

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 614 931**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4184 (2006.01)
A61K 31/381 (2006.01)
A61K 31/402 (2006.01)
A61K 31/426 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61K 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.08.2007** **PCT/US2007/017519**
87 Fecha y número de publicación internacional: **14.02.2008** **WO08019139**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.08.2007** **E 07836571 (5)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.11.2016** **EP 2054058**

54 Título: **Inhibidores de la piruvato cinasa y métodos de tratamiento de enfermedad**

30 Prioridad:

04.08.2006 US 835821 P

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

02.06.2017

73 Titular/es:

**BETH ISRAEL DEACONESS MEDICAL CENTER
(100.0%)
330 Brookline Avenue
Boston, MA 02215, US**

72 Inventor/es:

**CANTLEY, LEWIS, C.;
VANDER HEIDEN, MATTHEW, G. y
CHRISTOFK, HEATHER, R.**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 614 931 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 la piruvato cinasa y métodos de tratamiento de enfermedad

Antecedentes de la invención

La invención descrita en el presente documento caracteriza inhibidores de la piruvato cinasa M2 (PKM2) para su uso en el tratamiento de enfermedades relacionadas con la función de la piruvato cinasa, que incluyen cáncer. En el presente documento también se desvela un método de identificación de inhibidores de PKM2.

Las células cancerosas se basan principalmente en la glicólisis para generar energía celular, mientras que la mayoría de las células "normales" en tejidos adultos utilizan la respiración aerobia. Esta diferencia fundamental en el metabolismo celular entre células cancerosas y células normales, llamado el efecto de Warburg, ha sido explotado para fines de diagnóstico, pero todavía no ha sido explotado para beneficio terapéutico.

La piruvato cinasa (PK) es una enzima metabólica que convierte fosfoenolpiruvato en piruvato durante la glicólisis. Existen cuatro isoformas de PK en los mamíferos: las isoformas L y R se expresan en hígado y glóbulos rojos, la isoforma M1 se expresa en la mayoría de los tejidos adultos, y la isoforma M2 es una variante de corte y empalme de M1 expresada durante el desarrollo embrionario. Todas las células tumorales expresan exclusivamente la isoforma M2 embrionaria. Una diferencia muy conocida entre las isoformas M1 y M2 de PK es que M2 es una enzima de baja actividad que se basa en la activación alostérica por el producto intermedio glicolítico aguas arriba, fructosa-1,6-bisfosfato (FBP), mientras que M1 es una enzima constitutivamente activa.

Todas las células tumorales expresan exclusivamente la isoforma M2 embrionaria de piruvato cinasa, sugiriendo PKM2 como una posible diana para la terapia del cáncer. PKM2 también se expresa en tejido adiposo y linfocitos T activados. Así, la inhibición de PKM2 puede ser eficaz en el tratamiento de, por ejemplo, obesidad, diabetes, afecciones autoinmunitarias y enfermedades dependientes de la proliferación, por ejemplo, hiperplasia prostática benigna (HPB). Los actuales inhibidores de la piruvato cinasa no son selectivos, haciendo difícil tratar la enfermedad relacionada con la función de la piruvato cinasa.

Los documentos WO 02/072077 A2, US 6 265 588 B1 y Lee W.-H. (Consolidation effect of phenylalanine administration on antitumor activity of a 5 fluorouracil; Kagoshima Daikagu Igaku Zasshi - Medical Journal of the Kagoshima University, U Igakubu, Kagoshima, 1985, 37(3-4): 285-308) desvelan usos de inhibidores de la piruvato cinasa M2 que son diferentes de los compuestos para su uso de la presente invención.

Eswaran J. et al. (Crystal structures and inhibitor identification for PTPN5, PTPRR and PTPN7: A family of human MAPK-specific protein D4 tyrosine phosphatases; BIOCHEMICAL JOURNAL, 2006; 395(3):483-491) estudian compuestos para la inhibición de la actividad de fosfatasa por las tirosina fosfatasas PTN5, PTPRR y PTPN7. Se propone que PTNP5 se expresa en exceso en algunos pacientes con leucemia mieloblástica aguda.

Kao R.Y.T. et al. (A small-molecule inhibitor of the ribonucleolytic activity of human angiogenin that possesses antitumor activity; Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 2002; 99(15):10066-71) desvelan inhibidores de ANG en el tratamiento del cáncer e informan de la actividad de algunos inhibidores de ANG específicos contra cánceres de próstata y de colon.

El documento WO 03/073999 A2 desvela métodos de modulación de Pin-1 y además desvela que Pin-1 se expresa en exceso en muestras de cáncer humano. El documento desvela además compuestos que se establece que son compuestos que modulan Pin-1.

El documento US 2004/048283 A1 desvela derivados de 1-fenil-pirrol y métodos de cribado de moduladores de la transcripción bacteriana.

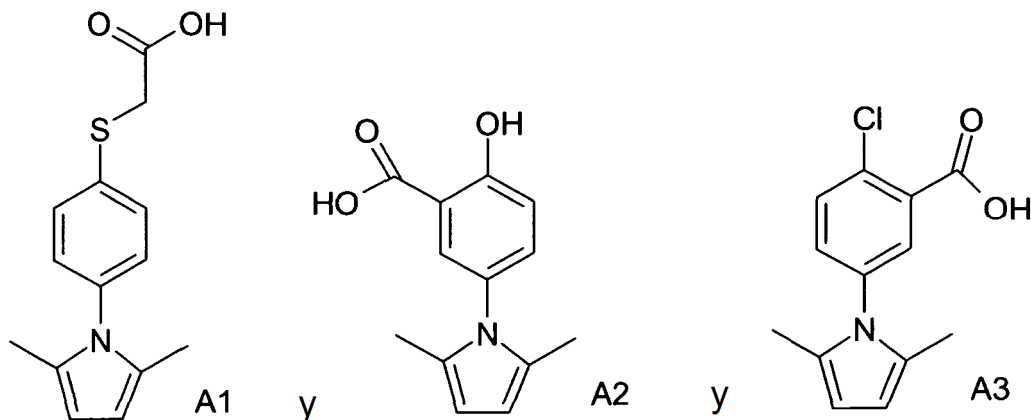
El documento WO 2006/122546 A1 desvela la identificación de compuestos que pueden inhibir la interacción entre las proteínas PKA y AKAP. Hay una necesidad en la materia de novedosos tratamientos de enfermedad, que incluyen, por ejemplo, cáncer, diabetes, obesidad, afecciones autoinmunitarias, enfermedades dependientes de la proliferación (por ejemplo, HPB), y otras enfermedades relacionadas con la función de la piruvato cinasa (por ejemplo, PKM2).

Sumario de la invención

La descripción en el presente documento caracteriza inhibidores de la piruvato cinasa M2 para su uso en el tratamiento de enfermedades relacionadas con la función de la piruvato cinasa. Estos inhibidores pueden ser útiles para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la función de la piruvato cinasa, que incluyen, por ejemplo, cáncer, diabetes, obesidad, enfermedades autoinmunitarias e HPB. La descripción en el presente documento

también desvela un método de identificación de inhibidores de PKM2.

La presente invención se refiere a un compuesto seleccionado de

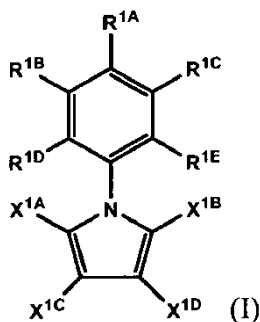


y sales de los mismos,

5 para su uso en el tratamiento de cáncer,

en el que el cáncer está seleccionado de cánceres de mama, próstata, pulmón, bronquial, colon, rectal, riñón, renal, piel, pélvico, pancreático, oral, ovario, cabeza, cuello, tiroides, paratiroides, estómago, gastrointestinal, del intestino (por ejemplo, delgado y grueso), cerebro, esófago, hígado, vesícula biliar, pleura, vías biliares intrahepáticas, cuello uterino, testicular, uréter, anal, laringe, faringe, hueso, articular, vulvar, ojo y de la vejiga urinaria, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, melanomas, carcinomas, carcinomas de células basales, neuroblastomas, mielomas múltiples, leucemias linfocíticas crónicas, cánceres de tejido blando (por ejemplo, corazón), tumores del estroma gastrointestinal, leucemias mieloides crónicas, mesoteliomas malignos, retinoblastomas y sarcomas de tejido blando.

Se desvela un método de inhibición de piruvato cinasa M2 en un sujeto en necesidad del mismo administrando al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I:

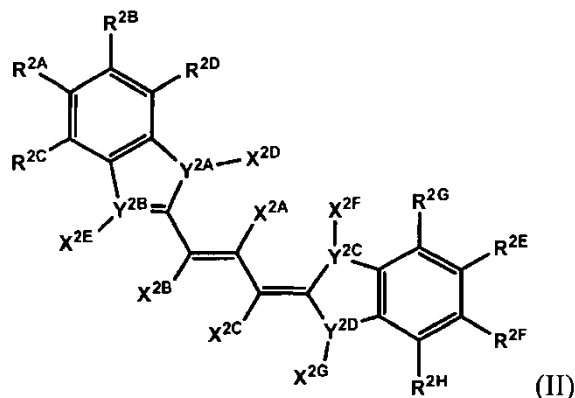


15 en la que cada uno de R^{1A} , R^{1B} , R^{1C} , R^{1D} , R^{1E} , X^{1A} , X^{1B} , X^{1C} y X^{1D} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C_{1-4} , alquenoilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , OR^{1K} , $OC(O)R^{1L}$, $NR^{1M}R^{1N}$, $NHC(O)R^{1O}$, $NHC(S)R^{1P}$, $NHC(O)OR^{1Q}$, $NHC(S)OR^{1R}$, $NHC(O)NHR^{1S}$, $NHC(S)NHR^{1T}$, $NHC(O)SR^{1U}$, $NHC(S)SR^{1V}$, $NHS(O)_2R^{1W}$, $C(O)OR^{1X}$, $C(O)NHR^{1Y}$, $(CH_2)_{1-4}OH$, $C(O)R^{1Z}$, CH_2R^{1AA} , SO_3H , SO_2R^{1BB} , $S(O)R^{1CC}$, SR^{1DD} , SO_2NHR^{1EE} y $S(CH_2)_{1-4}C(O)OH$; y cada uno de R^{1K} , R^{1L} , R^{1M} , R^{1N} , R^{1O} , R^{1P} , R^{1Q} , R^{1R} , R^{1S} , R^{1T} , R^{1U} , R^{1V} , R^{1W} , R^{1X} , R^{1Y} , R^{1Z} , R^{1AA} , R^{1BB} , R^{1CC} , R^{1DD} y R^{1EE} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-4} , alquenoilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , heterociclilo C_{2-6} , arilo C_{6-12} , alcarilo C_{7-14} , alq C_{3-10} -heterociclilo y heteroarilo C_{1-4} , y sales de los mismos. En una realización particular, X^{1A} y X^{1B} son ambos metilo, X^{1C} y X^{1D} son ambos H, y cada uno de R^{1A} , R^{1B} , R^{1C} , R^{1D} y R^{1E} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C_{1-4} , alquenoilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , OR^{1K} , $OC(O)R^{1L}$, $NR^{1M}R^{1N}$, $NHC(O)R^{1O}$, $NHC(S)R^{1P}$, $NHC(O)OR^{1Q}$, $NHC(S)OR^{1R}$, $NHC(O)NHR^{1S}$, $NHC(S)NHR^{1T}$, $NHC(O)SR^{1U}$, $NHC(S)SR^{1V}$, $NHS(O)_2R^{1W}$, $C(O)OR^{1X}$, $C(O)NHR^{1Y}$, $(CH_2)_{1-4}OH$, $C(O)R^{1Z}$, CH_2R^{1AA} , SO_3H , SO_2R^{1BB} , $S(O)R^{1CC}$, SR^{1DD} , SO_2NHR^{1EE} y $S(CH_2)_{1-4}C(O)OH$; y cada uno de R^{1K} , R^{1L} , R^{1M} , R^{1N} , R^{1O} , R^{1P} , R^{1Q} , R^{1R} , R^{1S} , R^{1T} , R^{1U} , R^{1V} , R^{1W} , R^{1X} , R^{1Y} , R^{1Z} , R^{1AA} , R^{1BB} , R^{1CC} , R^{1DD} y R^{1EE} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-4} , alquenoilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , heterociclilo C_{2-6} , arilo C_{6-12} , alcarilo C_{7-14} , alq C_{3-10} -heterociclilo y heteroarilo C_{1-4} , y sales de los mismos.

30 Este método puede usarse para tratar, por ejemplo, diabetes (por ejemplo, tipo I o tipo II), obesidad, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades proliferativas (por ejemplo, HPB).

Se desvela una composición farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula I.

Se desvela una composición farmacéutica que incluye un compuesto de fórmula II:

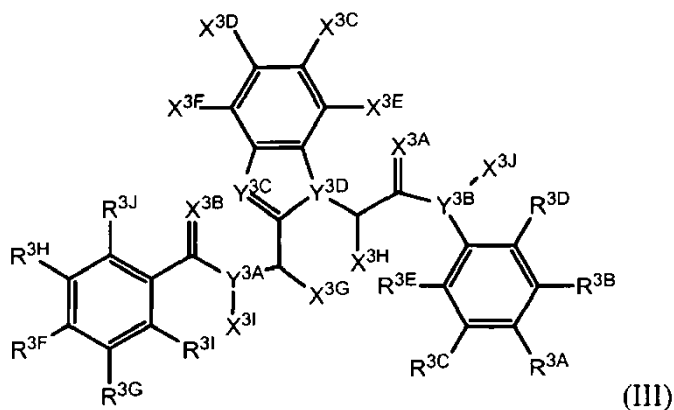


- 5 en la que cada uno de X^{2A} , X^{2B} , X^{2C} , X^{2D} , X^{2E} , X^{2F} y X^{2G} se selecciona independientemente de H, alquilo C₁₋₈, alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄, heterociclilo C₂₋₆, arilo C₆₋₁₂, alcarilo C₇₋₁₄, alq C₃₋₁₀-heterociclilo y heteroalquilo C₁₋₈; y cada uno de Y^{2A} , Y^{2C} y Y^{2D} se selecciona independientemente de N y CH; y Y^{2B} se selecciona independientemente de N+ y C; y cada uno de R^{2A} , R^{2B} , R^{2C} , R^{2D} , R^{2E} , R^{2F} , R^{2G} y R^{2H} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄, OR^{2K}, OC(O)R^{2L}, NR^{2M}R^{2N}, NHC(O)R^{2O}, NHC(S)R^{2P}, NHC(O)OR^{2Q}, NHC(S)OR^{2R}, NHC(O)NHR^{2S}, NHC(S)NHR^{2T}, NHC(O)SR^{2U}, NHC(S)SR^{2V}, NHS(O)₂R^{2W}, C(O)OR^{2X}, C(O)NHR^{2Y}, (CH₂)₁₋₄OH, C(O)R^{2Z}, CH₂R^{2AA}, SO₃H, SO₂R^{2BB}, S(O)R^{2CC}, SR^{2DD}, SO₂NHR^{2EE} y S(CH₂)₁₋₄C(O)OH; y cada uno de R^{2K} , R^{2L} , R^{2M} , R^{2N} , R^{2O} , R^{2P} , R^{2Q} , R^{2R} , R^{2S} , R^{2T} , R^{2U} , R^{2V} , R^{2W} , R^{2X} , R^{2Y} , R^{2Z} , R^{2AA} , R^{2BB} , R^{2CC} , R^{2DD} y R^{2EE} se selecciona independientemente de H, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄, heterociclilo C₂₋₆, arilo C₆₋₁₂, alcarilo C₇₋₁₄, alq C₃₋₁₀-heterociclilo y heteroarilo C₁₋₄, y sales de los mismos. En una realización particular, cada uno de X^{2A} , X^{2B} , X^{2C} , R^{2D} , R^{2G} y R^{2H} es H; y cada uno de Y^{2A} , Y^{2C} y Y^{2D} es N; y Y^{2B} es N+; y cada uno de X^{2D} , X^{2E} , X^{2F} y X^{2G} se selecciona independientemente de H, alquilo C₁₋₈, alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄ y heteroalquilo C₁₋₈; y cada uno de R^{2A} , R^{2B} , R^{2E} y R^{2F} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄, OR^{2K}, OC(O)R^{2L}, NR^{2M}R^{2N}, NHC(O)R^{2O}, NHC(S)R^{2P}, NHC(O)OR^{2Q}, NHC(S)OR^{2R}, NHC(O)NHR^{2S}, NHC(S)NHR^{2T}, NHC(O)SR^{2U}, NHC(S)SR^{2V}, NHS(O)₂R^{2W}, C(O)OR^{2X}, C(O)NHR^{2Y}, (CH₂)₁₋₄OH, C(O)R^{2Z}, CH₂R^{2AA}, SO₃H, SO₂R^{2BB}, S(O)R^{2CC}, SR^{2DD}, SO₂NHR^{2EE} y S(CH₂)₁₋₄C(O)OH; y cada uno de R^{2K} , R^{2L} , R^{2M} , R^{2N} , R^{2O} , R^{2P} , R^{2Q} , R^{2R} , R^{2S} , R^{2T} , R^{2U} , R^{2V} , R^{2W} , R^{2X} , R^{2Y} , R^{2Z} , R^{2AA} , R^{2BB} , R^{2CC} , R^{2DD} y R^{2EE} se selecciona independientemente de H y alquilo C₁₋₄, y sales de los mismos.

Se desvela un kit que incluye: (i) una composición farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula II y (ii) instrucciones para administrar el compuesto para el tratamiento de, por ejemplo, cáncer, obesidad, diabetes, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades proliferativas (por ejemplo, HPB).

- 25 Se desvela un método de inhibición de piruvato cinasa M2 en un sujeto en necesidad del mismo administrando al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula II. El método puede usarse para el tratamiento de cáncer (por ejemplo, cánceres de mama, próstata, pulmón, bronquial, colon, rectal, riñón, renal, piel, pélvico, pancreático, oral, ovario, cabeza, cuello, tiroides, paratiroides, estómago, gastrointestinal, del intestino (por ejemplo, delgado y grueso), cerebro, esófago, hígado, vesícula biliar, pleura, vías biliares intrahepáticas, cuello uterino, testicular, uréter, anal, laringe, faringe, hueso, articular, vulvar, ojo y de la vejiga urinaria, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, melanomas, carcinomas, carcinomas de células basales, neuroblastomas, mielomas múltiples, leucemias, leucemias mieloides agudas, leucemias linfocíticas crónicas, cánceres de tejido blando (por ejemplo, corazón), tumores del estroma gastrointestinal, leucemias mieloides crónicas, leucemias linfocíticas agudas, mesoteliomas malignos, retinoblastomas, tumores agudos o sarcomas de tejido blando). El método también puede usarse para tratar, por ejemplo, diabetes (por ejemplo, tipo I o tipo II), obesidad, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades proliferativas (por ejemplo, HPB).

Se desvela una composición farmacéutica que incluye un compuesto de fórmula III:

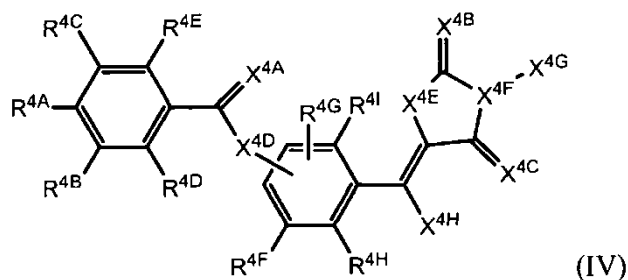


en la que cada uno de X^{3A} y X^{3B} se selecciona independientemente de S, O, NH y CH_2 ; y cada uno de X^{3G} y X^{3H} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-8} , alqueno C_{2-4} , alquino C_{2-4} y heteroalquilo C_{1-8} ; y cada uno de Y^{3A} y Y^{3B} se selecciona independientemente de O, CH, N y S; y X^{3I} está vacío cuando Y^{3A} es S u O, X^{3J} está vacío cuando Y^{3B} es S u O, de otro modo cada uno de X^{3I} y X^{3J} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-8} , alqueno C_{2-4} , alquino C_{2-4} y heteroalquilo C_{1-8} ; y cada uno de Y^{3C} y Y^{3D} se selecciona independientemente de CH y N; y cada uno de R^{3A} , R^{3B} , R^{3C} , R^{3D} , R^{3E} , R^{3F} , R^{3G} , R^{3H} , R^{3I} , R^{3J} , X^{3C} , X^{3D} , X^{3E} y X^{3F} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-4} , alquino C_{2-4} , OR^{3K} , $OC(O)R^{3L}$, $NR^{3M}R^{3N}$, $NHC(O)R^{3O}$, $NHC(S)R^{3P}$, $NHC(O)OR^{3Q}$, $NHC(S)OR^{3R}$, $NHC(O)NHR^{3S}$, $NHC(S)NHR^{3T}$, $NHC(O)SR^{3U}$, $NHC(S)SR^{3V}$, $NHS(O)_2R^{3W}$, $C(O)OR^{3X}$, $C(O)NHR^{3Y}$, $(CH_2)_{1-4}OH$, $C(O)R^{3Z}$, CH_2R^{3AA} , SO_3H , SO_2R^{3BB} , $S(O)R^{3CC}$, SR^{3DD} , SO_2NHR^{3EE} y $S(CH_2)_{1-4}C(O)OH$; y cada uno de R^{3K} , R^{3L} , R^{3M} , R^{3N} , R^{3O} , R^{3P} , R^{3Q} , R^{3R} , R^{3S} , R^{3T} , R^{3U} , R^{3V} , R^{3W} , R^{3X} , R^{3Y} , R^{3Z} , R^{3AA} , R^{3BB} , R^{3CC} , R^{3DD} y R^{3EE} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-4} , alquino C_{2-4} , heterociclo C_{2-6} , arilo C_{6-12} , alcarilo C_{7-14} , alq C_{3-10} -heterociclo y heteroarilo C_{1-4} , y sales de los mismos. En una realización particular, cada uno de X^{3A} y X^{3B} se selecciona independientemente de S y O; y cada uno de X^{3G} , X^{3H} , X^{3I} y X^{3J} es H; y cada uno de Y^{3A} , Y^{3B} , Y^{3C} y Y^{3D} se selecciona independientemente de CH y N; y cada uno de R^{3A} , R^{3B} , R^{3C} , R^{3D} , R^{3E} , R^{3F} , R^{3G} , R^{3H} , R^{3I} , R^{3J} , X^{3C} , X^{3D} , X^{3E} y X^{3F} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-4} , alquino C_{2-4} , OR^{3K} , $OC(O)R^{3L}$, $NR^{3M}R^{3N}$, $NHC(O)R^{3O}$, $NHC(S)R^{3P}$, $NHC(O)OR^{3Q}$, $NHC(S)OR^{3R}$, $NHC(O)NHR^{3S}$, $NHC(S)NHR^{3T}$, $NHC(O)SR^{3U}$, $NHC(S)SR^{3V}$, $NHS(O)_2R^{3W}$, $C(O)OR^{3X}$, $C(O)NHR^{3Y}$, $(CH_2)_{1-4}OH$, $C(O)R^{3Z}$, CH_2R^{3AA} , SO_3H , SO_2R^{3BB} , $S(O)R^{3CC}$, SR^{3DD} , SO_2NHR^{3EE} y $S(CH_2)_{1-4}C(O)OH$; y cada uno de R^{3K} , R^{3L} , R^{3M} , R^{3N} , R^{3O} , R^{3P} , R^{3Q} , R^{3R} , R^{3S} , R^{3T} , R^{3U} , R^{3V} , R^{3W} , R^{3X} , R^{3Y} , R^{3Z} , R^{3AA} , R^{3BB} , R^{3CC} , R^{3DD} y R^{3EE} se selecciona independientemente de H y alquilo C_{1-4} , y sales de los mismos.

Se desvela un kit que incluye: (i) una composición farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula III y (ii) instrucciones para administrar el compuesto para el tratamiento de, por ejemplo, cáncer, obesidad, diabetes, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades proliferativas (por ejemplo, HPB).

Se desvela un método de inhibición de piruvato cinasa M2 en un sujeto en necesidad del mismo administrando al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula III. El método puede usarse para el tratamiento de cáncer (por ejemplo, cánceres de mama, próstata, pulmón, bronquial, colon, rectal, riñón, renal, piel, pélvico, pancreático, oral, ovario, cabeza, cuello, tiroides, paratiroides, estómago, gastrointestinal, del intestino (por ejemplo, delgado y grueso), cerebro, esófago, hígado, vesícula biliar, pleura, vías biliares intrahepáticas, cuello uterino, testicular, uréter, anal, laringe, faringe, hueso, articular, vulvar, ojo y de la vejiga urinaria, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, melanomas, carcinomas, carcinomas de células basales, neuroblastomas, mielomas múltiples, leucemias, leucemias mieloides agudas, leucemias linfocíticas crónicas, cánceres de tejido blando (por ejemplo, corazón), tumores del estroma gastrointestinal, leucemias mieloides crónicas, leucemias linfocíticas agudas, mesoteliomas malignos, retinoblastomas, tumores agudos o sarcomas de tejido blando). El método también puede usarse para tratar, por ejemplo, diabetes (por ejemplo, tipo I o tipo II), obesidad, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades proliferativas (por ejemplo, HPB).

Se desvela una composición farmacéutica que incluye un compuesto de fórmula IV:



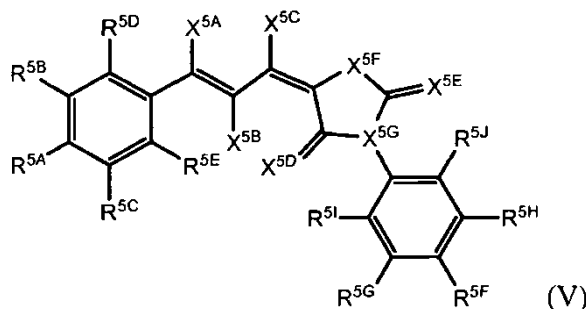
(IV)

en la que cada uno de X^{4A} , X^{4B} y X^{4C} se selecciona independientemente de S, O, NH, CH_2 , y dos átomos de hidrógeno; y cada uno de X^{4G} y X^{4H} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-8} , alquenilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} y heteroalquilo C_{1-8} ; y cada uno de X^{4D} y X^{4E} se selecciona independientemente de O, CH_2 , NH y S; y X^{4F} se selecciona independientemente de CH y N; y cada uno de R^{4A} , R^{4B} , R^{4C} , R^{4D} , R^{4E} , R^{4F} , R^{4G} , R^{4H} y R^{4I} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , OR^{4K} , $OC(O)R^{4L}$, $NR^{4M}R^{4N}$, $NHC(O)R^{4O}$, $NHC(S)R^{4P}$, $NHC(O)OR^{4Q}$, $NHC(S)OR^{4R}$, $NHC(O)NHR^{4S}$, $NHC(S)NHR^{4T}$, $NHC(O)SR^{4U}$, $NHC(S)SR^{4V}$, $NHS(O)_2R^{4W}$, $C(O)OR^{4X}$, $C(O)NHR^{4Y}$, $(CH_2)_{1-4}OH$, $C(O)R^{4Z}$, CH_2R^{4AA} , SO_3H , SO_2R^{4BB} , $S(O)R^{4CC}$, SR^{4DD} , SO_2NHR^{4EE} y $S(CH_2)_{1-4}C(O)OH$; y cada uno de R^{4K} , R^{4L} , R^{4M} , R^{4N} , R^{4O} , R^{4P} , R^{4Q} , R^{4R} , R^{4S} , R^{4T} , R^{4U} , R^{4V} , R^{4W} , R^{4X} , R^{4Y} , R^{4Z} , R^{4AA} , R^{4BB} , R^{4CC} , R^{4DD} y R^{4EE} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , heterociclilo C_{2-6} , arilo C_{6-12} , alcarilo C_{7-14} , alq C_{3-10} -heterociclilo y heteroarilo C_{1-4} , y sales de los mismos. En una realización particular, cada uno de X^{4A} , X^{4B} y X^{4C} se selecciona independientemente de S, O, y dos átomos de hidrógeno; y X^{4G} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-8} y heteroalquilo C_{1-8} ; y X^{4H} es H; y cada uno de X^{4D} y X^{4E} se selecciona independientemente de O, CH_2 , NH y S; y X^{4F} se selecciona independientemente de CH y N; y cada uno de R^{4A} , R^{4B} , R^{4C} , R^{4D} , R^{4E} , R^{4F} , R^{4G} , R^{4H} y R^{4I} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , OR^{4K} , $OC(O)R^{4L}$, $NR^{4M}R^{4N}$, $NHC(O)R^{4O}$, $NHC(S)R^{4P}$, $NHC(O)OR^{4Q}$, $NHC(S)OR^{4R}$, $NHC(O)NHR^{4S}$, $NHC(S)NHR^{4T}$, $NHC(O)SR^{4U}$, $NHC(S)SR^{4V}$, $NHS(O)_2R^{4W}$, $C(O)OR^{4X}$, $C(O)NHR^{4Y}$, $(CH_2)_{1-4}OH$, $C(O)R^{4Z}$, CH_2R^{4AA} , SO_3H , SO_2R^{4BB} , $S(O)R^{4CC}$, SO_2NHR^{4EE} y $S(CH_2)_{1-4}C(O)OH$; y cada uno de R^{4K} , R^{4L} , R^{4M} , R^{4N} , R^{4O} , R^{4P} , R^{4Q} , R^{4R} , R^{4S} , R^{4T} , R^{4U} , R^{4V} , R^{4W} , R^{4X} , R^{4Y} , R^{4Z} , R^{4AA} , R^{4BB} , R^{4CC} , R^{4DD} y R^{4EE} se selecciona independientemente de H y alquilo C_{1-4} , y sales de los mismos.

Se desvela un kit que incluye: (i) una composición farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula IV y (ii) instrucciones para administrar el compuesto para el tratamiento de, por ejemplo, cáncer, obesidad, diabetes, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades proliferativas (por ejemplo, HPB).

Se desvela un método de inhibición de piruvato cinasa M2 en un sujeto en necesidad del mismo administrando al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula IV. El método puede usarse para el tratamiento de cáncer (por ejemplo, cánceres de mama, próstata, pulmón, bronquial, colon, rectal, riñón, renal, piel, pélvico, pancreático, oral, ovario, cabeza, cuello, tiroides, paratiroides, estómago, gastrointestinal, del intestino (por ejemplo, delgado y grueso), cerebro, esófago, hígado, vesícula biliar, pleura, vías biliares intrahepáticas, cuello uterino, testicular, uréter, anal, laringe, faringe, hueso, articular, vulvar, ojo y de la vejiga urinaria, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, melanomas, carcinomas, carcinomas de células basales, neuroblastomas, mielomas múltiples, leucemias, leucemias mieloides agudas, leucemias linfocíticas crónicas, cánceres de tejido blando (por ejemplo, corazón), tumores del estroma gastrointestinal, leucemias mieloides crónicas, leucemias linfocíticas agudas, mesoteliomas malignos, retinoblastomas, tumores agudos o sarcomas de tejido blando). El método también puede usarse para tratar, por ejemplo, diabetes (por ejemplo, tipo I o tipo II), obesidad, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades proliferativas (por ejemplo, HPB).

Se desvela una composición farmacéutica que incluye un compuesto de fórmula V:



(V)

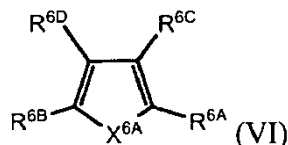
en la que cada uno de X^{5A} , X^{5B} y X^{5C} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-8} , alquenilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} y heteroalquilo C_{1-8} ; y cada uno de X^{5D} y X^{5E} se selecciona independientemente de S, NH, O, y CH_2 ; y X^{5F} se selecciona independientemente de O, NH, CH_2 , y S; y X^{5G} se selecciona independientemente de CH y N; y cada uno

de R^{5A} , R^{5B} , R^{5C} , R^{5D} , R^{5E} , R^{5F} , R^{5G} , R^{5H} , R^{5I} y R^{5J} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , OR^{5K} , $OC(O)R^{5L}$, $NR^{5M}R^{5N}$, $NHC(O)R^{5O}$, $NHC(S)R^{5P}$, $NHC(O)OR^{5Q}$, $NHC(S)OR^{5R}$, $NHC(O)NHR^{5S}$, $NHC(S)NHR^{5T}$, $NHC(O)SR^{5U}$, $NHC(S)SR^{5V}$, $NHS(O)_2R^{5W}$, $C(O)OR^{5X}$, $C(O)NHR^{5Y}$, $(CH_2)_{1-4}OH$, $C(O)R^{5Z}$, CH_2R^{5AA} , SO_3H , SO_2R^{5BB} , $S(O)R^{5CC}$, SR^{5DD} , SO_2NHR^{5EE} y $S(CH_2)_{1-4}C(O)OH$; y cada uno de R^{5K} , R^{5L} , R^{5M} , R^{5N} , R^{5O} , R^{5P} , R^{5Q} , R^{5R} , R^{5S} , R^{5T} , R^{5U} , R^{5V} , R^{5W} , R^{5X} , R^{5Y} , R^{5Z} , R^{5AA} , R^{5BB} , R^{5CC} , R^{5DD} y R^{5EE} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , heterociclilo C_{2-6} , arilo C_{6-12} , alcarilo C_{7-14} , alq C_{3-10} -heterociclilo y heteroalquilo C_{1-4} , y sales de los mismos. En una realización particular, cada uno de X^{5A} , X^{5B} y X^{5C} es H; y cada uno de X^{5D} y X^{5E} se selecciona independientemente de S y O; y X^{5F} se selecciona independientemente de O, NH, CH_2 , y S; y X^{5G} se selecciona independientemente de CH y N; y cada uno de R^{5A} , R^{5B} , R^{5C} , R^{5D} , R^{5E} , R^{5F} , R^{5G} , R^{5H} , R^{5I} y R^{5J} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , OR^{5K} , $OC(O)R^{5L}$, $NR^{5M}R^{5N}$, $NHC(O)R^{5O}$, $NHC(S)R^{5P}$, $NHC(O)OR^{5Q}$, $NHC(S)OR^{5R}$, $NHC(O)NHR^{5S}$, $NHC(S)NHR^{5T}$, $NHC(O)SR^{5U}$, $NHC(S)SR^{5V}$, $NHS(O)_2R^{5W}$, $C(O)OR^{5X}$, $C(O)NHR^{5Y}$, $(CH_2)_{1-4}OH$, $C(O)R^{5Z}$, CH_2R^{5AA} , SO_3H , SO_2R^{5BB} , $S(O)R^{5CC}$, SR^{5DD} , SO_2NHR^{5EE} y $S(CH_2)_{1-4}C(O)OH$; y cada uno de R^{5K} , R^{5L} , R^{5M} , R^{5N} , R^{5O} , R^{5P} , R^{5Q} , R^{5R} , R^{5S} , R^{5T} , R^{5U} , R^{5V} , R^{5W} , R^{5X} , R^{5Y} , R^{5Z} , R^{5AA} , R^{5BB} , R^{5CC} , R^{5DD} y R^{5EE} se selecciona independientemente de H y alquilo C_{1-4} , y sales de los mismos.

Se desvela un kit que incluye: (i) una composición farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula V y (ii) instrucciones para administrar el compuesto para el tratamiento de, por ejemplo, cáncer, obesidad, diabetes, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades proliferativas (por ejemplo, HPB).

Se desvela un método de inhibición de piruvato cinasa M2 en un sujeto en necesidad del mismo administrando al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula V. El método puede usarse para el tratamiento de cáncer (por ejemplo, cánceres de mama, próstata, pulmón, bronquial, colon, rectal, riñón, renal, piel, pélvico, pancreático, oral, ovario, cabeza, cuello, tiroides, paratiroides, estómago, gastrointestinal, del intestino (por ejemplo, delgado y grueso), cerebro, esófago, hígado, vesícula biliar, pleura, vías biliares intrahepáticas, cuello uterino, testicular, uréter, anal, laringe, faringe, hueso, articular, vulvar, ojo y de la vejiga urinaria, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, melanomas, carcinomas, carcinomas de células basales, neuroblastomas, mielomas múltiples, leucemias, leucemias mieloides agudas, leucemias linfocíticas crónicas, cánceres de tejido blando (por ejemplo, corazón), tumores del estroma gastrointestinal, leucemias mieloides crónicas, leucemias linfocíticas agudas, mesoteliomas malignos, retinoblastomas, tumores agudos o sarcomas de tejido blando). El método también puede usarse para tratar, por ejemplo, diabetes (por ejemplo, tipo I o tipo II), obesidad, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades proliferativas (por ejemplo, HPB).

Se desvela una composición farmacéutica que incluye un compuesto de fórmula VI:



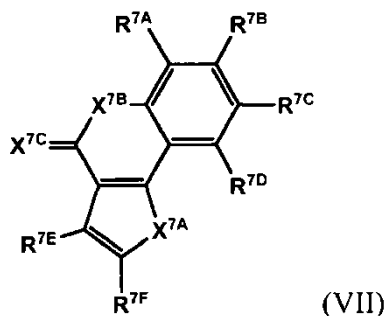
en la que X^{6A} se selecciona independientemente de S, NH y O; y cada uno de R^{6A} , R^{6B} , R^{6C} y R^{6D} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , OR^{6K} , $OC(O)R^{6L}$, $NR^{6M}R^{6N}$, $NHC(O)R^{6O}$, $NHC(S)R^{6P}$, $NHC(O)OR^{6Q}$, $NHC(S)OR^{6R}$, $NHC(O)NHR^{6S}$, $NHC(S)NHR^{6T}$, $NHC(O)SR^{6U}$, $NHC(S)SR^{6V}$, $NHS(O)_2R^{6W}$, $C(O)OR^{6X}$, $C(O)NHR^{6Y}$, $(CH_2)_{1-4}OH$, $C(O)R^{6Z}$, CH_2R^{6AA} , SO_3H , SO_2R^{6BB} , $S(O)R^{6CC}$, SR^{6DD} , SO_2NHR^{6EE} y $S(CH_2)_{1-4}C(O)OH$; y cada uno de R^{6K} , R^{6L} , R^{6M} , R^{6N} , R^{6O} , R^{6P} , R^{6Q} , R^{6R} , R^{6S} , R^{6T} , R^{6U} , R^{6V} , R^{6W} , R^{6X} , R^{6Y} , R^{6Z} , R^{6AA} , R^{6BB} , R^{6CC} , R^{6DD} y R^{6EE} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , heterociclilo C_{2-6} , arilo C_{6-12} , alcarilo C_{7-14} , alq C_{3-10} -heterociclilo y heteroarilo C_{1-4} , y sales de los mismos. En una realización particular, X^{6A} se selecciona independientemente de S y O; y cada uno de R^{6C} y R^{6D} es H; y cada uno de R^{6A} y R^{6B} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , OR^{6K} , $OC(O)R^{6L}$, $NR^{6M}R^{6N}$, $NHC(O)R^{6O}$, $NHC(S)R^{6P}$, $NHC(O)OR^{6Q}$, $NHC(S)OR^{6R}$, $NHC(O)NHR^{6S}$, $NHC(S)NHR^{6T}$, $NHC(O)SR^{6U}$, $NHC(S)SR^{6V}$, $NHS(O)_2R^{6W}$, $C(O)OR^{6X}$, $C(O)NHR^{6Y}$, $(CH_2)_{1-4}OH$, $C(O)R^{6Z}$, CH_2R^{6AA} , SO_3H , SO_2R^{6BB} , $S(O)R^{6CC}$, SR^{6DD} , SO_2NHR^{6EE} y $S(CH_2)_{1-4}C(O)OH$; y cada uno de R^{6K} , R^{6L} , R^{6M} , R^{6N} , R^{6O} , R^{6P} , R^{6Q} , R^{6R} , R^{6S} , R^{6T} , R^{6U} , R^{6V} , R^{6W} , R^{6X} , R^{6Y} , R^{6Z} , R^{6AA} , R^{6BB} , R^{6CC} , R^{6DD} y R^{6EE} se selecciona independientemente de H y alquilo C_{1-4} , y sales de los mismos.

Se desvela un kit que incluye: (i) una composición farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula VI y (ii) instrucciones para administrar el compuesto para el tratamiento de, por ejemplo, cáncer, obesidad, diabetes, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades proliferativas (por ejemplo, HPB).

Se desvela un método de inhibición de piruvato cinasa M2 en un sujeto en necesidad del mismo administrando al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula VI. El método puede usarse para el tratamiento de cáncer (por ejemplo, cánceres de mama, próstata, pulmón, bronquial, colon, rectal, riñón, renal, piel, pélvico, pancreático, oral, ovario, cabeza, cuello, tiroides, paratiroides, estómago, gastrointestinal, del intestino (por ejemplo, delgado y

grosso), cerebro, esófago, hígado, vesícula biliar, pleura, vías biliares intrahepáticas, cuello uterino, testicular, uréter, anal, laringe, faringe, hueso, articular, vulvar, ojo y de la vejiga urinaria, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, melanomas, carcinomas, carcinomas de células basales, neuroblastomas, mielomas múltiples, leucemias, leucemias mieloides agudas, leucemias linfocíticas crónicas, cánceres de tejido blando (por ejemplo, corazón), tumores del estroma gastrointestinal, leucemias mieloides crónicas, leucemias linfocíticas agudas, mesoteliomas malignos, retinoblastomas, tumores agudos o sarcomas de tejido blando). El método también puede usarse para tratar, por ejemplo, diabetes (por ejemplo, tipo I o tipo II), obesidad, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades proliferativas (por ejemplo, HPB).

Se desvela una composición farmacéutica que incluye un compuesto de fórmula VII:

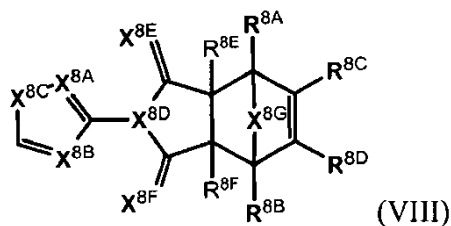


en la que cada uno de X^{7A} y X^{7B} se selecciona independientemente de S, NH y O; y X^{7C} se selecciona independientemente de S, NH, CH_2 y O; y cada uno de R^{7A} , R^{7B} , R^{7C} , R^{7D} , R^{7E} y R^{7F} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-4} , alquino C_{2-4} , OR^{7K} , $OC(O)R^{7L}$, $NR^{7M}R^{7N}$, $NHC(O)R^{7O}$, $NHC(S)R^{7P}$, $NHC(O)OR^{7Q}$, $NHC(S)OR^{7R}$, $NHC(O)NHR^{7S}$, $NHC(S)NHR^{7T}$, $NHC(O)SR^{7U}$, $NHC(S)SR^{7V}$, $NHS(O)_2R^{7W}$, $C(O)OR^{7X}$, $C(O)NHR^{7Y}$, $(CH_2)_{1-4}OH$, $C(O)R^{7Z}$, CH_2R^{7AA} , SO_3H , SO_2R^{7BB} , $S(O)R^{7CC}$, SR^{7DD} , SO_2NHR^{7EE} y $S(CH_2)_{1-4}C(O)OH$; y cada uno de R^{7K} , R^{7L} , R^{7M} , R^{7N} , R^{7O} , R^{7P} , R^{7Q} , R^{7R} , R^{7S} , R^{7T} , R^{7U} , R^{7V} , R^{7W} , R^{7X} , R^{7Y} , R^{7Z} , R^{7AA} , R^{7BB} , R^{7CC} , R^{7DD} y R^{7EE} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-4} , alquino C_{2-4} , heterociclilo C_{2-6} , arilo C_{6-12} , alcarilo C_{7-14} , alq C_{3-10} -heterociclilo y heteroarilo C_{1-4} , y sales de los mismos. En una realización particular, cada uno de X^{7A} y X^{7B} se selecciona independientemente de S, NH y O; y X^{7C} se selecciona independientemente de S, NH, CH_2 y O; y cada uno de R^{7A} , R^{7B} , R^{7C} , R^{7D} y R^{7E} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-4} , alquino C_{2-4} , OR^{7K} , $OC(O)R^{7L}$, $NR^{7M}R^{7N}$, $NHC(O)R^{7O}$, $NHC(S)R^{7P}$, $NHC(O)OR^{7Q}$, $NHC(S)OR^{7R}$, $NHC(O)NHR^{7S}$, $NHC(S)NHR^{7T}$, $NHC(O)SR^{7U}$, $NHC(S)SR^{7V}$, $NHS(O)_2R^{7W}$, $C(O)OR^{7X}$, $C(O)NHR^{7Y}$, $(CH_2)_{1-4}OH$, $C(O)R^{7Z}$, CH_2R^{7AA} , SO_3H , SO_2R^{7BB} , $S(O)R^{7CC}$, SR^{7DD} , SO_2NHR^{7EE} y $S(CH_2)_{1-4}C(O)OH$; y cada uno de R^{7K} , R^{7L} , R^{7M} , R^{7N} , R^{7O} , R^{7P} , R^{7Q} , R^{7R} , R^{7S} , R^{7T} , R^{7U} , R^{7V} , R^{7W} , R^{7X} , R^{7Y} , R^{7Z} , R^{7AA} , R^{7BB} , R^{7CC} , R^{7DD} y R^{7EE} se selecciona independientemente de H y alquilo C_{1-4} ; y R^{7F} se selecciona independientemente de $OC(O)R^{7FF}$, $NHC(O)R^{7FF}$, $NHC(S)R^{7FF}$, $NHC(O)OR^{7FF}$, $NHC(S)OR^{7FF}$, $NHC(O)NHR^{7FF}$, $NHC(S)NHR^{7FF}$, $NHC(O)SR^{7FF}$, $NHC(S)SR^{7FF}$, $NHS(O)_2R^{7FF}$, $C(O)OR^{7FF}$, $C(O)NHR^{7FF}$, $C(O)R^{7FF}$, SO_2R^{7FF} , $S(O)R^{7FF}$ y SO_2NHR^{7FF} , donde R^{7FF} está seleccionado de H y alquilo C_{1-4} , y sales de los mismos.

Se desvela además un kit que incluye: (i) una composición farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula VII y (ii) instrucciones para administrar el compuesto para el tratamiento de, por ejemplo, cáncer, obesidad, diabetes, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades proliferativas (por ejemplo, HPB).

Se desvela además un método de inhibición de piruvato cinasa M2 en un sujeto en necesidad del mismo administrando al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula VII. El método puede usarse para el tratamiento de cáncer (por ejemplo, cánceres de mama, próstata, pulmón, bronquial, colon, rectal, riñón, renal, piel, pélvico, pancreático, oral, ovario, cabeza, cuello, tiroides, paratiroides, estómago, gastrointestinal, del intestino (por ejemplo, delgado y grueso), cerebro, esófago, hígado, vesícula biliar, pleura, vías biliares intrahepáticas, cuello uterino, testicular, uréter, anal, laringe, faringe, hueso, articular, vulvar, ojo y de la vejiga urinaria, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, melanomas, carcinomas, carcinomas de células basales, neuroblastomas, mielomas múltiples, leucemias, leucemias mieloides agudas, leucemias linfocíticas crónicas, cánceres de tejido blando (por ejemplo, corazón), tumores del estroma gastrointestinal, leucemias mieloides crónicas, leucemias linfocíticas agudas, mesoteliomas malignos, retinoblastomas, tumores agudos o sarcomas de tejido blando). El método también puede usarse para tratar, por ejemplo, diabetes (por ejemplo, tipo I o tipo II), obesidad, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades proliferativas (por ejemplo, HPB).

Se desvela una composición farmacéutica que incluye un compuesto de fórmula VIII:



en la que X^{8C} se selecciona independientemente de NH, CH=CH o N=CH; y cada uno de X^{8A} , X^{8B} y X^{8D} se selecciona independientemente de CH y N; y cada uno de X^{8E} , X^{8F} y X^{8G} se selecciona independientemente de S, NH, CH₂ y O; y cada uno de R^{8A} , R^{8B} , R^{8C} , R^{8D} , R^{8E} y R^{8F} se selecciona independientemente de H, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄, heterociclilo C₂₋₆, arilo C₆₋₁₂, alcarilo C₇₋₁₄, alq C₃₋₁₀-heterociclilo y heteroalquilo C₁₋₄, y sales de los mismos. En una realización particular, X^{8C} se selecciona independientemente de NH, CH=CH o N=CH; y cada uno de X^{8A} , X^{8B} y X^{8D} se selecciona independientemente de CH y N; y cada uno de X^{8E} y X^{8F} se selecciona independientemente de S y O; X^{8G} es CH₂; y cada uno de R^{8A} , R^{8B} , R^{8C} , R^{8D} , R^{8E} y R^{8F} se selecciona independientemente de H y alquilo C₁₋₄, y sales de los mismos.

- 5 Se desvela un kit que incluye: (i) una composición farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula VIII y (ii) instrucciones para administrar el compuesto para el tratamiento de, por ejemplo, cáncer, obesidad, diabetes, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades proliferativas (por ejemplo, HPB).

- 15 Se desvela un método de inhibición de piruvato cinasa M2 en un sujeto en necesidad del mismo administrando al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula VIII. El método puede usarse para el tratamiento de cáncer (por ejemplo, cánceres de mama, próstata, pulmón, bronquial, colon, rectal, riñón, renal, piel, pélvico, pancreático, oral, ovario, cabeza, cuello, tiroides, paratiroides, estómago, gastrointestinal, del intestino (por ejemplo, delgado y grueso), cerebro, esófago, hígado, vesícula biliar, pleura, vías biliares intrahepáticas, cuello uterino, testicular, uréter, anal, laringe, faringe, hueso, articular, vulvar, ojo y de la vejiga urinaria, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, melanomas, carcinomas, carcinomas de células basales, neuroblastomas, mielomas múltiples, leucemias, leucemias mieloides agudas, leucemias linfocíticas crónicas, cánceres de tejido blando (por ejemplo, corazón), tumores del estroma gastrointestinal, leucemias mieloides crónicas, leucemias linfocíticas agudas, mesoteliomas malignos, retinoblastomas, tumores agudos o sarcomas de tejido blando). El método también puede usarse para tratar, por ejemplo, diabetes (por ejemplo, tipo I o tipo II), obesidad, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades proliferativas (por ejemplo, HPB).

- 25 Se desvela un método de identificación de inhibidores de la actividad de la piruvato cinasa. Este método incluye combinar piruvato cinasa y fosfoenolpiruvato en una solución, activar dicha piruvato cinasa añadiendo fructosa-1,6-bisfosfato (FBP) a la solución, poner en contacto la solución con una molécula de interés, cuantificar la cantidad de un sustrato presente en la solución, y determinar si la molécula inhibe o no la actividad de la piruvato cinasa. La piruvato cinasa puede ser, por ejemplo, la isoforma M1 o M2. La solución puede además ponerse en contacto con lactato deshidrogenasa. El sustrato cuantificado en la solución puede ser, por ejemplo, ATP o NADH. La cuantificación del sustrato puede completarse usando, por ejemplo, absorbancia, fluorescencia, dispersión Raman, fosforescencia, luminiscencia, actividad de luciferasa o radiactividad. El método puede incluir además la etapa adicional de comparar la inhibición de la actividad de las isoformas M1 y M2 de la piruvato cinasa.

- 35 También se desvela un método de tratamiento de cáncer en un sujeto en necesidad del mismo administrando una cantidad eficaz de un inhibidor que es selectivo para la isoforma M2 de la piruvato cinasa. El método puede usarse para el tratamiento de cáncer (por ejemplo, cánceres de mama, próstata, pulmón, bronquial, colon, rectal, riñón, renal, piel, pélvico, pancreático, oral, ovario, cabeza, cuello, tiroides, paratiroides, estómago, gastrointestinal, del intestino (por ejemplo, delgado y grueso), cerebro, esófago, hígado, vesícula biliar, pleura, vías biliares intrahepáticas, cuello uterino, testicular, uréter, anal, laringe, faringe, hueso, articular, vulvar, ojo y de la vejiga urinaria, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, melanomas, carcinomas, carcinomas de células basales, neuroblastomas, mielomas múltiples, leucemias, leucemias mieloides agudas, leucemias linfocíticas crónicas, cánceres de tejido blando (por ejemplo, corazón), tumores del estroma gastrointestinal, leucemias mieloides crónicas, leucemias linfocíticas agudas, mesoteliomas malignos, retinoblastomas, tumores agudos o sarcomas de tejido blando). También se desvelan métodos de tratamiento de, por ejemplo, diabetes (por ejemplo, tipo I o tipo II), obesidad, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades proliferativas (por ejemplo, HPB) en un sujeto en necesidad de los mismos administrando una cantidad eficaz de un inhibidor que es selectivo para la isoforma M2 de la piruvato cinasa.

- 50 Por "cantidad eficaz" se indica la cantidad de una composición farmacéutica desvelada en el presente documento requerida para tratar o prevenir una enfermedad tal como, por ejemplo, cáncer, diabetes, obesidad, enfermedades autoinmunitarias y enfermedades dependientes de la proliferación, tales como HPB. La cantidad eficaz de una composición farmacéutica desvelada en el presente documento usada para tratamiento terapéutico o profiláctico varía dependiendo del modo de administración, la edad, peso corporal y salud general del sujeto. Por último lugar, el

médico tratante decidirá la cantidad apropiada y pauta de dosificación. Una cantidad tal se denomina la "cantidad eficaz".

Por "selectivo" se indica inhibición al menos 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces o 10 veces mayor de M2 que de M1 en las condiciones expuestas en el Ejemplo 4.

5 Por "composición farmacéutica" se indica una composición que contiene un compuesto desvelado en el presente documento (es decir, un compuesto de cualquiera de las fórmulas (I)-(VIII)) o un compuesto para el uso de la invención, formulado con un excipiente farmacéuticamente aceptable, y fabricado o vendido en conformidad con las reglas de una agencia reguladora gubernamental como parte de una pauta terapéutica para el tratamiento o la prevención de enfermedad en un mamífero. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse, por ejemplo, para
10 administración por vía oral en forma de dosificación unitaria (por ejemplo, un comprimido, cápsula, comprimido oblongo, cápsula de gel o jarabe), para administración tópica (por ejemplo, como una crema, gel, loción o pomada), para administración intravenosa (por ejemplo, como una solución estéril libre de émbolos en partículas y en un sistema de disolvente adecuado para uso intravenoso), o para cualquier otra formulación descrita en el presente documento.

15 Compuestos útiles en las composiciones farmacéuticas desveladas en el presente documento pueden incluir aquellos descritos en el presente documento en cualquiera de sus formas farmacéuticamente aceptables, que incluyen isómeros tales como diaestereómeros y enantiómeros, sales, solvatos, profármacos y polimorfos, de los mismos, además de mezclas racémicas de los compuestos descritos en el presente documento.

20 Por "profármaco" se indica una molécula que, tras el metabolismo en el cuerpo de un sujeto, se convierte químicamente en otra molécula que sirve a un fin terapéutico u otro farmacéutico (por ejemplo, una molécula de fármaco que contiene un ácido carboxílico contiene un enlace amida o éster en su forma de profármaco, que se escinde tras el metabolismo).

25 Por "tratar" se indica administrar una composición farmacéutica para fines profilácticos y/o terapéuticos. Por "prevenir una enfermedad" se refiere al tratamiento profiláctico de un sujeto que todavía no está enfermo, pero que es susceptible a, o de otro modo está en riesgo de, una enfermedad particular. Por "tratar una enfermedad" o usar para tratamiento "terapéutico" se refiere a administrar el tratamiento a un sujeto que ya padece una enfermedad para mejorar o estabilizar la afección del sujeto.

30 Por "coeficiente de Tanimoto" se indica una medida de la similitud química entre dos compuestos que indican la fracción de subestructuras comunes mantenidas entre ellos. Se desvelan once compuestos cabeza de serie y sus homólogos estructurales para su uso en el tratamiento de diversas enfermedades relacionadas con la función de la piruvato cinasa, tales como, por ejemplo, cáncer. Un compuesto se identifica como un homólogo estructural de un compuesto cabeza de serie si tiene un número significativo de subestructuras en común con ese compuesto cabeza de serie, de forma que el coeficiente de Tanimoto que mide la similitud estructural entre aquellos dos compuestos tiene un valor de 0,85 o mayor (en una escala de 0 a 1). El coeficiente de Tanimoto entre dos compuestos se
35 determina calculando la relación del número de subestructuras mantenidas en común por los dos compuestos con respecto al número de subestructuras totales presentes en al menos uno de los dos compuestos. Los coeficientes de Tanimoto también pueden calcularse usando huellas digitales binarias entramadas en las que cada huella digital codifica la composición de subestructura de un compuesto y el coeficiente de Tanimoto es la relación del número de bits establecido en "1" en ambas huellas digitales de los compuestos dividido entre el número de bits establecido en "1" en cualquier huella digital del compuesto usando métodos conocidos en la técnica (véanse, por ejemplo, Patterson et al., J. Med. Chem. 39:3049-59, 1996; Matter et al., J. Med. Chem. 40:1219-29, 1997; Potter et al., J. Med. Chem. 41:478-88, 1998; Taylor et al., J. Chem. Inf. Comp. Sci. 35:59-67, 1995; y Delaney et al., Mol. Diversity 1:217-22, 1996). En la presente invención, se usa un método tal que usa huellas digitales de Daylight para calcular coeficientes de Tanimoto y así identificar compuestos presentes en bases de datos químicas públicamente
45 disponible (por ejemplo, PubChem y ChEMBL) que son homólogos estructurales de un compuesto cabeza de serie (véase, por ejemplo, Martin et al., J. Med. Chem. 45:4350-8, 2002; Daylight Chemical Information Systems Inc., Irvine, CA). Un compuesto cabeza de serie y compuesto estructuralmente homólogo que tiene un coeficiente de Tanimoto de 0,85 o mayor como se calcula usando huellas digitales de Daylight es conocido por tener una probabilidad del 30 % o mayor (por ejemplo, 50 % o 75 %) de tener la misma actividad biológica, dependiendo en parte de la potencia del compuesto cabeza de serie, por ejemplo, que tiene una IC_{50} inferior a 10 micromolar o que tiene una IC_{50} entre 10 micromolar y 100 micromolar, y en parte de la actividad biológica en consideración, como se conoce en la técnica (véanse, por ejemplo, Martin et al., J. Med. Chem. 45:4350-8, 2002; y Klekota et al., J. Chem. Info. Model. 45:1824-36, 2005).

55 En las descripciones genéricas de los compuestos descritos en el presente documento, el número de átomos de un tipo particular en un grupo sustituyente se da generalmente como un intervalo, por ejemplo, un grupo alquilo que contiene de 1 a 4 átomos de carbono o alquilo C_{1-4} . Referencia a un intervalo tal pretende incluir referencias específicas a grupos que tienen cada uno del número entero de átomos dentro del intervalo especificado. Por ejemplo, un grupo alquilo de 1 a 4 átomos de carbono incluye cada uno de C_1 , C_2 , C_3 y C_4 . Un heteroarilo C_{1-4} , por

ejemplo, incluye de 1 a 3 átomos de carbono, además de uno o más heteroátomos. Otros números de átomos y otros tipos de átomos pueden indicarse de una manera similar.

Como se usa en el presente documento, los términos "alquilo" y el prefijo "alq-" son incluyentes de tanto grupos de cadena lineal y cadena ramificada como de grupos cíclicos, es decir, cicloalquilo. Grupos cíclicos a modo de ejemplo incluyen grupos ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo. Un grupo "alquilo C₁₋₄" tiene de 1 a 4 átomos de carbono. Un grupo "alquilo C₁₋₈" tiene de 1 a 8 átomos de carbono. Los grupos alquilo, por ejemplo, un grupo alquilo C₁₋₄ o un grupo alquilo C₁₋₈, pueden estar sustituidos o sin sustituir. Sustituyentes a modo de ejemplo incluyen grupos alcoxi, ariloxi, sulfhidrilo, alquiltio, ariltio, haluro, hidroxilo, fluoroalquilo, perfluoroalquilo, amino, aminoalquilo, amino disustituido, amino cuaternario, hidroxialquilo, carboxialquilo y carboxilo. Alquilos C₁₋₄ y alquilos C₁₋₈ incluyen metilo; etilo; n-propilo; isopropilo; ciclopropilo; ciclopropilmetilo; ciclopropiletilo; n-butilo; iso-butilo; sec-butilo; terc-butilo; y ciclobutilo.

Por "alquenilo" se indica un grupo hidrocarburo ramificado o sin ramificar que contiene uno o más dobles enlaces. Un grupo "alquenilo C₂₋₄" tiene de 2 a 4 átomos de carbono. Alquenilo, por ejemplo, un grupo alquenilo C₂₋₄, puede estar sustituido o sin sustituir. Sustituyentes a modo de ejemplo incluyen grupos alcoxi, ariloxi, sulfhidrilo, alquiltio, ariltio, haluro, hidroxilo, fluoroalquilo, perfluoroalquilo, amino, aminoalquilo, amino disustituido, amino cuaternario, hidroxialquilo, carboxialquilo y carboxilo. Alquenilos C₂₋₄ incluyen vinilo; alilo; 2-ciclopropil-1-etenilo; 1-propenilo; 1-butenilo; 2-butenilo; 3-butenilo; 2-metil-1-propenilo; y 2-metil-2-propenilo.

Por "alquínilo" se indica un grupo de hidrocarburo ramificado o sin ramificar que contiene uno o más triples enlaces. Un grupo "alquínilo C₂₋₄" tiene de 2 a 4 átomos de carbono. Alquínilo, por ejemplo, un grupo alquínilo C₂₋₄, puede estar sustituido o sin sustituir. Sustituyentes a modo de ejemplo incluyen grupos alcoxi, ariloxi, sulfhidrilo, alquiltio, ariltio, haluro, hidroxilo, fluoroalquilo, perfluoroalquilo, amino, aminoalquilo, amino disustituido, amino cuaternario, hidroxialquilo, carboxialquilo y carboxilo. Alquínilos C₂₋₄ incluyen etinilo, 1-propinilo, 2-propinilo, 1-butinilo, 2-butinilo y 3-butinilo.

Por "heterocíclico C₂₋₆" se indica un anillo heterocíclico estable monocíclico de 5 a 7 miembros o bicíclico de 7 a 14 miembros que está saturado, parcialmente insaturado, o insaturado (aromático), y que consiste en 2 a 6 átomos de carbono y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos independientemente seleccionados del grupo que consiste en N, O y S y que incluye cualquier grupo bicíclico en el que cualquiera de los anillos heterocíclicos anteriormente definidos está condensado con un anillo de benceno. El grupo heterocíclico puede estar sustituido o sin sustituir. Sustituyentes a modo de ejemplo incluyen grupos alcoxi, ariloxi, sulfhidrilo, alquiltio, ariltio, haluro, hidroxilo, fluoroalquilo, perfluoroalquilo, amino, aminoalquilo, amino disustituido, amino cuaternario, hidroxialquilo, carboxialquilo y carboxilo. Los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados. El anillo heterocíclico puede estar unido covalentemente mediante cualquier heteroátomo o átomo de carbono que produzca una estructura estable, por ejemplo, un anillo de imidazolinilo puede estar unido en cualquiera de las posiciones de átomo de carbono del anillo o en el átomo de nitrógeno. Un átomo de nitrógeno en el heterociclo puede estar opcionalmente cuaternizado. Preferentemente, cuando el número total de átomos de S y O en el heterociclo supera 1, entonces estos heteroátomos no son adyacente entre sí. Heterociclos incluyen 1H-indazol, 2-pirrolidinilo, 2H,6H-1,5,2-ditiazinilo, 2H-pirrolilo, 3H-indolilo, 4-piperidonilo, 4aH-carbazol, 4H-quinolizínilo, 6H-1,2,5-tiadiazinilo, acridinilo, azocinilo, bencimidazolilo, benzofuranilo, benzotiofuranilo, benzotiofenilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzotriazolilo, benzotetrazolilo, bencisoxazolilo, bencisotiazolilo, bencimidazalonilo, carbazolilo, 4aH-carbazolilo, b-carbolinilo, cromanilo, cremenilo, cinnolinilo, decahidroquinolinilo, 2H,6H-1,5,2-ditiazinilo, dihidrofuro[2,3-b]tetrahidrofuranilo, furanilo, furazanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, imidazolilo, 1H-indazolilo, indolenilo, indolinilo, indolizínilo, indolilo, isobenzofuranilo, isocromanilo, isoindazolilo, isoindolinilo, isoindolilo, isoquinolinilo, isotiazolilo, isoxazolilo, morfolinilo, naftiridinilo, octahidroisoquinolinilo, oxadiazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, oxazolidinilo, oxazolilo, oxazolidinilperimidinilo, fenantridinilo, fenantrolinilo, fenarsazinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxatiinilo, fenoxazinilo, ftalazinilo, piperazinilo, piperidinilo, pteridinilo, piperidonilo, 4-piperidonilo, pteridinilo, purinilo, piranilo, pirazinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridooxazol, piridoimidazol, piridotiazol, piridinilo, piridilo, pirimidinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, 4H-quinolizínilo, quinoxalinilo, quinuclidinilo, carbolinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidroisoquinolinilo, tetrahidroquinolinilo, 6H-1,2,5-tiadiazinilo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, 1,2,5-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, tiantrenilo, tiazolilo, tienilo, tienotiazolilo, tienooxazolilo, tienoimidazolilo, tiofenilo, triazinilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, 1,2,5-triazolilo, 1,3,4-triazolilo, xantenilo. Heterociclos de 5 a 10 miembros preferidos incluyen piridinilo, pirimidinilo, triazinilo, furanilo, tienilo, tiazolilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tetrazolilo, benzofuranilo, benzotiofuranilo, indolilo, bencimidazolilo, 1H-indazolilo, oxazolidinilo, isoxazolidinilo, benzotriazolilo, bencisoxazolilo, oxindolilo, benzoxazolinilo, quinolinilo e isoquinolinilo. Heterociclos de 5 a 6 miembros preferidos incluyen piridinilo, pirimidinilo, triazinilo, furanilo, tienilo, tiazolilo, pirrolilo, piperazinilo, piperidinilo, pirazolilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo y tetrazolilo.

Por "arilo" se indica un grupo aromático que tiene un sistema de anillos que comprende átomos de carbono con electrones π conjugados (por ejemplo, fenilo). El grupo "arilo C₆₋₁₂" tiene de 6 a 12 átomos de carbono. Grupos arilo, por ejemplo, grupos arilo C₆₋₁₂, pueden incluir opcionalmente anillos monocíclicos, bicíclicos o tricíclicos, en los que cada anillo tiene deseablemente cinco o seis miembros. El grupo arilo, por ejemplo, grupos arilo C₆₋₁₂, puede estar

sustituido o sin sustituir. Sustituyentes a modo de ejemplo incluyen grupos alquilo, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, sulfhidrilo, alquiltio, ariltio, haluro, fluoroalquilo, carboxilo, hidroxialquilo, carboxialquilo, amino, aminoalquilo, amino monosustituido, amino disustituido y amino cuaternario.

5 Por "alcarilo C₇₋₁₄" se indica un alquilo sustituido con un grupo arilo (por ejemplo, bencilo, fenetilo o 3,4-diclorofenetilo) que tiene de 7 a 14 átomos de carbono.

Por "alq C₃₋₁₀-heterociclilo" se indica un grupo heterocíclico sustituido con alquilo que tiene de 7 a 14 átomos de carbono, además de uno o más heteroátomos, independientemente seleccionados del grupo que consiste en N, O, S y P (por ejemplo, 3-furanilmetilo, 2-furanilmetilo, 3-tetrahidrofuranilmetilo o 2-tetrahidrofuranilmetilo).

10 Por "heteroalquilo C₁₋₄" se indica un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo ramificado o sin ramificar que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, además de 1, 2 o 3 heteroátomos independientemente seleccionados del grupo que consiste en N, O, S y P. Por "heteroalquilo C₁₋₈" se indica un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo ramificado o sin ramificar que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, además de 1, 2 o 3 heteroátomos independientemente seleccionados del grupo que consiste en N, O, S y P. Heteroalquilos incluyen aminas terciarias, aminas secundarias, éteres, tioéteres, amidas, tioamidas, carbamatos, tiocarbamatos, hidrazonas, iminas, fosfodiésteres, fosforamidados, sulfonamidas y disulfuros. Un heteroalquilo puede incluir opcionalmente anillos monocíclicos, bicíclicos o tricíclicos, en los que cada anillo tiene deseablemente tres a seis miembros. El grupo heteroalquilo puede estar sustituido o sin sustituir. Sustituyentes a modo de ejemplo incluyen grupos alcoxi, ariloxi, sulfhidrilo, sulfato, alquiltio, ariltio, haluro, hidroxilo, fluoroalquilo, perfluoroalquilo, amino, aminoalquilo, amino disustituido, amino cuaternario, hidroxialquilo, hidroxialquilo, carboxialquilo y carboxilo.

20 Por "acilo" se indica un resto químico con la fórmula R-C(O)-, en la que R está seleccionado de alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, heterociclilo C₂₋₆, arilo C₆₋₁₂, alcarilo C₇₋₁₄, alq C₃₋₁₀-heterociclilo o heteroalquilo C₁₋₄.

Por "haluro" se indica bromo, cloro, yodo o flúor.

Por "fluoroalquilo" se indica un grupo alquilo que está sustituido con flúor.

Por "perfluoroalquilo" se indica un grupo alquilo que consiste en solo átomos de carbón y de flúor.

25 Por "carboxialquilo" se indica un resto químico con la fórmula -(R)-COOH, en la que R está seleccionado de alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, heterociclilo C₂₋₆, arilo C₆₋₁₂, alcarilo C₇₋₁₄, alq C₃₋₁₀-heterociclilo o heteroarilo C₁₋₄.

Por "hidroxialquilo" se indica un resto químico con la fórmula -(R)-OH, en la que R está seleccionado de alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, heterociclilo C₂₋₆, arilo C₆₋₁₂, alcarilo C₇₋₁₄, alq C₃₋₁₀-heterociclilo o heteroalquilo C₁₋₄.

30 Por "alcoxi" se indica un sustituyente químico de fórmula -OR, en la que R está seleccionado de alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, heterociclilo C₂₋₆, arilo C₆₋₁₂, alcarilo C₇₋₁₄, alq C₃₋₁₀-heterociclilo o heteroalquilo C₁₋₄.

Por "ariloxi" se indica un sustituyente químico de fórmula -OR, en la que R es un grupo arilo C₆₋₁₂.

Por "alquiltio" se indica un sustituyente químico de fórmula -SR, en la que R está seleccionado de alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, heterociclilo C₂₋₆, arilo C₆₋₁₂, alcarilo C₇₋₁₄, alq C₃₋₁₀-heterociclilo o heteroalquilo C₁₋₄.

Por "ariltio" se indica un sustituyente químico de fórmula -SR, en la que R es un grupo arilo C₆₋₁₂.

35 Por "amino cuaternario" se indica un sustituyente químico de fórmula -(R)-N(R')(R'')(R''')⁺, en la que R, R', R'' y R''' son cada uno independientemente un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo o arilo. R puede ser un grupo alquilo que une el átomo de nitrógeno del amino cuaternario, como sustituyente, a otro resto. El átomo de nitrógeno, N, se une covalentemente a cuatro átomos de carbono de grupos alquilo y/o arilo, produciendo una carga positiva en el átomo de nitrógeno.

40 Otras características y ventajas de la invención serán evidentes de la siguiente Descripción detallada, los dibujos y las reivindicaciones.

Breve descripción de los dibujos

45 La Figura 1 muestra once compuestos de ejemplo que pertenecen a las ocho familias químicas diferentes, identificadas en el cribado descrito en el presente documento, que inhiben la actividad de PKM2, inhiben la glicólisis e inhiben el crecimiento de células de cáncer.

La Figura 2 muestra los homólogos estructurales y coeficientes de Tanimoto de (a) compuesto A2, (b)

compuesto A3, (c) compuesto B1, (d) compuesto C1, (e) compuesto D1, (f) compuesto D2, (g) compuesto E1, (h) compuesto F1, (i) compuesto G1 y (j) compuesto H1.

La Figura 3 muestra las secuencias de péptidos usadas para producir anticuerpos específicos para PKM1 y PKM2.

La Figura 4 muestra que los tejidos tumorales y las líneas celulares expresan la isoforma M2 de la piruvato cinasa. La Figura 4a es una inmunotransferencia de lisados de proteína de la glándula mamaria de ratones MMTV-neu antes (N) y después (T) del desarrollo de tumor. T1-T4 representa lisados de tumores que se desarrollaron en cuatro ratones diferentes. Se inmunotransfirieron proteínas de extractos de células totales para PKM1, PKM2 y actina. La Figura 4b muestra una inmunotransferencia de lisados de proteína de líneas celulares. A549 y H1299 son líneas celulares de carcinoma de pulmón; 293T es una línea celular de riñón embrionario transformada; HeLa es una línea celular de carcinoma cervical; y MCF-10a es una línea de células de epitelio de mama immortalizada. Se incluyó lisado de músculo de ratón como control para la tinción de anticuerpo contra M1. Los extractos de células totales se sondaron con anticuerpos hacia PKM1, PKM2 y GAPDH (control).

La Figura 5a muestra una inmunotransferencia de células H1299 que expresa establemente construcciones de ARNhc y construcciones de rescate. Se infectaron células con retrovirus que contenían el vector vacío, pLHCX, o pLHCX con M1 de ratón marcado con flag (mM1) o M2 de ratón (mM2). Después de dos semanas de selección en higromicina, las células se infectaron con lentivirus que contenía el vector pLKO con ARNhc de control (c) o ARNhc que inactiva la expresión de PKM2 (kd). Entonces se seleccionaron las células en puomicina durante una semana. Se inmunotransfirieron extractos de células totales con anticuerpos para PKM, flag y GAPDH. La Figura 5b muestra las tasas glicolíticas de las células inactivadas y de rescate. Las barras indican e.e.m. (n = 3) en la Figura 5b.

La Figura 6 muestra que la expresión de M1 reduce la tumorigenicidad de células de cáncer de pulmón. La Figura 6a muestra la formación de tumor con el tiempo en ratones sin pelo inyectados con células H1299 de rescate de M1 y M2. Después de 43 días, 3/7 ratones inyectados con células M1 y 7/8 ratones inyectados con células M2 formaron tumores. La Figura 6b muestra ratones inyectados con células M1 en el flanco izquierdo y las células M2 en el flanco derecho. El ratón (i) solo formó un tumor a partir de las células M2. El ratón (ii) formó un tumor más grande a partir de las células M2 que a partir de las células M1. La Figura 6c muestra tumores diseccionados de ratones sin pelo. Se muestran solo tres tumores derivados de células M1 (fila superior), y estos tumores fueron más pequeños que cuatro de los tumores a partir de las células M2 (fila inferior). La Figura 6d muestra la masa de los tumores diseccionados. Cada punto representa la masa tumoral de un ratón. La línea azul indica la masa tumoral media que se origina a partir de las células M1 y células M2. La Figura 6e es una inmunotransferencia de lisados de tumor que se origina a partir células M1, células M2, o una mezcla 50/50 de células M1 y M2 (M1/M2). El panel izquierdo muestra lisados de las células inyectadas. El panel derecho muestra lisados de los tumores diseccionados. Los lisados se inmunotransfirieron con anticuerpos hacia M1, M2, piruvato cinasa (reconoce tanto M1 como M2), flag y GAPDH.

Las Figuras 7a-d muestran la activación específica de PKM2 y la inhibición de la actividad enzimática de piruvato cinasa. La Figura 7a muestra la actividad enzimática de PKM2 recombinante medida en presencia o ausencia de fructosa-1,6-bisfosfato (FBP). La Figura 7b muestra la actividad enzimática de PKM1 recombinante medida en presencia o ausencia FBP. La Figura 7c muestra que la cantidad de PKM2 añadida a la reacción disminuyó para aumentar el tiempo de reacción y facilitar el cribado. La actividad enzimática de PKM2 recombinante se midió en presencia o ausencia de concentraciones crecientes del compuesto B1. La Figura 7d muestra la actividad enzimática de PKM1 recombinante medida en presencia o ausencia de concentraciones crecientes del compuesto B1.

La Figura 8 representa la toxicidad del compuesto A2 (Figura 8a) y D1 (Figura 8b) en células de cáncer de pulmón humano después de dos días de tratamiento en comparación con el tratamiento de control con DMSO.

La Figura 9 representa la toxicidad del compuesto A2 (Figura 9a) y D1 (Figura 9b) en células FL5.12, una línea celular de pre-linfocitos de ratón, después de veinte horas de tratamiento, en presencia (+) o ausencia de factor de crecimiento (IL-3).

La Figura 10 muestra la diferenciación y proliferación de linfocitos T. Una transferencia Western muestra la expresión de PKM2, pero no PKM1, en linfocitos T. La elevada expresión de PKM2 se muestra en momentos de tiempo tras la activación de linfocitos T con anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28.

La Figura 11 muestra una transferencia Western que ilustra la expresión selectiva de PKM2 en células embrionarias y células adiposas.

Descripción detallada

En el presente documento se desvela un método de cribado para la identificación de inhibidores de PKM2. Se identificaron ocho familias químicas en el cribado (fórmulas (I)-(VIII); Figura 1). Se encontraron once compuestos (Figura 2) que inhibían la glicólisis, afectaban la proliferación e iniciaban la muerte celular. Estos compuestos y sus homólogos estructurales (Figura 2) pueden ser útiles para el tratamiento de, por ejemplo, cáncer, diabetes, obesidad, enfermedades autoinmunitarias, enfermedades dependientes de la proliferación (por ejemplo, HPB), y otras enfermedades relacionadas con la función de PKM2.

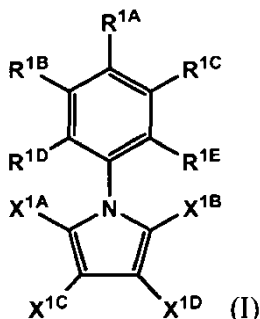
Síntesis de compuestos

La síntesis de los compuestos desvelados en el presente documento y los compuestos para el uso de la invención puede implicar protección y desprotección selectivas de alcoholes, aminas, sulfhidrilos y grupos funcionales de ácido carboxílico en uno o más reactantes. Por ejemplo, grupos protectores comúnmente usados para aminas incluyen carbamatos, tales como *terc*-butilo, bencilo, 2,2,2-tricloroetilo, 2-trimetilsililetilo, 9-fluorenilmetilo, alilo y *m*-nitrofenilo. Otros grupos protectores comúnmente usados para aminas incluyen amidas, tales como formamidas, acetamidas, trifluoroacetamidas, sulfonamidas, trifluorometanosulfonilamidas, trimetilsililetanosulfonamidas y *terc*-butil sulfonilamidas. Ejemplos de grupos protectores comúnmente usados para ácidos carboxílicos incluyen ésteres, tales como ésteres de metilo, etilo, *terc*-butilo, 9-fluorenilmetilo, 2-(trimetilsilil)etoximetilo, bencilo, difenilmetilo, *O*-nitrobencilo, orto-ésteres y halo-ésteres. Ejemplos de grupos protectores comúnmente usados para alcoholes incluyen éteres, tales como éteres de metilo, metoximetilo, metoxietoximetilo, metiltiommetilo, benciloximetilo, tetrahidropiraniilo, etoxietilo, bencilo, 2-naftilmetilo, *O*-nitrobencilo, *P*-nitrobencilo, *P*-metoxibencilo, 9-fenilxantilo, tritilo (incluyendo metoxi-tritilos) y sililo. Ejemplos de grupos protectores comúnmente usados para sulfhidrilos incluyen muchos de los mismos grupos protectores usados para los hidroxilos. Además, los sulfhidrilos pueden protegerse en una forma reducida (por ejemplo, como disulfuros) o una forma oxidada (por ejemplo, como ácidos sulfónicos, ésteres sulfónicos o amidas sulfónicas). Pueden elegirse grupos protectores de forma que se requieran condiciones selectivas (por ejemplo, condiciones ácidas, condiciones básicas, catálisis por un nucleófilo, catálisis por un ácido de Lewis, o hidrogenación) para eliminar cada uno, excluyendo otros grupos protectores en una molécula. Las condiciones requeridas para la adición de grupos protectores a funcionalidades amina, alcohol, sulfhidrilo y ácido carboxílico y las condiciones requeridas para su eliminación se proporcionan en detalle en "T.W. Green and P.G.M. Wuts: Protective Groups in Organic Synthesis" (2ª ed., 1991, John Wiley & Sons) y "P.J. Kocienski: Protecting Groups" (1994, Georg Thieme Verlag).

En los esquemas sintéticos proporcionados en el presente documento, el uso de grupos protectores es evidente del contexto para aquellos expertos en la materia donde para cualquier amina, aldehído, ácido carboxílico, sulfhidrilo o alcohol, puede usarse cualquiera de los grupos protectores enumerados anteriormente.

Compuestos de fórmula I

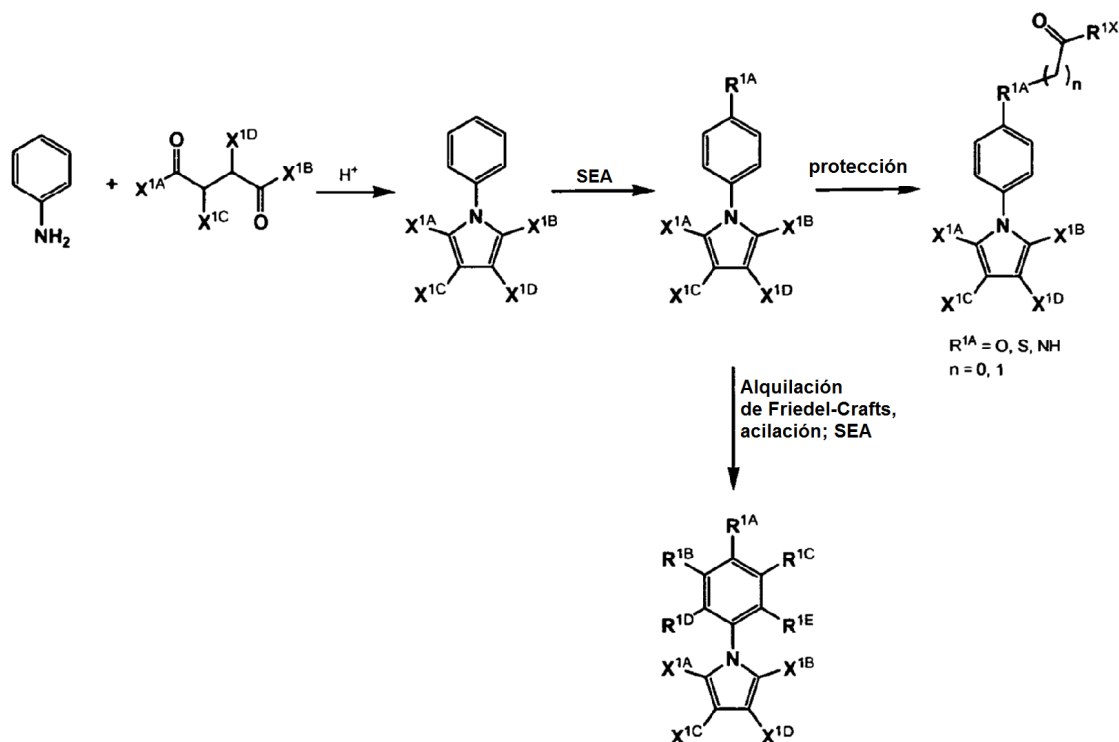
Los compuestos desvelados en el presente documento incluyen compuestos de fórmula (I).



En la fórmula (I), cada uno de R^{1A} , R^{1B} , R^{1C} , R^{1D} , R^{1E} , X^{1A} , X^{1B} , X^{1C} y X^{1D} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C_{1-4} , alqueniilo C_{2-4} , alquiniilo C_{2-4} , OR^{1K} , $OC(O)R^{1L}$, $NR^{1M}R^{1N}$, $NHC(O)R^{1O}$, $NHC(S)R^{1P}$, $NHC(O)OR^{1Q}$, $NHC(S)OR^{1R}$, $NHC(O)NHR^{1S}$, $NHC(S)NHR^{1T}$, $NHC(O)SR^{1U}$, $NHC(S)SR^{1V}$, $NHS(O)_2R^{1W}$, $C(O)OR^{1X}$, $C(O)NHR^{1Y}$, $(CH_2)_{1-4}OH$, $C(O)R^{1Z}$, CH_2R^{1AA} , SO_3H , SO_2R^{1BB} , $S(O)R^{1CC}$, SR^{1DD} , SO_2NHR^{1EE} y $S(CH_2)_{1-4}C(O)OH$; y cada uno de R^{1K} , R^{1L} , R^{1M} , R^{1N} , R^{1O} , R^{1P} , R^{1Q} , R^{1R} , R^{1S} , R^{1T} , R^{1U} , R^{1V} , R^{1W} , R^{1X} , R^{1Y} , R^{1Z} , R^{1AA} , R^{1BB} , R^{1CC} , R^{1DD} y R^{1EE} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-4} , alqueniilo C_{2-4} , alquiniilo C_{2-4} , heterociclilo C_{2-6} , arilo C_{6-12} , alcarilo C_{7-14} , alq C_{3-10} -heterociclilo y heteroarilo C_{1-4} . Compuestos de fórmula (I) para el uso de la invención incluyen compuestos A1, A2 y A3. En una realización preferida, R^{1A} es un hidroxilo y R^{1B} o R^{1C} es un ácido carboxílico.

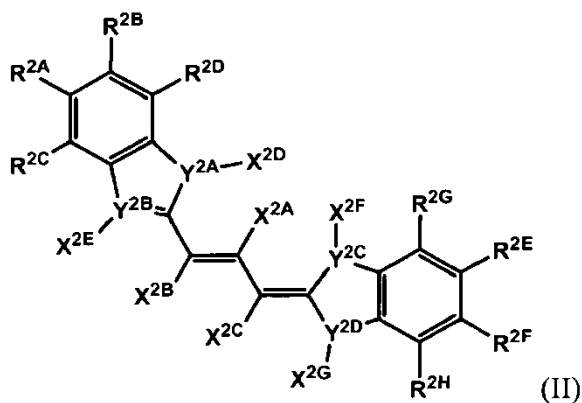
Los compuestos de fórmula (I) pueden sintetizarse a partir de anilina para proporcionar, después de la formación de pirrol seguido de una o más reacciones de sustitución electrófila aromática (SEA), los compuestos de fenilpirrol deseados (véase el Esquema 1).

Esquema 1



Compuestos de fórmula II

Los compuestos desvelados en el presente documento incluyen compuestos de fórmula (II).



En la fórmula (II), cada uno de $X^{2\text{A}}, X^{2\text{B}}, X^{2\text{C}}, X^{2\text{D}}, X^{2\text{E}}, X^{2\text{F}}$ y $X^{2\text{G}}$ se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-8} , alqueno C_{2-4} , alquino C_{2-4} , heterociclilo C_{2-6} , arilo C_{6-12} , alcarilo C_{7-14} , alq C_{3-10} -heterociclilo y heteroalquilo C_{1-8} ; y cada uno de $Y^{2\text{A}}, Y^{2\text{C}}$ y $Y^{2\text{D}}$ se selecciona independientemente de N y CH; y $Y^{2\text{B}}$ se selecciona independientemente de N+ y C; y cada uno de $R^{2\text{A}}, R^{2\text{B}}, R^{2\text{C}}, R^{2\text{D}}, R^{2\text{E}}, R^{2\text{F}}, R^{2\text{G}}$ y $R^{2\text{H}}$ se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-4} , alquino C_{2-4} , $\text{OR}^{2\text{K}}, \text{OC(O)}\text{R}^{2\text{L}}, \text{NR}^{2\text{M}}, \text{NHC(O)}\text{R}^{2\text{O}}, \text{NHC(S)}\text{R}^{2\text{P}}, \text{NHC(O)}\text{OR}^{2\text{Q}}, \text{NHC(S)}\text{OR}^{2\text{R}}, \text{NHC(O)}\text{NHR}^{2\text{S}}, \text{NHC(S)}\text{NHR}^{2\text{T}}, \text{NHC(O)}\text{SR}^{2\text{U}}, \text{NHC(S)}\text{SR}^{2\text{V}}, \text{NHS(O)}_2\text{R}^{2\text{W}}, \text{C(O)}\text{OR}^{2\text{X}}, \text{C(O)}\text{NHR}^{2\text{Y}}, (\text{CH}_2)_{1-4}\text{OH}, \text{C(O)}\text{R}^{2\text{Z}}, \text{CH}_2\text{R}^{2\text{AA}}, \text{SO}_3\text{H}, \text{SO}_2\text{R}^{2\text{BB}}, \text{S(O)}\text{R}^{2\text{CC}}, \text{SR}^{2\text{DD}}, \text{SO}_2\text{NHR}^{2\text{EE}}$ y $\text{S}(\text{CH}_2)_{1-4}\text{C(O)}\text{OH}$; y cada uno de $R^{2\text{K}}, R^{2\text{L}}, R^{2\text{M}}, R^{2\text{N}}, R^{2\text{O}}, R^{2\text{P}}, R^{2\text{Q}}, R^{2\text{R}}, R^{2\text{S}}, R^{2\text{T}}, R^{2\text{U}}, R^{2\text{V}}, R^{2\text{W}}, R^{2\text{X}}, R^{2\text{Y}}, R^{2\text{Z}}, R^{2\text{AA}}, R^{2\text{BB}}, R^{2\text{CC}}, R^{2\text{DD}}$ y $R^{2\text{EE}}$ se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-4} , alquino C_{2-4} , heterociclilo C_{2-6} , arilo C_{6-12} , alcarilo C_{7-14} , alq C_{3-10} -heterociclilo y heteroalquilo C_{1-4} . Los compuestos de fórmula (II) incluyen, por ejemplo, el compuesto B1.

Los compuestos de fórmula (II) pueden sintetizarse, por ejemplo, como se describe en Pawlik et al., Eur. J. Org. Chem. 2003:3065-80, 2003 (véase el Esquema 2).

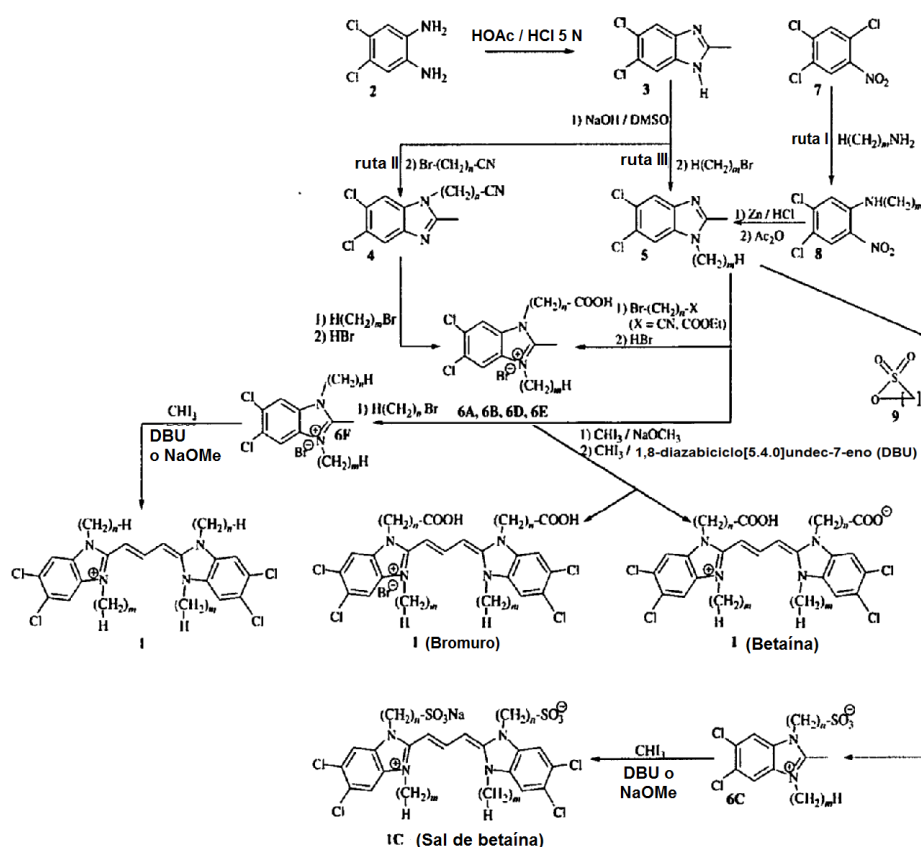
Según la bibliografía, pueden sintetizarse colorantes de 5,5',6,6'-tetracloro-1,1'-din-alkil-3,3'-bis(ω -carboxialquil)bencimidacarbocianina (1) en un procedimiento de cuatro etapas (véase el Esquema 2, ruta I) a partir de 2,4,5-tricloronitrobenzo (7), que se convierte mediante tratamiento con *n*-alquilaminas en 4,5-dicloro-orto-nitroanilinas (8). La reducción y ciclación simultánea con ácido acético da entonces 4,5-dicloro-2-metilbencimidazoles (5). Éstos se cuaternizan, tanto con las sulfonas respectivas en el caso de los colorantes sustituidos con 3,3'-di-(ω -sulfoalquilo) como con ω -bromoalquilnitrilos o ésteres etílicos de ácidos alcanóicos en el caso de los colorantes sustituidos con 3,3'-bis(ω -carboxialquil), y posteriormente se saponifican. Dos equivalentes de los bromuros de 1-alkil-3-(ω -carboxialquil)-5,6-dicloro-2-metilbencimidazolio (6) así obtenidos se transforman en los colorantes de bencimidacarbocianina 1 respectivos mediante tratamiento con yodoformo en presencia de metóxido de sodio (De Rossi et al., J. Prakt. Chem. Chem.-Ztg. 337:203-8, 1995).

También se muestran rutas de síntesis alternativas en el Esquema 2. Se condensó 4,5-dicloro-orto-fenilendiamina (2) con ácido acético según Dandegaonker y Kanabur (Dandegaonker, Monatsh. Chem. 99:1467-72, 1968), dando el 5,6-diclorobencimidazol (3), que sirve de compuesto de partida para la variación tanto de los sustituyentes en los átomos de nitrógeno 1,1' como 3,3'.

En la ruta de reacción II, el grupo 3-(3-cianopropilo) se introduce primero mediante reacción nucleófila entre (3) y ω -bromoalquilnitrilos dando los compuestos (4), que se cuaternizan simultáneamente con bromuros de *n*-alquilo y se hidrolizan dando 1-alkil-3-(3-carboxipropil)-5,6-diclorobencimidazoles (6). Finalmente, como en De Rossi et al., la condensación de dos equivalentes de (6) con yodoformo en medio alcalino da los colorantes (1). Si se usa 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) en lugar del metóxido de sodio común, la reacción puede realizarse a temperatura ambiente.

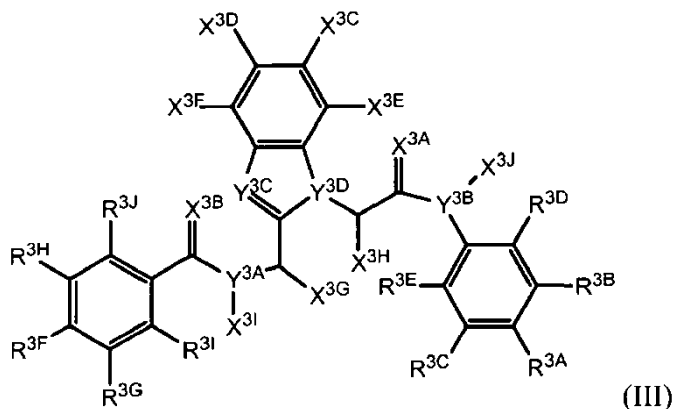
En la ruta de reacción III, los sustituyentes de 1-alkilo se introducen primero en (3) por reacción nucleófila con los bromuros de alquilo correspondientes, dando los compuestos (5). Éstos se transforman en precursores (6) mediante cuaternización tanto con ésteres etílicos de ácido ω -bromoalcanoico como con ω -bromoalquilnitrilos, con hidrólisis posterior. En el caso de los colorantes sustituidos con 3,3'-bis(ω -sulfoalquilo), la cuaternización se logra mediante la reacción usual con las sulfonas correspondientes (Poppe et al., Photogr. Photophys. Photochem. 63:149-58, 1969). Los compuestos se purifican de la forma usual mediante precipitación en soluciones de metanol o sulfoxido de dimetilo mediante la adición de pequeñas cantidades de agua.

Esquema 2



Compuestos de fórmula III

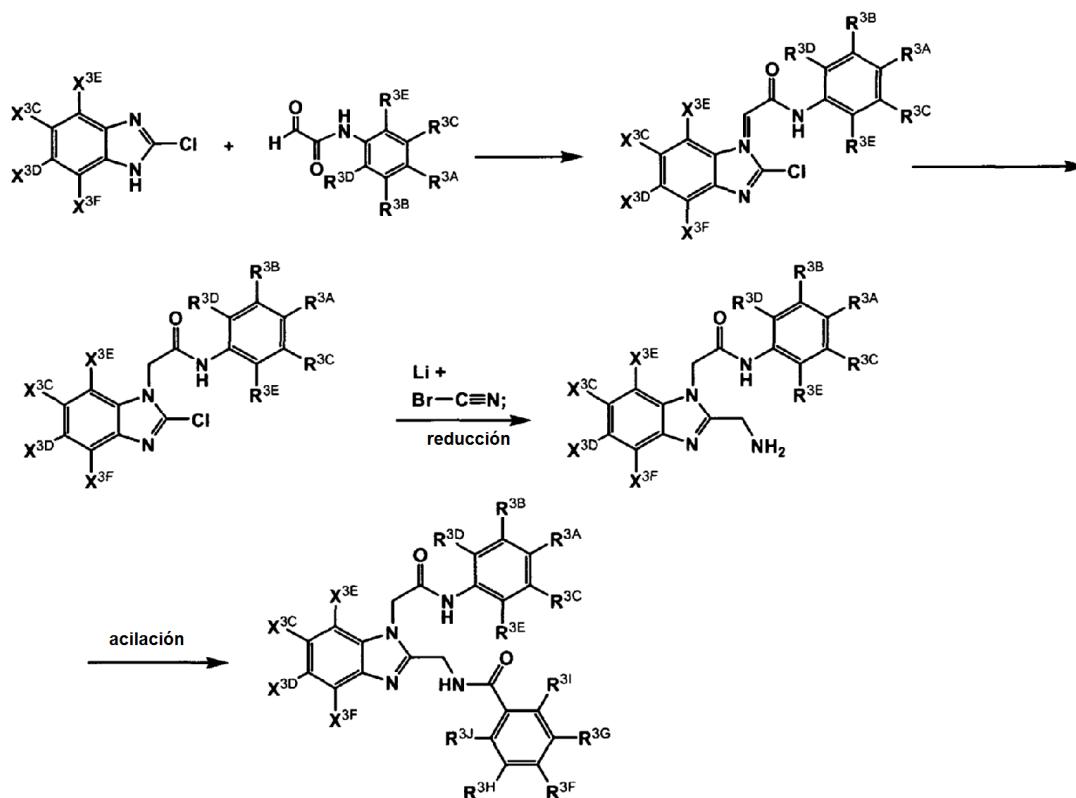
Los compuestos desvelados en el presente documento incluyen compuestos de fórmula (III).



- En la fórmula (III), cada uno de X^{3A} y X^{3B} se selecciona independientemente de S, O, NH y CH_2 ; y cada uno de X^{3G} y X^{3H} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-8} , alquenilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} y heteroalquilo C_{1-8} ; y cada uno de Y^{3A} y Y^{3B} se selecciona independientemente de O, CH, N y S; y X^{3I} está vacío cuando Y^{3A} es S u O, X^{3J} está vacío cuando Y^{3B} es S u O, de otro modo cada uno de X^{3I} y X^{3J} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-8} , alquenilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} y heteroalquilo C_{1-8} ; y cada uno de Y^{3C} y Y^{3D} se selecciona independientemente de CH y N; y cada uno de R^{3A} , R^{3B} , R^{3C} , R^{3D} , R^{3E} , R^{3F} , R^{3G} , R^{3H} , R^{3I} , R^{3J} , X^{3C} , X^{3D} , X^{3E} y X^{3F} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , OR^{3K} , $OC(O)R^{3L}$, $NR^{3M}R^{3N}$, $NHC(O)R^{3O}$, $NHC(S)R^{3P}$, $NHC(O)OR^{3Q}$, $NHC(S)OR^{3R}$, $NHC(O)NHR^{3S}$, $NHC(S)NHR^{3T}$, $NHC(O)SR^{3U}$, $NHC(S)SR^{3V}$, $NHS(O)_2R^{3W}$, $C(O)OR^{3X}$, $C(O)NHR^{3Y}$, $(CH_2)_{1-4}OH$, $C(O)R^{3Z}$, CH_2R^{3AA} , SO_3H , SO_2R^{3BB} , $S(O)R^{3CC}$, SR^{3DD} , SO_2NHR^{3EE} y $S(CH_2)_{1-4}C(O)OH$; y cada uno de R^{3K} , R^{3L} , R^{3M} , R^{3N} , R^{3O} , R^{3P} , R^{3Q} , R^{3R} , R^{3S} , R^{3T} , R^{3U} , R^{3V} , R^{3W} , R^{3X} , R^{3Y} , R^{3Z} , R^{3AA} , R^{3BB} , R^{3CC} , R^{3DD} y R^{3EE} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , heterociclilo C_{2-6} , arilo C_{6-12} , alcarilo C_{7-14} , alq C_{3-10} -heterociclilo y heteroarilo C_{1-4} . Los compuestos de fórmula (III) incluyen, por ejemplo, el compuesto C1.

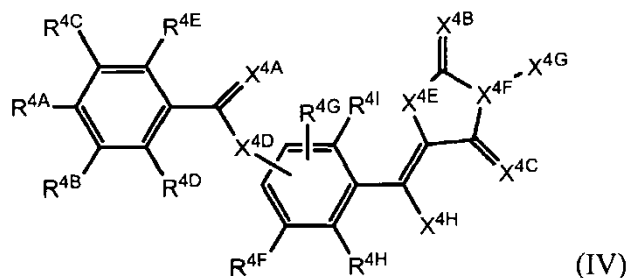
Los compuestos de fórmula (III) pueden sintetizarse a partir de derivados de becimidazol para proporcionar, después de la aminación reductora seguida de C-alkilación, los compuestos deseados (véase el Esquema 3).

Esquema 3



Compuestos de fórmula IV

Los compuestos desvelados en el presente documento incluyen compuestos de fórmula (IV).



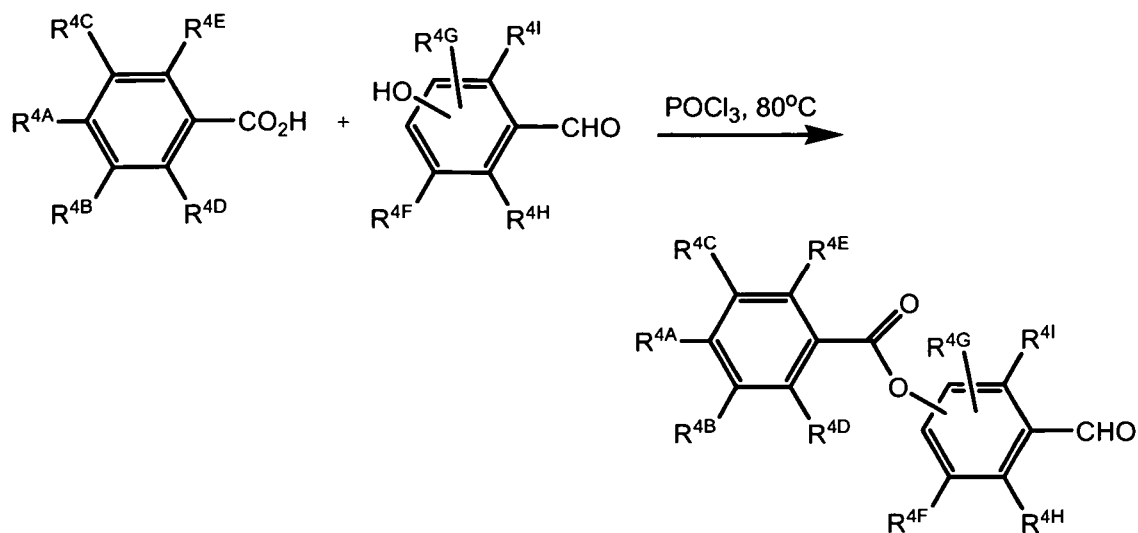
En la fórmula (IV), cada uno de X^{4A} , X^{4B} y X^{4C} se selecciona independientemente de S, O, NH, CH_2 , y dos átomos de hidrógeno; y cada uno de X^{4G} y X^{4H} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-8} , alqueno C_{2-4} , alquino C_{2-4} y heteroalquilo C_{1-8} ; y cada uno de X^{4D} y X^{4E} se selecciona independientemente de O, CH_2 , NH y S; y X^{4F} se selecciona independientemente de CH y N; y cada uno de R^{4A} , R^{4B} , R^{4C} , R^{4D} , R^{4E} , R^{4F} , R^{4G} , R^{4H} y R^{4I} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo, alqueno C_{2-4} , alquino C_{2-4} , OR^{4K} , $OC(O)R^{4L}$, $NR^{4M}R^{4N}$, $NHC(O)R^{4O}$, $NHC(S)R^{4P}$, $NHC(O)OR^{4Q}$, $NHC(S)OR^{4R}$, $NHC(O)NHR^{4S}$, $NHC(S)NHR^{4T}$, $NHC(O)SR^{4U}$, $NHC(S)SR^{4V}$, $NHS(O)_2R^{4W}$, $C(O)OR^{4X}$, $C(O)NHR^{4Y}$, $(CH_2)_{1-4}OH$, $C(O)R^{4Z}$, CH_2R^{4AA} , SO_3H , SO_2R^{4BB} , $S(O)R^{4CC}$, SR^{4DD} , SO_2NHR^{4EE} y $S(CH_2)_{1-4}C(O)OH$; y cada uno de R^{4K} , R^{4L} , R^{4M} , R^{4N} , R^{4O} , R^{4P} , R^{4Q} , R^{4R} , R^{4S} , R^{4T} , R^{4U} , R^{4V} , R^{4W} , R^{4X} , R^{4Y} , R^{4Z} , R^{4AA} , R^{4BB} , R^{4CC} , R^{4DD} y R^{4EE} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-4} , alquino C_{2-4} , heterociclilo C_{2-6} , arilo C_{6-12} , alcarilo C_{7-14} , alq C_{3-10} -heterociclilo y heteroarilo C_{1-4} . Los compuestos de fórmula (IV) incluyen, por ejemplo, los compuestos D1 y D2. En una realización preferida, X^{4A} es O o S y X^{4D} está sustituido en para con respecto al grupo que contiene X^{4H} .

Los compuestos de fórmula (IV) pueden sintetizarse como se describe en los Esquemas 4, 5, 6, 7 y 8:

En primer lugar, se prepara un sistema de anillos bicíclico, por ejemplo, por formación de amida, éster, éter o enoléter, por formación de éster como se describe en, por ejemplo, Gaylord et al., Organic Synthesis 32:25, 1952) (Esquema 4),

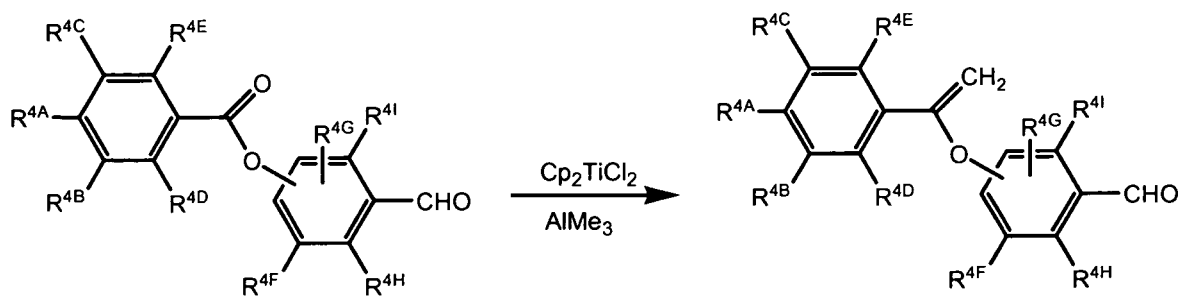
5

Esquema 4



y opcionalmente seguido de metilación del éster como se describe en, por ejemplo, Pine et al., Organic Synthesis 69:72, 1990) (Esquema 5),

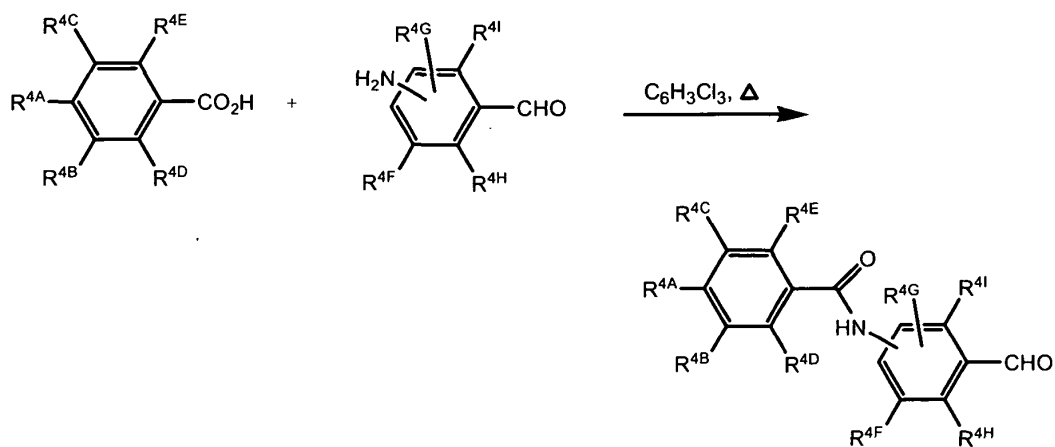
Esquema 5



10

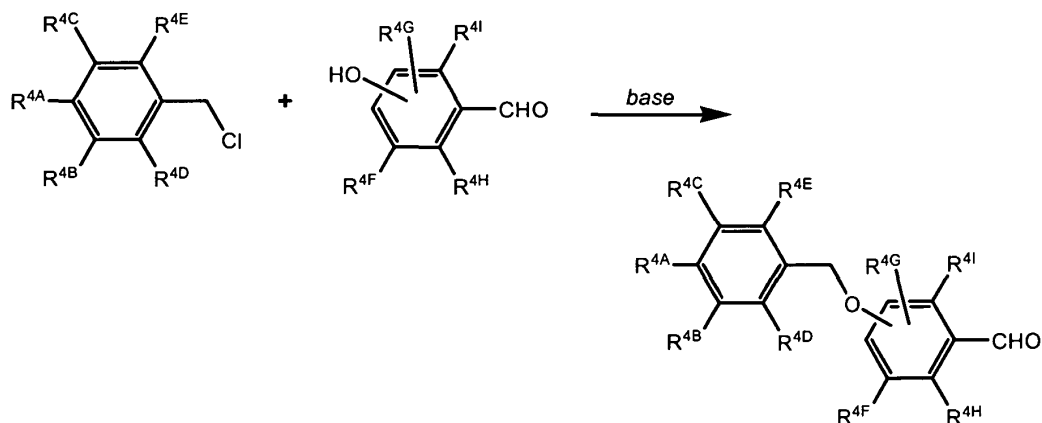
o por formación de amida como se describe en, por ejemplo, Allen et al., Organic Synthesis 26:92, 1946) (Esquema 6),

Esquema 6



o por formación de éter usando la síntesis de Williamson (Esquema 7),

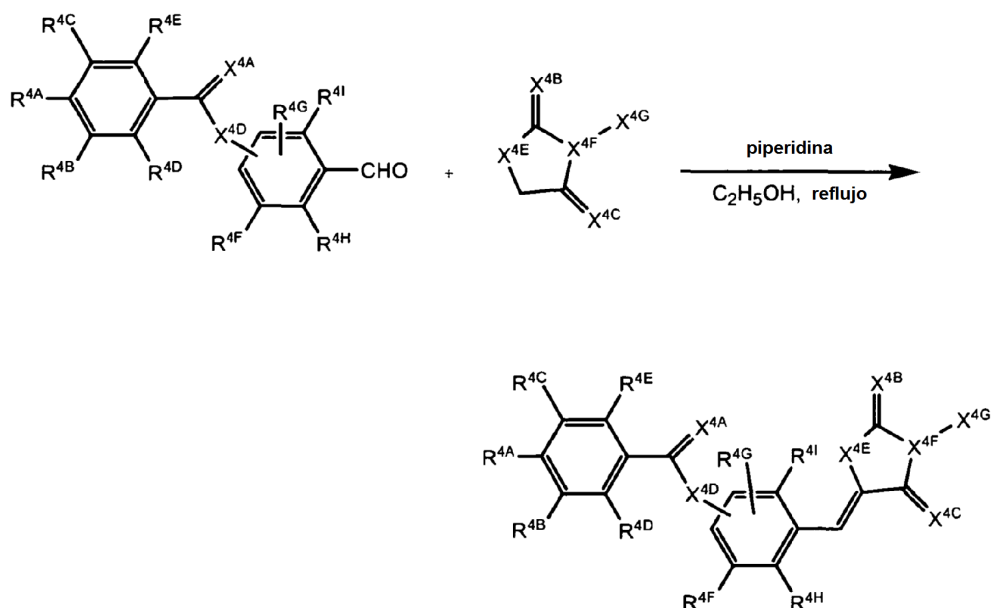
Esquema 7



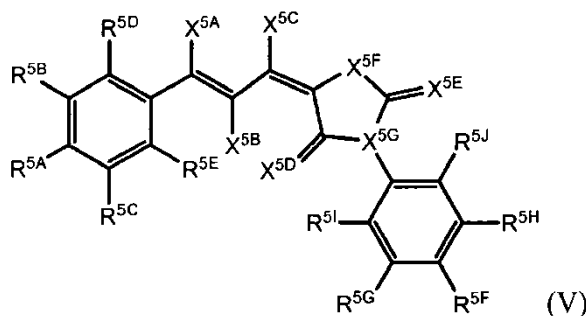
5

y luego condensación, por ejemplo, de diversas 2,4-tiazolidindionas sustituidas con diversos benzaldehídos sustituidos usando piperidina como base, en etanol a reflujo, como se describe en Momose et al., Chem. Pharm. Bull. 39:1440, 1991, y Bruno et al., Bioorg. & Med. Chem. 10:1077-84, 2002) (Esquema 8).

Esquema 8

**Compuestos de fórmula V**

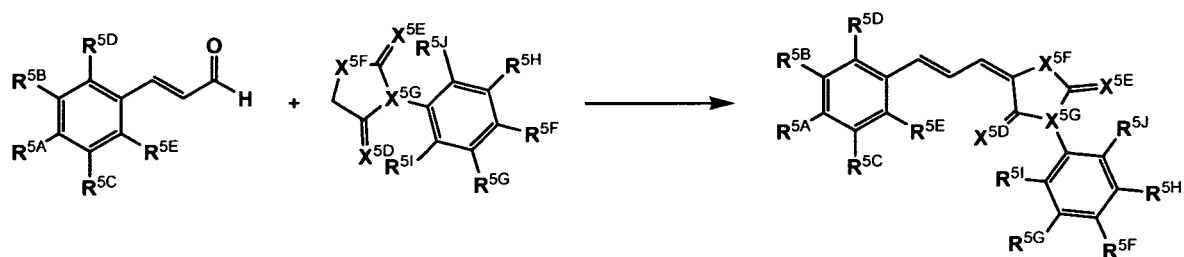
Los compuestos desvelados en el presente documento incluyen compuestos de fórmula (V).



En la fórmula (V), cada uno de X^{5A} , X^{5B} y X^{5C} se selecciona independientemente de H, alquilo C₁₋₈, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄ y heteroalquilo C₁₋₈; y cada uno de X^{5D} y X^{5E} se selecciona independientemente de S, NH, O y CH₂; y X^{5F} se selecciona independientemente de O, NH, CH₂ y S; y X^{5G} se selecciona independientemente de CH y N; y cada uno de R^{5A} , R^{5B} , R^{5C} , R^{5D} , R^{5E} , R^{5F} , R^{5G} , R^{5H} , R^{5I} y R^{5J} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, OR^{5K}, OC(O)R^{5L}, NR^{5M}R^{5N}, NHC(O)R^{5O}, NHC(S)R^{5P}, NHC(O)OR^{5Q}, NHC(S)OR^{5R}, NHC(O)NHR^{5S}, NHC(S)NHR^{5T}, NHC(O)SR^{5U}, NHC(S)SR^{5V}, NHS(O)₂R^{5W}, C(O)OR^{5X}, C(O)NHR^{5Y}, (CH₂)₁₋₄OH, C(O)R^{5Z}, CH₂R^{5AA}, SO₃H, SO₂R^{5BB}, S(O)R^{5CC}, SR^{5DD}, SO₂NHR^{5EE} y S(CH₂)₁₋₄C(O)OH; y cada uno de R^{5K} , R^{5L} , R^{5M} , R^{5N} , R^{5O} , R^{5P} , R^{5Q} , R^{5R} , R^{5S} , R^{5T} , R^{5U} , R^{5V} , R^{5W} , R^{5X} , R^{5Y} , R^{5Z} , R^{5AA} , R^{5BB} , R^{5CC} , R^{5DD} y R^{5EE} se selecciona independientemente de H, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, heterociclilo C₂₋₆, arilo C₆₋₁₂, alcarilo C₇₋₁₄, alq C₃₋₁₀-heterociclilo y heteroarilo C₁₋₄. Los compuestos de fórmula (V) incluyen, por ejemplo, compuesto E1.

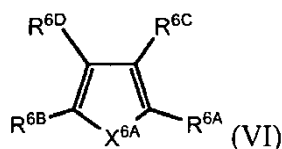
Los compuestos de fórmula (V) pueden sintetizarse por condensación de derivados de aldehído cinámico con diversos nucleófilos carbaniónicos, como se representa en el Esquema 9.

Esquema 9



Compuestos de fórmula VI

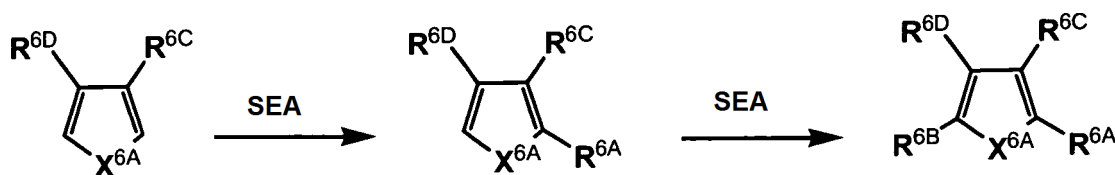
Los compuestos desvelados en el presente documento incluyen compuestos de fórmula (VI).



En la fórmula (VI), X^{6A} se selecciona independientemente de S, NH y O; y cada uno de R^{6A} , R^{6B} , R^{6C} y R^{6D} se selecciona independientemente de H, haluro, nitro, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , OR^{6K} , $OC(O)R^{6L}$, NR^{6M} , NH^{6N} , $NHC(O)R^{6O}$, $NHC(S)R^{6P}$, $NHC(O)OR^{6Q}$, $NHC(S)OR^{6R}$, $NHC(O)NHR^{6S}$, $NHC(S)NHR^{6T}$, $NHC(O)SR^{6U}$, $NHC(S)SR^{6V}$, $NHS(O)_2R^{6W}$, $C(O)OR^{6X}$, $C(O)NHR^{6Y}$, $(CH_2)_{1-4}OH$, $C(O)R^{6Z}$, CH_2R^{6AA} , SO_3H , SO_2R^{6BB} , $S(O)R^{6CC}$, SR^{6DD} , SO_2NHR^{6EE} y $S(CH_2)_{1-4}C(O)OH$; y cada uno de R^{6K} , R^{6L} , R^{6M} , R^{6N} , R^{6O} , R^{6P} , R^{6Q} , R^{6R} , R^{6S} , R^{6T} , R^{6U} , R^{6V} , R^{6W} , R^{6X} , R^{6Y} , R^{6Z} , R^{6AA} , R^{6BB} , R^{6CC} , R^{6DD} y R^{6EE} se selecciona independientemente de H, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , heterociclilo C_{2-6} , arilo C_{6-12} , alcarilo C_{7-14} , alq C_{3-10} -heterociclilo y heteroalquilo C_{1-4} . Los compuestos de fórmula (VI) incluyen, por ejemplo, el compuesto F1.

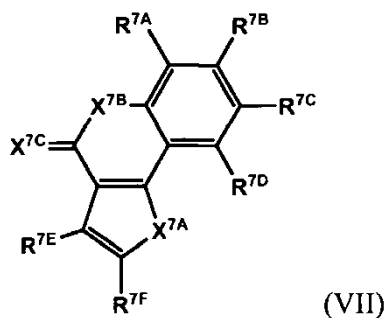
Los compuestos de fórmula (VI) pueden sintetizarse a partir de derivados de furano, tiofeno y pirrol por reacciones de sustitución electrófila aromática (SEA) secuenciales, como se representa en el Esquema 10.

Esquema 10



Compuestos de fórmula VII

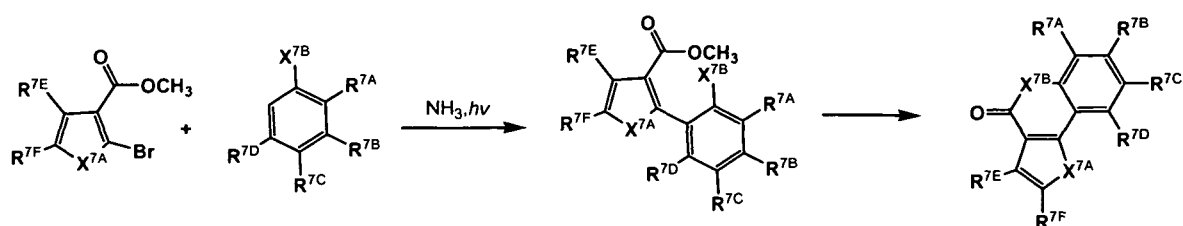
Los compuestos desvelados en el presente documento incluyen compuestos de fórmula (VII).



5

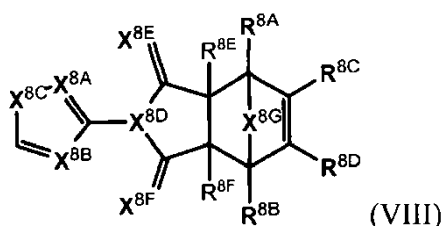
10

Esquema 11



15

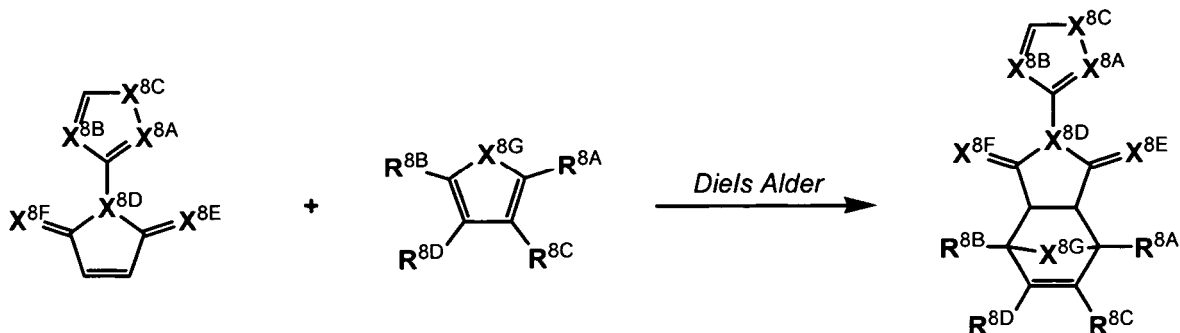
Los compuestos desvelados en el presente documento incluyen compuestos de fórmula (VIII).



20

25

Esquema 12



Inhibición química de PKM2

Actualmente, ningún compuesto usado para inhibir la glicólisis está autorizado para su uso en un sujeto. Una limitación a los actuales inhibidores glicolíticos es que no son específicos, que es problemático dada la importancia de la utilización de glucosa en tejidos normales. Como PKM2 es específico para células cancerosas, tejido adiposo y células inmunogénicas activadas, es una diana ideal para la inhibición de la glicólisis en células cancerosas y la inhibición de enfermedades asociadas a la expresión de PKM2. Así, se ideó un cribado para identificar inhibidores de PKM2.

Pueden producirse PKM1 y PKM2 para su uso en el método de cribado por cualquier método conocido en la técnica para la expresión de proteínas recombinantes. Por ejemplo, pueden introducirse ácidos nucleicos que codifican el polipéptido deseado en diversos tipos de células o sistemas libres de células para la expresión. Pueden generarse sistemas de expresión en eucariotas (por ejemplo, líneas de células COS, HEK293T, CHO y NIH) y procariotas (por ejemplo, *E. coli*) en los que una secuencia de PKM se introduce en un plásmido u otro vector, que entonces se usa para transformar células vivas. Las construcciones en las que el ADNc de PKM contiene el marco de lectura abierto entero, o fragmento biológicamente activo del mismo, se insertan en la orientación correcta en un plásmido de expresión y pueden usarse para la expresión de proteínas. Sistemas de expresión en procariotas y eucariotas permiten la expresión y recuperación de proteínas de fusión en los que la proteína PKM se une covalentemente a una molécula de marca en tanto el lado del extremo amino como del extremo carboxi, que facilita la identificación y/o purificación. Ejemplos de marcas que pueden usarse incluyen marcas de epítopes de hexahistidina, HA, FLAG y c-myc. Puede manipularse un sitio de escisión enzimática o química entre la proteína PKM y la molécula de marca de manera que la marca pueda eliminarse tras la purificación.

La actividad de la enzima PKM medida en el ensayo de cribado puede medirse, por ejemplo, monitorizando la concentración de un sustrato (por ejemplo, ATP o NADH) presente en la mezcla de reacción. El piruvato, producido por la actividad enzimática de la piruvato cinasa, se convierte en lactato por lactato deshidrogenasa, que requiere el consumo de NADH ($\text{NADH} \rightarrow \text{NAD}^+$). Así, la actividad de PKM2 puede medirse indirectamente monitorizando el consumo de NADH mediante, por ejemplo, ensayos de fluorescencia. Adicionalmente, la actividad de la enzima PKM2 puede monitorizarse directamente midiendo la producción de ATP, ya que el ATP se produce cuando el fosfoenolpiruvato se convierte en piruvato. Métodos de monitorización de la cantidad de sustrato en una mezcla de reacción incluyen, por ejemplo, absorbancia, fluorescencia, dispersión Raman, fosforescencia, luminiscencia, ensayos de luciferasa y radiactividad.

El procedimiento de cribado requiere la presencia de componentes específicos en la mezcla de reacción. Los componentes utilizados en el ensayo incluyen, por ejemplo, un nucleósido difosfato (por ejemplo, ADP), fosfoenolpiruvato, NADH, lactato deshidrogenasa, FBP, un agente reductor (por ejemplo, ditiotreitól), un detergente (por ejemplo, Brij 35), glicerol y un disolvente (por ejemplo, DMSO). Condiciones de reacción a modo de ejemplo se encuentran en la Tabla 1.

Tabla 1

Componente de la condición de reacción	Cantidad
ADP	0,1-5,0 mM
Fosfoenolpiruvato	0,1-5,0 mM
NADH	10-1000 μM
Lactato deshidrogenasa	0,1-10 unidades
Fructosa-1,6-bisfosfato	1-500 μM
DTT	0,1-50 mM
Brij 35	0,01-1 %
Glicerol	0,1-10 %
Piruvato cinasa M2 (usada para el cribado)	1-100 pg
DMSO	1-10 %

Los compuestos candidatos pueden elegirse si demuestran inhibición de la enzima PKM superior al 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 99 o 99,9 %.

Terapia

Los compuestos descritos en el presente documento son útiles en el tratamiento de, por ejemplo, cáncer, obesidad, diabetes, afecciones autoinmunitarias y enfermedades dependientes de la proliferación. Puede realizarse terapia sola o en combinación con otra terapia (por ejemplo, cirugía, radioterapia, quimioterapia, inmunoterapia, terapia antiangiogénesis o terapia génica). La duración de la terapia de combinación depende del tipo de enfermedad o trastorno que está tratándose, la edad y afección del paciente, la etapa y tipo de la enfermedad del paciente, y cómo el paciente responde al tratamiento. La terapia puede administrarse en ciclos de terapia y de descanso, que incluyen periodos de descanso.

Cáncer

Los inhibidores de PKM2, descritos en el presente documento, pueden usarse en el tratamiento de, por ejemplo, cáncer. Los cánceres incluyen leucemias (por ejemplo, leucemia aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielocítica aguda, leucemia mieloblástica aguda, leucemia promielocítica aguda, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia monocítica aguda, eritroleucemia aguda, leucemia crónica, leucemia mielocítica crónica, leucemia linfocítica crónica), policitemia vera, linfoma (enfermedad de Hodgkin, enfermedad no Hodgkin), macroglobulinemia de Waldenström, enfermedad de las cadenas pesadas y tumores sólidos tales como sarcomas y carcinomas (por ejemplo, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiomasarcoma, rhabdomiomasarcoma, carcinoma de colon, cáncer pancreático, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de las glándulas sudoríparas, carcinoma de las glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, hepatoma, carcinoma de las vías biliares, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilm, cáncer de cuello uterino, cáncer uterino, cáncer testicular, carcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón de células pequeñas, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, schwannoma, meningioma, melanoma, neuroblastoma y retinoblastoma). Según la invención, los compuestos para el uso de la invención o sales de los mismos son para su uso en el tratamiento de cáncer, en el que el cáncer está seleccionado de cánceres de mama, próstata, pulmón, bronquial, colon, rectal, riñón, renal, piel, pélvico, pancreático, oral, ovario, cabeza, cuello, tiroides, paratiroides, estómago, gastrointestinal, del intestino (por ejemplo, delgado y grueso), cerebro, esófago, hígado, vesícula biliar, pleura, vías biliares intrahepáticas, cuello uterino, testicular, uréter, anal, laringe, faringe, hueso, articular, vulvar, ojo y de la vejiga urinaria, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, melanomas, carcinomas, carcinomas de células basales, neuroblastomas, mielomas múltiples, leucemias, leucemias linfocíticas crónicas, cánceres de tejido blando (por ejemplo, corazón), tumores del estroma gastrointestinal, leucemias mieloides crónicas, mesoteliomas malignos, retinoblastomas, tumores agudos y sarcomas de tejido blando.

Enfermedades autoinmunitarias y trastornos proliferativos

Los inhibidores de PKM2, descritos en el presente documento, pueden usarse para tratar, por ejemplo, enfermedades autoinmunitarias o trastornos proliferativos. Los trastornos autoinmunitarios incluyen, por ejemplo, diabetes de tipo I, enfermedad de Crohn, esclerosis múltiple, artritis, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, tiroiditis autoinmune (de Hashimoto), enfermedades autoinmunes del hígado (por ejemplo, hepatitis y cirrosis biliar primaria), hipertiroidismo (por ejemplo, enfermedad de Graves y tirotoxicosis), diabetes resistente a la insulina, insuficiencia suprarrenal autoinmune (por ejemplo, enfermedad de Addison),

ooforitis autoinmune, orquitis autoinmune, anemia hemolítica autoinmune, hemoglobinuria paroxística por frío, enfermedad de Behcet, trombocitopenia autoinmune, neutropenia autoinmune, anemia perniciosa, anemia pura de glóbulos rojos, coagulopatías autoinmunes, miastenia grave, encefalomiелitis alérgica experimental, polineuritis autoinmune, pénfigo y otras enfermedades bullosas, carditis reumática, síndrome de Goodpasture, síndrome postcardiotomía, síndrome de Sjögren, polimiositis, dermatomiositis y esclerodermia. Los trastornos autoinmunitarios se describen en las patentes de EE.UU. N.º 5.891.435 y 6.773.705.

Los trastornos proliferativos incluyen, por ejemplo, cáncer (por ejemplo, benigno y maligno), hiperplasia prostática benigna, psoriasis, queratinización anormal, trastornos linfoproliferativos (por ejemplo, un trastorno en el que hay proliferación anormal de células del sistema linfático), artritis reumatoide crónica, arteriosclerosis, reestenosis, retinopatía diabética y trastornos neurodegenerativos. Los trastornos proliferativos se describen en las patentes de EE.UU. N.º 5.639.600 y 7.087.648.

Diabetes y obesidad

El tejido adiposo expresa PKM2. Así, los compuestos descritos en el presente documento pueden ser útiles en el tratamiento de la obesidad. Adicionalmente, los inhibidores de PKM2 descritos en el presente documento pueden ser

útiles en el tratamiento de diabetes de tipo II, ya que la inhibición de PKM2 puede permitir la disminución de la producción de lípidos en tejido adiposo.

Pautas terapéuticas adicionales

- Si se desea, pueden proporcionarse pautas terapéuticas adicionales junto con los compuestos descritos en el presente documento. Por ejemplo, pueden administrarse agentes terapéuticos con los inhibidores de PKM2 descritos en el presente documento a concentraciones conocidas por ser eficaces para tales agentes terapéuticos. Agentes particularmente útiles incluyen, por ejemplo, agentes antimicrobianos, agentes antiinflamatorios, agentes antivirales, agentes antifúngicos, analgésicos, anestésicos, sedantes, lubricantes, agentes inmunomoduladores y derivados de 5-aminosalicilato.
- Si se emplea más de un agente, los agentes terapéuticos pueden administrarse por separado o pueden mezclarse en una única formulación. Cuando los agentes están presentes en diferentes composiciones farmacéuticas, pueden emplearse diferentes vías de administración. Las vías de administración incluyen, por ejemplo, administración ocular, por inhalación, parenteral, dérmica, transdérmica, bucal, rectal, sublingual, perilingual, nasal, tópica, o administración por vía oral. La administración parenteral incluye administración intravenosa, intraperitoneal, subcutánea y intramuscular.

- Los agentes terapéuticos descritos en el presente documento pueden mezclarse con componentes activos o inertes adicionales, por ejemplo, en vehículos farmacéuticamente aceptables convencionales. Un vehículo farmacéutico puede ser cualquier sustancia no tóxica compatible adecuada para la administración de las composiciones de la presente invención a un paciente. Vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, por ejemplo, agua, solución salina, tampones y otros compuestos, descritos, por ejemplo, en the Merck Index, Merck & Co., Rahway, New Jersey. También pueden usarse formulaciones de liberación lenta o un aparato de liberación lenta para la administración continua.

Además de la administración de agentes terapéuticos, la pauta terapéutica adicional puede implicar otras terapias, que incluyen modificación al estilo de vida del sujeto que está tratándose.

Formulación de composiciones farmacéuticas

- La administración de los compuestos descritos en el presente documento puede ser por cualquier medio adecuado que produzca una concentración del compuesto que sea eficaz en el tratamiento de la enfermedad asociada a la función de PKM2. El compuesto puede estar contenido en cualquier cantidad apropiada en cualquier sustancia de vehículo adecuado. La composición puede proporcionarse en una forma de dosificación que es adecuada para la vía de administración oral, parenteral (por ejemplo, intravenosa o intramuscular), rectal, cutánea, nasal, vaginal, inhalante, piel (por ejemplo, un parche), ocular o intracraneal. Así, la composición puede estar en forma de, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, píldoras, polvos, gránulos, suspensiones, emulsiones, soluciones, geles que incluyen hidrogeles, pastas, pomadas, cremas, apósitos, rociados, dispositivos de administración osmótica, supositorios, enemas, inyectables, implantes, esprays o aerosoles. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse según la práctica farmacéutica convencional (véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20ª edición, 2000, ed. A.R. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, y Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick and J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, New York).

- Las composiciones farmacéuticas desveladas en el presente documento pueden formularse para liberar el compuesto activo inmediatamente tras la administración o en cualquier momento o periodo de tiempo predeterminado después de la administración. Los últimos tipos de composiciones son generalmente conocidos como formulaciones de liberación controlada, que incluyen (i) formulaciones que crean concentraciones sustancialmente constantes del (de los) agente(s) de la invención dentro del cuerpo durante un periodo de tiempo prolongado; (ii) formulaciones que después de un tiempo de retardo predeterminado crean concentraciones sustancialmente constantes de los agentes de la invención dentro del cuerpo durante un periodo de tiempo prolongado; (iii) formulaciones que sostienen la acción del (de los) agente(s) durante un periodo de tiempo predeterminado manteniendo un nivel eficaz relativamente constante del (de los) agente(s) en el cuerpo con minimización concomitante de efectos secundarios no deseables asociados a fluctuaciones en el nivel en plasma del (de los) agentes(s) (patrón cinético en diente de sierra); (iv) formulaciones que localizan la acción del (de los) agente(s), por ejemplo, colocación espacial de una composición de liberación controlada adyacente a o en el tejido u órgano enfermo; (v) formulaciones que logran la comodidad de dosificación, por ejemplo, administrar la composición una vez por semana o una vez cada dos semanas; y (vi) formulaciones que dirigen la acción del (de los) agente(s) usando vehículos o derivados químicos para administrar la combinación a un tipo de diana celular particular. La administración de la combinación en forma de una formulación de liberación controlada se prefiere especialmente para compuestos que tienen una ventana de absorción estrecha en el tubo gastrointestinal o una semivida biológica relativamente corta.

Puede seguirse cualquiera de varias estrategias con el fin de obtener la liberación controlada en la que la tasa de liberación sobrepasa la tasa de metabolismo del compuesto en cuestión. En un ejemplo, la liberación controlada se obtiene por selección apropiada de diversos parámetros y componentes de formulación, que incluyen, por ejemplo, diversos tipos de composiciones y recubrimientos de liberación controlada. Así, la combinación se formula con excipientes apropiados en una composición farmacéutica que, tras la administración, libera la combinación de una manera controlada. Ejemplos incluyen composiciones de comprimido o cápsula unitario individual o múltiple, soluciones en aceite, suspensiones, emulsiones, microcápsulas, complejos moleculares, microesferas, nanopartículas, parches y liposomas.

Las formulaciones para administración parenteral pueden, por ejemplo, contener excipientes, agua estéril o solución salina, polialquilenglicoles tales como polietilenglicol, aceites de origen vegetal, o naftalenos hidrogenados. Pueden usarse polímero de lactida biodegradable biocompatible, copolímero de lactida/glicolida o copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno para controlar la liberación de los compuestos. Pueden usarse formulaciones en nanopartículas (por ejemplo, nanopartículas biodegradables, nanopartículas de lípidos sólidos y liposomas) para controlar la biodistribución de los compuestos. Otros sistemas de administración parenteral potencialmente útiles incluyen partículas de copolímero de etileno-acetato de vinilo, bombas osmóticas, sistemas de infusión implantables y liposomas.

Las formulaciones para inhalación pueden contener excipientes o pueden ser soluciones acuosas que contienen, por ejemplo, polioxietileno-9-lauril éter, glicolato y desoxicolato, o pueden ser soluciones aceitosas para administración en forma de gotas nasales, o como un gel. La concentración del compuesto en la formulación variará dependiendo de varios factores, que incluyen la dosificación del fármaco que va a administrarse, y la vía de administración.

Las formulaciones para uso oral incluyen comprimidos que contienen el (los) principio(s) activo(s) en una mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes o cargas (por ejemplo, sacarosa y sorbitol), agentes lubricantes, deslizantes y antiadhesivos (por ejemplo, estearato de magnesio, estearato de cinc, ácido esteárico, sílices, aceites vegetales hidrogenados, o talco). También pueden proporcionarse formulaciones para uso oral en forma de dosificación unitaria como comprimidos masticables, comprimidos, comprimidos oblongos o cápsulas (por ejemplo, como cápsulas de gelatina dura en las que el principio activo se mezcla con un diluyente sólido inerte o como cápsulas de gelatina blanda en las que el principio activo se mezcla con agua o un medio de aceite).

El compuesto puede administrarse opcionalmente como una sal farmacéuticamente aceptable, tal como, por ejemplo, una sal de adición de ácido no tóxica o complejo metálico que se usa comúnmente en la industria farmacéutica. Ejemplos de sales de adición de ácido incluyen, por ejemplo, ácidos orgánicos (por ejemplo, ácidos acético, láctico, pamoico, maleico, cítrico, málico, ascórbico, succínico, benzoico, palmítico, subérico, salicílico, tartárico, metanosulfónico, toluenosulfónico o trifluoroacético), ácidos poliméricos (por ejemplo, ácido tánico o carboximetilcelulosa) y ácidos inorgánicos (por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico o ácido fosfórico). Los complejos metálicos incluyen, por ejemplo, complejos de cinc y de hierro.

Las formulaciones pueden administrarse a sujetos humanos en cantidades terapéuticamente eficaces. Intervalos de dosis típicos son de aproximadamente 0,01 µg/kg a aproximadamente 2 mg/kg de peso corporal por día. La dosificación de fármaco preferida que va a administrarse es probable que dependa de variables tales como el tipo y el grado del trastorno, el estado de salud general del sujeto particular, el compuesto específico que se administra, los excipientes usados para formular el compuesto y su vía de administración. Pueden usarse ensayos clínicos estándar para optimizar la dosis y frecuencia de dosificación para cualquier compuesto particular.

Ejemplos

Ejemplo 1. Expresión de PKM2 en tejido tumoral

Para confirmar que los tejidos tumorales cambian la expresión de PK de una isoforma adulta a la isoforma M2 embrionaria, se generaron anticuerpos que distinguen PKM1 de PKM2 (Figura 3). Se analizaron tejidos de glándula mamaria de ratones MMTV-neuNT, un modelo de tumor de cáncer de mama, antes y después del desarrollo tumoral de la expresión de la isoforma de PK. Las células se lisaron en tampón de lisis Nonidet P-40 y se llevó a cabo análisis de transferencia Western según protocolos convencionales. Como se muestra en la Figura 4a, la isoforma de PK primaria antes del desarrollo de tumor es PKM1; sin embargo, la isoforma primaria de cuatro tumores independientes es PKM2. Todas las líneas celulares examinadas, que incluyen múltiples líneas de cáncer derivadas de diferentes tejidos, también expresan exclusivamente la isoforma M2 de PK (Figura 4b).

Ejemplo 2. La inhibición de PKM disminuye la glicólisis en tejido tumoral

Se evaluó la función de PKM2 en la glicólisis por inactivación de ARN de horquilla pequeña (ARNhc) (Figura 5a). Se midieron las tasas de glicólisis celular siguiendo la conversión de 5-³H-glucosa en ³H₂O. El ensayo se realizó con

células unidas a placa de tejido. Las células se lavaron una vez en PBS, antes de la incubación en tampón de Krebs que contenía glucosa 10 mM enriquecida con 10 μ Ci de 5-³H-glucosa. Después de una hora, se transfirieron muestras triplicadas de medios a tubos de PCR que contenían HCl 0,2 N y se determinó la cantidad de ³H₂O generada por difusión, como se ha descrito previamente en la materia.

- 5 Los datos muestran que la inactivación estable de PKM2 en la línea de células de cáncer de pulmón humano H1299 produce tasas glicolíticas reducidas (Figura 5b).

Ejemplo 3. La expresión de M1 reduce la tumorigenicidad de células de cáncer de pulmón

Para determinar si la expresión de la isoforma M2 es importante para el crecimiento de células tumorales *in vivo*, se realizaron estudios de xenoinjerto usando las células de rescate M1 y M2. Se inyectaron ratones sin pelo con 5 millones de células H1299 de rescate de M1 o M2, y se monitorizó el crecimiento tumoral durante un periodo de siete semanas. Como se muestra en la Figura 6a, los ratones inyectados con las células M1 mostraron un retraso en el desarrollo tumoral en comparación con aquellos inyectados con las células M2. Se desarrollaron menos tumores a partir de las células M1, y aquellos que lo hicieron fueron más pequeños en tamaño (Figuras 6b y 6c). Como se juzga por la masa tumoral total, las células M2 dieron lugar a tumores significativamente mayores que las células M1 (Figura 6d). El análisis de transferencia Western de los tumores desarrollados muestra que las proteínas mM1 y mM2 de rescate marcadas con flag son retenidas en los tumores. Sin embargo, la expresión endógena de PKM2 volvió en ambos casos (Figura 6e). No se recuperaron tumores que expresaran únicamente mM1. Para determinar si esto era el resultado de la pérdida de inactivación mediada por ARNhc de PKM2 endógeno o si representó una ventaja del crecimiento selectivo para las células que expresan M2, se inyectó una mezcla 50/50 de células M1 y M2 en ratones sin pelo. Los tumores que surgieron de la mezcla de células M1 y M2 solo retuvieron la expresión de la proteína de rescate flag-mM2, demostrando que la mayoría del tumor, si no el tumor entero, se derivó de las células que expresan M2 (Figura 6e). Estos datos muestran que la expresión de PKM2 proporciona una ventaja de crecimiento selectivo para células tumorales *in vivo*.

El cambio a la isoforma M2 de PK en células tumorales es suficiente para producir el fenotipo metabólico conocido como el efecto de Warburg. Sin embargo, no queda claro cómo el piruvato producido a partir de PKM2 se convierte en lactato mientras que el piruvato producido a partir de PKM1 se metaboliza en las mitocondrias. Una explicación es que la expresión de M2 produce una expresión más alta de lactato deshidrogenasa. Alternativamente, la expresión de M2 podría conducir a una densidad mitocondrial reducida y disminución de la expresión de proteínas implicadas en la fosforilación oxidativa. Para probar esta hipótesis, los presentes inventores analizaron la expresión de lactato deshidrogenasa y proteínas F1F0-ATPasa en las células M1 y M2. No se detectaron diferencias en los niveles de proteína (datos no mostrados); sin embargo, actividades diferenciales de lactato deshidrogenasa o proteínas implicadas en la fosforilación oxidativa en las células M1 y M2 podrían explicar el desplazamiento observado a glicólisis aerobia en las células que expresan M2.

Ejemplo 4. Método de identificación de inhibidores de la piruvato cinasa

35 Se ideó un cribado *in vitro* para identificar inhibidores de PKM2. Utilizando la capacidad de PKM2, pero no PKM1, para ser alostéricamente activado por fructosa-1,6-bisfosfato (FBP), se realizó un cribado para identificar moléculas que inhiben específicamente la activación de PKM2 por FBP.

Se expresaron PKM1 y PKM2 recombinante en *E. coli* y se purificaron usando una columna Ni-NTA según protocolos convencionales. Se mezcló PKM2 (2 pg) con los siguientes componentes: ADP 0,6 mM, fosfoenolpiruvato 0,5 mM, NADH 200 μ M, 1-4 unidades de lactato deshidrogenasa, FBP 50 μ M, DTT 1 mM, 0,02 % de Brij 35, 5 % de glicerol, y la molécula de prueba con una concentración de DMSO final del 5 %. Una reacción de control careció de la molécula de prueba. Las moléculas de prueba usadas en este ejemplo se seleccionaron de una biblioteca que contenía más de 100.000 compuestos.

Se realizó el cribado primario usando PKM2 en presencia de FBP. Los compuestos se eligieron como posibles "aciertos" si el compuesto demostró inhibición de la actividad de PKM2 superior al 50 %. La actividad se midió monitorizando la concentración de NADH. El piruvato, producido por la actividad enzimática de la piruvato cinasa, se convierte en lactato por lactato deshidrogenasa, que requiere el consumo de NADH ($\text{NADH} \rightarrow \text{NAD}^+$). Así, la actividad de PKM2 se midió indirectamente monitorizando el consumo de NADH mediante ensayos de fluorescencia. Adicionalmente, la actividad de la enzima PKM2 se monitorizó directamente midiendo la producción de ATP, ya que se produce ATP cuando el fosfoenolpiruvato se convierte en piruvato por PKM2.

Este mismo método de cribado se usó entonces para volver a probar moléculas candidatas para la inhibición de PKM1 para determinar qué compuestos candidatos son activos contra PKM2, pero no PKM1. Ejemplos de activación específica de PKM2 por compuestos cabeza de serie se muestran en la Figura 7.

La Figura 1 muestra once compuestos candidatos que pertenecen a ocho géneros químicos diferentes que inhiben PKM2, inhiben la glicólisis e inhiben el crecimiento de células cancerosas.

Ejemplo 5. *CI₅₀ de la inhibición de PKM2 e inhibición del crecimiento de cáncer de los once compuestos cabeza de serie y porcentaje de inhibición de PKM2 y PKM1 a la concentración de cribado*

- 5 Para estudios *in vitro*, se incubó piruvato cinasa recombinante con el compuesto indicado (Tabla 2) y se evaluó la actividad de la enzima, como se describe en el Ejemplo 4. Para determinar la CI₅₀, se determinó la actividad enzimática a diversas concentraciones de inhibidor. Los porcentajes mostrados en la Tabla 2 reflejan la inhibición de la actividad enzimática con respecto a la ausencia de compuesto cuando la enzima se incubó con 50 μ M del compuesto indicado. Para estudios *in vivo*, se incubaron líneas celulares de cáncer de pulmón humano con concentraciones crecientes del compuesto indicado y se informa la concentración requerida para destruir >90 % de las células.

Tabla 2

Compuesto (familia)	CI ₅₀ <i>in vitro</i> (PKM2)	CI ₅₀ <i>in vivo</i> ¹	PKM2 ²	PKM1 ²
A1 (I)	~90 μ M	>100 μ M	50%	15%
A2 (I)	7 μ M	~250 μ M	50%	15%
A3 (I)	> 100 μ M	> 100 μ M	50%	0%
B1 (II)	~10 μ M	-	85%	0%
C1 (III)	-	-	75%	20%
D1 (IV)	20 μ M	~250 μ M	70%	15%
D2 (IV)	-	-	25%	0%
E1 (V)	-	-	25%	15%
F1 (VI)	10 μ M	~90 μ M	-	-
G1 (VII)	~70 μ M	>500 μ M	-	-
H1 (VIII)	90 μ M	>500 μ M	-	-
¹ Datos <i>in vivo</i> obtenidos usando células de cáncer de pulmón humano H1299 y A549				
² La concentración de cribado se estimó a 50 μ M.				

Ejemplo 5. *Inhibición del crecimiento de células cancerosas por compuestos candidatos*

- 15 Se expusieron células de cáncer de pulmón humano a concentraciones crecientes de compuestos candidatos A2 y D1. La toxicidad de los compuestos se midió determinando el porcentaje de células supervivientes. Las células se trataron con control con DMSO como control. La Figura 10 representa la toxicidad de compuestos A2 (Figura 8a) y D1 (Figura 8b) en células H1299 en comparación con el tratamiento de control con DMSO.

Ejemplo 7. *Supresión inmunitaria por compuestos candidatos*

- 20 Se trataron células de pre-linfocito de ratón (células FL5.12) con compuestos candidatos A2 (Figura 9a) y D1 (Figura 9b) durante veinte horas en presencia y ausencia de factor de crecimiento (IL-3). La retirada del factor de crecimiento aumenta la toxicidad del compuesto candidato, sugiriendo que enfermedades autoinmunitarias pueden tratarse inhibiendo PKM2.

Ejemplo 8. *Expresión de PKM2 en células inmunogénicas*

- 25 Se monitorizó la expresión de PKM1 y PKM2 en linfocitos T intactos usando anticuerpos contra PKM1 y PKM2 específicos generados (véase la Figura 3). Como se muestra en la transferencia Western en la Figura 10, los linfocitos T expresan piruvato cinasa M2, pero no la isoforma M1. La expresión de piruvato cinasa M2 aumentó tras la activación de linfocitos T con anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28 a los momentos de tiempo de 24 horas y 48 horas.

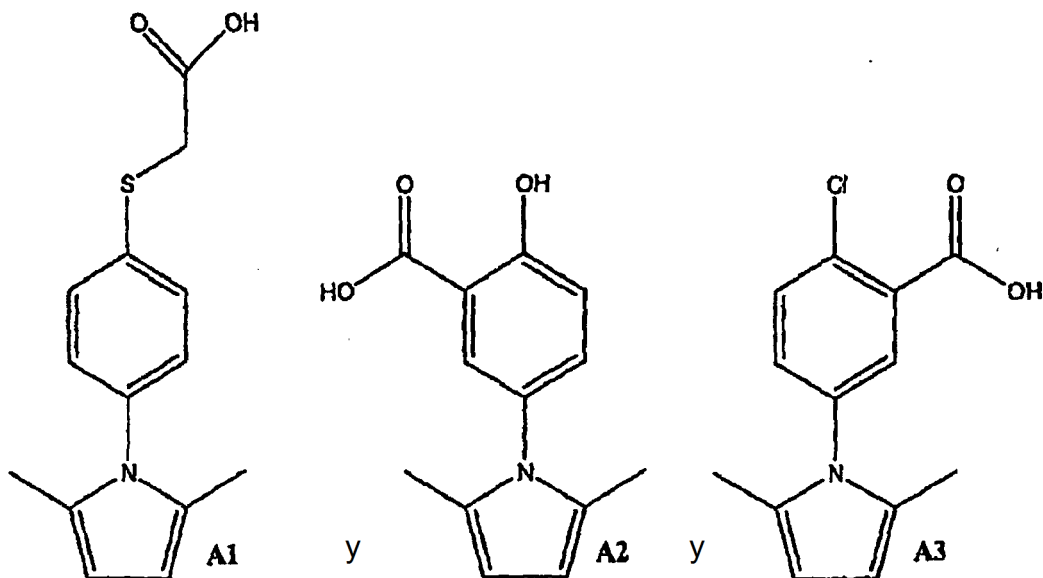
Ejemplo 9. *Expresión de PKM2 en tejido adiposo y células proliferantes*

La Figura 11 representa una transferencia Western que muestra la expresión selectiva de piruvato cinasa M2 en células embrionarias y células adiposas. Estos datos sugieren que los inhibidores de PKM2 pueden usarse para tratar enfermedades tales como, por ejemplo, diabetes, obesidad y enfermedades dependientes de la proliferación (por ejemplo, HPB).

5

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto seleccionado de



y sales de los mismos,

5 para su uso en el tratamiento de cáncer,

en el que el cáncer está seleccionado de cánceres de mama, próstata, pulmón, bronquial, colon, rectal, riñón, renal, piel, pélvico, pancreático, oral, ovario, cabeza, cuello, tiroides, paratiroides, estómago, gastrointestinal, del intestino (por ejemplo, delgado y grueso), cerebro, esófago, hígado, vesícula biliar, pleura, vías biliares intrahepáticas, cuello uterino, testicular, uréter, anal, laringe, faringe, hueso, articular, vulvar, ojo y de la vejiga urinaria, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, melanomas, carcinomas, carcinomas de células basales, neuroblastomas, mielomas múltiples, leucemias linfocíticas crónicas, cánceres de tejido blando (por ejemplo, corazón), tumores del estroma gastrointestinal, leucemias mieloides crónicas, mesoteliomas malignos, retinoblastomas y sarcomas de tejido blando.

2. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que el cáncer está seleccionado de cánceres bronquial, de colon, rectal, riñón, renal, pélvico, pancreático, oral, cabeza, cuello, estómago, gastrointestinal, del intestino (por ejemplo, delgado y grueso), hígado, vesícula biliar, pleura, vías biliares intrahepáticas, testicular, uréter, anal, laringe, faringe, hueso, articular, vulvar, ojo y de la vejiga urinaria, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, melanomas, carcinomas, carcinomas de células basales, neuroblastomas, mielomas múltiples, leucemias linfocíticas crónicas, tumores del estroma gastrointestinal, leucemias mieloides crónicas, leucemias linfocíticas agudas, mesoteliomas malignos, retinoblastomas.

Figura 1

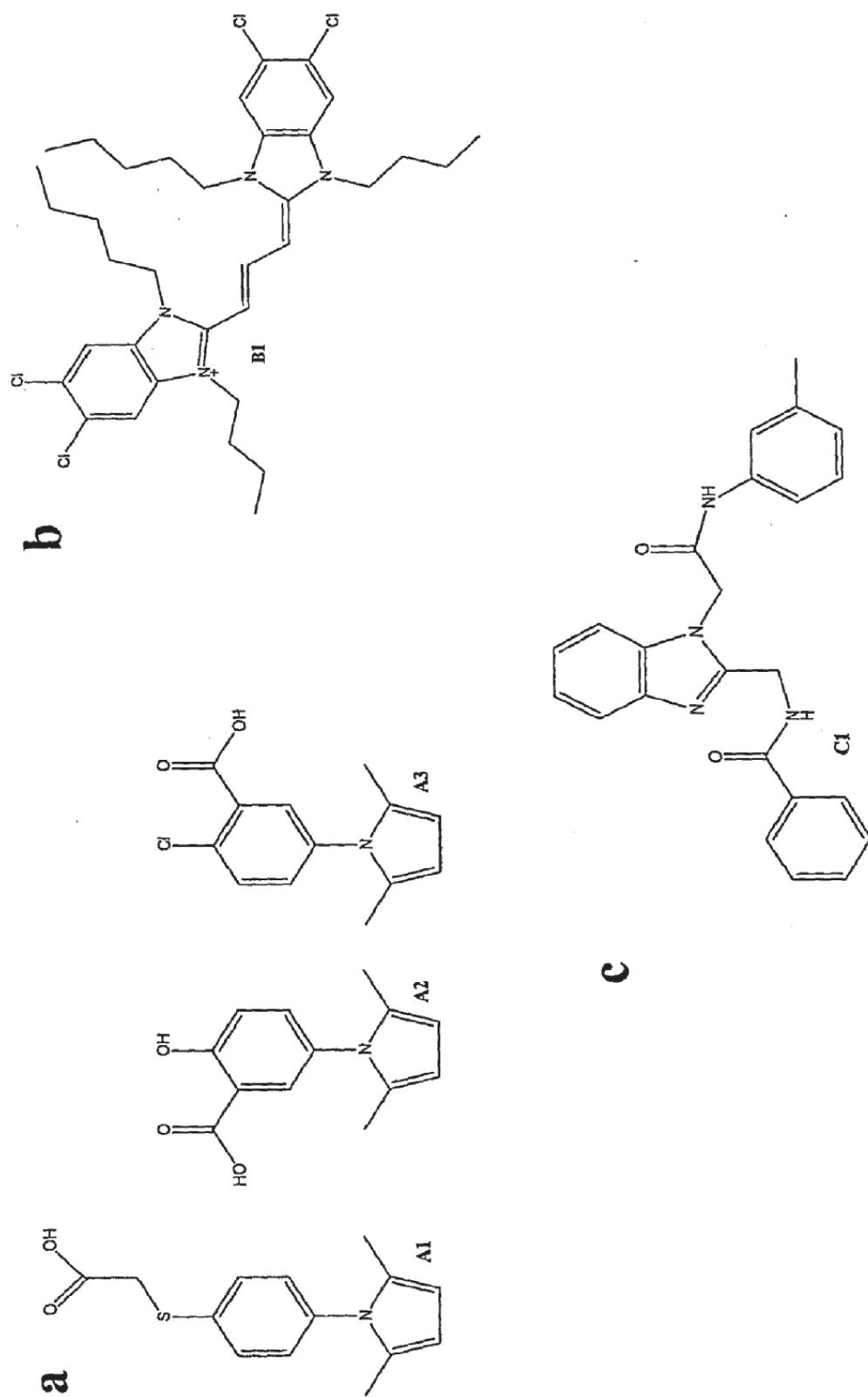
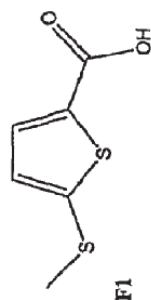
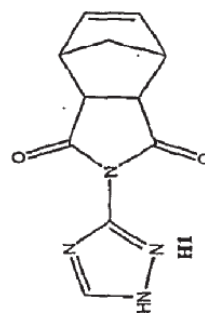


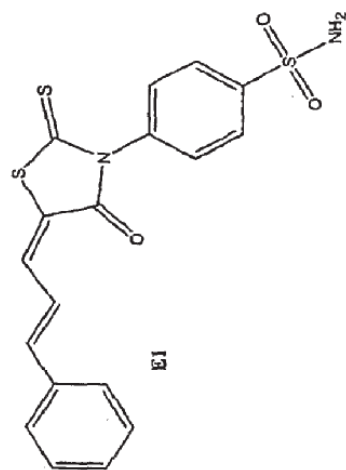
Figure 1 (cont.)



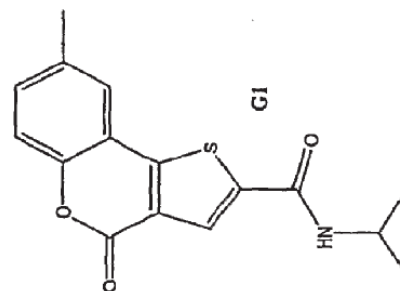
f



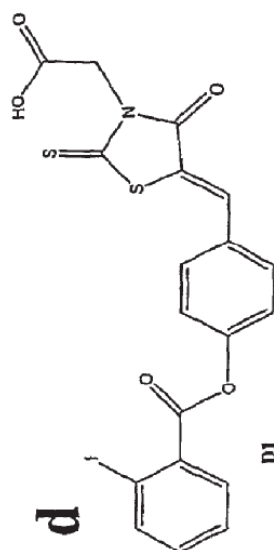
h



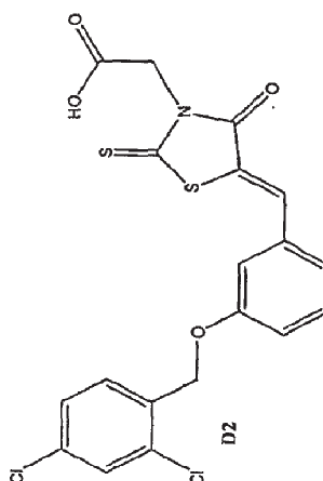
e



g



d



d2

Figura 2

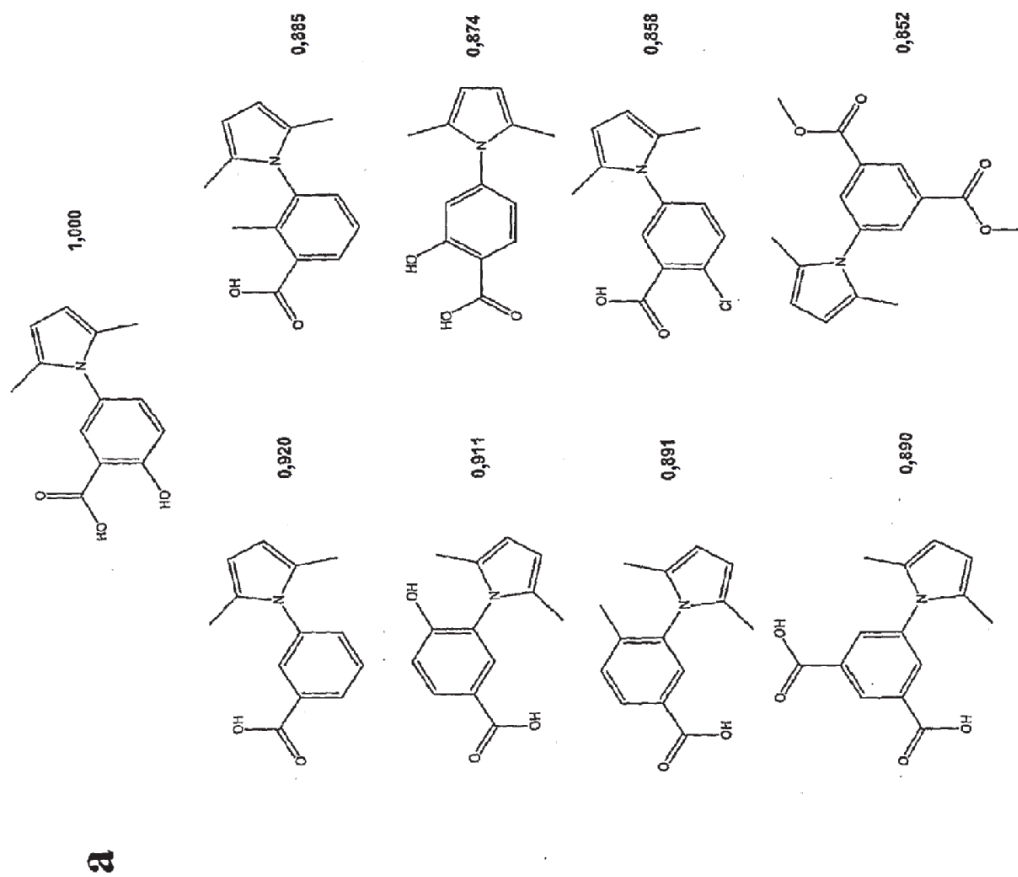


Figura 2 (cont.)

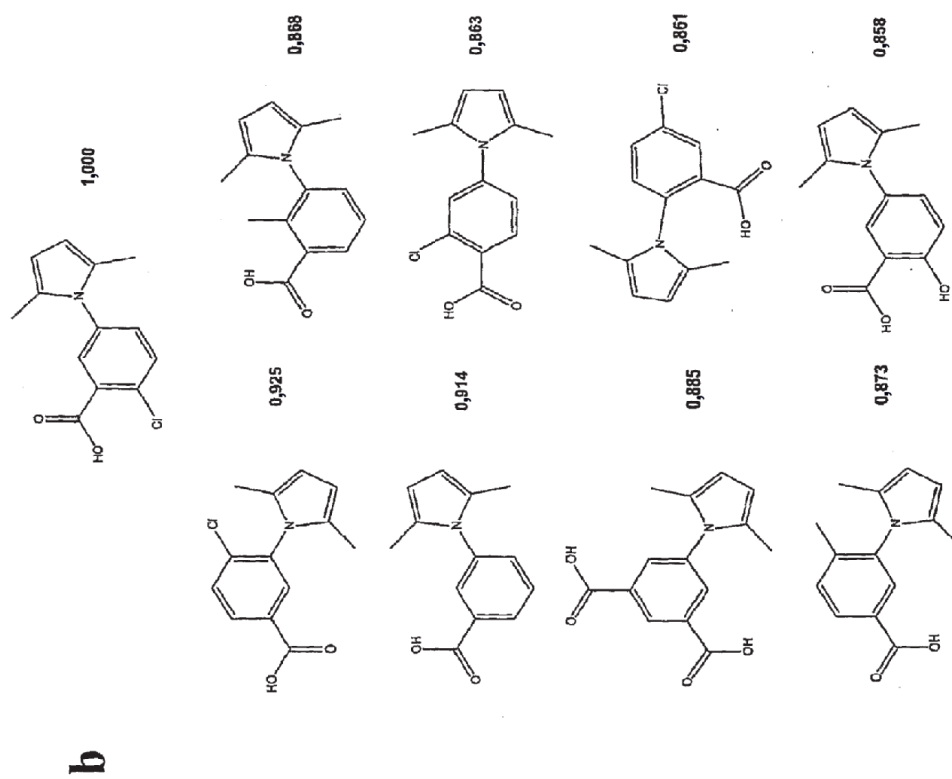
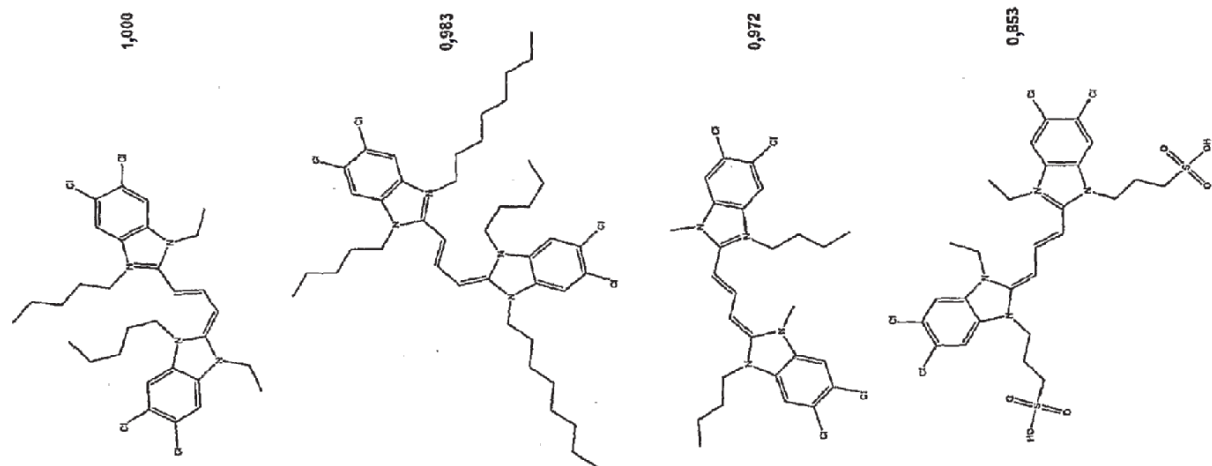


Figura 2 (cont.)



c

Figura 2 (cont.)

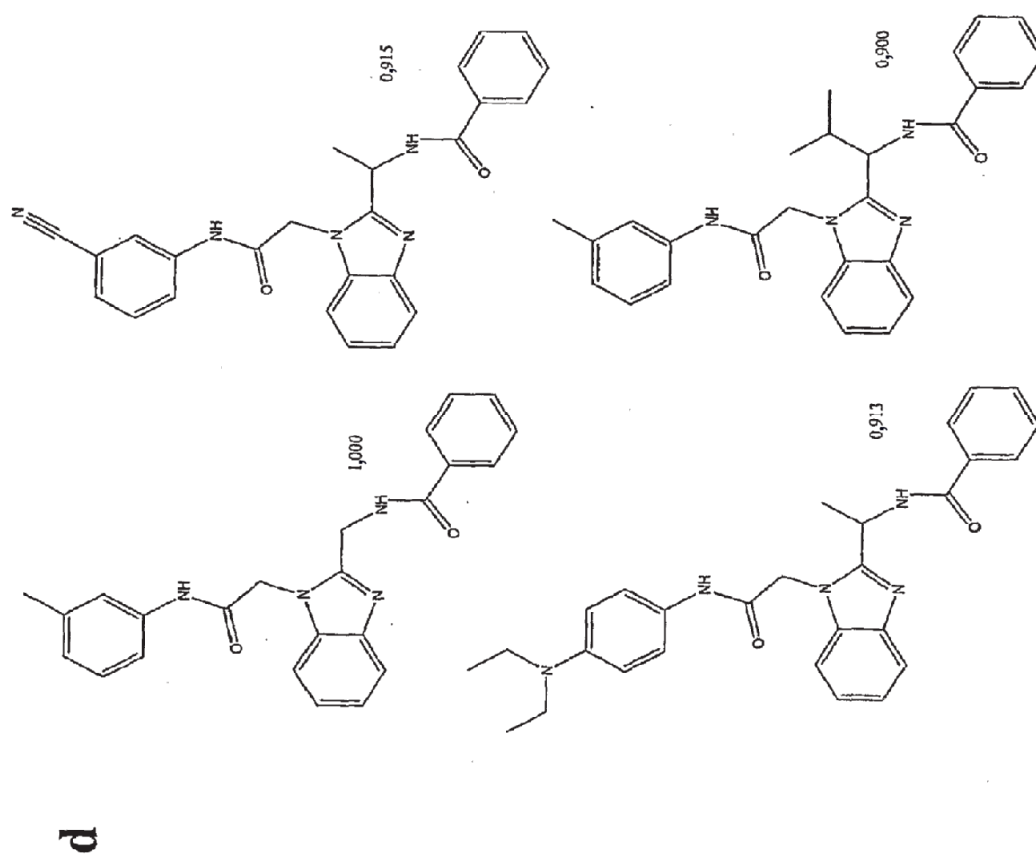
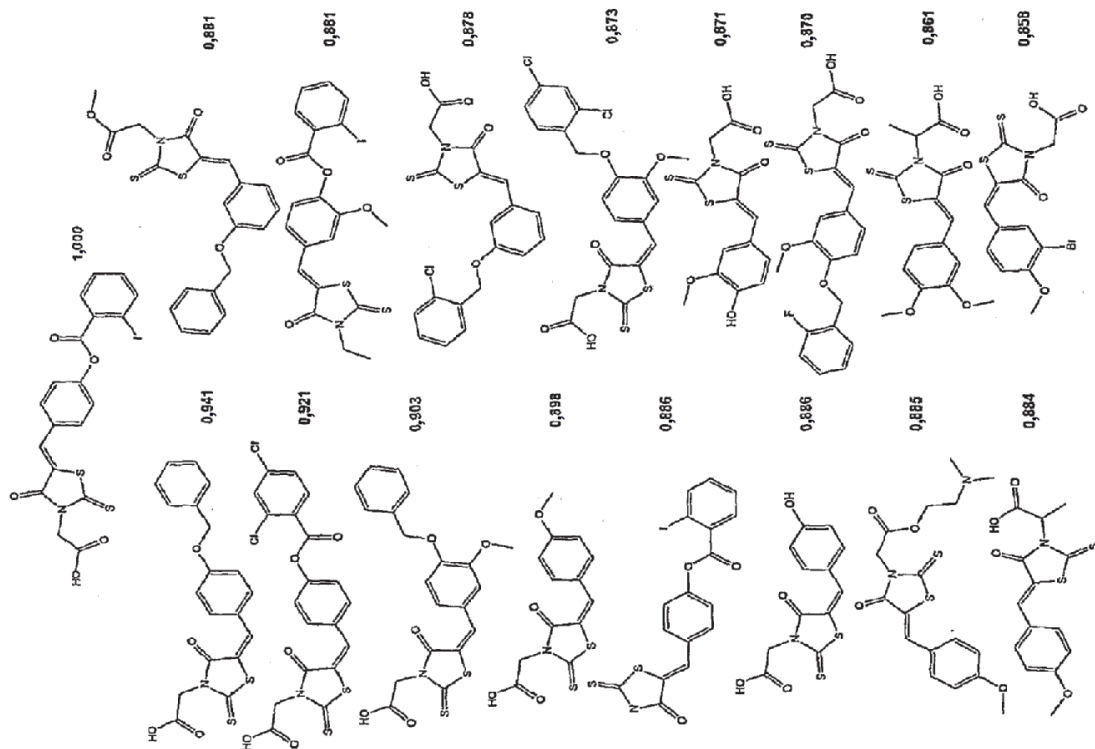


Figura 2 (cont.)



e

Figura 2 (cont.)

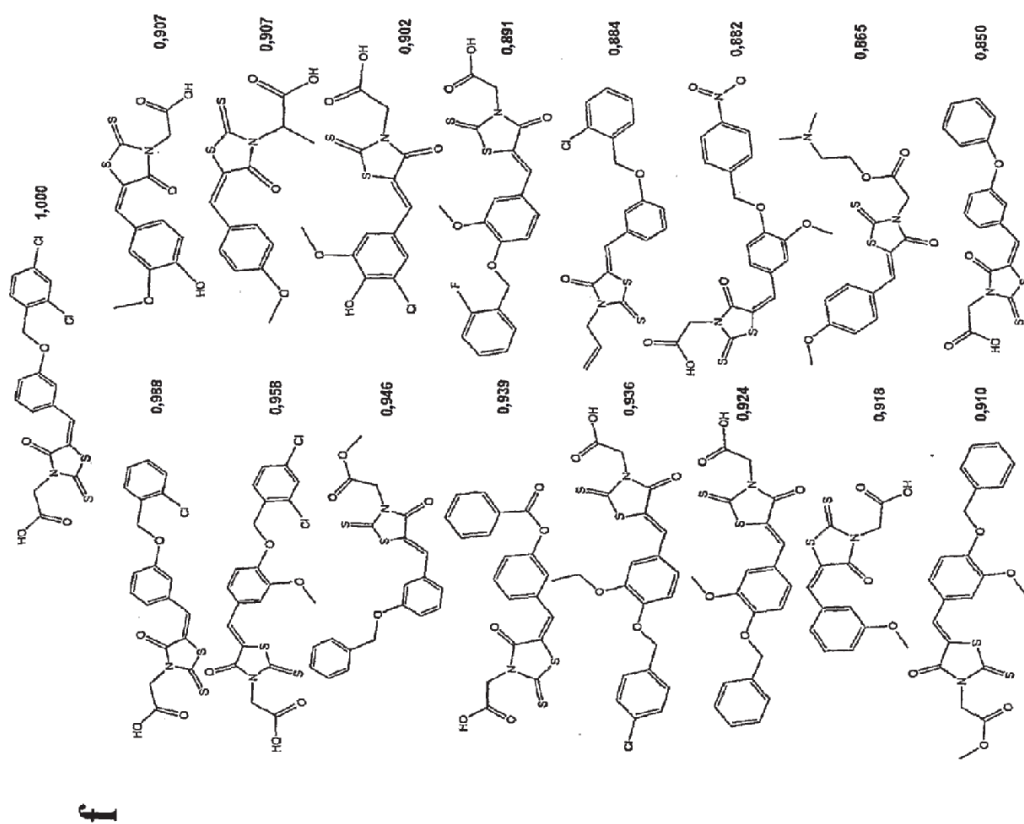
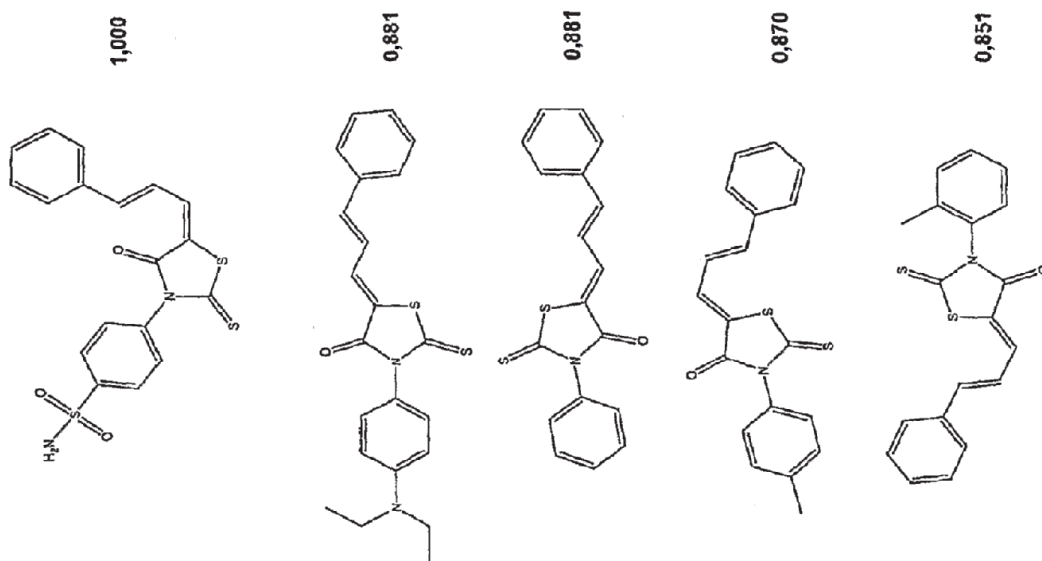


Figura 2 (cont.)



50

Figura 2 (cont.)

h

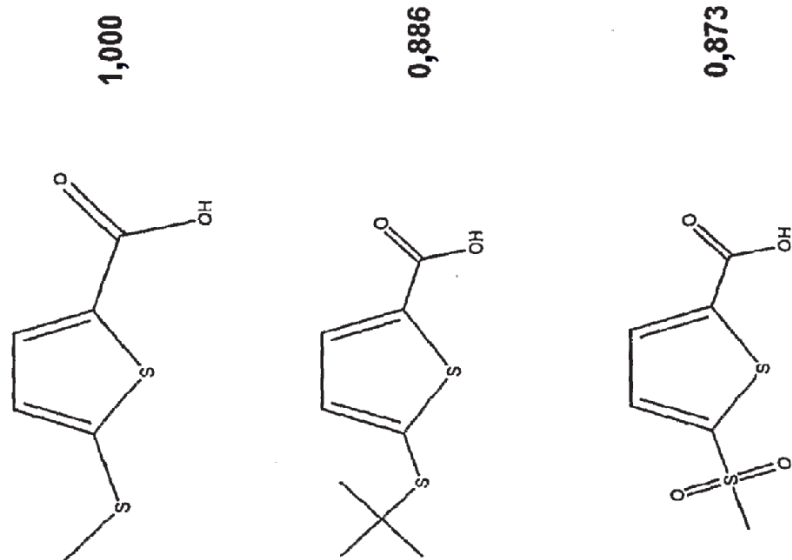


Figura 2 (cont.)

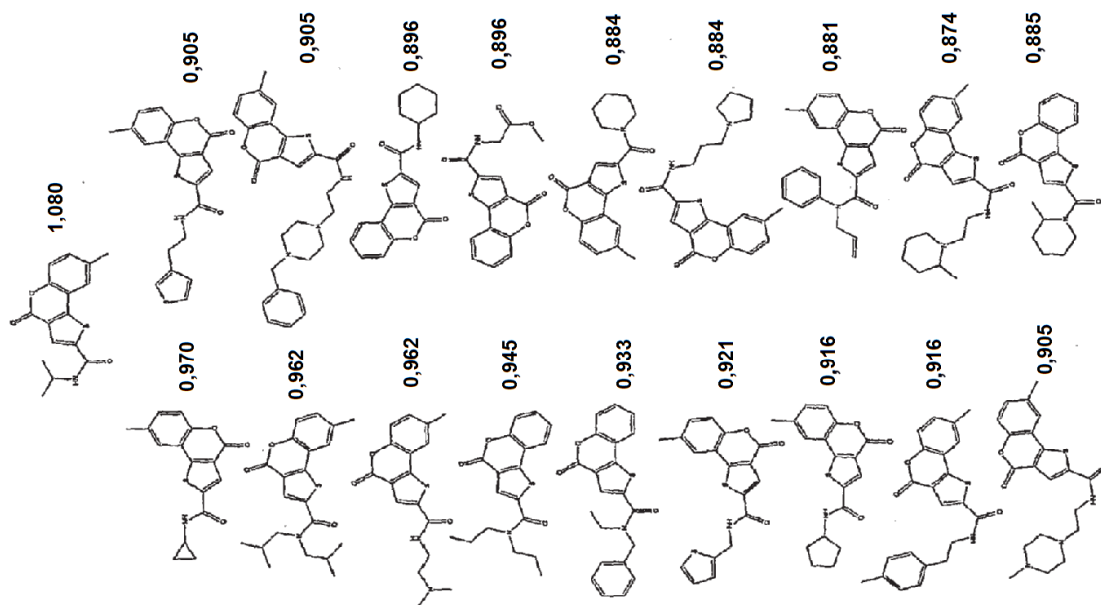


Figura 2 (cont.)

j

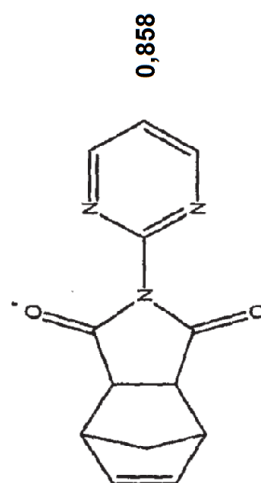
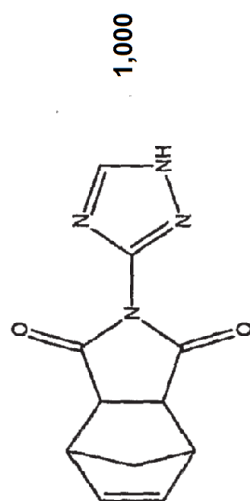


Figura 3

Péptidos para la inyección en conejos para Ab policlonales contra PKM1 y PKM2

HM1:	HLIAREAEAAI	FHRKLFEEELVR	<u>ASSH</u>	<u>STDLMEEAMAMGSVEA</u>	SYKCLAAALIVLTESG
HM2:	HLIAREAEAAI	YHIQLFEEELRRL	<u>API</u>	<u>TSDPTEATAVGA</u>	SEKCCSGAIIIVLTSG

Figura 4

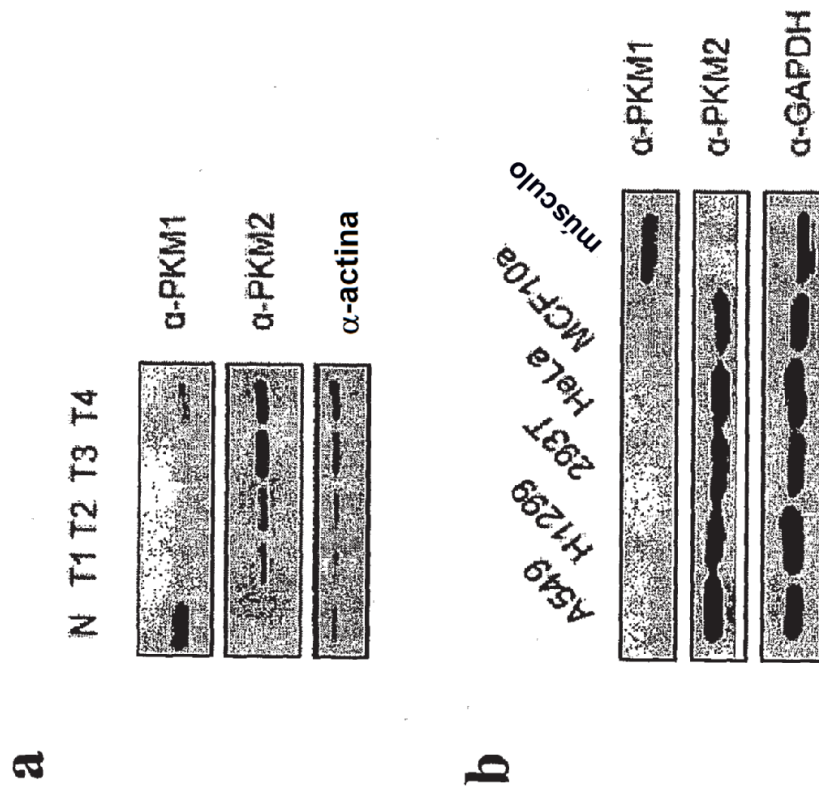


Figura 5

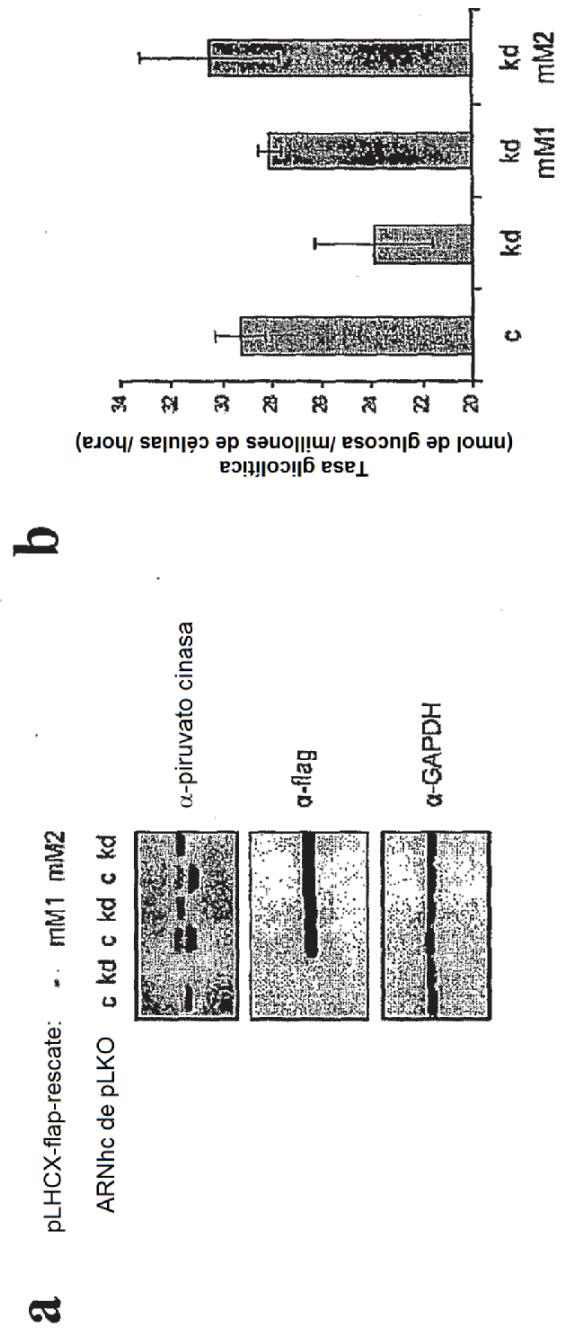


Figura 7

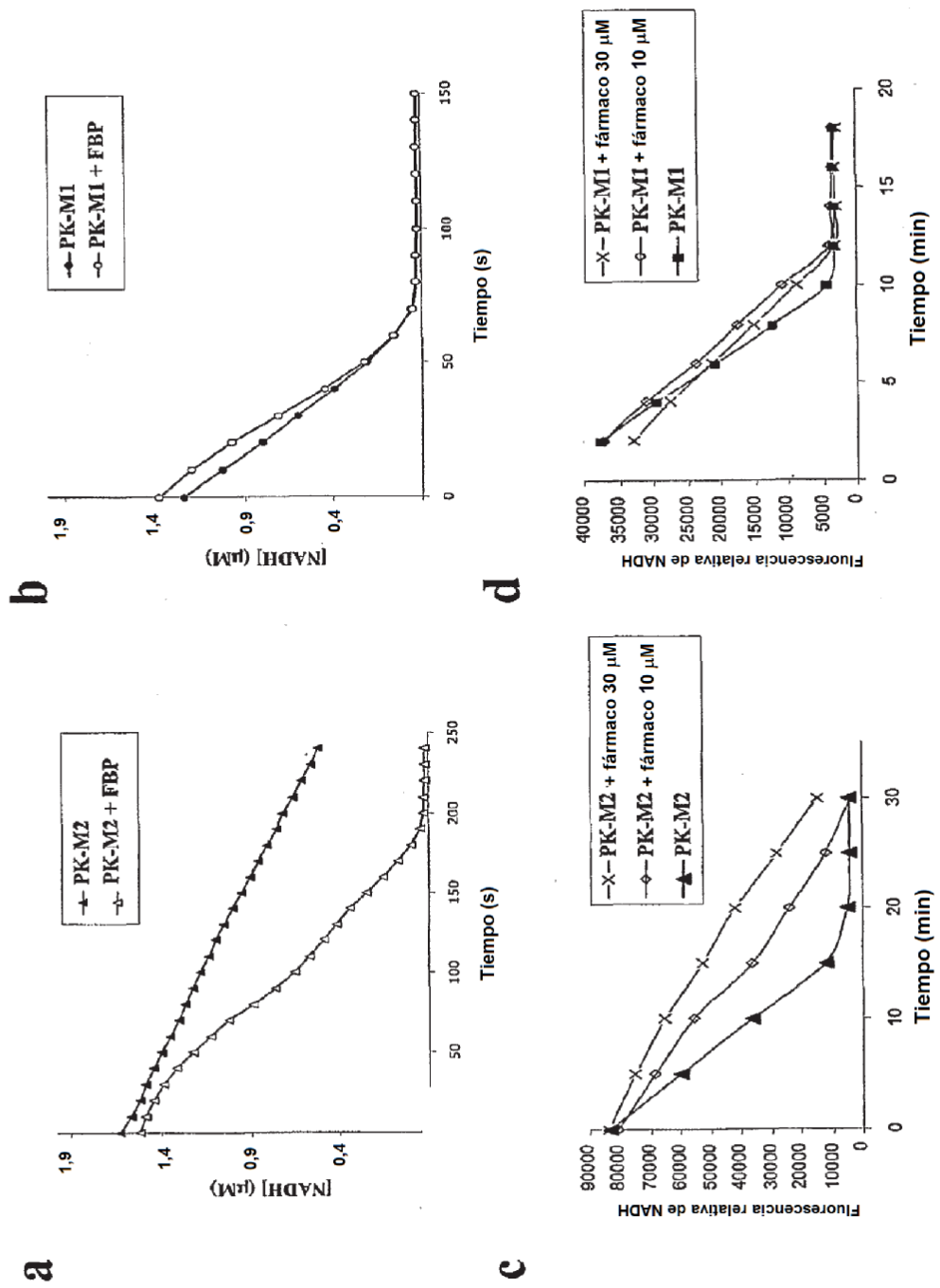


Figura 8

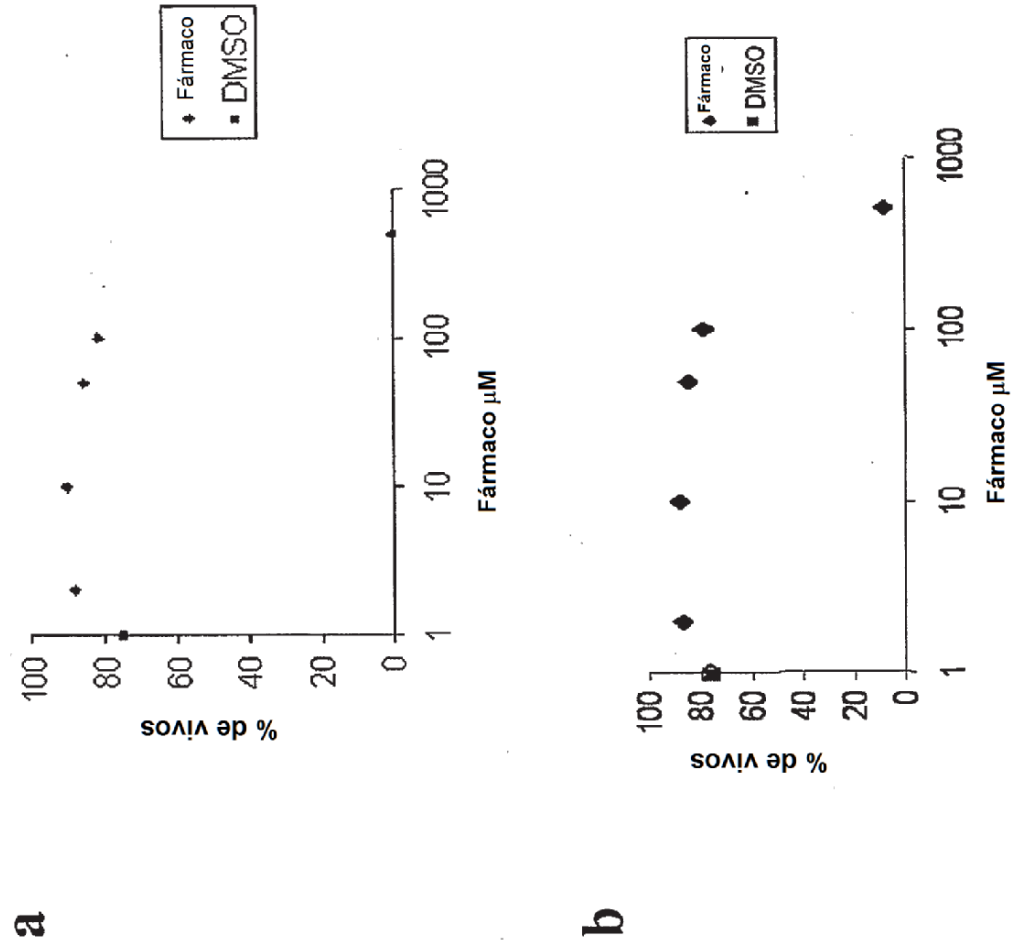


Figura 9

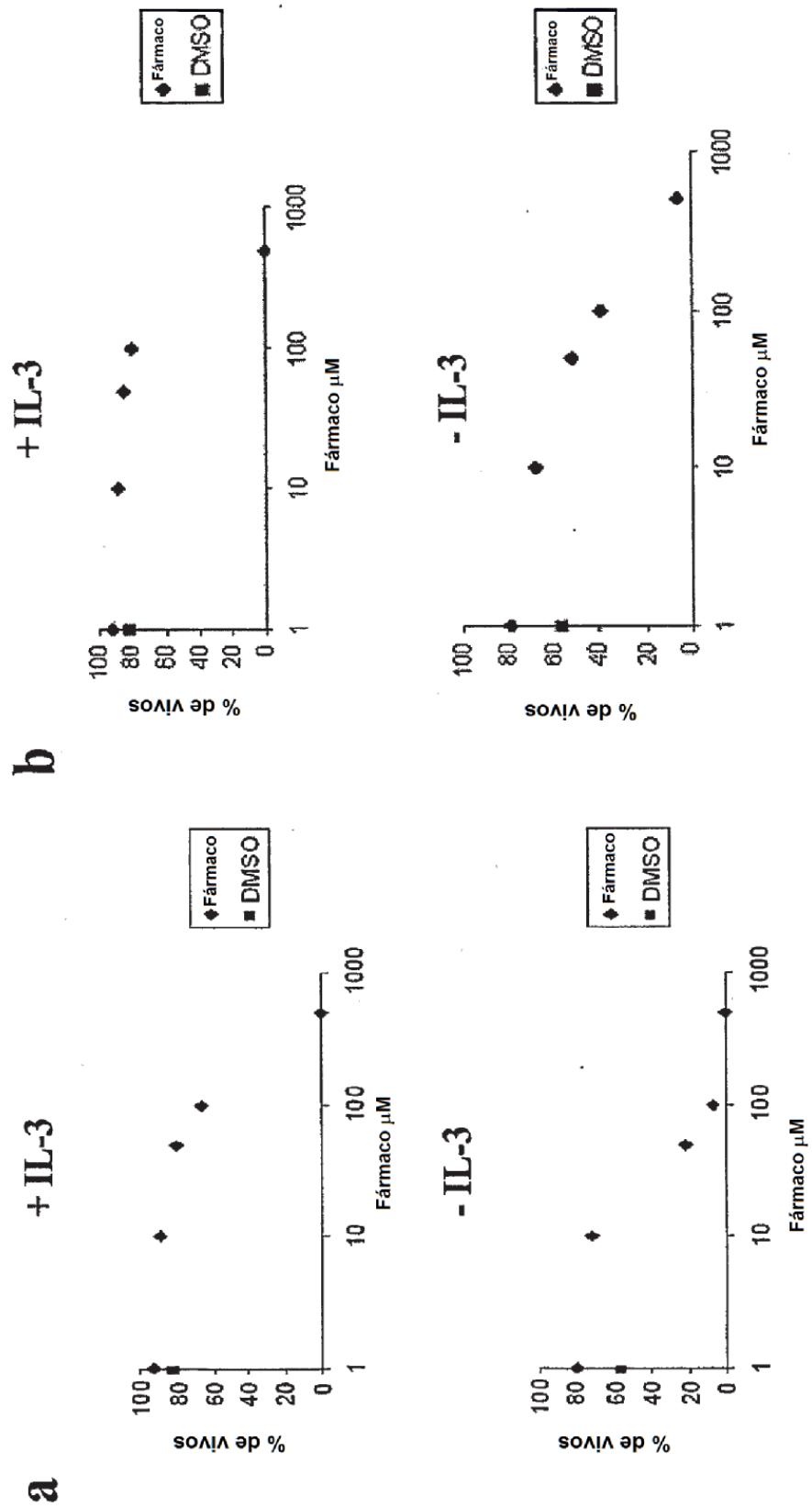


Figura 10

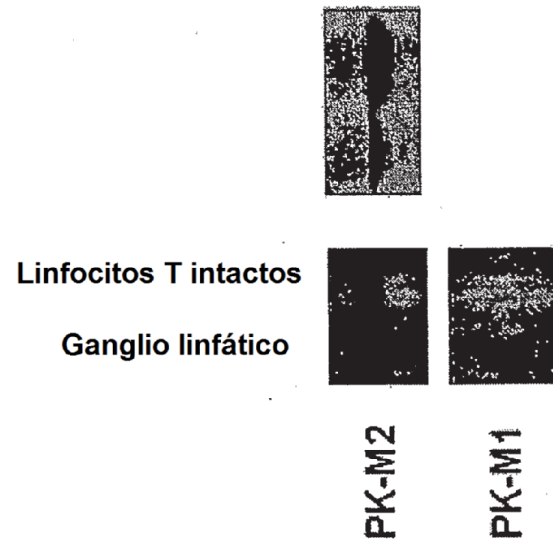


Figura 11

