rojos y/o plaquetas en la sangre periférica. Como tal, el uso de inhibidores de proteasomas para el tratamiento de tales enfermedades es atractivo y se está examinando (Cilloni *et al.*, Haematologica (2007) 92: 1124-1229). Las CMPD pueden incluir leucemia mielógena crónica, leucemia neutrofilica crónica, leucemia eosinofílica crónica, policitemia vera, mielofibrosis idiopática crónica, trombocitemia esencial y enfermedad mieloproliferativa crónica no clasificable. Un aspecto de la invención es el método de tratamiento de CMPD que comprende administrar a un sujeto que necesita tal tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de inhibidor de proteasomas dado a conocer en el presente documento.

Enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas, tales como leucemia mielomonocítica crónica, leucemia mielóide crónica atípica, leucemia mielomonocítica juvenil y enfermedad mielodisplásica/mieloproliferativa no clasificable, se caracterizan por una hiperplasia de la médula ósea debido a una proliferación en uno o más de los linajes mieloides. La inhibición del proteasoma con un compuesto o composición tal como se describe en el presente documento puede servir para tratar estas enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas proporcionando a un sujeto que necesita tal tratamiento una cantidad eficaz del compuesto o composición.

Los síndromes mielodisplásicos (MDS) se refieren a un grupo de trastornos de células madre hematopoyéticas caracterizados por displasia y hematopoyesis ineficaz en una o más de las líneas celulares mieloides principales. La selección como diana de NF- $\kappa$ B con un inhibidor de proteasomas en estas neoplasias malignas hematológicas induce apoptosis, destruyendo por tanto la célula maligna (Braun *et al.* Cell Death and Differentiation (2006) 13: 748-758). Una realización adicional de la invención es un método para tratar MDS que comprende administrar a un sujeto que necesita tal tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto dado a conocer en el presente documento. Los MDS incluyen anemia resistente al tratamiento, anemia resistente al tratamiento con sideroblastos en anillo, citopenia resistente al tratamiento con displasia multilineal, anemia resistente al tratamiento con exceso de blastocitos, síndrome mielodisplásico no clasificable y síndrome mielodisplásico asociado con una anomalía cromosómica aislada del(5q).

La mastocitosis es una proliferación de mastocitos y su posterior acumulación en uno o más sistemas de órganos. La mastocitosis incluye, pero no se limita a, mastocitosis cutánea, mastocitosis sistémica indolente (ISM), mastocitosis sistémica con enfermedad hematológica clonal asociada de linaje distinto de mastocitos (SM-AHNMD), mastocitosis sistémica agresiva (ASM), leucemia de mastocitos (MCL), sarcoma de mastocitos (MCS) y mastocitoma extracutáneo. Otra realización de la invención es un método para tratar mastocitosis, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto o composición dado a conocer en el presente documento a un sujeto al que se le ha diagnosticado mastocitosis.

El proteasoma regula el NF- $\kappa$ B, que a su vez regula los genes implicados en la respuesta inmunitaria e inflamatoria. Por ejemplo, NF- $\kappa$ B se requiere para la expresión del gen  $\kappa$  de la cadena ligera de inmunoglobulina, el gen de la cadena  $\alpha$  del receptor de IL-2, el gen del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I y varios genes de citocinas que codifican para, por ejemplo, IL-2, IL-6, factor estimulante de colonias de granulocitos e IFN- $\beta$  (Palombella *et al.*, Cell (1994) 78: 773-785). Por tanto, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a métodos para afectar al nivel de expresión de IL-2, MHC-I, IL-6, TNF $\alpha$ , IFN- $\beta$  o cualquiera de las otras proteínas mencionadas anteriormente, comprendiendo cada método administrar a un sujeto una cantidad eficaz de un compuesto o composición de inhibidor de proteasomas dado a conocer en el presente documento. En determinadas realizaciones, la invención incluye un método de tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria en un mamífero que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o composición descrito en el presente documento. Una "enfermedad autoinmunitaria" en el presente documento es una enfermedad o trastorno que se origina de y se dirige contra los propios tejidos de un individuo. Los ejemplos de enfermedades o trastornos autoinmunitarios incluyen, pero no se limitan a, respuestas inflamatorias tales como enfermedades inflamatorias de la piel incluyendo psoriasis y dermatitis (por ejemplo, dermatitis atópica); esclerodermia y esclerosis sistémicas; respuestas asociadas con enfermedad inflamatoria del intestino (tales como enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa); síndrome disneico (incluyendo síndrome disneico del adulto; ARDS); dermatitis; meningitis; encefalitis; uveítis; colitis; glomerulonefritis; estados alérgicos tales como eccema y asma y otros estados que implican infiltración de células T y respuestas inflamatorias crónicas; aterosclerosis; deficiencia de adhesión de leucocitos; artritis reumatoide; lupus eritematoso sistémico (SLE); diabetes mellitus (por ejemplo, diabetes mellitus tipo I o diabetes mellitus insulino dependiente); esclerosis múltiple; síndrome de Reynaud; tiroiditis autoinmunitaria; encefalomielite alérgica; síndrome de Sjögren; diabetes de aparición juvenil; y respuestas inmunitarias asociadas con hipersensibilidad aguda y retardada mediadas por citocinas y linfocitos T encontradas normalmente en tuberculosis, sarcoidosis, polimiositis, granulomatosis y vasculitis; anemia perniciosa (enfermedad de Addison); enfermedades que implican diapedesis de leucocitos; trastorno inflamatorio del sistema nervioso central (SNC); síndrome de lesión multiorgánica; anemia hemolítica (incluyendo, pero sin limitarse a crioglobulinemia o anemia Coombs positiva); miastenia grave; enfermedades mediadas por complejo antígeno-anticuerpo; enfermedad antimembrana basal glomerular; síndrome antifosfolípido; neuritis alérgica; enfermedad de Graves; síndrome miasténico de Lambert-Eaton; penfigoide ampolloso; pénfigo; poliendocrinopatías autoinmunitarias; enfermedad de Reiter; síndrome del hombre rígido; enfermedad de Beheet; arteritis de células gigantes; nefritis por inmunocomplejos; nefropatía por IgA; polineuropatías por IgM; púrpura trombocitopénica inmunitaria (ITP) o trombocitopenia autoinmunitaria.

El sistema inmunitario examina para detectar células autólogas que están infectadas de manera viral, han experimentado transformación oncogénica o presentan péptidos desconocidos sobre su superficie. La proteólisis intracelular genera péptidos pequeños para la presentación a linfocitos T para inducir respuestas inmunitarias mediadas por MHC clase I. Por tanto, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método de uso del compuesto como agente inmunomodulador para inhibir o alterar la presentación de antígenos en una célula, que comprende exponer la célula (o administrar a un sujeto) a un compuesto descrito en el presente documento. Las realizaciones específicas incluyen un método de tratamiento de enfermedades relacionadas con injerto o trasplante, tales como enfermedad de injerto contra huésped o enfermedad de huésped contra injerto en un mamífero, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en el presente documento. El término "injerto" tal como se usa en el presente documento se refiere a un material biológico derivado de un donante para trasplante a un receptor. Los injertos incluyen material variado tal como, por ejemplo, células aisladas tales como células de islote; tejido tal como el amnios de un recién nacido, médula ósea, células precursoras hematopoyéticas y tejido ocular, tal como tejido corneal; y órganos tales como piel, corazón, hígado, bazo, páncreas, lóbulo tiroideo, pulmón, riñón, órganos tubulares (por ejemplo, intestino, vasos sanguíneos o esófago). Los órganos tubulares pueden usarse para reemplazar partes dañadas del esófago, los vasos sanguíneos o las vías biliares. Los

injertos de piel pueden usarse no sólo para quemaduras, sino también como apósito para el intestino dañado o para cerrar determinados defectos tales como hernia diafragmática. El injerto se deriva de cualquier fuente de mamífero, incluyendo seres humanos, ya sea de donantes cadáveres o vivos. En algunos casos, el donante y el receptor es el mismo mamífero. Preferiblemente el injerto es médula ósea o un órgano tal como el corazón y el donante del injerto y el huésped coinciden en los antígenos HLA clase II.

Las neoplasias histiocíticas y de células dendríticas se derivan de fagocitos y células accesorias, que desempeñan papeles principales en el procesamiento y la presentación de antígenos a linfocitos. Se ha mostrado que reducir el contenido en proteasomas en células dendríticas altera sus respuestas inducidas por antígenos (Chapatte *et al.* Cancer Res. (2006) 66: 5461-5468). Por tanto, otra realización de la invención comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto o composición dado a conocer en el presente documento a un sujeto con neoplasia histiocítica o de células dendríticas. Las neoplasias histiocíticas y de células dendríticas incluyen sarcoma histiocítico, histiocitosis de células de Langerhans, sarcoma de células de Langerhans, sarcoma/tumor de células dendríticas interdigitadas, sarcoma/tumor de células dendríticas foliculares y sarcoma de células dendríticas no especificadas.

Se ha mostrado que la inhibición del proteasoma es beneficiosa para tratar enfermedades por las que un tipo de célula está proliferando y trastornos inmunitarios; por tanto, una realización de la invención incluye el tratamiento de enfermedades linfoproliferativas (LPD) asociadas con trastornos inmunitarios primarios (PID) que comprende administrar una cantidad eficaz del compuesto dado a conocer a un sujeto que lo necesita. Los entornos clínicos más comunes de inmunodeficiencia asociada con una incidencia aumentada de trastornos linfoproliferativos, incluyendo neoplasias y linfomas de células B y células T, son síndromes de inmunodeficiencia primaria y otros trastornos inmunitarios primarios, infección con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), inmunosupresión iatrogénica en pacientes que han recibido aloinjertos de órganos sólidos o médula ósea e inmunosupresión iatrogénica asociada con tratamiento con metotrexato. Otros PID asociados comúnmente con LPD son, pero sin limitarse a, ataxia-telangiectasia (AT), síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS), inmunodeficiencia variable común (CVID), inmunodeficiencia combinada grave (SCID), trastorno linfoproliferativo ligado al cromosoma X (XLP), síndrome de rotura de Nijmegen (NBS), síndrome de hiper-IgM y síndrome linfoproliferativo autoinmunitario (ALPS).

Realizaciones adicionales de la invención se refieren a métodos para afectar a la regulación dependiente de proteasomas de oncoproteínas y a métodos de tratamiento o inhibición del crecimiento del cáncer, comprendiendo cada método exponer una célula (*in vivo*, por ejemplo, en un sujeto, o *in vitro*) a la composición de inhibidor de proteasomas dada a conocer en el presente documento. Las proteínas E6 derivadas de VPH-16 y VPH-18 estimulan la conjugación y la degradación dependiente de ATP y ubiquitina de p53 en lisados de reticulocitos en bruto. Se ha mostrado que el oncogén recesivo p53 se acumula a la temperatura no permisiva en una línea celular con una E1 termolábil mutada. Los niveles elevados de p53 pueden conducir a apoptosis. Los ejemplos de proto-oncoproteínas degradadas por el sistema de ubiquitina incluyen c-Mos, c-Fos y c-Jun. En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para tratar apoptosis relacionada con p53, que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de una composición de inhibidor de proteasomas dada a conocer en el presente documento.

Otro aspecto de la invención se refiere al uso de composiciones de inhibidor de proteasomas dadas a conocer en el presente documento para el tratamiento de enfermedades y estados neurodegenerativos, incluyendo, pero sin limitarse a, accidente cerebrovascular, daño isquémico al sistema nervioso, traumatismo neural (por ejemplo, daño cerebral por percusión, lesión de la médula espinal y daño traumático al sistema nervioso), esclerosis múltiple y otras neuropatías mediadas por el sistema inmunitario (por ejemplo, síndrome de Guillain-Barré y sus variantes, neuropatía axónica motora aguda, polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda y síndrome de Fisher), complejo de demencia asociado con VIH/SIDA, axonomía, neuropatía diabética, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, meningitis bacteriana, parasitaria, fúngica y viral, encefalitis, demencia vascular, demencia por infartos múltiples, demencia con cuerpos de Lewy, demencia frontotemporal tal como enfermedad de Pick, demencias subcorticales (tal como enfermedad de Huntington o parálisis supranuclear progresiva), síndromes de atrofia cortical focal (tal como afasia primaria), demencias metabólicas y tóxicas (tal como hipotiroidismo crónico o deficiencia de B12) y demencias provocadas por infecciones (tales como sífilis o meningitis crónica).

La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por depósitos extracelulares de proteína  $\beta$ -amiloide ( $\beta$ -AP) en placas seniles y vasos cerebrales.  $\beta$ -AP es un fragmento de péptido de 39 a 42 aminoácidos derivado de un precursor de proteína amiloide (APP). Se conocen al menos tres isoformas de APP (695, 751 y 770 aminoácidos). El corte y empalme alternativos del ARNm genera las isoformas; el procesamiento normal afecta a una parte de la secuencia de  $\beta$ -AP, impidiendo por tanto la generación de  $\beta$ -AP. Se cree que el procesamiento de proteínas anómalas mediante el proteasoma contribuye a la abundancia de  $\beta$ -AP en el cerebro con Alzheimer. La enzima de procesamiento de APP en ratas contiene aproximadamente diez subunidades diferentes (22 kDa-32 kDa). La subunidad de 25 kDa tiene una secuencia N-terminal de X-Gln-Asn-Pro-Met-X-Thr-Gly-Thr-Ser, que es idéntica a la subunidad  $\beta$  de la macropaina humana (Kojima, S. *et al.*, *Fed. Eur. Biochem. Soc.*, (1992) 304: 57-60). La enzima de procesamiento de APP escinde en el enlace Gln<sup>15</sup>--Lys<sup>16</sup>, en presencia de ion calcio, la enzima también escinde en el enlace Met<sup>1</sup>--Asp<sup>1</sup> y el enlace Asp<sup>1</sup>--Ala<sup>2</sup> para liberar el dominio extracelular de  $\beta$ -AP.

Por tanto, un aspecto de la invención se refiere a un método de tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de un compuesto o composición de inhibidor de proteasomas dado a conocer en el presente documento. Tal tratamiento incluye reducir la tasa de procesamiento de  $\beta$ -AP, reducir la tasa de formación de placas de  $\beta$ -AP, reducir la tasa de generación de  $\beta$ -AP y reducir los signos clínicos de la enfermedad de Alzheimer.

La fibrosis es la formación en exceso y continua de tejido conjuntivo fibroso que resulta del crecimiento hiperproliferativo de fibroblastos y está asociada con la activación de la ruta de señalización de TGF- $\beta$ . La fibrosis implica un depósito extenso de matriz extracelular y puede producirse dentro de prácticamente cualquier tejido o a través de varios tejidos diferentes. Normalmente, el nivel de proteína de señalización intracelular (Smad) que activa la transcripción de genes diana con la estimulación de TGF- $\beta$  se regula por la actividad del proteasoma (Xu *et al.*, 2000). Sin embargo, se ha observado una degradación acelerada de los componentes de señalización de TGF- $\beta$  en estados fibróticos, tales como fibrosis quística, fibrosis por inyección, fibrosis endomiocárdica, fibrosis pulmonar idiopática, mielofibrosis, fibrosis retroperitoneal, fibrosis masiva progresiva, fibrosis sistémica nefrogénica. Otros estados que están asociados a menudo con fibrosis incluyen cirrosis, enfermedad pulmonar parenquimatosa difusa, síndrome de dolor posvasectomía, tuberculosis, anemia de células falciformes y artritis reumatoide. Una realización de la invención es el método de tratamiento de un estado fibrótico o asociado con fibrosis que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición descrita en el presente documento, a un sujeto que necesita tal tratamiento.

El tratamiento de víctimas de quemaduras resulta obstaculizado a menudo por la fibrosis. Por tanto, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a la administración tópica o sistémica de un inhibidor objeto para tratar quemaduras. El cierre de la herida tras la intervención quirúrgica está a menudo asociado con cicatrices que desfiguran, que pueden prevenirse mediante la inhibición de la fibrosis. Por tanto, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para la prevención o reducción de la deformidad cicatricial.

Se considera que la producción en exceso de citocinas inducidas por lipopolisacáridos (LPS) tales como TNF $\alpha$  es fundamental para los procesos asociados con choque séptico. Además, se acepta en general que la primera etapa en la activación de células por LPS es la unión de LPS a receptores de membrana específicos. Las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  del complejo del proteasoma 20S se han identificado como proteínas de unión a LPS, lo que sugiere que la transducción de señales inducida por LPS puede ser una diana terapéutica importante en el tratamiento o la prevención de septicemia (Qureshi, N. *et al.*, *J. Immun.* (2003) 171: 1515-1525). Por tanto, en determinadas realizaciones, la composición de inhibidor de proteasomas puede usarse para la inhibición de TNF $\alpha$  para prevenir y/o tratar un choque séptico.

La lesión por isquemia y reperfusión da como resultado hipoxia, un estado en el que existe una deficiencia de oxígeno que alcanza los tejidos del cuerpo. Este estado provoca una degradación aumentada de I $\kappa$ -B $\alpha$ , dando como resultado por tanto la activación de NF- $\kappa$ B (Koong *et al.*, 1994). Se ha demostrado que puede reducirse la gravedad de la lesión que da como resultado hipoxia, con la administración de un inhibidor de proteasomas (Gao *et al.*, 2000; Bao *et al.*, 2001; Pye *et al.*, 2003). Por tanto, determinadas realizaciones de la invención se refieren a un método de tratamiento de una lesión por estado isquémico o reperfusión que comprende administrar a un sujeto que necesita tal tratamiento una cantidad eficaz del compuesto de inhibidor de proteasomas dado a conocer en el presente documento. Los ejemplos de tales estados o lesiones incluyen, pero no se limitan a, síndrome coronario agudo (placas vulnerables), enfermedad oclusiva arterial (oclusiones cardíaca, cerebral, arterial periférica y vascular), aterosclerosis (esclerosis coronaria, arteriopatía coronaria), infartos, insuficiencia cardíaca, pancreatitis, hipertrofia miocárdica, estenosis y reestenosis.

NF- $\kappa$ B también se une específicamente al potenciador/promotor del VIH. En comparación con la proteína Nef de mac239, la proteína reguladora del VIH Nef de pbj 14 difiere por dos aminoácidos en la región que controla la unión de proteína cinasa. Se cree que la proteína cinasa señala la fosforilación de I $\kappa$ B, desencadenando la degradación de I $\kappa$ B a través de la ruta de ubiquitina-proteasoma. Tras la degradación, NF- $\kappa$ B se libera en el interior del núcleo, potenciando por tanto la transcripción del VIH (Cohen, J., *Science*, (1995) 267: 960). En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para inhibir o reducir la infección por VIH en un sujeto, o a un método para disminuir el nivel de expresión génica viral, comprendiendo cada método administrar al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto o composición de inhibidor de proteasomas dado a conocer en el presente documento.

Las infecciones virales contribuyen a la patología de muchas enfermedades. Cardiopatías tales como miocarditis y miocardiopatía dilatada en curso se han asociado al virus Coxsackie B3. En unos análisis comparativos de micromatrices de genoma completo de corazones de ratón infectados, se regularon por incremento uniformemente subunidades de proteasoma específicas en corazones de ratones que desarrollaron miocarditis crónica (Szalay *et al.*, *Am J Pathol* 168: 1542-52, 2006). Algunos virus utilizan el sistema de ubiquitina-proteasoma en la etapa de la entrada viral en la que el virus se libera del endosoma al interior del citosol. El virus de la hepatitis del ratón (VHR) pertenece a la familia *Coronaviridae*, que también incluye el coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave (SARS). Yu y Lai (*J Virol* 79: 644-648, 2005) demostraron que un tratamiento de células infectadas con VHR con un

inhibidor de proteasomas dio como resultado una disminución en la replicación viral, correlacionándose con un título viral reducido en comparación con el de células no tratadas. Asimismo, el virus de la hepatitis B humana (VHB), miembro de la familia de virus *Hepadnaviridae*, requiere proteínas de la envuelta codificadas de manera viral para propagarse. La inhibición de la ruta de degradación de proteasomas provoca una reducción significativa en la cantidad de proteínas de la envuelta secretadas (Simsek *et al.*, J Virol 79: 12914-12920, 2005). Además del VHB, otros virus de la hepatitis (A, C, D y E) también pueden utilizar la ruta de degradación de ubiquitina-proteasoma para la secreción, la morfogénesis y la patogénesis. Por consiguiente, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para tratar una infección viral, tal como SARS o hepatitis A, B, C, D y E, que comprende poner en contacto una célula con (o administrar a un sujeto) una cantidad eficaz de un compuesto o composición dado a conocer en el presente documento.

En determinadas realizaciones, las composiciones dadas a conocer pueden ser útiles para el tratamiento de una infección parasitaria, tal como infecciones provocadas por parásitos protozoarios. Se considera que el proteasoma de estos parásitos está implicado principalmente en actividades de diferenciación celular y replicación (Paugam *et al.*, Trends Parasitol. 2003, 19 (2): 55-59). Además, se ha mostrado que especies de *Entamoeba* pierden su capacidad de enquistamiento cuando se exponen a inhibidores de proteasomas (Gonzales, *et al.*, Arch. Med. Res. 1997, 28, Spec n.º: 139-140). En determinadas realizaciones de este tipo, los protocolos administrativos para las composiciones de inhibidor de proteasomas son útiles para el tratamiento de infecciones parasitarias en seres humanos provocadas por un parásito protozoario seleccionado de *Plasmodium* spp. (incluyendo *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale*, que provocan paludismo), *Trypanosoma* spp. (incluyendo *T. cruzi*, que provoca la enfermedad de Chagas, y *T. brucei* que provoca tripanosomosis africana), *Leishmania* spp. (incluyendo *L. amazonensis*, *L. donovani*, *L. infantum*, *L. mexicana*, etc.), *Pneumocystis carinii* (un protozoario conocido por provocar neumonía en pacientes con SIDA y otros pacientes inmunodeprimidos), *Toxoplasma gondii*, *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba invadens* y *Giardia lamblia*. En determinadas realizaciones, las composiciones de inhibidor de proteasomas dadas a conocer son útiles para el tratamiento de infecciones parasitarias en animales y ganado provocadas por un parásito protozoario seleccionado de *Plasmodium hermani*, *Cryptosporidium* spp., *Echinococcus granulosus*, *Eimeria tenella*, *Sarcocystis neurona* y *Neurospora crassa*. En el documento WO 98/10779 se describen otros compuestos que actúan como inhibidores de proteasomas en el tratamiento de enfermedades parasitarias.

En determinadas realizaciones, las composiciones de inhibidor de proteasomas inhiben la actividad del proteasoma en un parásito sin recuperación en glóbulos rojos y glóbulos blancos. En determinadas realizaciones de este tipo, la larga semivida de las células sanguíneas puede proporcionar protección prolongada con respecto a terapia frente a exposiciones recurrentes a parásitos. En determinadas realizaciones, las composiciones de inhibidor de proteasomas pueden proporcionar protección prolongada con respecto a quimioprofilaxis frente a infección futura.

Los procariotas tienen un equivalente a la partícula de proteasoma 20S de eucariotas. Aunque la composición de subunidades de la partícula 20S de procariotas es más sencilla que la de eucariotas, tiene la capacidad de hidrolizar enlaces peptídicos de una manera similar. Por ejemplo, el ataque nucleófilo sobre el enlace peptídico se produce a través del residuo de treonina en el extremo N-terminal de las subunidades  $\beta$ . Por tanto, una realización de esta invención se refiere a un método de tratamiento de infecciones producidas por procariotas, que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de un compuesto o composición de inhibidor de proteasomas dado a conocer en el presente documento. Las infecciones producidas por procariotas pueden incluir enfermedades provocadas por o bien micobacterias (tal como tuberculosis, lepra o úlcera de Buruli) o bien arqueobacterias.

También se ha demostrado que inhibidores que se unen al proteasoma 20S estimulan la formación ósea en cultivos de órganos óseos. Además, cuando tales inhibidores se han administrado de manera sistémica a ratones, determinados inhibidores de proteasomas aumentaron las tasas de volumen óseo y formación ósea en más del 70% (Garrett, I. R. *et al.*, J. Clin. Invest. (2003) 111: 1771-1782), sugiriendo por tanto que la maquinaria de ubiquitina-proteasoma regula la diferenciación de osteoblastos y la formación ósea. Por tanto, un compuesto o composición de inhibidor de proteasomas dado a conocer puede ser útil en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades asociadas con pérdida ósea, tales como osteoporosis.

Por tanto, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para tratar una enfermedad o un estado seleccionado de cáncer, enfermedad autoinmunitaria, estado relacionado con injerto o trasplante, enfermedad neurodegenerativa, estado asociado con fibrosis, estados relacionados con isquemia, infección (viral, parasitaria o procariótica) y enfermedades asociadas con pérdida ósea, que comprende administrar un compuesto o composición tal como se da a conocer en el presente documento.

#### Administración de epoxi-cetonas tripeptídicas cristalinas

Los compuestos preparados tal como se describe en el presente documento pueden administrarse en diversas formas, dependiendo del trastorno que va a tratarse y de la edad, el estado y el peso corporal del paciente, tal como se conoce bien en la técnica. Por ejemplo, cuando los compuestos deben administrarse por vía oral, pueden formularse como comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos o jarabes; o para la administración parenteral, pueden formularse como inyecciones (intravenosas, intramusculares o subcutáneas), preparaciones para infusión por goteo o supositorios. Para la aplicación mediante la vía de la membrana mucosa oftálmica, pueden formularse como

colirios o colirios grasos. Estas formulaciones pueden prepararse por medios convencionales, y si se desea, el principio activo puede mezclarse con cualquier aditivo o excipiente convencional, tal como un aglutinante, un agente disgregante, un lubricante, un correctivo, un agente solubilizante, un adyuvante de suspensión, un agente emulsionante, un agente de recubrimiento, una ciclodextrina y/o un tampón. Aunque la dosificación variará dependiendo de los síntomas, la edad y el peso corporal del paciente, la naturaleza y la gravedad del trastorno que va a tratarse o prevenirse, la vía de administración y la forma del fármaco, en general, se recomienda una dosificación diaria de desde 0,01 hasta 2000 mg del compuesto para un paciente humano adulto, y ésta puede administrarse en una dosis única o en dosis divididas. La cantidad de principio activo que puede combinarse con un material portador para producir una forma farmacéutica única será en general la cantidad del compuesto que produce un efecto terapéutico.

El momento de la administración y/o la cantidad de la composición exactos que producirán los resultados más eficaces en cuanto a la eficacia de tratamiento en un paciente dado, dependerá de la actividad, la farmacocinética y la biodisponibilidad de un compuesto particular, el estado fisiológico del paciente (incluyendo edad, sexo, tipo y estadio de la enfermedad, estado físico general, capacidad de respuesta a una dosificación dada y tipo de medicación), la vía de administración, etc. Sin embargo, las directrices anteriores pueden usarse como base para ajustar el tratamiento, por ejemplo, determinando el momento y/o la cantidad de administración óptimos, que sólo requerirá experimentación de rutina que consiste en la monitorización del sujeto y el ajuste de la dosificación y/o el momento adecuado.

El término "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse a aquellos ligandos, materiales, composiciones y/o formas farmacéuticas que son, dentro del alcance del criterio médico responsable, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humano y animales sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica en exceso, u otro problema o complicación, acorde con una razón beneficio/riesgo razonable.

El término "portador farmacéuticamente aceptable" tal como se usa en el presente documento significa un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como una carga, un diluyente, un excipiente, un disolvente o un material de encapsulación líquido o sólido. Cada portador debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros componentes de la formulación y no perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz, almidón de patata y  $\beta$ -ciclodextrina sustituida o no sustituida; (3) celulosa, y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) goma tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes de tamponamiento, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido alginico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) disoluciones de tampón fosfato; y (21) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas. En determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención son no pirógenas, es decir, no inducen elevaciones de temperatura significativas cuando se administran a un paciente.

El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales de adición de ácidos inorgánicos y orgánicos, relativamente no tóxicas del/de los inhibidor(es). Estas sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales del/de los inhibidor(es), o haciendo reaccionar por separado un(os) inhibidor(es) purificado(s) en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado, y aislando la sal así formada. Las sales representativas incluyen las sales de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato, laurilsulfonato, y sales de aminoácidos y similares. (Véase, por ejemplo, Berge *et al.* (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66: 1-19.)

En otros casos, los inhibidores útiles en los métodos de la presente invención pueden contener uno o más grupos funcionales ácidos y, por tanto, pueden formar sales farmacéuticamente aceptables con bases farmacéuticamente aceptables. El término "sales farmacéuticamente aceptables" en estos casos se refiere a las sales de adición de bases inorgánicas y orgánicas relativamente no tóxicas de un(os) inhibidor(es). Asimismo, estas sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales del/de los inhibidor(es), o haciendo reaccionar por separado el/los inhibidor(es) purificado(s) en su forma de ácido libre con una base adecuada, tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión de metal farmacéuticamente aceptable, con amoniaco, o con una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria farmacéuticamente aceptable. Las sales alcalinas o alcalinotérricas representativas incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio, y similares. Las aminas orgánicas representativas útiles para las formación de sales de adición de base incluyen etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, y similares (véase, por ejemplo, Berge *et al.*, citado anteriormente).

En las composiciones, también pueden estar presentes agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como laurilsulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes

de recubrimiento, agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes.

Los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio, y similares; (2) antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol, y similares; y (3) agentes quelantes de metal, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares.

Las formulaciones adecuadas para administración oral pueden estar en forma de cápsulas, sellos, píldoras, comprimidos, pastillas para chupar (que usan una base aromatizada, habitualmente sacarosa y goma arábiga o goma tragacanto), polvos, gránulos, o como disolución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como emulsión líquida de aceite en agua o de agua en aceite, o como elixir o jarabe, o como pastillas (que usan una matriz inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga) y/o como colutorios, y similares, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada de un(os) inhibidor(es) como principio activo. Una composición también puede administrarse como bolo, electuario o pasta.

En formas farmacéuticas sólidas para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, comprimidos recubiertos de azúcar, polvos, gránulos, y similares), el principio activo puede mezclarse con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o cualquiera de los siguientes: (1) cargas o extendedores, tales como almidones, ciclodextrinas, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o goma arábiga; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y carbonato de sodio; (5) agentes retardantes de disolución, tales como parafina; (6) aceleradores de absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol acetílico y monoestearato de glicerol; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio, y mezclas de los mismos; y (10) agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes de tamponamiento. También pueden emplearse composiciones sólidas de tipo similar como cargas en cápsulas rellenas de gelatina blanda y dura que usan excipientes tales como lactosa o azúcares de leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular, y similares. En determinadas realizaciones, la epoxi-cetona tripeptídica cristalina se administra a un mamífero como cápsula. En otra realización, la epoxi-cetona tripeptídica cristalina es un compuesto de fórmula (I). En una realización más preferida, la epoxi-cetona tripeptídica cristalina es un compuesto de fórmula (II).

Puede prepararse un comprimido mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más componentes auxiliares. Pueden prepararse comprimidos fabricados por compresión usando aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, glicolato sódico de almidón o carboximetilcelulosa sódica reticulada), agente tensioactivo o dispersante. Pueden prepararse comprimidos moldeados moldeando en una máquina adecuada una mezcla del/de los inhibidor(es) en polvo humedecida con un diluyente líquido inerte.

Los comprimidos, y otras formas farmacéuticas sólidas, tales como comprimidos recubiertos de azúcar, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden ranurarse o prepararse opcionalmente con recubrimientos y vainas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. También pueden formularse para proporcionar liberación lenta o controlada del principio activo en los mismos usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices de polímero, liposomas y/o microesferas. Pueden esterilizarse mediante, por ejemplo, filtración a través de un filtro que retiene bacterias, o mediante la incorporación de agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de su uso. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden ser de una composición que liberan sólo el/los principio(s) activo(s), o de manera preferente, en una determinada parte del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias y ceras poliméricas. El principio activo también puede estar en forma microencapsulada, si resulta apropiado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

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

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

5 Las suspensiones, además del/de los inhibidor(es) activo(s), pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, ésteres de sorbitol y sorbitano de polioxietileno, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y goma tragacanto, y mezclas de los mismos.

10 Las formulaciones para administración rectal o vaginal pueden presentarse como supositorio, que puede prepararse mezclando uno o más inhibidor(es) con uno o más excipientes o portadores no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera para supositorio o un salicilato, que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a temperatura corporal y, por tanto, se derretirá en el recto o la cavidad vaginal y liberará el agente activo.

15 Las formulaciones que son adecuadas para administración vaginal también incluyen óvulos vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización que contienen portadores tales que se sabe en la técnica que son apropiados.

20 Las formas farmacéuticas para la administración tópica o transdérmica de un(os) inhibidor(es) incluyen polvos, pulverizaciones, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, disoluciones, parches e inhalantes. El componente activo puede mezclarse en condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable, y con cualquier conservante, tampón o propelente que pueda requerirse.

25 Las pomadas, pastas, cremas y geles pueden contener, además de inhibidor(es), excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, goma tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de zinc, o mezclas de los mismos.

30 Los polvos y pulverizaciones pueden contener, además de un(os) inhibidor(es), excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Las pulverizaciones pueden contener adicionalmente propelentes tradicionales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos no sustituidos volátiles, tales como butano y propano.

35 El/los inhibidor(es) puede(n) administrarse alternativamente mediante aerosol. Esto se lleva a cabo preparando un aerosol acuoso, preparación liposómica o partículas sólidas que contienen la composición. Podría usarse una suspensión no acuosa (por ejemplo, propelente de fluorocarburo). Se prefieren nebulizadores sónicos porque minimizan la exposición del agente al cizallamiento, que puede dar como resultado la degradación del compuesto.

40 Generalmente, un aerosol acuoso se prepara formulando una disolución o suspensión acuosa del agente junto con portadores y estabilizadores farmacéuticamente aceptables convencionales. Los portadores y los estabilizadores varían con los requisitos de la composición particular, pero incluyen normalmente tensioactivos no iónicos (Tweens, Pluronic, ésteres de sorbitano, lecitina, Cremophors), codisolventes farmacéuticamente aceptables tales como polietilenglicol, proteínas inocuas como albúmina sérica, ácido oleico, aminoácidos tales como glicina, tampones, sales, azúcares o alcoholes de azúcar. En general los aerosoles se preparan a partir de disoluciones isotónicas.

45 Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar una administración controlada de un(os) inhibidor(es) al cuerpo. Tales formas farmacéuticas pueden prepararse disolviendo o dispersando el agente en el medio apropiado. También pueden usarse potenciadores de absorción para aumentar el flujo del/de los inhibidor(es) través de la piel. La velocidad de tal flujo puede controlarse o bien proporcionando una membrana de control de velocidad o bien dispersando el/los inhibidor(es) en un gel o matriz de polímero .

50 Las composiciones farmacéuticas de esta invención adecuadas para administración parenteral comprenden uno o más inhibidores(s) en combinación con una o más disoluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas estériles, o polvos estériles farmacéuticamente aceptables que pueden reconstituirse para dar disoluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos, solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto o agentes de suspensión o espesantes.

60 Los ejemplos de portadores acuosos y no acuosos adecuados que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Puede mantenerse una fluidez apropiada, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones, y mediante el uso de tensioactivos.

65 Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. Puede garantizarse la prevención de la acción de microorganismos

mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, ácido fenolsorbico, y similares. También puede desearse incluir agentes de ajuste de la tonicidad, tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares en las composiciones. Además, puede provocarse una absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable mediante la inclusión de agentes que retardan la absorción tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

En algunos casos, con el fin de prolongar el efecto de un fármaco, es deseable ralentizar la absorción del fármaco de inyección subcutánea o intramuscular. Por ejemplo, se lleva a cabo la absorción retardada de una forma de fármaco administrada por vía parenteral disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo de aceite.

Las formas de depósito inyectables se preparan formando matrices de microcápsulas de inhibidor(es) en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicolida. Dependiendo de la razón del fármaco con respecto al polímero, y de la naturaleza del polímero particular empleado, puede controlarse la tasa de liberación de fármaco. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). También se preparan formulaciones de depósito inyectables atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con el tejido corporal.

Las preparaciones de agentes pueden administrarse por vía oral, por vía parenteral, por vía tópica o por vía rectal. Se administran, naturalmente, mediante formas adecuadas para cada vía de administración. Por ejemplo, se administran en forma de comprimidos o cápsula, mediante inyección, inhalación, baño ocular, pomada, supositorio, infusión; por vía tópica mediante loción o pomada; y por vía rectal mediante supositorios. Se prefiere la administración oral.

Los términos “administración parenteral” y “administrado por vía parenteral” tal como se usan en el presente documento, significan modos de administración distintos de administración entérica y tópica, habitualmente mediante inyección, e incluyen, sin limitación, inyección intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intrarraquídea e intraesternal, e infusión.

Los términos “administración sistémica”, “administrado de manera sistémica”, “administración periférica” y “administrado de manera periférica” tal como se usan en el presente documento, significan la administración de un ligando, fármaco u otro material distinta de directamente en el sistema nervioso central, de manera que entra en el sistema del paciente y por tanto, se somete a metabolismo y otros procesos similares, por ejemplo, administración subcutánea.

Estos inhibidores(s) pueden administrarse a seres humanos y otros animales para terapia mediante cualquier vía de administración adecuada, incluyendo por vía oral, por vía nasal, como mediante, por ejemplo, una pulverización, por vía rectal, por vía intravaginal, por vía parenteral, por vía intracisternal y por vía tópica, como mediante polvos, pomadas o gotas, incluyendo por vía bucal y por vía sublingual.

Independientemente de la vía de administración seleccionada, el/los inhibidor(es), que pueden usarse en forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan dando lugar a formas farmacéuticas farmacéuticamente aceptables mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la técnica.

Pueden variarse los niveles de dosificación reales de los principios activos en las composiciones farmacéuticas de esta invención para obtener una cantidad del principio activo que es eficaz para conseguir la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración particulares, sin ser tóxico para el paciente.

La concentración de un compuesto dado a conocer en una mezcla farmacéuticamente aceptable variará dependiendo de varios factores, incluyendo la dosificación del compuesto que va a administrarse, las características farmacocinéticas del/de los compuesto(s) empleado(s) y la vía de administración. En general, las composiciones de esta invención pueden proporcionarse en una disolución acuosa que contiene aproximadamente del 0,1-10% p/v de un compuesto dado a conocer en el presente documento, entre otras sustancias, para administración parenteral. Los intervalos de dosis típicos son desde aproximadamente 0,01 hasta aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal al día, administrada en de 1-4 dosis divididas. Cada dosis dividida puede contener los mismos o diferentes compuestos de la invención. La dosificación será una cantidad eficaz dependiendo de varios factores incluyendo la salud global de un paciente, y la formulación y vía de administración del/de los compuesto(s) seleccionado(s).

## Definiciones

El término “alquilo  $C_{x-y}$ ” se refiere a grupos hidrocarbonados saturados sustituidos o no sustituidos, incluyendo grupos alquilo de cadena lineal y alquilo de cadena ramificada que contienen desde x hasta y carbonos en la cadena, incluyendo grupos haloalquilo tales como trifluorometilo y 2,2,2-trifluoroetilo, etc. Alquilo  $C_0$  indica un hidrógeno cuando el grupo está en una posición terminal, un enlace si es interno. Los términos “alquenilo  $C_{2-y}$ ” y “alquinilo  $C_{2-y}$ ” se refieren a grupos alifáticos insaturados sustituidos o no sustituidos análogos en longitud y posible

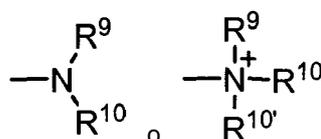
sustitución a los alquilo descritos anteriormente, pero que contienen al menos un doble o triple enlace respectivamente.

5 El término "alcoxilo" se refiere a un grupo alquilo que tiene un oxígeno unido al mismo. Los grupos alcoxilo representativos incluyen metoxilo, etoxilo, propoxilo, terc-butoxilo y similares. Un "éter" es dos hidrocarburos unidos de manera covalente por un oxígeno. Por consiguiente, el sustituyente de un alquilo que hace que ese alquilo sea un éter es o se asemeja a un alcoxilo.

10 El término "alcoxialquilo C<sub>1-6</sub>" se refiere a un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con un grupo alcoxilo, formando de ese modo un éter.

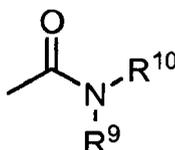
El término "aralquilo C<sub>1-6</sub>", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con un grupo arilo.

15 Los términos "amina" y "amino" están reconocidos en la técnica y se refieren tanto a aminas no sustituidas y sustituidas como a sales de las mismas, por ejemplo, un resto que puede representarse por las fórmulas generales:



20 en las que R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup> y R<sup>10'</sup> representan cada uno independientemente un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sup>8</sup>, o R<sup>9</sup> y R<sup>10</sup> tomados juntos con el átomo de N al que están unidos completan un heterociclo que tiene desde 4 hasta 8 átomos en la estructura de anillo; R<sup>9</sup> representa un arilo, un cicloalquilo, un cicloalquenilo, un heterociclilo o un policiclilo; y m es cero o un número entero desde 1 hasta 8. En realizaciones preferidas, sólo uno de R<sup>9</sup> o R<sup>10</sup> puede ser un carbonilo, por ejemplo, R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup> y el nitrógeno juntos no forman una imida. En incluso realizaciones más preferidas, R<sup>9</sup> y R<sup>10</sup> (y opcionalmente R<sup>10'</sup>) representan cada uno independientemente un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo o -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sup>8</sup>. En determinadas realizaciones, el grupo amino es básico, lo que significa que la forma protonada tiene una pK<sub>a</sub> ≥ 7,00.

30 Los términos "amida" y "amido" están reconocidos en la técnica como carbonilo sustituido con amino e incluye un resto que puede representarse por la fórmula general:

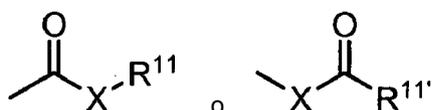


35 en la que R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup> son tal como se definieron anteriormente. Realizaciones preferidas de la amida no incluirán imidas que pueden ser inestables.

40 El término "arilo" tal como se usa en el presente documento incluye grupos aromáticos de anillo individual sustituidos o no sustituidos de 5, 6 y 7 miembros en los que cada átomo del anillo es carbono. El término "arilo" también incluye sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos contiguos en los que al menos uno de los anillos es aromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilo, cicloalquenilo, cicloalquinilo, arilos, heteroarilos y/o heterociclilos. Los grupos arilo incluyen benceno, naftaleno, fenantreno, fenol, anilina, y similares.

45 Los términos "carbociclo" y "carbociclilo", tal como se usan en el presente documento, se refieren a un anillo sustituido o no sustituido no aromático en el que cada átomo del anillo es carbono. Los términos "carbociclo" y "carbociclilo" también incluyen sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos contiguos en los que al menos uno de los anillos es carbocíclico, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilo, cicloalquenilo, cicloalquinilo, arilos, heteroarilos y/o heterociclilos.

50 El término "carbonilo" está reconocido en la técnica e incluye restos tales que pueden representarse por la fórmula general:



5 en la que X es un enlace o representa un oxígeno o un azufre, y R<sup>11</sup> representa un hidrógeno, un alquilo, un alqueno, un alquino, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sup>8</sup> o una sal farmacéuticamente aceptable, R<sup>11</sup> representa un hidrógeno, un alquilo, un alqueno o -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sup>8</sup>, en el que m y R<sup>8</sup> son tal como se definieron anteriormente. Cuando X es un oxígeno y R<sup>11</sup> o R<sup>11</sup> no es hidrógeno, la fórmula representa un “éster”. Cuando X es un oxígeno, y R<sup>11</sup> es un hidrógeno, la fórmula representa un “ácido carboxílico”.

10 El término “heteroarilo” incluye estructuras de anillo aromático sustituido o no sustituido de 5 a 7 miembros, más preferiblemente anillos de 5 a 6 miembros, cuyas estructuras de anillo incluyen de uno a cuatro heteroátomos. El término “heteroarilo” también incluye sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos contiguos en los que al menos uno de los anillos es heteroaromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenos, cicloalquinos, arilos, heteroarilos y/o heterociclos. Los grupos heteroarilo incluyen, por ejemplo, pirrol, furano, tiofeno, imidazol, isoxazol, oxazol, tiazol, triazol, pirazol, piridina, pirazina, piridazina y pirimidina, y similares.

15 El término “heteroátomo” tal como se usa en el presente documento significa un átomo de cualquier elemento distinto de carbono o hidrógeno. Heteroátomos preferidos son nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre.

20 Los términos “heterociclilo” o “grupo heterocíclico” se refieren a estructuras de anillo no aromático sustituido o no sustituido de 3 a 10 miembros, más preferiblemente anillos de 3 a 7 miembros, cuyas estructuras de anillo incluyen de uno a cuatro heteroátomos. Los términos “heterociclilo” o “grupo heterocíclico” también incluyen sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos contiguos en los que al menos uno de los anillos es heterocíclico, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenos, cicloalquinos, arilos, heteroarilos y/o heterociclos. Los grupos heterociclilo incluyen, por ejemplo, tetrahidrofurano, piperidina, piperazina, pirrolidina, morfolina, lactonas, lactamas, y similares.

25 El término “heterocicloalquilo C<sub>1-6</sub>”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con un grupo heterociclilo.

30 El término “hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>” se refiere a un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido con un grupo hidroxilo.

35 Tal como se usa en el presente documento, el término “inhibidor” pretende describir un compuesto que bloquea o reduce una actividad de una enzima (por ejemplo, inhibición de la escisión proteolítica de sustratos peptídicos fluorogénicos convencionales tales como suc-LLVY-AMC, Box-LLR-AMC y Z-LLE-AMC, inhibición de diversas actividades catalíticas del proteasoma 20S). Un inhibidor puede actuar con inhibición competitiva, poco competitiva o no competitiva. Un inhibidor puede unirse de manera reversible o irreversible, y por tanto el término incluye compuestos que son sustratos suicidas de una enzima. Un inhibidor puede modificar uno o más sitios en o cerca del sitio activo de la enzima, o puede provocar un cambio conformacional en otra parte en la enzima.

40 Tal como se usa en el presente documento, el término “biodisponible por vía oral” pretende describir un compuesto administrado a un ratón a 40 mg/kg o menos, 20 mg/kg o menos, o incluso 10 mg/kg o menos, en el que una hora tras la administración oral un compuesto de este tipo muestra una inhibición de al menos aproximadamente el 50%, al menos aproximadamente el 75% o incluso al menos aproximadamente el 90% de la actividad CT-L del proteasoma en la sangre.

45 Tal como se usa en el presente documento, el término “péptido” incluye no sólo enlace de amida convencional con sustituyentes α convencionales, sino peptidomiméticos utilizados comúnmente, otros enlaces modificados, cadenas laterales que se producen de manera no natural y modificaciones de cadena lateral, tal como se detalla a continuación.

50 Los términos “policiclilo” o “policíclico” se refieren a dos o más anillos (por ejemplo, cicloalquilos, cicloalquenos, cicloalquinos, arilos, heteroarilos y/o heterociclos) en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos contiguos, por ejemplo, los anillos son “anillos condensados”. Cada uno de los anillos del policiclo puede estar sustituido o no sustituido.

55 El término “proteasoma” tal como se usa en el presente documento pretende incluir inmunoproteasomas y proteasomas constitutivos.

60 El término “sustancialmente puro” tal como se usa en el presente documento, se refiere a un polimorfo cristalino que es puro en más del 90%, lo que significa que contiene menos del 10% de cualquier otro compuesto, incluyendo el compuesto amorfo correspondiente. Preferiblemente, el polimorfo cristalino es puro en más del 95%, o incluso puro en más del 98%.

65 El término “prevenir” está reconocido en la técnica, y se entiende bien en la técnica cuando se usa con relación a un estado, tal como una recurrencia local (por ejemplo, dolor), una enfermedad tal como cáncer, un complejo de síndrome tal como insuficiencia cardíaca o cualquier otra afección, e incluye la administración de una composición

que reduce la frecuencia de, o retarda la aparición de, los síntomas de una afección en un sujeto en relación con un sujeto que no recibe la composición. Por tanto, la prevención de cáncer incluye, por ejemplo, reducir el número de crecimientos cancerosos detectables en una población de pacientes que reciben un tratamiento profiláctico en relación con una población control no tratada, y/o retardar la aparición de crecimientos cancerosos detectables en una población tratada frente a una población control no tratada, por ejemplo, mediante una cantidad estadística y/o clínicamente significativa. La prevención de una infección incluye, por ejemplo, reducir el número de diagnósticos de la infección en una población tratada frente a una población control no tratada, y/o retardar la aparición de los síntomas de la infección en una población tratada frente a una población control no tratada. La prevención del dolor incluye, por ejemplo, reducir la magnitud de, o retardar alternativamente, las sensaciones de dolor experimentadas por los sujetos en una población tratada frente a una población control no tratada.

El término “profármaco” abarca compuestos que, en condiciones fisiológicas, se transforman para dar agentes terapéuticamente activos. Un método común para preparar un profármaco es incluir restos seleccionados que se hidrolizan en condiciones fisiológicas para revelar la molécula deseada. En otras realizaciones, el profármaco se transforma mediante una actividad enzimática del animal huésped.

El término tratamiento “profiláctico o terapéutico” está reconocido en la técnica e incluye la administración al huésped de una o más de las composiciones objeto. Si se administra antes de la manifestación clínica del estado no deseado (por ejemplo, enfermedad u otro estado no deseado del animal huésped) entonces el tratamiento es profiláctico, (es decir, protege al huésped frente al desarrollo del estado no deseado), mientras que si se administra tras la manifestación del estado no deseado, el tratamiento es terapéutico, (es decir, se destina a disminuir, mejorar o estabilizar el estado no deseado existente o efectos secundarios del mismo).

El término “proteasoma” tal como se usa en el presente documento pretende incluir inmunoproteasomas y proteasomas constitutivos.

El término “sustituido” se refiere a restos que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno en uno o más carbonos de la estructura principal. Se entenderá que “sustitución” o “sustituido con” incluye la condición implícita de que tal sustitución es según la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente, y que la sustitución da como resultado un compuesto estable, por ejemplo, que no experimenta espontáneamente transformación tal como por transposición, ciclación, eliminación, etc. Tal como se usa en el presente documento, se contempla que el término “sustituido” incluya todos los sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos. En un aspecto amplio, los sustituyentes permisibles incluyen sustituyentes de compuestos orgánicos acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos. Los sustituyentes permisibles pueden ser uno o más y el mismo o diferentes para compuestos orgánicos apropiados. Para los fines de esta invención, los heteroátomos tales como nitrógeno pueden tener sustituyentes de hidrógeno y/o cualquier sustituyente permisible de compuestos orgánicos descritos en el presente documento que satisfacen las valencias de los heteroátomos. Los sustituyentes pueden incluir, por ejemplo, un halógeno, un hidroxilo, un carbonilo (tal como un carboxilo, un alcoxicarbonilo, un formilo o un acilo), un tiocarbonilo (tal como un tioéster, un tioacetato o un tioformiato), un alcoxilo, un fosforilo, un fosfato, un fosfonato, un fosfinato, un amino, un amido, una amidina, una imina, un ciano, un nitro, un azido, un sulfhidrilo, un alquiltio, un sulfato, un sulfonato, un sulfamoilo, un sulfonamido, un sulfonilo, un heterociclilo, un aralquilo o un resto aromático o heteroaromático. Los expertos en la técnica entenderán que pueden sustituirse los propios restos sustituidos en la cadena hidrocarbonada, si es apropiado.

Una “cantidad terapéuticamente eficaz” de un compuesto con respecto al método de tratamiento objeto, se refiere a una cantidad del/de los compuesto(s) en una preparación que, cuando se administra como parte de un régimen de dosificación deseado (a un mamífero, preferiblemente un ser humano) alivia un síntoma, mejora un estado o retrasa la aparición de estados de enfermedad según normas clínicamente aceptables para el trastorno o estado que va a tratarse o el fin cosmético, por ejemplo, a una razón beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico.

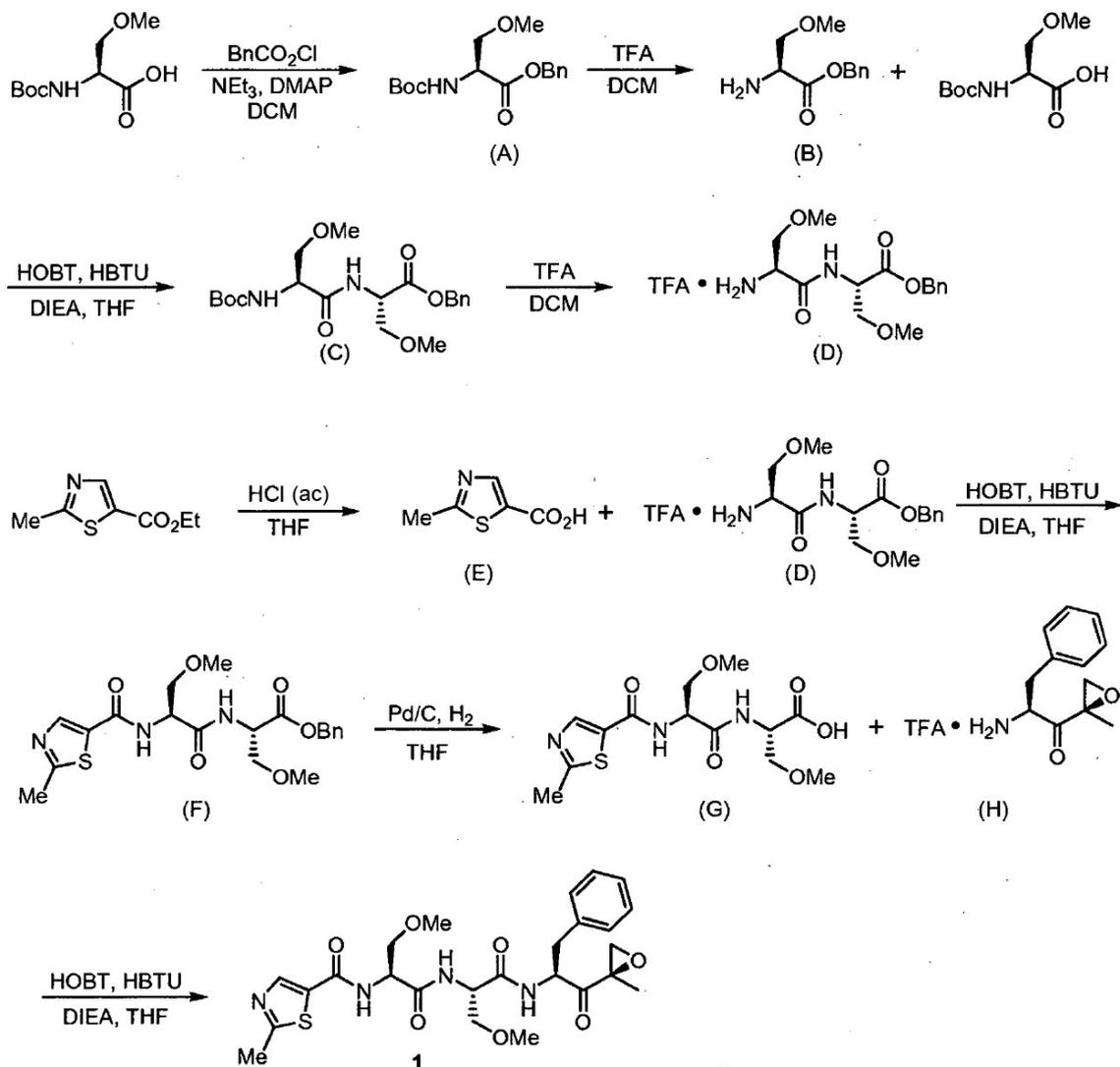
El término “tioéter” se refiere a un grupo alquilo, tal como se definió anteriormente, que tiene un resto azufre acoplado al mismo. En realizaciones preferidas, el “tioéter” se representa por -S-alquilo. Los grupos tioéter representativos incluyen metiltio, etiltio, y similares.

Tal como se usa en el presente documento, el término “tratar” o “tratamiento” incluye invertir, reducir o detener los síntomas, signos clínicos y patología subyacente de un estado de manera que se mejore o estabilice el estado de un sujeto.

## Ejemplificación

### *Ejemplo 1*

#### *Síntesis del compuesto 1*

*Síntesis de (A)*

- 5 A una disolución a 0°C de *N*-Boc-serina(metil éter) (43,8 g, 200 mmol), trietilamina (26,5 g, 260 mmol) y 4-(dimetilamino)piridina en diclorometano (1,2 l) se le añadió una disolución de cloroformato de bencilo (41 g, 240 mmol) en diclorometano (250 ml) a lo largo de 30 minutos. Se agitó la mezcla resultante a la misma temperatura durante otras 3 horas. Se añadió bicarbonato de sodio acuoso saturado (200 ml) y se separó la fase orgánica, se extrajo la mezcla residual con diclorometano (2 x 400 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con bicarbonato de sodio acuoso saturado (200 ml) y salmuera (200 ml), se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Se eliminaron los disolventes a presión reducida y se purificó el residuo mediante cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, hexano y acetato de etilo). Se aisló el compuesto (A) (54 g) y se caracterizó mediante CL/EM (EMBR (MH) *m/z*: 310,16).

15 *Síntesis de (B)*

- A una disolución a 0°C del compuesto (A) (54 g) en diclorometano (200 ml) se le añadió ácido trifluoroacético (200 ml) a lo largo de 10 minutos, y se agitó la mezcla resultante a la misma temperatura durante otras 3 horas. Se eliminaron los disolventes a presión reducida y se colocó el residuo a alto vacío durante la noche, lo que dio la sal de TFA del compuesto (B), que se caracterizó mediante CL/EM (EMBR (MH) *m/z*: 210,11).

*Síntesis de (C)*

- 25 A una disolución a 0°C del compuesto (B) (43,8 g, 200 mmol), *N*-Boc-serina(metil éter) (36,7 g, 167 mmol), HOBT (27 g, 200 mmol) y HBTU (71,4 g, 200 mmol) en tetrahidrofurano (1,2 l) se le añadió una disolución de *N,N*-diisopropilamina (75 g, 600 mmol) en tetrahidrofurano (250 ml) a lo largo de 10 minutos, y el pH de la mezcla

resultante era de ~8. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante otras 5 horas. Se eliminó la mayor parte del disolvente a presión reducida a temperatura ambiente y se diluyó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (400 ml). Luego se extrajo con acetato de etilo (3 x 400 ml), se lavó con bicarbonato de sodio (100 ml) y salmuera (100 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Se eliminaron los disolventes a presión reducida y se purificó el residuo mediante cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, hexano y acetato de etilo). Se aisló el compuesto (C) (65 g) y se caracterizó mediante CL/EM (EMBR (MH)  $m/z$ : 411,21).

#### Síntesis de (D)

A una disolución a 0°C del compuesto (C) (18 g) en diclorometano (100 ml) se le añadió ácido trifluoroacético (80 ml) a lo largo de 5 minutos, y se agitó la mezcla resultante a la misma temperatura durante otras 3 horas. Se eliminaron los disolventes a presión reducida y se colocó el residuo a alto vacío durante la noche, lo que dio la sal de TFA del producto intermedio (D), que se caracterizó mediante CL/EM (EMBR (MH)  $m/z$ : 311,15).

#### Síntesis de (E)

A una disolución a 0°C de 2-metil-tiazol-5-carboxilato de etilo (15 g, 88 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) se le añadió una disolución de hidróxido de sodio acuosa (5 N, 50 ml) a lo largo de 10 minutos, y se agitó la disolución resultante a temperatura ambiente durante otras 2 horas. Luego se acidificó con ácido clorhídrico (2 N) a pH = 1 y se extrajo con tetrahidrofurano (3 x 100 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera (30 ml) y se secaron sobre sulfato de sodio. Se eliminaron la mayor parte de los disolventes a presión reducida y se liofilizó el residuo para dar el compuesto (E) (14 g).

#### Síntesis de (F)

A una disolución a 0°C del compuesto (D) (41 mmol) y ácido 2-metil-tiazol-5-carboxílico (E) (6,0 g, 42 mmol), HOBT (7,9 g, 50 mmol) y HBTU (18,0 g, 50 mmol) en tetrahidrofurano (800 ml) se le añadió una disolución de *N,N*-dietilisopropilamina (~50 g) en tetrahidrofurano (200 ml) a lo largo de 5 minutos hasta que su pH alcanzó aproximadamente el valor de 8,5. Se agitó la mezcla resultante a la misma temperatura durante la noche. Luego se extinguió con disolución de bicarbonato de sodio acuosa saturada (200 ml), y se eliminaron la mayor parte de los disolventes a presión reducida. Se extrajo la mezcla residual con acetato de etilo (3 x 400 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con bicarbonato de sodio acuoso saturado (200 ml) y salmuera (100 ml), se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Se eliminaron los disolventes a presión reducida y se purificó el residuo mediante cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, acetato de etilo con metanol al 2%). Se aisló el compuesto (F) (17,1 g) y se caracterizó mediante CL/EM (EMBR (MH)  $m/z$ : 436,15).

#### Síntesis de (G)

A una disolución del compuesto (F) (17,1 g, 95 mmol) en metanol (300 ml) se le añadió Pd al 10%/C (3 g). Se permitió que la mezcla resultante se agitara bajo 1 atmósfera de hidrógeno durante 48 horas. Se filtró la mezcla a través de Celite 545 y se lavó la torta de filtro con metanol (~200 ml). Se concentraron las fases orgánicas a presión reducida y se colocaron a alto vacío para producir el compuesto (G), que se caracterizó mediante CL/EM (EMBR (MH)  $m/z$ : 346,1).

#### Síntesis de (H)

Se diluyó cetoepóxido de *N*-Boc-fenilalanina (140 mg, 0,46 mmol) con DCM (2 ml) y se enfrió hasta 0°C. A esta disolución se le añadió ácido trifluoroacético (6 ml). Se eliminó el baño de enfriamiento y se agitó la reacción durante 1 hora, tiempo durante el cual la CCF mostró un consumo completo del material de partida. Se concentró la disolución resultante a presión reducida y se colocó a alto vacío para producir sal de TFA del compuesto (H).

#### Síntesis del compuesto 1

A una disolución a 0°C de los compuestos mencionados anteriormente (H) (131 mg, 0,38 mmol) y (J) (0,46 mmol), HOBT (75 mg, 0,48 mmol) y HBTU (171 mg, 0,48 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml) y *N,N*-dimetilformamida (10 ml) se le añadió gota a gota *N,N*-dietilisopropilamina (1 ml). Se agitó la mezcla a la misma temperatura durante otras 5 horas. Luego se extinguió con disolución de bicarbonato de sodio acuosa saturada (20 ml), y se eliminaron la mayor parte de los disolventes a presión reducida. Luego se extrajo la mezcla residual con acetato de etilo (3 x 40 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con bicarbonato de sodio acuoso saturado (20 ml) y salmuera (10 ml), se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Se eliminaron los disolventes a presión reducida y se purificó el residuo mediante HPLC (acetato de amonio acuoso 0,02 M y acetonitrilo (66/34) para dar el compuesto 1 (92 mg), que se liofilizó y se caracterizó mediante CL/EM (EMBR (MH)  $m/z$ : 533,2).

#### Ejemplo 2

Se disolvió el compuesto 1 amorfo (50 mg) en acetonitrilo (1 ml), luego se añadió agua desionizada (2 ml), y se llevó la disolución a supersaturación retirando por evaporación lentamente 1 ml a lo largo de aproximadamente 1-2 semanas. Se filtraron los cristales resultantes, se lavaron con 1 ml de acetonitrilo-agua 1:2, y se secaron a vacío durante 12 horas para proporcionar un polimorfo cristalino del compuesto 1 (25 mg) con un punto de fusión de 148°C. En la figura 1 se muestra la curva de DSC característica de la muestra tal como se registró en un calorímetro diferencial de barrido modelo 2920 de TA Instruments a una velocidad de calentamiento de 10°C/minuto.

#### *Ejemplo 3*

Se disolvió el compuesto 1 amorfo (611 mg) en tetrahidrofurano (5 ml), seguido por adición de hexanos (5 ml) y se sembró la disolución con el compuesto 1 polimorfo cristalino tal como se preparó en el ejemplo 2, y se llevó la disolución a supersaturación retirando por evaporación lentamente 5 ml a lo largo de aproximadamente 17 horas. Se filtraron los cristales resultantes, se lavaron con 1 ml de tetrahidrofurano-hexanos 1:1, y se secaron a vacío durante 12 horas para proporcionar un polimorfo cristalino del compuesto 1 (150 mg) con un punto de fusión de 147°C.

#### *Ejemplo 4*

Se disolvió el compuesto 1 amorfo (176 mg) en tetrahidrofurano (5 ml), luego se añadió tolueno (25 ml). Se sembró la disolución con el compuesto 1 polimorfo cristalino tal como se preparó en el ejemplo 2, y se llevó la disolución a supersaturación retirando por evaporación lentamente 20 ml a lo largo de aproximadamente 2 días. Se filtraron los cristales resultantes, se lavaron con 15 ml de tolueno, y se secaron a vacío durante 12 horas para proporcionar un polimorfo cristalino del compuesto 1 (88 mg) con un punto de fusión de 149°C.

#### *Ejemplo 5*

Se disolvió el compuesto 1 amorfo (312 mg) en tolueno (50 ml), se calentó hasta aproximadamente 100°C hasta disolución completa, luego se añadieron hexanos (50 ml) y se sembró la disolución con el compuesto 1 polimorfo cristalino tal como se preparó en el ejemplo 2, y se llevó la disolución a supersaturación retirando por evaporación lentamente 60 ml a lo largo de aproximadamente 2 días. Se filtraron los cristales resultantes, se lavaron con 10 ml de tolueno, y se secaron a vacío durante 12 horas para proporcionar un polimorfo cristalino del compuesto 1 (156 mg) con un punto de fusión de 149°C.

#### *Ejemplo 6*

Se disolvió el compuesto 1 amorfo (1,4 g) en tolueno (25 ml), se calentó hasta aproximadamente 50°C hasta disolución completa, luego se llevó a supersaturación enfriando hasta 22°C y permitiendo que el compuesto cristalizara durante 12 horas. Se filtraron los cristales resultantes, se lavaron con 5 ml de hexanos, y se secaron a vacío durante 12 horas para proporcionar un polimorfo cristalino del compuesto 1 (0,94 g) con un punto de fusión de 149°C.

#### *Ejemplo 7*

##### *Síntesis del compuesto 1*

##### *Síntesis de (H)*

Se disolvió cetoepóxido de N-Boc-fenilalanina (1,0 equivalente) en DCM (3 l/kg de cetoepóxido de N-Boc-fenilalanina) en un matraz de fondo redondo de 3 bocas bajo atmósfera inerte y se enfrió la disolución en un baño de hielo. Luego, se añadió TFA (5,0 equivalentes) a una velocidad para mantener la temperatura interna por debajo de 10°C. Luego se calentó la mezcla de reacción hasta aproximadamente 20°C y se agitó durante de 1 a 3 horas. Luego se añadió MTBE (3,6 l/kg de cetoepóxido de N-Boc-fenilalanina) a la mezcla de reacción mientras se mantenía la temperatura de la mezcla por debajo de 25°C. Luego se añadió heptano (26,4 l/kg de cetoepóxido de N-Boc-fenilalanina), se enfrió la reacción hasta entre -5 y 0°C durante de 2 a 3 horas para permitir la cristalización del compuesto (H). Se filtró el sólido blanco y se aclaró con heptano (3 l/kg de cetoepóxido de N-Boc-fenilalanina). Luego el sólido blanco estuvo a vacío durante 12 horas a 22°C. El rendimiento obtenido era del 86%, con una pureza mediante HPLC del 99,4%.

##### *Síntesis del compuesto 1*

Se añadieron el compuesto (H) (1,2 equivalentes), el compuesto (G) (1,0 equivalente), HBTU (1,2 equivalentes), HOBT (1,2 equivalentes) y N-metilpirrolidinona (8 l/kg del compuesto (G)) a un matraz seco bajo atmósfera inerte, y se agitó la mezcla a 23°C hasta disolución completa. Luego se enfrió la reacción hasta entre -5 y 0°C, y se añadió diisopropiletilamina (2,1 equivalentes) a lo largo de 15 minutos, mientras se mantenía una temperatura de reacción interna de menos de 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a 0°C durante 12 horas.

Se precipitó el compuesto 1 en bruto vertiendo la mezcla de reacción sobre bicarbonato de sodio al 8% (40 l/kg del

5 compuesto (G)) y se agitó la suspensión del compuesto 1 en bruto durante 12 horas a de 20 a 25°C, seguido por agitación a de 0 a 5°C durante 1 hora. Se filtró el sólido blanco y se aclaró con agua (5 l/kg del compuesto (G)). Luego se resuspendió el sólido blanco en agua (15 l/kg) durante 3 horas a de 20 a 25°C, se filtró y se aclaró con agua (5 l/kg del compuesto (G)) y acetato de isopropilo (2 x 2 l/kg del compuesto (G)). Se secó el sólido blanco a vacío a 45°C hasta peso constante. El rendimiento del compuesto 1 en bruto era del 65%, con pureza mediante HPLC del 97,2%.

10 Se disolvió completamente el compuesto 1 en bruto en acetato de isopropilo (20 l/kg del compuesto 1 en bruto) agitando y calentando a 85°C. Luego se filtró en caliente la disolución para eliminar cualquier materia particulada y se volvió a calentar la disolución hasta 85°C para proporcionar una disolución transparente. Se permitió que la disolución transparente se enfriara a 10°C por hora hasta 65°C antes de añadir cristales simiente. Se permitió que la disolución se enfriara a 10°C por hora hasta 20°C, cuando se produjo una cristalización sustancial del compuesto 1. Se agitó la suspensión a 20°C durante 6 horas, seguido por agitación a de 0 a 5°C durante un mínimo de 2 horas y filtración y aclarado con acetato de isopropilo (1 l/kg de compuesto 1 en bruto). Se secó el compuesto 1 purificado, a 15 vacío a 45°C durante un mínimo de 24 horas hasta peso constante. El rendimiento del compuesto 1 era del 87%, con pureza mediante HPLC del 97,2%.

#### Ejemplo 8

##### 20 *Síntesis del compuesto 1*

25 Se añadieron el compuesto (H) (1,1 equivalentes), el compuesto (G) (1,0 equivalente), HBTU (1,5 equivalentes), HOBT (1,5 equivalentes) y DMF (8 l/kg del compuesto (G)) a un matraz seco bajo atmósfera inerte, y se agitó la mezcla a 23°C hasta disolución completa. Luego se enfrió la reacción hasta entre -5 y 0°C, y se añadió diisopropiletilamina (2,1 equivalentes) a lo largo de 15 minutos, mientras se mantenía una temperatura de reacción interna de menos de 0°C. Luego se agitó la mezcla de reacción a 0°C durante 3 horas.

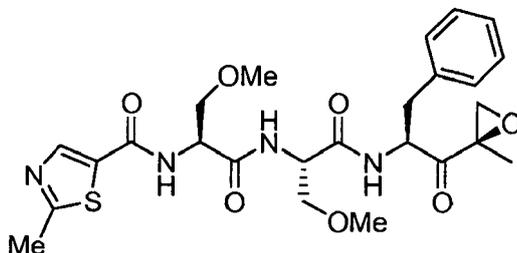
30 Se extinguió la mezcla de reacción mediante la adición de bicarbonato de sodio saturado congelado previamente (94 l/kg del compuesto (G)), mientras se mantenía una temperatura interna de menos de 10°C. Luego se transfirió el contenido a un embudo de decantación. Se extrajo la mezcla con acetato de etilo (24 l/kg del compuesto (G)), y se lavó la fase orgánica con bicarbonato de sodio saturado (12 l/kg del compuesto (G)) y con cloruro de sodio saturado (12 l/kg del compuesto (G)).

35 Se concentró la fase orgánica a presión reducida con una temperatura de baño de menos de 30°C hasta 15 l/kg del compuesto (G), seguido por codestilación con acetato de isopropilo (2 x 24 l/kg de PR-022). Se ajustó el volumen final hasta 82 l/kg del compuesto (G) con acetato de isopropilo antes de calentar hasta 60°C para obtener una disolución transparente. Se permitió que la mezcla de disolución transparente se enfriara hasta 50°C antes de añadir cristales simiente. Se permitió que la disolución se enfriara hasta 20°C, cuando se había producido una cristalización sustancial del compuesto 1. Se agitó la suspensión a 0°C durante 12 horas antes de la filtración y el aclarado con 40 acetato de isopropilo (2 l/kg del compuesto 1). Se secó el compuesto 1 a vacío a 20°C durante 12 horas hasta peso constante. El rendimiento del compuesto 1 era del 48%, con pureza mediante HPLC del 97,4%.

## REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica que comprende (a) un portador farmacéuticamente aceptable y (b) un compuesto cristalino que tiene una estructura de fórmula (II)

5



(II)

2. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, en la que la composición es una composición que puede administrarse por vía oral.
- 10 3. Composición farmacéutica según la reivindicación 2, en la que la composición que puede administrarse por vía oral se selecciona del grupo que consiste en un comprimido, una cápsula, un gránulo, un polvo y un jarabe.
- 15 4. Composición farmacéutica según la reivindicación 3, en la que la composición que puede administrarse por vía oral es un comprimido.
5. Composición farmacéutica según la reivindicación 3, en la que la composición que puede administrarse por vía oral es una cápsula.
- 20 6. Composición farmacéutica según la reivindicación 3, en la que la composición que puede administrarse por vía oral es un gránulo.
7. Composición farmacéutica según la reivindicación 3, en la que la composición que puede administrarse por vía oral es un polvo.
- 25 8. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, en la que la composición es una composición que puede administrarse por vía parenteral.
- 30 9. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que el compuesto cristalino muestra un termograma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) caracterizado por un pico endotérmico definido a 147°C.
- 35 10. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que el compuesto cristalino de fórmula (II) muestra desde un 0,0 hasta un 0,3% de pérdida de peso en el intervalo de temperatura de 25 a 125°C en un análisis termogravimétrico.
- 40 11. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en el tratamiento de cáncer.
- 45 12. Composición farmacéutica para uso según la reivindicación 11, en la que el cáncer es un cáncer de la vejiga, de la sangre, de hueso, de cerebro, de mama, de cuello uterino, de tórax, de colon, de endometrio, de esófago, ocular, de cabeza, de riñón, de hígado, de pulmón, de los ganglios linfáticos, de boca, de cuello, de ovarios, de páncreas, de próstata, de recto, renal, de piel, de estómago, de testículo, de garganta y de útero.
- 50 13. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en el tratamiento de leucemia linfocítica aguda (ALL), leucemia mielógena aguda (AML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mielógena crónica (CML), leucemia de células pilosas, linfoma linfocítico pequeño, linfoma linfoplasmacítico, mieloma de células plasmáticas, plasmacitoma o mieloma múltiple.
- 55 14. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en el tratamiento de mieloma múltiple.
15. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en el

tratamiento de macroglobulinemia de Waldenström.

- 5 16. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en el tratamiento de cáncer seleccionado de cánceres hematológicos, macroglobulinemia de Waldenström, mieloma múltiple, linfoma difuso de células B, linfoma de células del manto, cáncer de páncreas y cáncer de pulmón.
- 10 17. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en el tratamiento de síndrome mielodisplásico o enfermedad mieloproliferativa.
- 15 18. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria.
19. Composición farmacéutica para uso según la reivindicación 18, en la que la enfermedad autoinmunitaria se selecciona del grupo que consiste en lupus, artritis reumatoide y presentación de antígenos.
- 20 20. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en el tratamiento de un estado relacionado con injerto o trasplante.
- 20 21. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 20, en la que el estado relacionado con injerto o trasplante es enfermedad de injerto contra huésped.
- 25 22. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa.
23. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en el tratamiento de la inflamación.
- 30 24. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en el tratamiento de un estado asociado con fibrosis.
25. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en el tratamiento de un estado relacionado con isquemia.
- 35 26. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 25, en la que el estado relacionado con isquemia es insuficiencia cardiaca.
27. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en el tratamiento de una infección.
- 40 28. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en el tratamiento de una enfermedad asociada con pérdida ósea.
- 45 29. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 28, en la que la enfermedad asociada con pérdida ósea es osteoporosis.

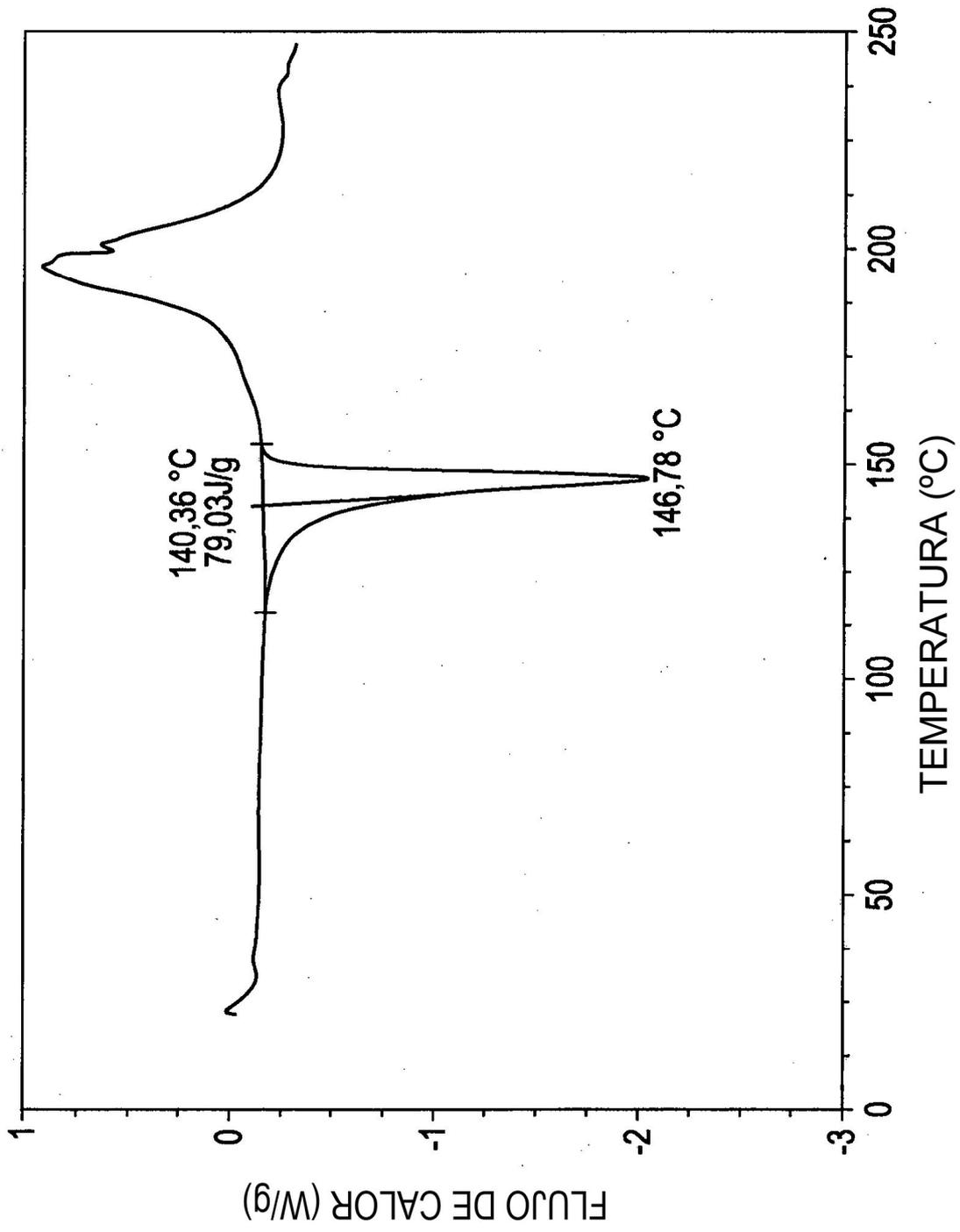


FIGURA 1

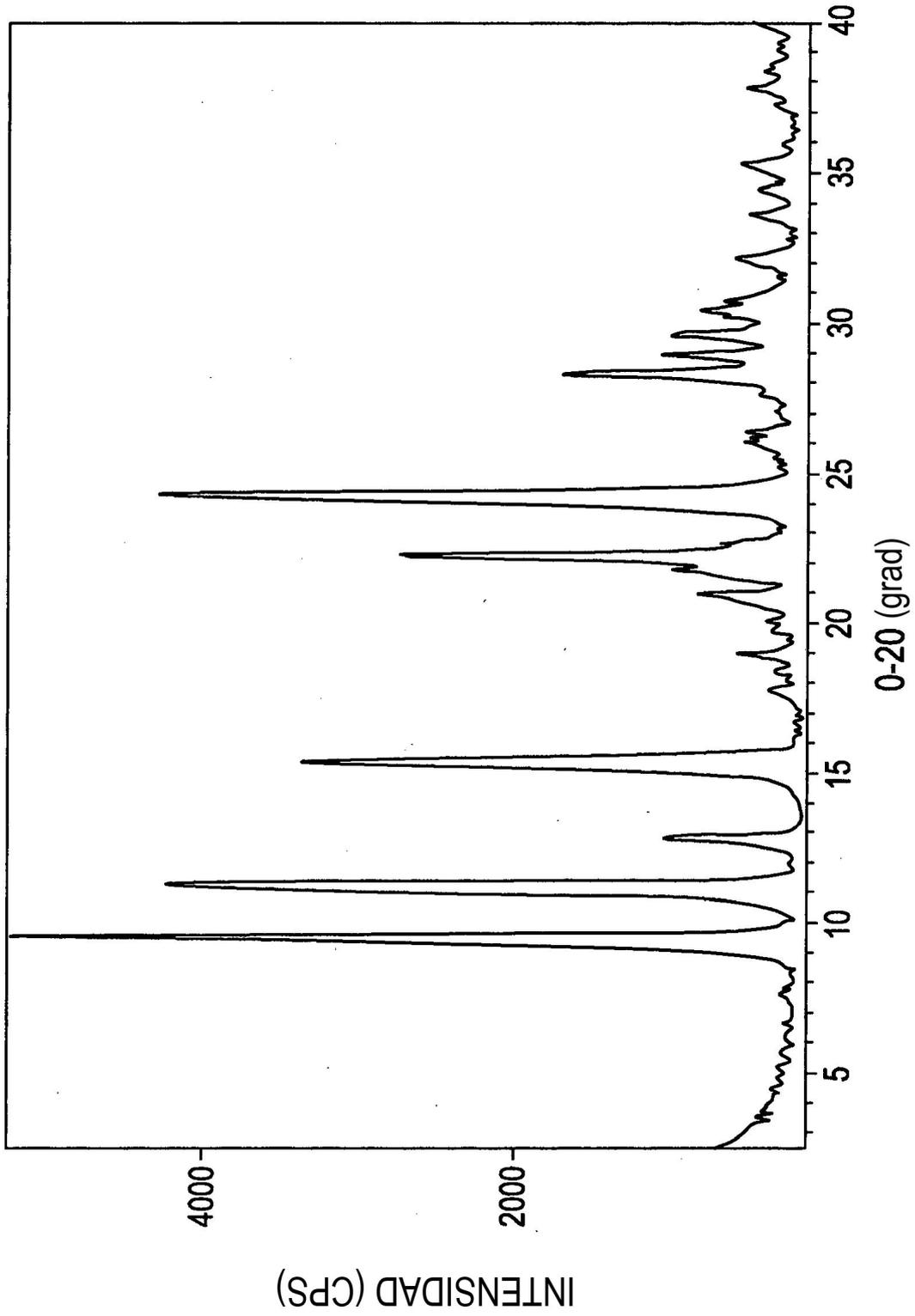


FIGURA 2

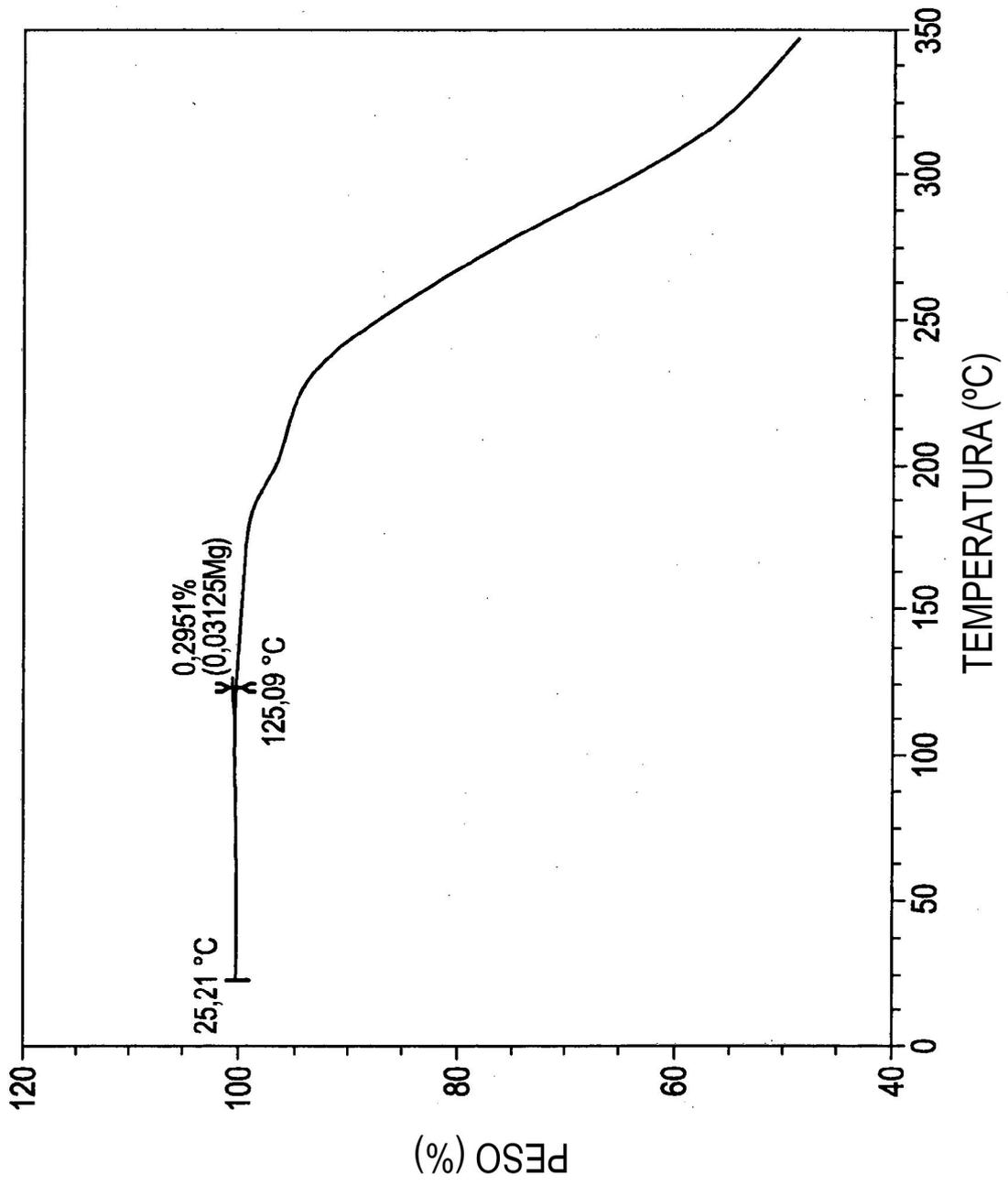


FIGURA 3

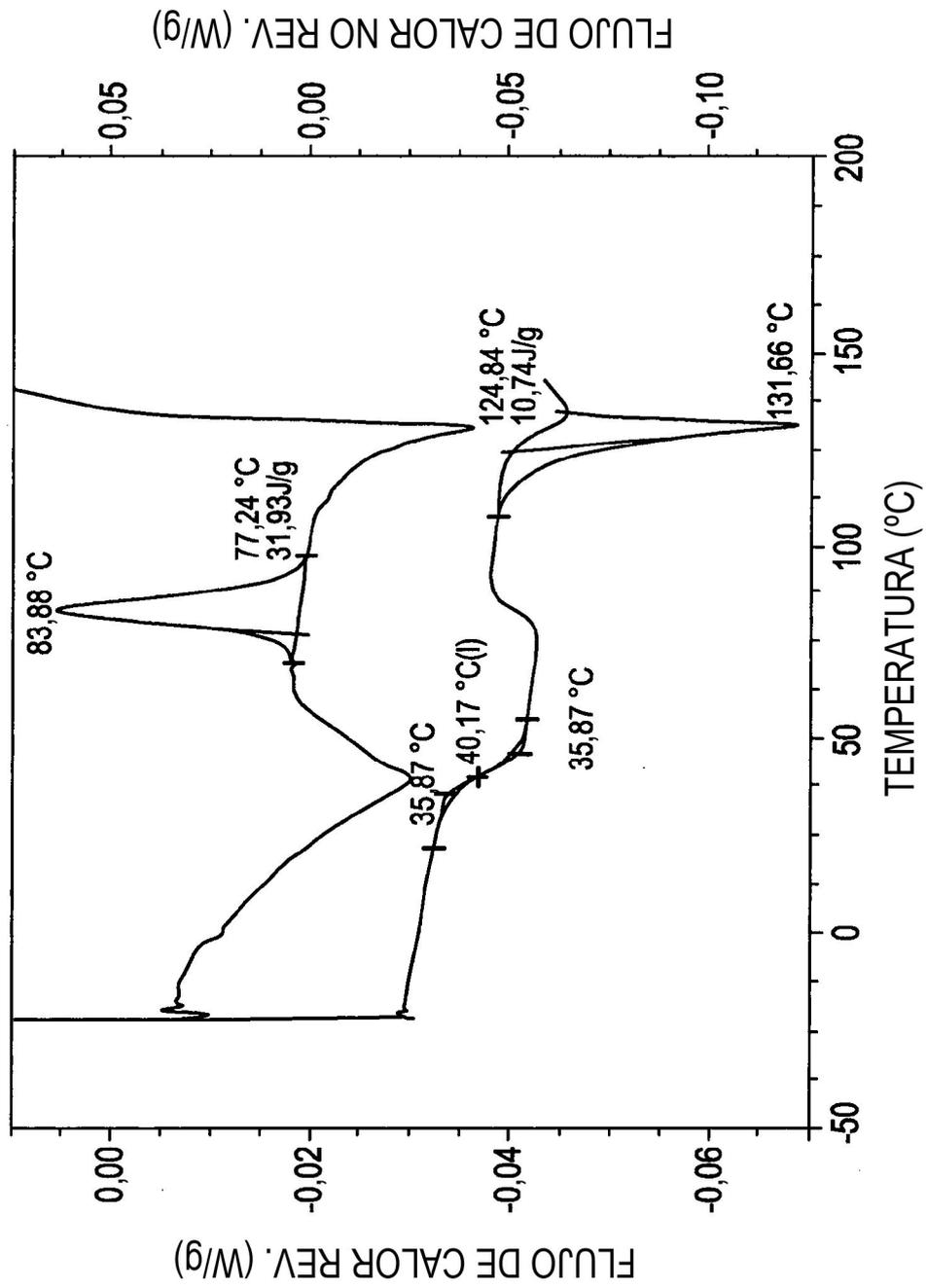


FIGURA 4

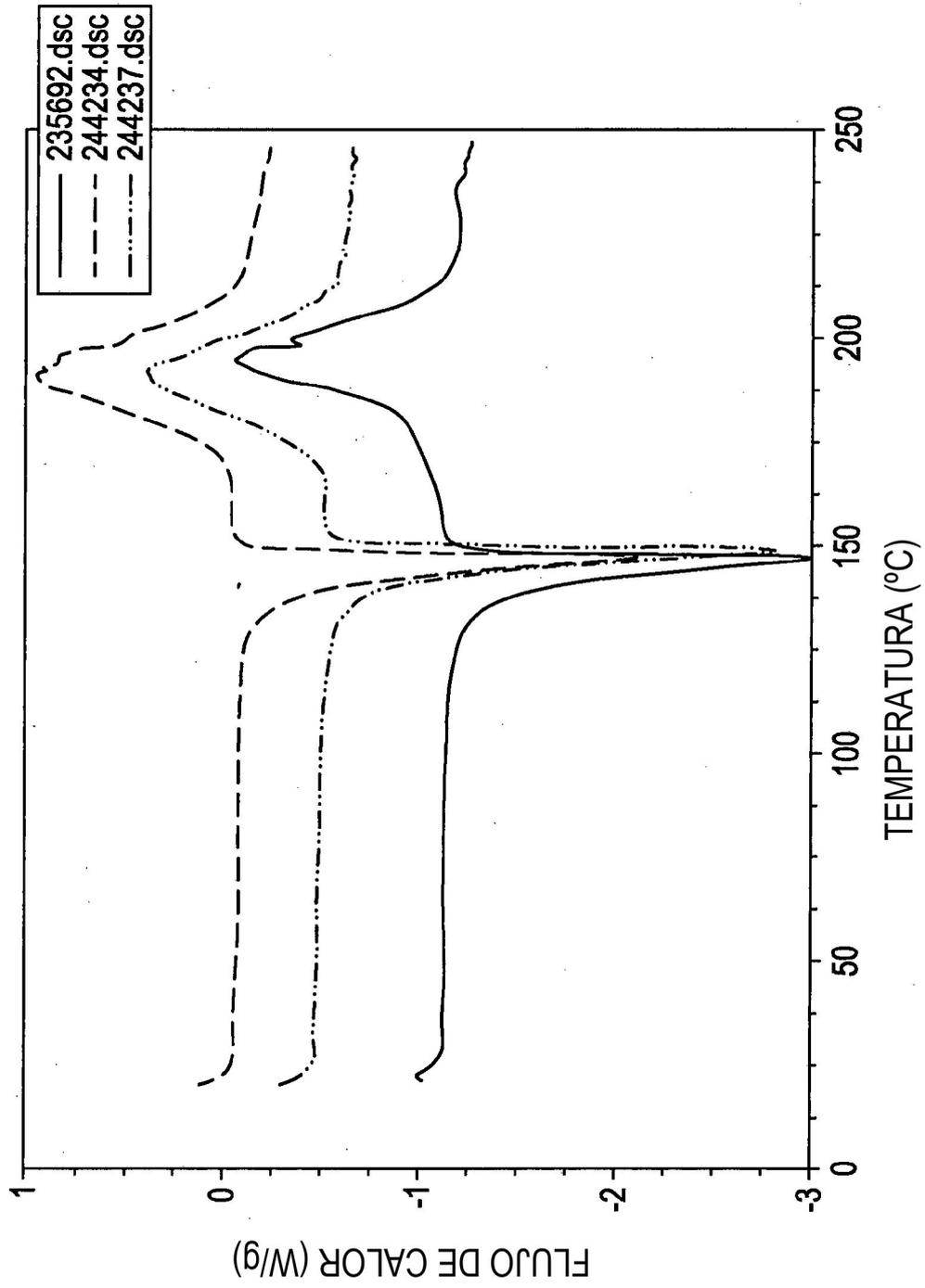


FIGURA 5

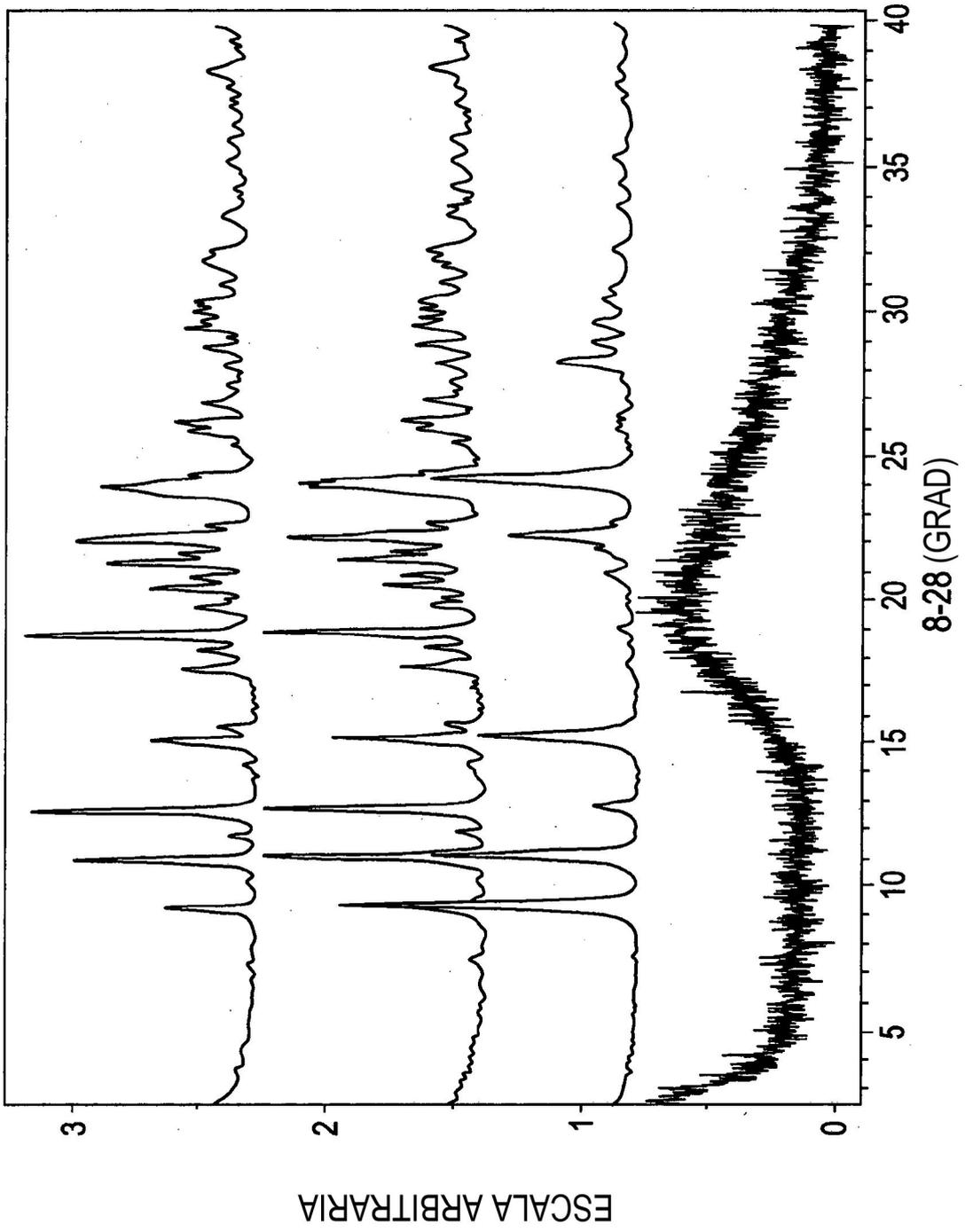


FIGURA 6

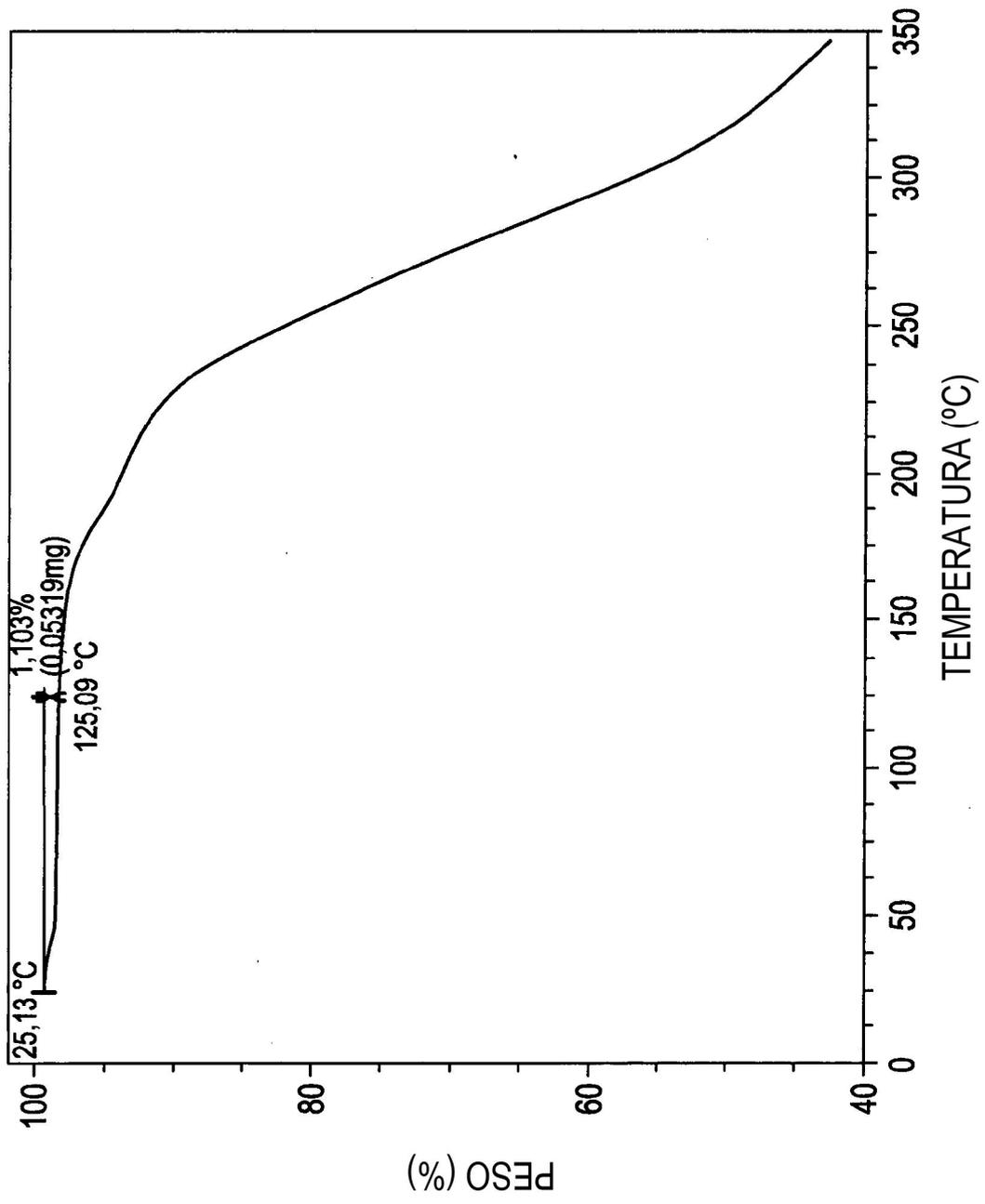


FIGURA 7