

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 628 620**

51 Int. Cl.:

C07K 5/062 (2006.01)

A61K 38/55 (2006.01)

C07K 5/08 (2006.01)

C07K 5/10 (2006.01)

C07K 5/065 (2006.01)

C07K 5/078 (2006.01)

C07K 5/083 (2006.01)

C07K 5/087 (2006.01)

C07K 5/097 (2006.01)

C07K 5/117 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.11.2006 E 13157801 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.05.2017 EP 2623113**

54 Título: **Compuesto para inhibición de enzimas**

30 Prioridad:

09.11.2005 US 736118 P

05.09.2006 US 842582 P

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

03.08.2017

73 Titular/es:

ONYX THERAPEUTICS, INC. (100.0%)

249 East Grand Avenue

South San Francisco, CA 94080, US

72 Inventor/es:

ZHOU, HAN-JIE;

SUN, CONGCONG M.;

SHENK, KEVIN D. y

LAIDIG, GUY J.

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 628 620 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

Compuesto para inhibición de enzimas

Antecedentes de la invención

5 En los eucariotas, la degradación de las proteínas es mediada predominantemente por la ruta de la ubiquitina, en la que las proteínas que son objetivo de destrucción se ligan al polipéptido de 76 aminoácidos ubiquitina. Una vez marcadas como diana, las proteínas ubiquitinadas sirven después como sustratos para el proteosoma 26S, una proteasa multicatalítica, que escinde proteínas en péptidos cortos mediante la acción de sus tres actividades proteolíticas principales. Aunque tiene una función general en la actividad global de las proteínas intracelulares, la degradación mediada por proteasomas también juega un papel clave en muchos procesos tales como la presentación del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase I, apoptosis, división celular y activación de NF- κ B.

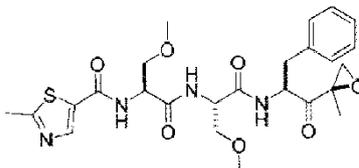
10 El proteasoma 20S es un complejo de proteasa multicatalítico de forma cilíndrica de 700 kDa comprendido de 28 subunidades organizadas en cuatro anillos que juega papeles importantes en la regulación del crecimiento celular, presentación del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I, apoptosis, procesamiento de antígenos, activación de NF- κ B y transducción de señales proinflamatorias. En la levadura y otros eucariotas, 7 subunidades α diferentes forman los anillos exteriores, y 7 subunidades β diferentes comprenden los anillos interiores. Las subunidades α sirven como sitios de unión para los complejos reguladores 19S (PA700) y 11S (PA28), así como una barrera física para la cámara proteolítica interior formada por los dos anillos de subunidades β . Por tanto, in vivo, se cree que el proteasoma existe como partícula 26S ("el proteasoma 26S"). Experimentos in vivo han mostrado que la inhibición de la forma 20S del proteasoma puede ser correlacionada fácilmente con la inhibición del proteasoma 26S. La escisión de prosecuencias aminoterminales de subunidades β durante la formación de la partícula expone residuos de treonina aminoterminales, que sirven como nucleófilos catalíticos. Las subunidades responsables de la actividad catalítica en el proteasoma poseen por tanto un residuo nucleófilo aminoterminal, y estas subunidades pertenecen a la familia de hidrolasas nucleófilas N-terminales (Ntn) (donde el residuo N-terminal nucleófilo es, por ejemplo, Cys, Ser, Thr, y otros restos nucleófilos). Esta familia incluye, por ejemplo, penicilina G acilasa (PGA), penicilina V acilasa (PVA), glutamina PRPP amidotransferasa (GAT), y glicosilasparaginasa bacteriana. Además de las subunidades β expresadas ubicuamente, los vertebrados superiores también poseen tres subunidades β inducibles por interferón γ (LMP7, LMP2 y MECL1), que reemplazan a sus homólogos normales, X, Y y Z respectivamente, alterando así las actividades catalíticas del proteasoma. Mediante el uso de diferentes sustratos peptídicos, se han definido tres actividades proteolíticas principales para el proteasoma 20S de los eucariotas: actividad similar a quimotripsina (CT-L), que escinde después de residuos hidrófobos grandes; actividad similar a tripsina (T-L), que escinde después de residuos básicos; y actividad hidrolizante de péptido peptidilglutamilo (PGPH), que escinde después de residuos ácidos. Se han atribuido también al proteosoma dos actividades adicionales menos caracterizadas: actividad BrAAP, que escinde después de aminoácidos de cadena ramificada; y actividad SNAAP, que escinde después de aminoácidos neutros pequeños. Las actividades proteolíticas principales del proteasoma parecen ser contribuidas por diferentes sitios catalíticos, dado que inhibidores, mutaciones de punto en subunidades β y el intercambio de subunidades β inductoras del interferón γ alteran estas actividades en diversos grados.

40 En los últimos años, el proteasoma se ha convertido en una atractiva diana para la intervención terapéutica en el cáncer, trastornos inmunes y autoinmunes, inflamación, afecciones isquémicas, trastornos neurodegenerativos y otras enfermedades. Hasta la fecha, el único inhibidor del proteasoma aprobado por la FDA es el bortezomib (VELCADE™), sin embargo, se están evaluando actualmente en ensayos clínicos varios otros inhibidores del proteasoma. Hasta ahora, todos estos inhibidores terapéuticos del proteasoma se administran actualmente por vía IV. La aplicación clínica de inhibidores del proteasoma en el tratamiento de malignidades hematológicas tales como mieloma y linfoma está restringida en parte por la necesidad de administraciones IV frecuentes, y sería mejorada por administración oral (PO). Sin embargo, debido a la naturaleza peptídica de estas moléculas, la exposición sistémica después de la administración PO de estos inhibidores está limitada por varios factores, que incluyen el pH gástrico, peptidasas gástricas e intestinales, bombas de eflujo, excreción biliar y actividades metabólicas intestinales y hepáticas.

50 Los métodos usados para vencer la capacidad de los péptidos de ser degradados enzimáticamente y para mejorar la absorción en la corriente sanguínea desde el tracto digestivo han incluido preparar análogos que son menos similares a péptidos en estructura y que son de tamaño reducido. Se considera que tales métodos son exitosos cuando el análogo del péptido alcanza niveles en sangre satisfactorios después de administración oral, o, en el caso de inhibidores del proteasoma, cuando la actividad del proteasoma en la sangre se reduce satisfactoriamente. El documento EP2564834, Elofsson et al. (Chemistry and Biology 1999, 6(11) p 811-822) y Myung et al. (Molecular Cell, 7, p 411-420) describen diversas epoxicetonas como inhibidores del proteasoma. Las técnicas mencionadas anteriormente se han aplicado para preparar análogos de las epoxicetonas peptídicas inhibitoras del proteasoma, haciéndolos de este modo biodisponibles por vía oral.

Compendio de la invención

La presente invención proporciona un compuesto que tiene la fórmula:



5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de la inflamación, enfermedad neurodegenerativa, enfermedades de desgaste muscular, cáncer, enfermedades infecciosas crónicas, una afección hiperproliferativa, desuso muscular, afecciones relacionadas con el sistema inmunitario; para uso en inhibir o reducir la infección por HIV; para uso en afectar al nivel de expresión de genes víricos en un sujeto; o para uso en alterar la variedad de péptidos antigénicos producidos por el proteasoma en un organismo.

También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto.

10 Se describen en la presente memoria clases de moléculas conocidas como α',β' -epóxidos peptídicos y α',β' -aziridinas peptídicas. Se entiende que las moléculas parentales se unen eficazmente, irreversiblemente y selectivamente a hidrolasas nucleófilas N-terminales (Ntn), y pueden inhibir específicamente actividades particulares de enzimas que tienen actividad catalítica múltiple.

15 Una vez que se pensó meramente en desechar proteínas desnaturalizadas y mal plegadas, el proteasoma se reconoce ahora como un constituyente de la maquinaria proteolítica que regula los niveles de diversas proteínas intracelulares mediante su degradación de una manera dependiente de señales. Por tanto, hay un gran interés en identificar reactivos que puedan alterar específicamente las actividades del proteasoma y otras hidrolasas Ntn y se usen de este modo como sondas para estudiar el papel de estas enzimas en procesos biológicos. Se describen, sintetizan e investigan en la presente memoria compuestos que tienen como objetivo las hidrolasas Ntn. Se describen epóxidos peptídicos y aziridinas peptídicas que pueden inhibir potentemente, selectivamente e irreversiblemente actividades particulares del proteasoma.

20 A diferencia de varios otros inhibidores basados en péptidos, no se espera que los epóxidos peptídicos y aziridinas peptídicas descritos en la presente memoria inhiban sustancialmente proteasas no proteasómicas tales como tripsina, quimotripsina, catepsina B, papaína y calpaína en concentraciones hasta 50 μM . A concentraciones más altas, puede observarse inhibición, pero se esperaría que fuera competitiva y no irreversible, si el inhibidor meramente compite con el sustrato. También se espera que los nuevos epóxidos peptídicos y aziridinas peptídicas inhiban la activación de NF- κB y estabilicen los niveles de p53 en cultivo celular. Además, se esperaría que estos compuestos tuvieran actividad antiinflamatoria. Por tanto, estos compuestos pueden ser sondas moleculares únicas, que tienen la versatilidad para explorar la función de las enzimas Ntn en procesos biológicos y patológicos normales.

30 Se describen en la presente memoria inhibidores que comprenden un anillo de tres miembros que contiene heteroátomos. Estos inhibidores pueden inhibir la actividad catalítica de enzimas hidrolasas nucleófilas N-terminales (por ejemplo, el proteasoma 20S, o el proteasoma 26S) cuando dicho inhibidor está presente en concentraciones por debajo de aproximadamente 50 μM . Con respecto al proteasoma 20S, inhibidores particulares de hidrolasas inhiben la actividad similar a quimotripsina del proteasoma 20S cuando el inhibidor está presente en concentraciones por debajo de aproximadamente 5 μM , y no inhibe la actividad similar a tripsina o la actividad PGPH del proteasoma 20S cuando está presente en concentraciones por debajo de aproximadamente 5 μM . El inhibidor de hidrolasas puede ser, por ejemplo, una α',β' -epoxicetona o una α',β' -aziridinacetona peptídicas, y el péptido puede ser un tetrapéptido. El péptido puede incluir cadenas laterales ramificadas o no ramificadas, tales como hidrógeno, alquilo C_{1-6} , hidroxialquilo C_{1-6} , alcoxialquilo C_{1-6} , arilo, aralquilo C_{1-6} , alquilo- C_{1-6} -amida, alquilo- C_{1-6} -amina, ácido carboxílico C_{1-6} , éster carboxílico C_{1-6} , alquilo- C_{1-6} -tiol, o alquilo- C_{1-6} -tioéter, por ejemplo isobutilo, 1-naftilo, fenilmetilo, y 2-feniletilo. El carbono α de la α',β' -epoxicetona o α',β' -aziridinacetona puede ser un átomo de carbono quiral, tal como un carbono configurado en (R) o β , como se definen estos en la presente memoria.

45 También se describen composiciones farmacéuticas, que incluyen un excipiente farmacéuticamente aceptable y una cantidad farmacéuticamente eficaz del inhibidor de hidrolasas, que alivian los efectos de la enfermedad neurodegenerativa (tal como enfermedad de Alzheimer), enfermedades de desgaste muscular, cáncer, enfermedades infecciosas crónicas, fiebre, desuso muscular, denervación, lesión nerviosa, ayuno y afecciones relacionadas con el sistema inmunitario, entre otras.

También se describen en la presente memoria compuestos y composiciones farmacéuticas que son biodisponibles por vía oral.

50 También se describen en la presente memoria composiciones antiinflamatorias.

También se describen métodos para lo siguiente:

- inhibir o reducir la infección por HIV en un sujeto; afectar al nivel de expresión de genes víricos en un sujeto; alterar la variedad de péptidos antigénicos producidos por el proteasoma en un organismo; determinar si un proceso o resultado celular, fisiológico o de desarrollo en un organismo es regulado por la actividad proteolítica de una hidrolasa Ntn particular; tratar la enfermedad de Alzheimer en un sujeto; reducir la velocidad de degradación de proteínas musculares en una célula; reducir la velocidad de degradación de proteínas intracelulares en una célula; reducir la velocidad de degradación de la proteína p53 en una célula; inhibir el crecimiento de cánceres relacionados con p53 en un sujeto; inhibir la presentación de antígenos en una célula; suprimir el sistema inmunitario de un sujeto; inhibir la degradación I κ B- α en un organismo; reducir el contenido de NF- κ B en una célula, músculo, órgano o sujeto; afectar a los ciclos celulares eucarióticos dependientes de ciclina; tratar la enfermedad proliferativa en un sujeto; afectar a la regulación dependiente de proteasoma de oncoproteínas en una célula; tratar el crecimiento del cáncer en un sujeto; tratar la apoptosis relacionada con p53 en un sujeto; y cribar proteínas procesadas por hidrolasas nucleófilas N-terminales en una célula. Cada uno de estos métodos implica administrar o poner en contacto una cantidad eficaz de una composición que comprende los inhibidores de hidrolasas descritos en la presente memoria, a un sujeto, una célula, un tejido, un órgano o un organismo.
- Otros rasgos y ventajas serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada.

Descripción detallada

Se describen en la presente memoria compuestos útiles como inhibidores de enzimas. Estos compuestos son generalmente útiles para inhibir enzimas que tienen un grupo nucleófilo en el término N. Por ejemplo, las actividades de enzimas o subunidades de enzimas que tienen aminoácidos N-terminales con nucleófilos en sus cadenas laterales, tales como treonina, serina o cisteína pueden ser inhibidas con éxito por los inhibidores de enzimas descritos en la presente memoria. Las actividades de enzimas o subunidades de enzimas que tienen grupos nucleófilos no aminoácidos en sus términos N, tales como, por ejemplo, grupos protectores o carbohidratos, también pueden ser inhibidas con éxito por los inhibidores de enzimas descritos en la presente memoria.

Aunque no se está limitado por ninguna teoría particular de operación, se cree que tales nucleófilos N-terminales de Ntn forman aductos covalentes con el grupo funcional epóxido de los inhibidores de enzimas descritos en la presente memoria. Por ejemplo, en la subunidad β 5/Pre2 del proteasoma 20S, se cree que la treonina N-terminal forma irreversiblemente un aducto de morfolino o piperazino tras la reacción con un epóxido o aziridina peptídicos tales como los descritos más adelante. La formación de tal aducto implicaría la escisión con apertura de anillo del epóxido o aziridina.

En compuestos que incluyen tales grupos unidos a carbonos α' , la estereoquímica del carbono α' (el carbono que forma una parte del anillo de epóxido o aziridina) puede ser (R) o (S). La información acerca de la estructura-función descrita en la presente memoria sugiere las siguientes relaciones estereoquímicas preferidas. Nótese que un compuesto preferido puede tener varios estereocentros que tienen la relación arriba-abajo (o β - α , donde β , como está dibujado en la presente memoria, está por encima del plano de la página) o (R)-(S) indicada (esto es, no se requiere que cada estereocentro en el compuesto concuerde con las preferencias indicadas). En algunos compuestos preferidos, la estereoquímica del carbono α' es (R), esto es, el átomo X es β , o está por encima del plano de la molécula.

Con respecto a la estereoquímica, se siguen las reglas de Cahn-Ingold-Prelog para determinar la estereoquímica absoluta. Estas reglas se describen, por ejemplo, en Organic Chemistry, Fox y Whitesell; Jones and Bartlett Publishers, Boston, MA (1994); Sección 5-6, págs. 177-178, sección que se incorpora en la presente memoria por referencia. Los péptidos pueden tener una estructura de cadena principal repetitiva con cadenas laterales que se extienden desde las unidades de cadena principal. De manera general, cada unidad de cadena principal tiene una cadena lateral asociada con ella, aunque en algunos casos, la cadena lateral es un átomo de hidrógeno. En otros ejemplos, no todas las unidades de cadena principal tienen una cadena lateral asociada. Los péptidos útiles en epóxidos peptídicos o aziridinas peptídicas tienen dos o más unidades de cadena principal. En algunos compuestos útiles para inhibir la actividad similar a quimotripsina (CT-L) del proteasoma, están presentes entre dos y cuatro unidades de cadena principal, y en algunos compuestos preferidos para la inhibición CT-L, están presentes tres unidades de cadena principal.

Las cadenas laterales que se extienden desde las unidades de cadena principal pueden incluir cadenas laterales de aminoácidos alifáticos o aromáticos naturales, tales como un hidrógeno (glicina), metilo (alanina), isopropilo (valina), *sec*-butilo (isoleucina), isobutilo (leucina), fenilmetilo (fenilalanina), y la cadena lateral que constituye el aminoácido prolina. Las cadenas laterales también pueden ser otros grupos alifáticos o aromáticos ramificados o no ramificados tales como etilo, *n*-propilo, *n*-butilo, *t*-butilo, y derivados sustituidos con arilo tales como 1-feniletilo, 2-feniletilo, (1-naftil)metilo, (2-naftil)metilo, 1-(1-naftil)etilo, 1-(2-naftil)etilo, 2-(1-naftil)etilo, 2-(2-naftil)etilo, y compuestos similares. Los grupos arilo pueden estar sustituidos además con grupos alquilo C₁₋₆ ramificados o no ramificados, o grupos alquilo sustituidos, acetilo y similares, o grupos arilo adicionales, o grupos arilo sustituidos, tales como benzoilo y similares. También pueden usarse grupos heteroarilo y heterocíclico como sustituyentes de cadenas laterales. Los grupos heteroarilo incluyen grupos arilo que contienen nitrógeno, oxígeno y azufre, tales como tienilo, benzotienilo, naftotienilo, tiantrenilo, furilo, piranilo, isobenzofuranilo, cromenilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, piridilo, pirazinilo,

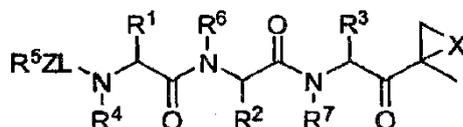
indolilo, purinilo, quinolilo y similares. Los grupos heterocíclico incluyen tetrahidrofurano, piperidina, piperazina, pirrolidina, morfolina, lactonas, lactamas y similares.

5 En algunos ejemplos, pueden introducirse residuos polares o cargados en los epóxidos peptídicos o aziridinas peptídicas. Por ejemplo, pueden introducirse aminoácidos existentes en la naturaleza tales como los que contienen hidroxilo (Thr, Tyr, Ser) o los que contienen azufre (Met, Cys), así como aminoácidos no esenciales, por ejemplo, taurina, carnitina, citrulina, cistina, ornitina, norleucina y otros. También pueden incluirse sustituyentes de cadena lateral no existentes en la naturaleza con restos cargados o polares, tales como, por ejemplo, cadenas de alquilo C₁₋₆ o grupos arilo C₆₋₁₂ con uno o más grupos hidroxilo, alcoxi de cadena corta, sulfuro, tio, carboxilo, éster, fosfo, amido o amino, o tales sustituyentes sustituidos con uno o más átomos de halógeno. En algunos ejemplos preferidos, hay al menos un grupo arilo presente en una cadena lateral del resto peptídico.

En algunos ejemplos, las unidades de cadena principal son unidades amida [-NH-CHR-C(=O)-], en las que R es la cadena lateral. Tal designación no excluye el aminoácido existente en la naturaleza prolina, u otros aminoácidos secundarios cíclicos no existentes en la naturaleza, que serán reconocidos por los expertos en la técnica.

15 En otros ejemplos, las unidades de cadena principal son unidades amida alquiladas en N (por ejemplo, N-metilo y similares), análogos olefínicos (en los que uno o más enlaces amida están reemplazados por enlaces olefínicos), análogos de tetrazol (en los que un anillo de tetrazol impone una configuración cis sobre la cadena principal), o combinaciones de tales enlaces de cadena principal. En aún otros ejemplos, el carbono α del aminoácido está modificado por sustitución de α-alquilo, por ejemplo, ácido aminoisobutírico. En algunos ejemplos adicionales, las cadenas laterales están modificadas localmente, por ejemplo, por deshidromodificación Δ^E o Δ^Z, en la que está presente un doble enlace entre los átomos α y β de la cadena lateral, o por ejemplo por modificación con ciclopropilo Δ^E o Δ^Z, en la que está presente un grupo ciclopropilo entre los átomos α y β de la cadena lateral. En aún otros ejemplos adicionales que emplean grupos aminoácido, pueden usarse aminoácidos D. Los ejemplos adicionales pueden incluir ciclización de cadena lateral a cadena principal, formación de enlaces disulfuro, formación de lactamas, enlace azo y otras modificaciones discutidas en "Peptides and Mimics, Design of Conformationally Constrained" by Hruby and Boteju, in "Molecular Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference", ed. Robert A. Meyers, VCH Publishers (1995), págs. 658-664.

También se describen compuestos que tienen una estructura de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos:



(I)

30 en la que

L se selecciona de C=O, C=S, y SO₂, preferiblemente C=O;

X se selecciona de O, S, NH, y N-alquilo C₁₋₆;

Z está ausente, es alquilo C₁₋₆, o alcoxi C₁₋₆, preferiblemente ausente;

35 R¹, R² y R³ se seleccionan independientemente cada uno de hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alqueno C₁₋₆, alquino C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, alcóxialquilo C₁₋₆, arilo, aralquilo C₁₋₆, heteroarilo, heterocíclico, heterocicloalquilo C₁₋₆, heteroaralquilo C₁₋₆, carbocíclico, y carbocicloalquilo C₁₋₆;

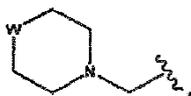
R⁴ se selecciona de hidrógeno, aralquilo C₁₋₆ y alquilo C₁₋₆;

R⁵ es heteroarilo; y

R⁶ y R⁷ se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₆ y aralquilo C₁₋₆.

40 En ciertos compuestos, R¹, R², y R³ se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, alcóxialquilo C₁₋₆, aralquilo C₁₋₆, heterocicloalquilo C₁₋₆, heteroaralquilo C₁₋₆, y carbocicloalquilo C₁₋₆. En ciertos compuestos, cualquiera de R¹, R², y R³ son independientemente alquilo C₁₋₆ seleccionado de metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo e isobutilo. En ciertos ejemplos, cualquiera de R¹, R² y R³ se seleccionan independientemente de hidroxialquilo C₁₋₆. En ciertos de tales compuestos preferidos, cualquiera de R¹, R² y R³ se seleccionan independientemente de hidroximetilo e hidroxietilo, preferiblemente hidroximetilo. En ciertos compuestos, cualquiera de R¹, R² y R³ son independientemente alcóxialquilo C₁₋₆. En ciertos de tales compuestos, cualquiera de R¹, R² y R³ se seleccionan independientemente de metoximetilo y metoxietilo, preferiblemente metoximetilo. En ciertos compuestos, cualquiera de R¹, R² y R³ son independientemente heteroaralquilo C₁₋₆. En ciertos de tales compuestos,

- 5 cualquiera de R^1 , R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de imidazolilmetilo, pirazolilmetilo y tiazolilmetilo, y piridilmetilo, preferiblemente imidazol-4-ilmetilo, tiazol-4-ilmetilo, 2-piridilmetilo, 3-piridilmetilo, o 4-piridilmetilo. En ciertos compuestos, cualquiera de R^1 , R^2 y R^3 son independientemente aralquilo C_{1-6} . En ciertos de tales compuestos, cualquiera de R^1 , R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de fenilmetilo (bencilo) y feniletilo, preferiblemente fenilmetilo. En ciertos compuestos, cualquiera de R^1 , R^2 y R^3 son independientemente carbocicloalquilo C_{1-6} . En ciertos de tales compuestos R^1 es ciclohexilmetilo. En ciertos compuestos R^1 , R^2 y R^3 son todos diferentes. En ciertos compuestos, cualesquiera dos de R^1 , R^2 y R^3 son los mismos. En ciertos compuestos, R^1 , R^2 y R^3 son todos los mismos.
- 10 En ciertos compuestos, al menos uno de R^1 y R^2 se selecciona de hidroxialquilo C_{1-6} y alcoxialquilo C_{1-6} . En ciertos de tales compuestos, al menos uno de R^1 y R^2 es alcoxialquilo. En ciertos de tales compuestos, al menos uno de R^1 y R^2 se selecciona de metoximetilo y metoxietilo.
- 15 En ciertos compuestos, R^3 se selecciona de alquilo C_{1-6} y aralquilo C_{1-6} , preferiblemente alquilo C_{1-6} . En ciertos de tales compuestos, R^3 se selecciona de metilo, etilo, isopropilo, sec-butilo e isobutilo. En ciertos de tales compuestos R^3 es isobutilo. En ciertos compuestos alternativos, R^3 se selecciona de fenilmetilo y feniletilo, preferiblemente fenilmetilo.
- En ciertos compuestos, R^4 , R^6 y R^7 se seleccionan independientemente de hidrógeno y metilo, preferiblemente hidrógeno.
- En ciertos compuestos R^5 es un heteroarilo de 5 o 6 miembros. En ciertos de tales compuestos, R^5 se selecciona de isoxazol, isotiazol, furano, tiofeno, oxazol, tiazol, pirazol o imidazol, preferiblemente isoxazol, furano o tiazol.
- 20 En ciertos compuestos, R^5 es un heteroarilo bicíclico. En ciertos de tales ejemplos el heteroarilo bicíclico se selecciona de benzisoxazol, benzoxazol, benzotiazol, benzisotiazol.
- En ciertos compuestos, L es C=O, Z está ausente, y R^5 es un isoxazol-3-ilo o isoxazol-5-ilo. En ciertos de tales compuestos preferidos, cuando el isoxazol-3-ilo está sustituido, está sustituido al menos en la posición 5. En ciertos compuestos preferidos, cuando el isoxazol-5-ilo está sustituido, está sustituido al menos en la posición 3.
- 25 En ciertos compuestos, L es C=O, Z está ausente, y R^5 es un isoxazol-3-ilo no sustituido.
- En ciertos compuestos, L es C=O, Z está ausente, y R^5 es un isoxazol-3-ilo sustituido. En ciertos de tales compuestos, R^5 es isoxazol-3-ilo sustituido con un sustituyente seleccionado de alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alcoxialquilo C_{1-6} , hidroxialquilo C_{1-6} , ácido carboxílico, aminocarboxilato, alquilo- C_{1-6} -aminocarboxilato, (alquilo- C_{1-6})₂aminocarboxilato, alquilo- C_{1-6} -carboxilato, heteroaralquilo C_{1-6} , aralquilo C_{1-6} , heterocicloalquilo C_{1-6} y carbocicloalquilo C_{1-6} . En ciertos de tales compuestos preferidos R^5 es isoxazol-3-ilo sustituido con un sustituyente seleccionado de metilo, etilo, isopropilo y ciclopropilmetilo.
- 30 En ciertos compuestos L es C=O, Z está ausente, y R^5 es isoxazol-3-ilo sustituido con un heterocicloalquilo C_{1-6} que contiene nitrógeno de 4 a 6 miembros. En ciertos de tales compuestos, R^5 es isoxazol-3-ilo sustituido con azetidilmetilo, preferiblemente azetidin-1-ilmetilo. En ciertos de tales compuestos alternativos, L es C=O, Z está ausente, y R^5 es isoxazol-3-ilo sustituido con
- 35



- en donde W es O, NR o CH_2 , y R es H o alquilo C_{1-6} . En ciertos de tales compuestos, W es O.
- 40 En ciertos compuestos, L es C=O, Z está ausente, y R^5 es isoxazol-3-ilo sustituido con heteroaralquilo C_{1-6} que contiene nitrógeno de 5 miembros, tales como pirazolilmetilo, imidazolilmetilo, triazol-5-ilmetilo, preferiblemente 1,2,4-triazol-5-ilmetilo.
- En ciertos compuestos, L es C=O, Z está ausente, y R^5 es isoxazol-3-ilo sustituido con alcoxi C_{1-6} o alcoxialquilo C_{1-6} , preferiblemente metoxi, etoxi, metoximetilo o metoxietilo.
- En ciertos compuestos, L es C=O, Z está ausente, y R^5 es isoxazol-3-ilo sustituido con hidroxialquilo C_{1-6} , preferiblemente hidroximetilo o hidroxietilo.
- 45 En ciertos compuestos L es C=O, Z está ausente, y R^5 es isoxazol-3-ilo sustituido con un ácido carboxílico, aminocarboxilato, alquilo- C_{1-6} -aminocarboxilato, (alquilo- C_{1-6})₂-aminocarboxilato, o alquilo- C_{1-6} -carboxilato. En ciertos de tales compuestos, R^5 está sustituido con metilcarboxilato o etilcarboxilato, preferiblemente metilcarboxilato.
- En ciertos compuestos, L es C=O, Z está ausente, y R^5 es un isoxazol-5-ilo no sustituido.

5 En ciertos compuestos, L es C=O, Z está ausente, y R⁵ es un isoxazol-5-ilo sustituido. En ciertos de tales compuestos, R⁵ es isoxazol-5-ilo sustituido con un sustituyente seleccionado de alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alcoxilquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, ácido carboxílico, aminocarboxilato, alquil-C₁₋₆-aminocarboxilato, (alquilo-C₁₋₆)₂-aminocarboxilato, alquilo-C₁₋₆-carboxilato, heteroalquilo C₁₋₆, aralquilo C₁₋₆, heterocicloalquilo C₁₋₆ y carbocicloalquilo C₁₋₆. En ciertos compuestos preferidos tales, R⁵ es isoxazol-3-ilo sustituido con un sustituyente seleccionado de metilo, etilo, isopropilo y ciclopropilmetilo.

10 En ciertos compuestos L es C=O, Z está ausente, y R⁵ es isoxazol-3-ilo sustituido con un heterocicloalquilo C₁₋₆ que contiene nitrógeno de 4 a 6 miembros. En ciertos de tales compuestos, R⁵ es isoxazol-5-ilo sustituido con azetidilmetilo, preferiblemente azetidín-1-ilmetilo. En ciertos de tales compuestos alternativos, L es C=O, Z está ausente, y R⁵ es isoxazol-3-ilo sustituido con



en donde W es O, NR o CH₂, y R es H o alquilo C₁₋₆. En ciertos de tales compuestos, W es O.

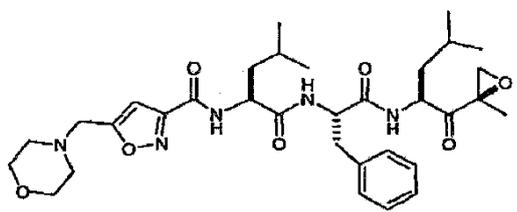
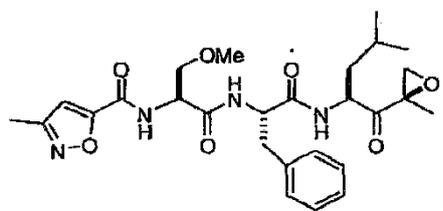
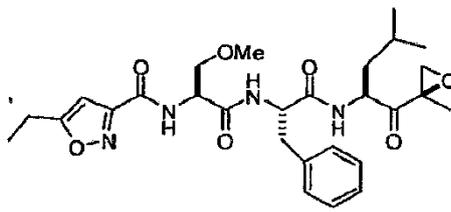
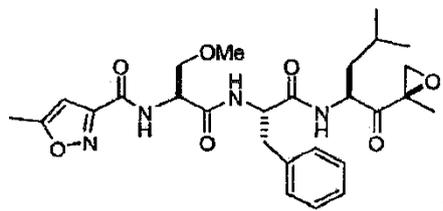
15 En ciertos compuestos, L es C=O, Z está ausente, y R⁵ es isoxazol-5-ilo sustituido con heteroalquilo C₁₋₆ que contiene nitrógeno de 5 miembros, tales como pirazolilmetilo, imidazolilmetilo, triazol-5-ilmetilo, preferiblemente 1,2,4-triazol-5-ilmetilo.

En ciertos compuestos, L es C=O, Z está ausente, y R⁵ es isoxazol-5-ilo sustituido con alcoxi C₁₋₆ o alcoxilquilo C₁₋₆, preferiblemente metoxi, etoxi, metoximetilo o metoxietilo.

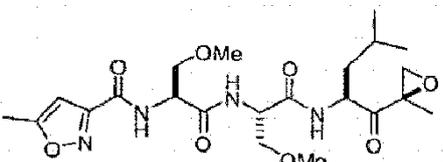
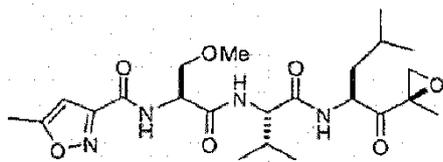
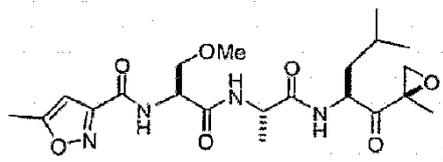
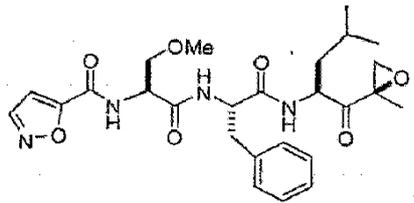
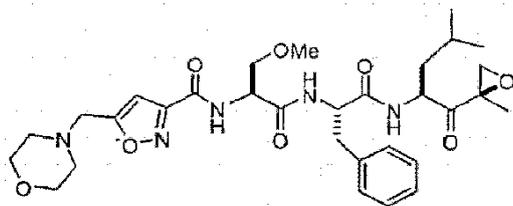
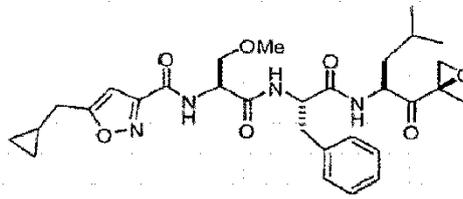
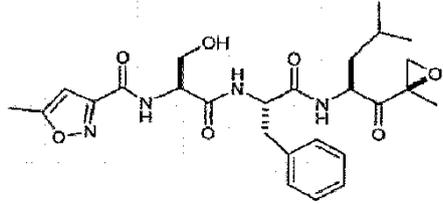
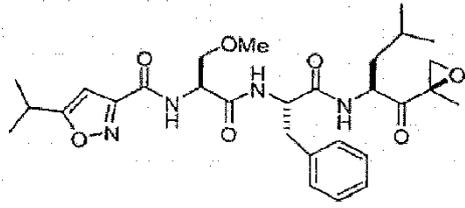
En ciertos compuestos, L es C=O, Z está ausente, y R⁵ es isoxazol-5-ilo sustituido con hidroxialquilo C₁₋₆, preferiblemente hidroximetilo o hidroxietilo.

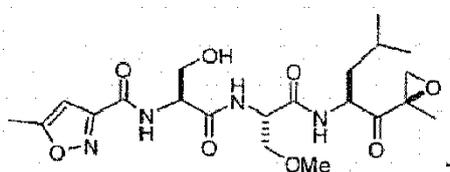
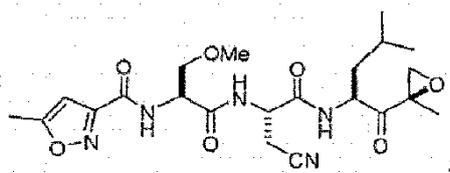
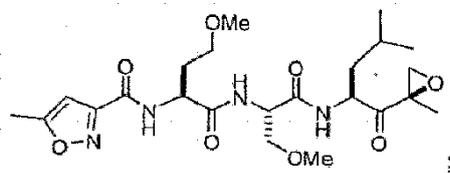
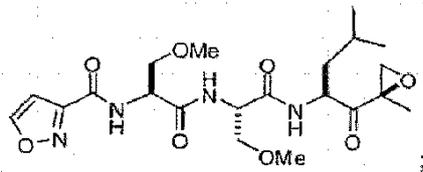
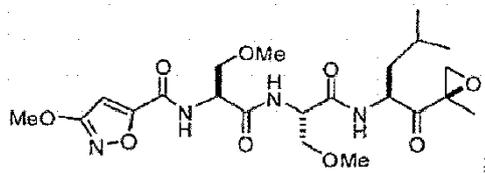
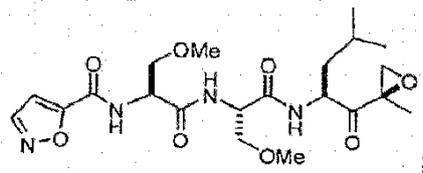
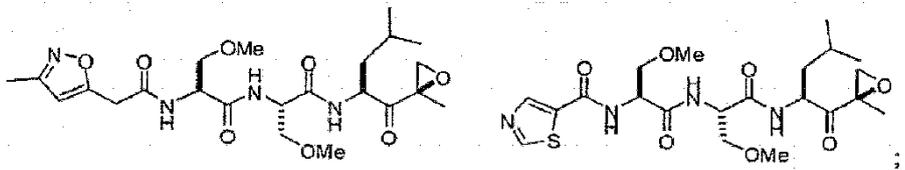
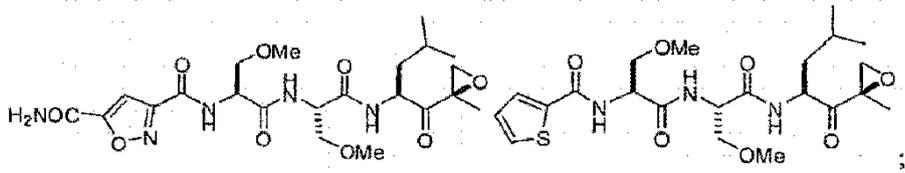
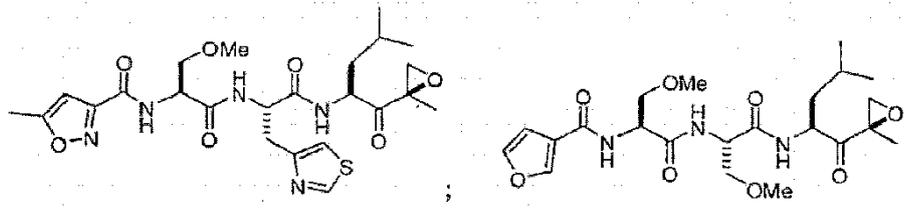
20 En ciertos compuestos, L es C=O, Z está ausente, y R⁵ es isoxazol-3-ilo sustituido con un ácido carboxílico, aminocarboxilato, alquil-C₁₋₆-aminocarboxilato, (alquilo-C₁₋₆)₂-aminocarboxilato, o alquilo-C₁₋₆-carboxilato. En ciertos de tales compuestos, R⁵ está sustituido con metilcarboxilato o etilcarboxilato, preferiblemente metilcarboxilato.

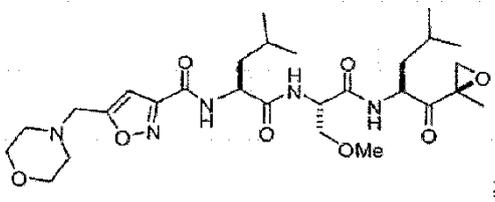
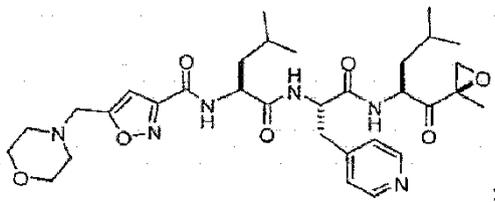
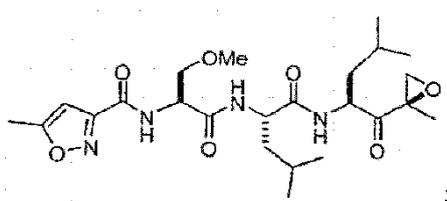
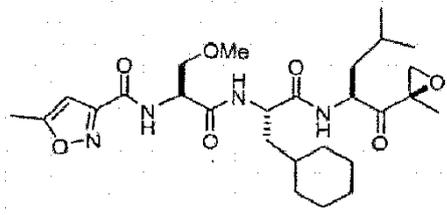
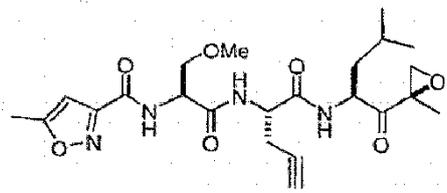
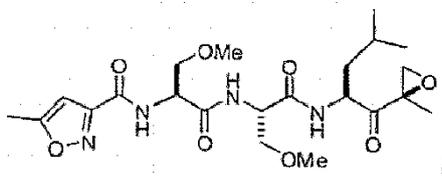
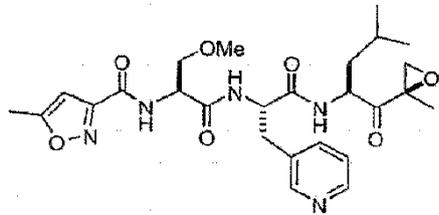
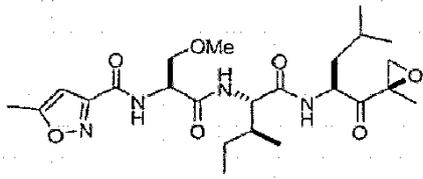
En ciertos ejemplos, un compuesto de fórmula I se selecciona de

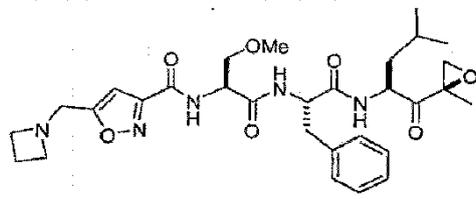
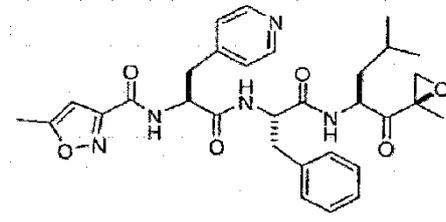
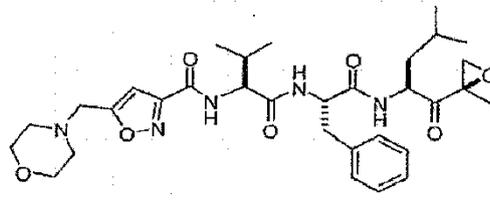
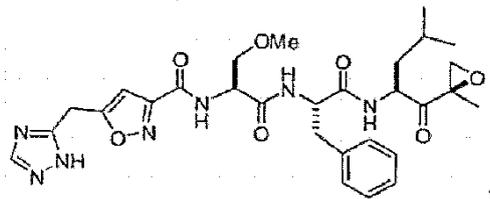
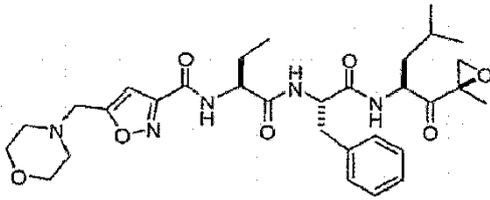
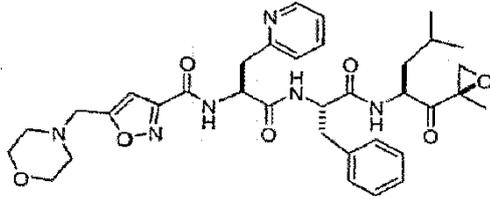
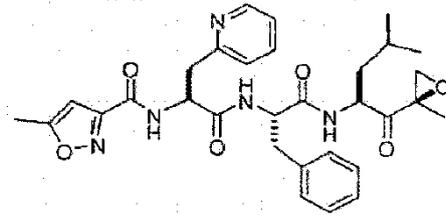


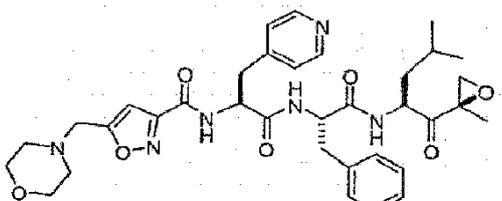
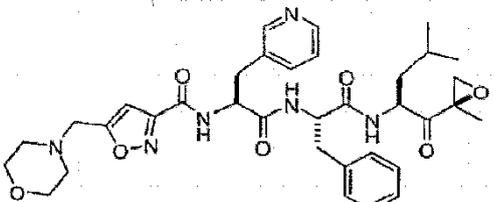
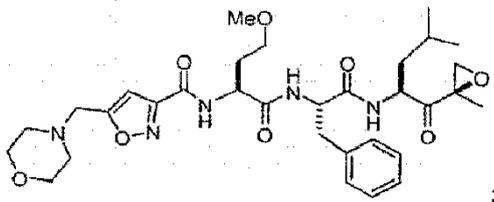
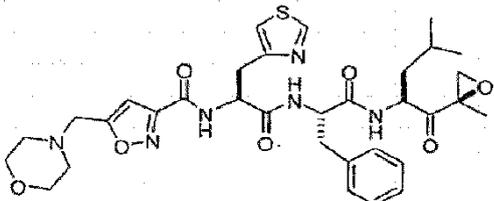
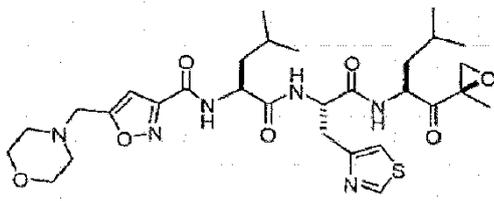
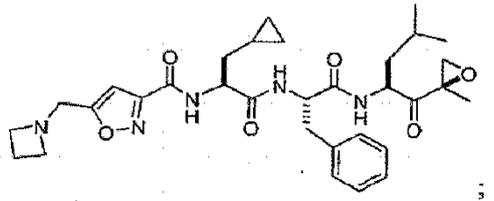
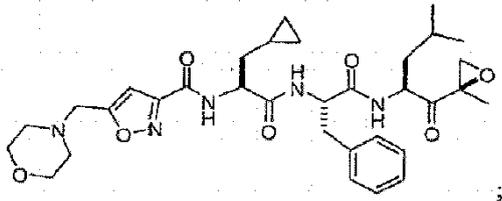
25

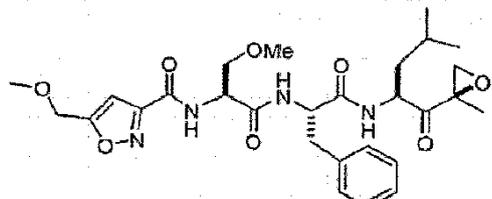
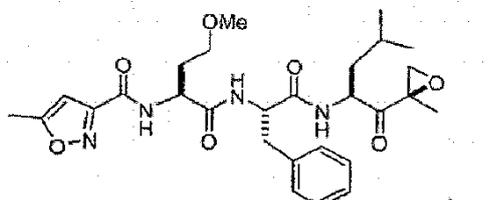
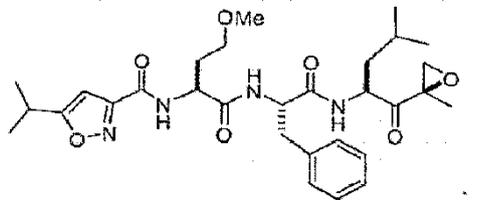
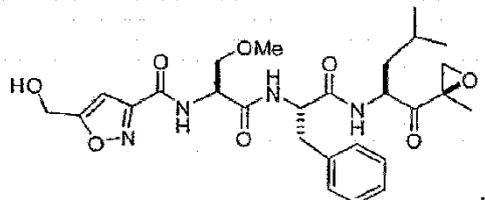
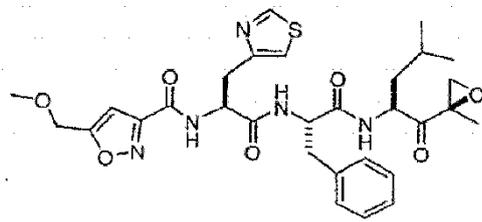
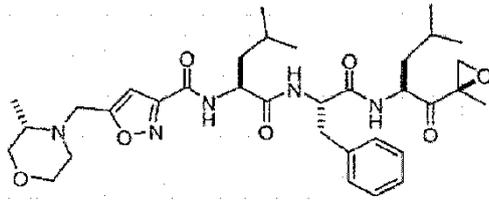
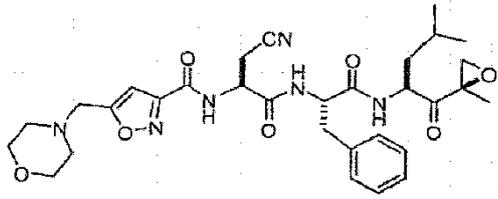


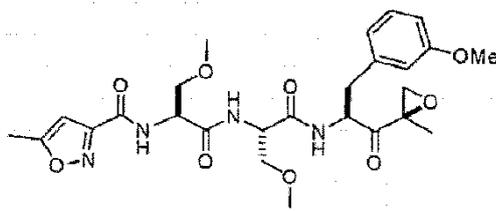
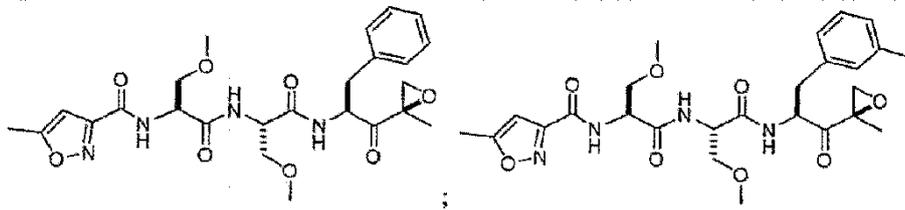
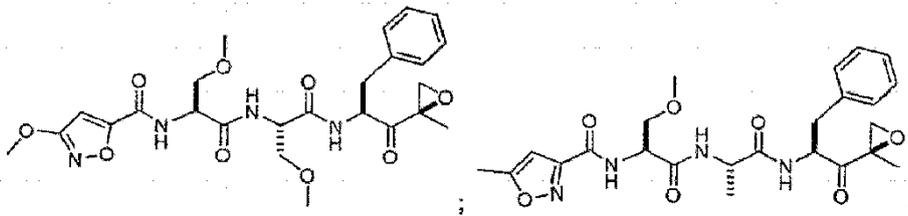
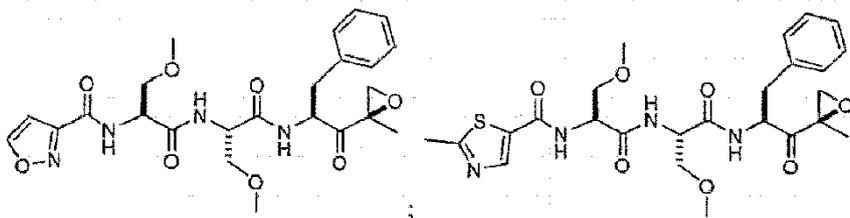
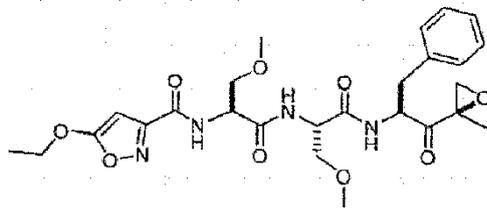
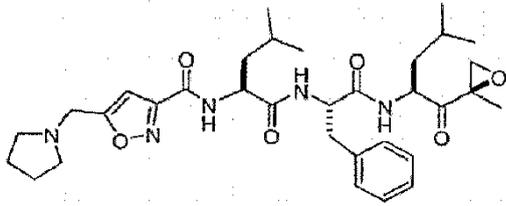
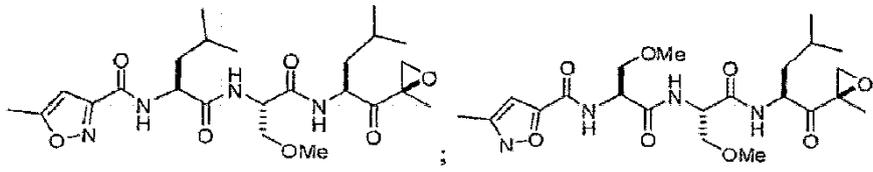


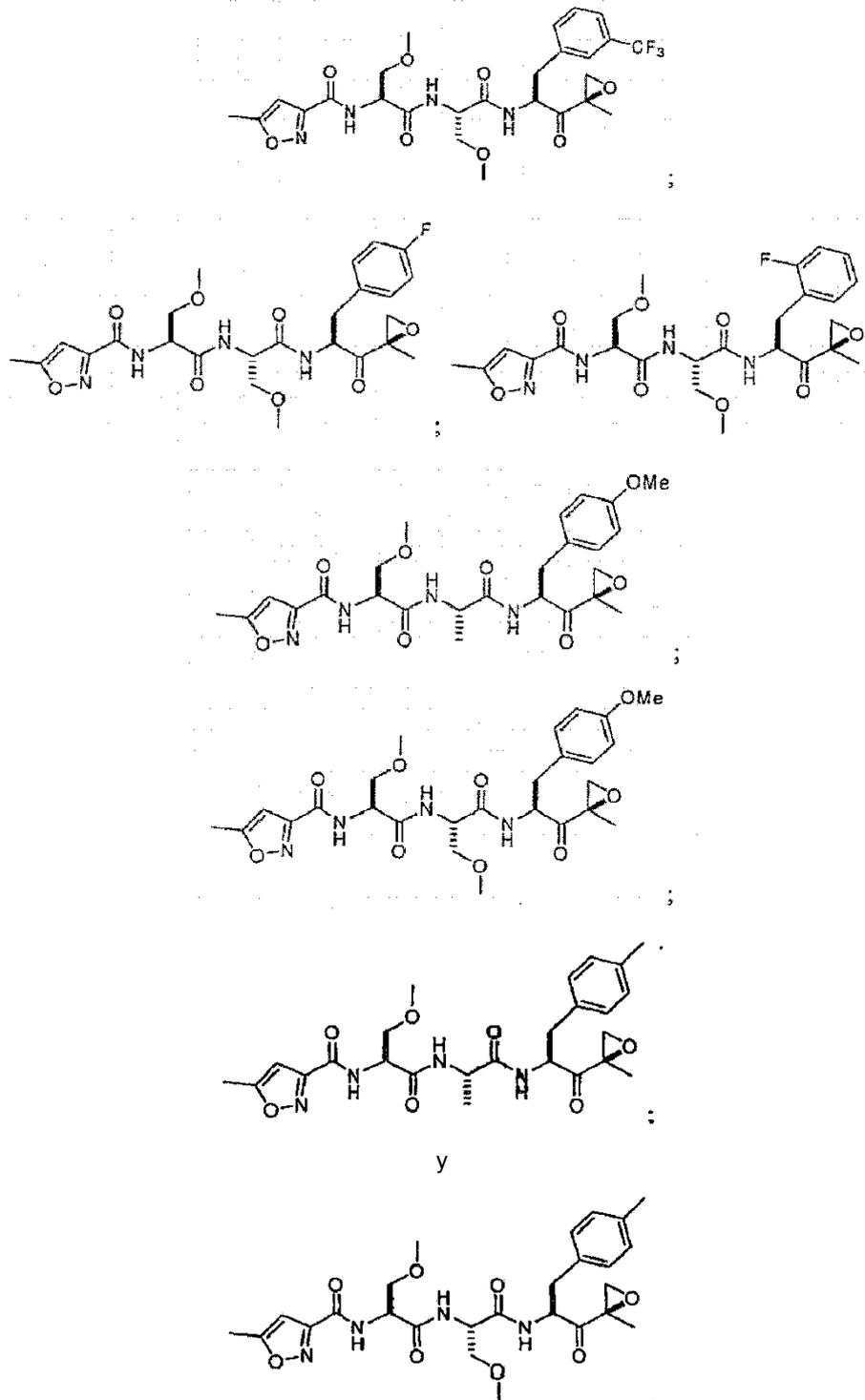












10 El alcance de la invención es definido por las reivindicaciones. También se describe en la presente memoria un dispositivo médico que incluye la composición descrita en la presente memoria que incluye un inhibidor que tiene una estructura de fórmula I. En un ejemplo la composición se incorpora dentro de un dispositivo médico. En ciertos ejemplos, el dispositivo médico es un gel que comprende una matriz polimérica o matriz cerámica y un inhibidor. Dicho polímero puede ser existente en la naturaleza o bien sintético. En otro ejemplo, dicho gel sirve como un depósito de fármacos, un adhesivo, una sutura, una barrera o un sellante.

15 También se describe en la presente memoria un dispositivo médico que comprende un sustrato que tiene una superficie sobre la que se dispone un inhibidor que tiene una estructura de fórmula I. En un ejemplo, el inhibidor se dispone directamente sobre un dispositivo médico. En otro ejemplo, se dispone así un revestimiento, revestimiento que comprende una matriz polimérica o matriz cerámica con un inhibidor que tiene una estructura de fórmula I dispersado o disuelto en la misma.

En un ejemplo, el dispositivo médico es una endoprótesis coronaria, vascular, periférica o biliar. Más particularmente, la endoprótesis de la presente invención es una endoprótesis expandible. Cuando se reviste con una matriz que contiene un inhibidor que tiene una estructura de fórmula I, la matriz es flexible para adaptarse a los estados comprimidos y expandidos de tal endoprótesis expandible. En otro ejemplo, la endoprótesis tiene al menos una porción que es insertable o implantable en el cuerpo de un paciente, en donde la porción tiene una superficie que está adaptada para la exposición a los tejidos corporales y en donde al menos una parte de la superficie está revestida con un inhibidor que tiene una estructura de fórmula I, o un revestimiento que comprende una matriz que tiene un inhibidor que tiene una estructura de fórmula I está dispersado o disuelto en la misma. Se describe un ejemplo de una endoprótesis adecuada en la patente de EE.UU. N° 4.733.665.

En otro ejemplo, el dispositivo médico es un implemento quirúrgico tal como un implante vascular, un dispositivo intraluminal, un sellante quirúrgico o un soporte vascular. Más particularmente, el dispositivo médico es un catéter, un orificio de acceso vascular implantable, un catéter venoso central, un catéter arterial, un injerto vascular, una bomba de globo intraaórtica, una sutura, una bomba de ayuda ventricular, una barrera para la elución de fármacos, un adhesivo, una envoltura vascular, un soporte extra/perivascular, un filtro de la sangre, o un filtro adaptado para su despliegue en un vaso sanguíneo, revestido con un inhibidor que tiene una estructura de fórmula I directamente o bien mediante una matriz que contiene un inhibidor que tiene una estructura de fórmula I.

En ciertos ejemplos, el dispositivo médico intraluminal se reviste con un inhibidor que tiene una estructura de fórmula I o un revestimiento que comprende una matriz tolerada biológicamente y un inhibidor que tiene una estructura de fórmula I dispersado en el polímero, teniendo dicho dispositivo una superficie interior y una superficie exterior, teniendo el revestimiento aplicado al menos a una parte de la superficie interior, la superficie exterior, o ambas.

En ciertos ejemplos el dispositivo médico puede ser útil para prevenir la restenosis después de angioplastia. El dispositivo médico puede ser útil también para el tratamiento de diversas enfermedades y afecciones proporcionando una administración localizada de un inhibidor que tiene una estructura de fórmula I. Tales enfermedades y afecciones incluyen restenosis, inflamación, artritis reumatoide, lesión tisular debida a inflamación, enfermedades hiperproliferativas, psoriasis severa o artrítica, enfermedades de desgaste muscular, enfermedades infecciosas crónicas, respuesta inmune anormal, afecciones que implican placas vulnerables, lesiones relacionadas con afecciones isquémicas, e infección y proliferación vírica. Los ejemplos de enfermedades y afecciones que están sujetas a un tratamiento que incluye los dispositivos médicos revestidos con fármacos de la presente invención incluyen aterosclerosis, síndrome coronario agudo, enfermedad de Alzheimer, cáncer, fiebre, desuso muscular (atrofia), denervación, oclusiones vasculares, apoplejía, infección por HIV, lesión nerviosa, fallo renal asociado con acidosis, y fallo hepático. Véase, p.ej., Goldberg, patente de Estados Unidos N° 5.340.736.

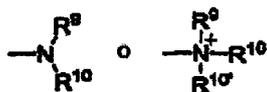
El término "alquilo C_{x-y}" se refiere a grupos hidrocarbonados saturados sustituidos o no sustituidos, que incluyen grupos alquilo de cadena lineal y alquilo de cadena ramificada que contienen de x a y carbonos en la cadena, incluyendo grupos haloalquilo tales como trifluorometilo y 2,2,2-trifluoroetilo, etc. Alquilo C₀ indica un hidrógeno, donde el grupo está en una posición terminal, un enlace si es interna. Los términos "alqueno C_{2-y}" y "alquino C_{2-y}" se refieren a grupos alifáticos insaturados sustituidos o no sustituidos análogos en longitud y sustitución posible a los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un doble o triple enlace respectivamente.

El término "alcoxi" se refiere a un grupo alquilo que tiene un oxígeno unido al mismo. Los grupos alcoxi representativos incluyen metoxi, etoxi, propoxi, terc-butoxi y similares. Un éter es dos hidrocarburos enlazados covalentemente por un oxígeno. Por consiguiente, el sustituyente de un alquilo que hace a ese alquilo un éter es o se asemeja a un alcoxi.

El término "alcoxialquilo C₁₋₆" se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ sustituido con un grupo alcoxi, formando de este modo un éter.

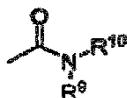
El término "aralquilo C₁₋₆", como se emplea en la presente memoria, se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ sustituido con un grupo arilo.

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



en donde R⁹, R¹⁰ y R^{10'} representan independientemente cada uno un hidrógeno, un alquilo, un alqueno, -(CH₂)_m-R⁸, o R⁹ y R¹⁰ reunidos con el átomo de N al que están unidos completan un heterociclo que tiene de 4 a 8 átomos en la estructura del anillo; R⁸ representa un arilo, un cicloalquilo, un cicloalqueno, un heterociclilo o un policiclilo; y m es cero o un número entero de 1 a 8. En compuestos preferidos sólo uno de R⁹ o R¹⁰ puede ser un carbonilo, p.ej., R⁹, R¹⁰, y el nitrógeno juntos no forman una imida. En compuestos incluso más preferidos, R⁹ y R¹⁰ (y opcionalmente R^{10'}) representan independientemente cada uno un hidrógeno, un alquilo, un alqueno, o -(CH₂)_m-R⁸. En ciertos compuestos, el grupo amino es básico, lo que significa que la forma protonada tiene un pK_a ≥ 7,00.

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



5 en donde R^9 , R^{10} son como se definieron anteriormente. Los ejemplos preferidos de la amida no incluirán imidas, que pueden ser inestables.

10 El término "arilo", como se emplea en la presente memoria, incluye grupos aromáticos de un solo anillo sustituidos o no sustituidos de 5, 6 y 7 miembros en los que cada átomo del anillo es carbono. El término "arilo" también incluye sistemas anulares policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes en donde al menos uno de los anillos es aromático, p.ej., los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterocíclicos. Los grupos arilo incluyen benceno, naftaleno, fenantreno, fenol, anilina y similares.

15 Los términos "carbociclo" y "carbociclilo", como se emplean en la presente memoria, se refieren a un anillo sustituido o no sustituido no aromático en el que cada átomo del anillo es carbono. Los términos "carbociclo" y "carbociclilo" también incluyen sistemas anulares policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes en donde al menos uno de los anillos es carbocíclico, p.ej., los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterocíclicos.

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



20 en donde X es un enlace o representa un oxígeno o un azufre, y R^{11} representa un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo, $-(CH_2)_m-R^9$ o una sal farmacéuticamente aceptable, R^{11} representa un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo o $-(CH_2)_m-R^8$, donde m y R^8 son como se definieron anteriormente. Donde X es un oxígeno y R^{11} o $R^{11'}$ no es hidrógeno, la fórmula representa un "éster". Donde X es un oxígeno, y R^{11} es un hidrógeno, la fórmula representa un ácido carboxílico".

25 Como se emplea en la presente memoria, "enzima" puede ser cualquier molécula parcialmente o totalmente proteica que lleva a cabo una reacción química de una manera catalítica. Tales enzimas pueden ser enzimas nativas, enzimas de fusión, proenzimas, apoenzimas, enzimas desnaturalizadas, enzimas famasiladas, enzimas ubiquitinadas, enzimas aciladas grasas, enzimas gerangeraniladas, enzimas enlazadas a GPI, enzimas enlazadas a lípidos, enzimas preniladas, enzimas mutantes existentes en la naturaleza o generadas artificialmente, enzimas con modificaciones de cadena lateral o de cadena principal, enzimas que tienen secuencias líder, y enzimas complejadas con material no proteico, tales como proteoglicanos, proteoliposomas. Las enzimas pueden prepararse por cualquier medio, que incluyen expresión natural, expresión promovida, clonación, diversas síntesis de péptidos basadas en disolución y basadas en sólidos, y métodos similares conocidos por los expertos en la técnica.

35 El término "heteroalquilo C_{1-6} ", como se emplea en la presente memoria, se refiere a un grupo alquilo C_{1-6} sustituido con un grupo heteroarilo.

40 El término "heteroarilo" incluye estructuras anulares de 5 a 7 miembros aromáticos sustituidas o no sustituidas, más preferiblemente anillos de 5 a 6 miembros, cuyas estructuras anulares incluyen uno a cuatro heteroátomos. El término "heteroarilo" también incluye sistemas anulares policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes en donde al menos uno de los anillos es heteroaromático, p.ej., los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterocíclicos. Los grupos heteroarilo incluyen, por ejemplo, pirrol, furano, tiofeno, imidazol, isoxazol, oxazol, tiazol, triazol, pirazol, piridina, pirazina, piridazina y pirimidina, y similares.

El término "heteroátomo", como se emplea en la presente memoria, significa un átomo de cualquier elemento distinto a carbono o hidrógeno. Los heteroátomos preferidos son nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre.

45 Los términos "heterociclilo" o "grupo heterocíclico" se refieren a estructuras anulares de 3 a 10 miembros no aromáticas sustituidas o no sustituidas, más preferiblemente anillos de 3 a 7 miembros, cuyas estructuras anulares incluyen uno a cuatro heteroátomos. Los términos "heterociclilo" o "grupo heterocíclico" incluyen también sistemas anulares policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes en donde al menos uno de los anillos es heterocíclico, p.ej., los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterocíclicos. Los grupos heterociclilo incluyen, por ejemplo, tetrahidrofurano, piperidina, piperazina, pirrolidina, morfolina, lactonas, lactamas y similares.

El término "heterocicloalquilo C₁₋₆", como se emplea en la presente memoria, se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ sustituido con un grupo heterociclilo.

El término hidroxialquilo "C₁₋₆" se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ sustituido con un grupo hidroxilo.

5 Como se emplea en la presente memoria, el término "inhibidor" pretende describir un compuesto que bloquea o reduce una actividad de una enzima (por ejemplo, inhibición de la escisión proteolítica de sustratos peptídicos fluorogénicos estándar tales como suc-LLVY-AMC, Box-LLR-AMC y Z-LLE-AMC, inhibición de diversas actividades catalíticas del proteasoma 20S). Un inhibidor puede actuar con inhibición competitiva, incompetitiva o no competitiva. Un inhibidor puede unirse reversiblemente o irreversiblemente, y por lo tanto el término incluye compuestos que son sustratos suicidas de una enzima. Un inhibidor puede modificar uno o más sitios sobre o cerca del sitio activo de la enzima, o puede causar un cambio conformacional en otras partes sobre la enzima.

10 Como se emplea en la presente memoria, el término "biodisponible por vía oral" pretende describir un compuesto administrado a un ratón a 40 mg/kg o menos, 20 mg/kg o menos, o incluso 10 mg/kg o menos, en donde una hora después de la administración oral tal compuesto muestra al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 75% o incluso al menos aproximadamente 90% de inhibición de la actividad CT-L del proteasoma en la sangre.

15 Como se emplea en la presente memoria, el término "péptidos" incluye no sólo enlace amida estándar con sustituyentes en α estándar, sino peptidomiméticos utilizados habitualmente, otros enlaces modificados, cadenas laterales no existentes en la naturaleza, y modificaciones de cadena lateral, como se detalla más adelante.

20 Los términos "policiclilo" o "policíclico" se refieren a dos o más anillos (p.ej., cicloalquilos, cicloalquenos, cicloalquinos, arilos, heteroarilos, y/o heterociclilos) en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes, p.ej., los anillos son anillos condensados". Cada uno de los anillos del policiclo pueden ser sustituidos o no sustituidos.

25 El término "prevenir" está reconocido en la técnica, y cuando se usa en relación a una afección, tal como una recurrencia local (p.ej., dolor), una enfermedad tal como cáncer, un síndrome complejo tal como fallo cardíaco o cualquier otra afección médica, está bien entendido en la técnica, e incluye la administración de una composición que reduce la frecuencia de, o retrasa el comienzo de, síntomas de una afección médica en un sujeto en relación a un sujeto que no recibe la composición. Por tanto, la prevención del cáncer incluye, por ejemplo, reducir el número de crecimientos cancerosos detectables en una población de pacientes que reciben un tratamiento profiláctico en relación a una población de control no tratada, y/o retrasar la aparición de crecimientos cancerosos detectables en una población tratada frente a una población de control no tratada, p.ej., por una cantidad estadísticamente y/o clínicamente significativa. La prevención de una infección incluye, por ejemplo, reducir el número de diagnósticos de la infección en una población tratada frente a una población de control no tratada, y/o retrasar el comienzo de los síntomas de la infección en una población tratada frente a una población de control no tratada. La prevención del dolor incluye, por ejemplo, reducir la magnitud de, o alternativamente retrasar, las sensaciones de dolor experimentadas por sujetos en una población tratada frente a una población de control no tratada.

35 El término "profármaco" abarca compuestos que, bajo condiciones fisiológicas, se convierten en agentes terapéuticamente activos. Un método común para preparar un profármaco es incluir restos seleccionados que son hidrolizados bajo condiciones fisiológicas para revelar la molécula deseada. En otros ejemplos, el profármaco es convertido por una actividad enzimática del animal huésped.

40 El término tratamiento "profiláctico o terapéutico" está reconocido en la técnica, e incluye la administración al huésped de uno o más de las presentes composiciones. Si se administra antes de la manifestación clínica de la afección indeseada (p.ej., enfermedad u otro estado indeseado del animal huésped) entonces el tratamiento es profiláctico (es decir, protege al huésped contra el desarrollo de la afección indeseada), mientras que si se administra después de la manifestación de la afección indeseada, el tratamiento es terapéutico (es decir, se pretende disminuir, aliviar o estabilizar la afección indeseada existente o los efectos secundarios de la misma).

45 El término "proteasoma", como se emplea en la presente memoria, pretende incluir inmunoproteasomas y proteasomas constitutivos.

50 El término "sustituido" se refiere a restos que tienen sustituyentes que reemplazan a un hidrógeno en uno o más carbonos de la cadena principal. Se entenderá que "sustitución" o "sustituido" incluye la condición implícita de que tal sustitución está de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente, y que la sustitución da como resultado un compuesto estable, p.ej., que no sufre espontáneamente transformación tal como por redistribución, ciclización, eliminación, etc. Como se emplea en la presente memoria, el término "sustituido" se contempla para incluir todos los sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos. En líneas generales, los sustituyentes permisibles incluyen sustituyentes acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos de compuestos orgánicos. Los sustituyentes permisibles pueden ser uno o más y el mismo o diferente para compuestos orgánicos apropiados. Los heteroátomos tales como nitrógeno pueden tener sustituyentes hidrógeno y/o cualesquiera sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos descritos en la presente memoria que satisfagan las valencias de los heteroátomos. Los sustituyentes pueden incluir, por

ejemplo, un halógeno, un hidroxilo, un carbonilo (tal como un carboxilo, un alcoxicarbonilo, un formilo o un acilo), un tiocarbonilo (tal como un tioéster, un tioacetato o un tioformiato), un alcoxilo, un fosforilo, un fosfato, un fosfonato, un fosfinato, un amino, un amido, una amidina, una imina, un ciano, un nitro, un azido, un sulfhidrilo, un alquiltio, un sulfato, un sulfonato, un sulfamoilo, un sulfonamido, un sulfonilo, un heterociclilo, un aralquilo, o un resto aromático o heteroaromático. Los expertos en la técnica entenderán que los restos sustituidos sobre la cadena hidrocarbonada pueden estar ellos mismos sustituidos, si fuera apropiado.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto con respecto al presente método de tratamiento, se refiere a una cantidad del (de los) compuesto(s) en una preparación que, cuando se administra como parte de un régimen de dosificación deseado (a un mamífero, preferiblemente un ser humano) alivia un síntoma, mejora una afección, o ralentiza el comienzo de estados de enfermedad según estándares clínicamente aceptables para el trastorno o afección a ser tratado o el fin cosmético, p.ej., en una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico.

El término "tioéter" se refiere a un grupo alquilo, como se definió anteriormente, que tiene un resto de azufre unido al mismo. En compuestos preferidos, el "tioéter" se representa por -S-alquilo. Los grupos tioéter representativos incluyen metiltio, etiltio y similares.

Como se emplea en la presente memoria, el término "tratar" o "tratamiento" incluye revertir, reducir o detener los síntomas, signos clínicos y patología subyacente de una afección de una manera que mejore o establezca la afección de un sujeto.

Selectividad para el proteasoma 20S

Los inhibidores de enzimas descritos en la presente memoria son útiles en parte porque inhiben la acción del proteasoma 20S. Adicionalmente, a diferencia de otros inhibidores del proteasoma 20S, los compuestos descritos en la presente memoria son altamente selectivos hacia el proteasoma 20S, con respecto a otras enzimas proteasas. Esto es, los presentes compuestos muestran selectividades para el proteasoma 20S sobre otras proteasas tales como catepsinas, calpaínas, papaína, quimotripsina, tripsina, tripeptidilpepsidasa II. Las selectividades de los inhibidores de enzimas para el proteasoma 20S son tales que a concentraciones por debajo de aproximadamente 50 μM , los inhibidores de enzimas muestran inhibición de la actividad catalítica del proteasoma 20S, mientras que no muestran inhibición de la actividad catalítica de otras proteasas tales como catepsinas, calpaínas, papaína, quimotripsina, tripsina, tripeptidilpepsidasa II. En ejemplos preferidos, los inhibidores de enzimas muestran inhibición de la actividad catalítica del proteasoma 20S a concentraciones por debajo de aproximadamente 10 μM , mientras que no muestran inhibición de la actividad catalítica de otras proteasas a estas concentraciones. En ejemplos incluso más preferidos, los inhibidores de enzimas muestran inhibición de la actividad catalítica del proteasoma 20S a concentraciones por debajo de aproximadamente 1 μM , mientras que no muestran inhibición de la actividad catalítica de otras proteasas a estas concentraciones. Se describen ensayos cinéticos de enzimas en la solicitud de patente de EE.UU. con número de serie 09/569748, Ejemplo 2, y Stein et al., *Biochem.* (1996), 35, 3899-3908.

Selectividad para la actividad similar a quimotripsina

Realizaciones particulares de los compuestos inhibidores de enzimas descritos en la presente memoria son útiles además porque pueden inhibir eficazmente y selectivamente la actividad similar a quimotripsina del proteasoma 20S, en comparación con las actividades similar a tripsina y PGPH. La actividad similar a quimotripsina del proteasoma 20S se caracteriza por la escisión de péptidos en las proximidades inmediatas de residuos hidrófobos grandes. En particular, la actividad similar a quimotripsina de hidrolasas Ntn puede determinarse por escisión de un sustrato estándar. Los ejemplos de tales sustratos se conocen en la técnica. Por ejemplo, puede usarse un derivado de leucilvaliniltirosina. Se describen ensayos cinéticos de enzimas en la solicitud de patente de EE.UU. con número de serie 09/569748, Ejemplo 2, y Stein et al., *Biochem.* (1996), 35, 3899-3908.

Usos de inhibidores de enzimas

Las consecuencias biológicas de la inhibición del proteasoma son numerosas. La inhibición del proteasoma se ha sugerido como prevención y/o tratamiento de una multitud de enfermedades que incluyen, pero no se limitan a, enfermedades proliferativas, enfermedades neurotóxicas/degenerativas, enfermedad de Alzheimer, afecciones isquémicas, inflamación, enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario, HIV, cánceres, rechazo de injertos de órganos, choque séptico, inhibición de la presentación de antígenos, disminución de la expresión de genes víricos, infecciones parasíticas, afecciones asociadas con acidosis, degeneración macular, afecciones pulmonares, enfermedades de desgaste muscular, enfermedades fibróticas, enfermedades del crecimiento de los huesos y el cabello. Por lo tanto, las composiciones inhibidoras del proteasoma, tales como la clase de moléculas de epoxicetonas peptídicas biodisponibles por vía oral descritas en la presente memoria, proporcionan un medio para tratar pacientes con estas afecciones.

Las composiciones inhibidoras del proteasoma pueden usarse para tratar afecciones mediadas directamente por la función proteolítica del proteasoma, tales como desgaste muscular, o mediadas indirectamente por proteínas que son procesadas por el proteasoma tales como NF- κB . El proteasoma participa en la eliminación rápida y procesamiento post-translacional de proteínas (p.ej., enzimas) implicadas en la regulación celular (p.ej., ciclo celular,

transcripción de genes y rutas metabólicas), comunicación intercelular, y la respuesta inmune (p.ej., presentación de antígenos). Los ejemplos específicos discutidos más adelante incluyen proteína β -amiloide y proteínas reguladoras tales como ciclinas y factor de transcripción NF- κ B.

5 A nivel celular, se ha reportado la acumulación de proteínas poliubiquitinadas, cambios morfológicos celulares y apoptosis tras un tratamiento de células con diversos inhibidores del proteasoma. El proteasoma degrada muchas proteínas en eritrocitos en maduración y fibroblastos en crecimiento. En células privadas de insulina o suero, la velocidad de proteólisis casi se duplica. Inhibir el proteasoma reduce la proteólisis, reduciendo de este modo tanto la pérdida de proteínas musculares como la carga de nitrógeno sobre los riñones o el hígado. Se describe en la presente memoria el tratamiento de la cachexia y enfermedades de desgaste muscular. Los compuestos descritos en la presente memoria pueden ser útiles para tratar afecciones tales como cáncer, enfermedades infecciosas crónicas, fiebre, desuso muscular (atrofia) y denervación, lesión nerviosa, ayuno, fallo renal asociado con acidosis y fallo hepático. Véase, p.ej., Goldberg, patente de EE.UU. N° 5.340.736. Ciertos elementos de la descripción abarcan por lo tanto composiciones para: reducir la velocidad de degradación de proteínas musculares en una célula; reducir la velocidad de degradación de proteínas intracelulares; reducir la velocidad de degradación de la proteína p53 en una célula; e inhibir el crecimiento de cánceres relacionados con p53. Cada uno de estos métodos incluye poner en contacto una célula (in vivo o in vitro, p.ej., un músculo en un sujeto) con una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende un inhibidor del proteasoma descrito en la presente memoria.

20 La proteólisis intracelular genera péptidos pequeños para la presentación a linfocitos T para inducir respuestas inmunes mediadas por MHC de clase I. El sistema inmunitario criba células autólogas que están infectadas víricamente o han sufrido transformación oncogénica. En ciertos ejemplos se da un método para inhibir la presentación de antígenos en una célula, que comprende exponer la célula a un compuesto descrito en la presente memoria. Los inhibidores del proteasoma pueden usarse para tratar afecciones relacionadas con el sistema inmunitario tales como alergia, asma, rechazo de órganos/tejidos (enfermedad injerto frente a huésped), y enfermedades autoinmunes, que incluyen, pero no se limitan a, lupus, artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple y enfermedades inflamatorias del intestino (tales como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn). Por tanto, en ciertos ejemplos, la invención se refiere a un método para suprimir el sistema inmunitario de un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor del proteasoma descrito en la presente memoria.

30 También se describe en la presente memoria un método para alterar el repertorio de péptidos antigénicos producidos por el proteasoma u otro Ntn con actividad multicatalítica. Por ejemplo, si se inhibe selectivamente la actividad PGPH del proteasoma 20S, el proteasoma producirá y presentará un juego de péptidos antigénicos en moléculas MHC sobre las superficies de células diferente a los que serían producidos y presentados sin ninguna inhibición de enzimas, o bien con, por ejemplo, inhibición selectiva de la actividad similar a quimotripsina del proteasoma.

35 También se describe en la presente memoria el uso de composiciones inhibitoras del proteasoma descritas en la presente memoria para el tratamiento de enfermedades y afecciones neurodegenerativas, que incluyen, pero no se limitan a, apoplejía, daño isquémico al sistema nervioso, trauma neural (p.ej., daño cerebral percusivo, lesión de la médula espinal y daño traumático al sistema nervioso), esclerosis múltiple y otras neuropatías mediadas por el sistema inmunitario (p.ej., síndrome de Guillain-Barre y sus variantes, neuropatía axonal motora aguda, polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda y síndrome de Fisher), demencia compleja por HIV/SIDA, axonomía, neuropatía diabética, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, meningitis bacteriana, parasítica, fúngica y vírica, encefalitis, demencia vascular, demencia multi-infarto, demencia de cuerpos de Lewy, demencia del lóbulo frontal tal como enfermedad de Pick, demencias subcorticales (tales como parálisis de Huntington o supranuclear progresiva), síndromes de atrofia cortical focal (tales como afasia primaria), demencias metabólicas-tóxicas (tales como hipotiroidismo crónico o deficiencia de B12), y demencias causadas por infecciones (tales como sífilis o meningitis crónica).

50 La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por depósitos extracelulares de proteína β -amiloide (β -AP) en placas seniles y vasos cerebrales. La β -AP es un fragmento peptídico de 39 a 42 aminoácidos derivado de un precursor de la proteína amiloide (APP). Se conocen al menos tres isoformas de APP (695, 751, y 770 aminoácidos). Un empalme alternativo del mRNA genera las isoformas; el procesamiento normal afecta a una porción de la secuencia β -asp, impidiendo de este modo la generación de β -AP. Se cree que el procesamiento de proteínas anormal por el proteasoma contribuye a la abundancia de β -AP en el cerebro con Alzheimer. La enzima procesadora de APP en ratas contiene aproximadamente diez subunidades diferentes (22 kDa-32 kDa). La subunidad 25 kDa tiene una secuencia N-terminal de X-Gln-Asn-Pro-Met-X-Thr-Gly-Thr-Ser, que es idéntica a la subunidad β de la macropaína humana (Kojima, S. et al., Fed. Eur. Biochem. Soc., (1992) 304:57-60). La enzima procesadora de APP escinde en el enlace Gln¹⁵-Lys¹⁶; En presencia del ión calcio, la enzima también escinde en el enlace Met¹-Asp¹ y los enlaces Asp¹-Ala² para liberar el dominio extracelular de β -AP.

60 También se describe por lo tanto un método para tratar la enfermedad de Alzheimer, que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de una composición inhibitora del proteasoma descrita en la presente memoria. Tal tratamiento incluye reducir la velocidad del procesamiento β -AP, reducir la velocidad de la formación de placas de β -AP, reducir la velocidad de generación de β -AP, y reducir los signos clínicos de la enfermedad de Alzheimer.

La fibrosis es la formación excesiva y persistente de tejido cicatricial que resulta del crecimiento hiperproliferativo de fibroblastos, y está asociada con la activación de la ruta de señalización de TGF- β . La fibrosis implica la deposición extensiva de la matriz extracelular, y puede ocurrir dentro de virtualmente cualquier tejido o a través de varios tejidos diferentes. Normalmente, el nivel de proteínas de señalización intracelular (Smad) que activan la transcripción de genes diana tras la estimulación de TGF- β es regulado por la actividad del proteasoma (Xu et al., 2000). Sin embargo, se ha observado la degradación acelerada de los componentes de la señalización de TGF- β en cánceres y otras afecciones hiperproliferativas. Por tanto, también se describe un método para tratar afecciones hiperproliferativas tales como retinopatía diabética, degeneración macular, nefropatía diabética, glomeruloesclerosis, nefropatía por IgA, cirrosis, atresia biliar, fallo cardíaco congestivo, esclerodermia, fibrosis inducida por radiación y fibrosis pulmonar (fibrosis pulmonar idiopática, enfermedad vascular del colágeno, sarcoidosis, enfermedades pulmonares intersticiales y trastornos pulmonares extrínsecos). El tratamiento de las víctimas de quemaduras es dificultado a menudo por la fibrosis, por tanto, en ciertas realizaciones, la invención se refiere a la administración tópica o sistémica de los inhibidores para tratar las quemaduras. El cierre de las heridas después de cirugía está asociado a menudo con cicatrices desfigurantes, que pueden ser impedidas por inhibición de la fibrosis. Por tanto, también se describe un método para la prevención o reducción de la formación de cicatrices.

Ciertos inhibidores del proteasoma bloquean tanto la degradación como el procesamiento de NF- κ B ubiquitinado in vitro e in vivo. Los inhibidores del proteasoma también bloquean la degradación de I κ B-A y la activación de NF- κ B (Palombella, et al. Cell (1994) 78:773-785; y Traenckner, et al., EMBO J. (1994) 13:5433-5441). Se describe en la presente memoria un método para inhibir la degradación de I κ B- α , que comprende poner en contacto la célula con un compuesto descrito en la presente memoria. También se describe en la presente memoria un método para reducir el contenido celular de NF- κ B en una célula, músculo, órgano o sujeto, que comprende poner en contacto la célula, músculo, órgano o sujeto con un compuesto inhibidor del proteasoma descrito en la presente memoria.

El NF- κ B es un miembro de la familia de proteínas Rel. La familia Rel de proteínas activadoras transcripcionales puede ser dividida en dos grupos. El primer grupo requiere procesamiento proteolítico, e incluye p50 (NF- κ B1, 105 kDa) y p52 (NF- κ 2, 100 kDa). El segundo grupo no requiere procesamiento proteolítico, e incluye p65 (RelA, Rel (c-Rel), y RelB). Pueden ser formados tanto homo- como heterodímeros por los miembros de la familia Rel; El NF- κ B, por ejemplo, es un heterodímero p50-p65. Después de una fosforilación y ubiquitinación de I κ B y p105, las dos proteínas son degradadas y procesadas, respectivamente, para producir NF- κ B activo, que se transloca desde el citoplasma hasta el núcleo. También es procesado p105 ubiquitinado por proteasomas purificados (Palombella et al., Cell (1994) 78:773-785). El NF- κ B activo forma un complejo potenciador estereoespecífico con otros activadores transcripcionales y, p.ej., HMG I(Y), induciendo la expresión selectiva de un gen particular.

El NF- κ B regula genes implicados en la respuesta inmune e inflamatoria, y eventos mitóticos. Por ejemplo, se requiere NF- κ B para la expresión del gen κ de inmunoglobulina de cadena ligera, el gen de cadena α del receptor IL-2, el gen del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I, y varios genes de citocinas que codifican, por ejemplo, IL-2, IL-6, factor estimulante de colonias de granulocitos, y IFN- β (Palombella et al., Cell (1994) 78:773-785). También se describen métodos para afectar al nivel de expresión de IL-2, MHC-I, IL-6, TNF α , IFN- β o cualquiera de las otras proteínas mencionadas anteriormente, comprendiendo cada método administrar a un sujeto una cantidad eficaz de una composición inhibidora del proteasoma descrita en la presente memoria. Los complejos que incluyen p50 son mediadores rápidos de respuestas inflamatorias e inmunes agudas (Thanos, D. y Maniatis, T., Cell (1995) 80:529-532).

Se considera que la sobreproducción de citocinas inducidas por lipopolisacáridos (LPS) tales como TNF α es capital para los procedimientos asociados con choque séptico. Además, se acepta generalmente que la primera etapa en la activación de las células por LPS es la unión de LPS a receptores de membrana específicos. Las subunidades α y β del complejo de proteasoma 20S se han identificado como proteínas que se unen a LPS, sugiriendo que la transducción de señales inducida por LPS puede ser una diana terapéutica importante en el tratamiento o prevención de la sepsis (Qureshi, N. et al., J. Immun. (2003) 171:1515-1525). Por lo tanto, las composiciones inhibidoras del proteasoma pueden usarse para la inhibición de TNF α para prevenir y/o tratar el choque séptico.

El NF- κ B también participa en la expresión de los genes de adhesión celular que codifican E-selectina, P-selectina, ICAM, y VCAM-1 (Collins, T., Lab. Invest. (1993) 68:499-508). Se describe en la presente memoria un método para inhibir la adhesión celular (p.ej., adhesión celular mediada por E-selectina, P-selectina, ICAM, o VCAM-1), que comprende poner en contacto una célula con (o administrar a un sujeto) una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende un inhibidor del proteasoma descrito en la presente memoria.

El NF- κ B también se une específicamente al potenciador/promotor de HIV. Cuando se compara con el Nef de mac239, la proteína reguladora de HIV Nef de pbj 14 difiere en dos aminoácidos en la región que controla la unión a proteínas cinasas. Se cree que la proteína cinasa señala la fosforilación de I κ B, desencadenando la degradación de I κ B mediante la ruta de la ubiquitina-proteasoma. Después de la degradación, se libera NF- κ B al núcleo, potenciando así la transcripción del HIV (Cohen, J., Science, (1995) 267:960). Se describe en la presente memoria un método para inhibir o reducir la infección por HIV en un sujeto, o un método para disminuir el nivel de expresión de genes víricos, comprendiendo cada método administrar al sujeto una cantidad eficaz de una composición inhibidora del proteasoma descrita en la presente memoria.

Las infecciones víricas contribuyen a la patología de muchas enfermedades. Afecciones cardíacas tales como miocarditis incipiente y cardiomiopatía dilatada han sido relacionadas con el coxsackievirus B3. En análisis comparativos de una micromatriz de genoma completo de corazones de ratones infectados, subunidades específicas del proteasoma fueron reguladas en ascenso uniformemente en los corazones de ratones que desarrollaron miocarditis crónica (Szalay et al, Am J Pathol 168:1542-52, 2006). Algunos virus utilizan el sistema ubiquitina-proteasoma en la etapa de entrada vírica donde el virus es liberado desde el endosoma hacia el citosol. El virus de hepatitis de ratón (MHV) pertenece a la familia *Coronaviridae*, que incluye también el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS). Yu y Lai (J Virol 79:644-648, 2005) demostraron que el tratamiento de células infectadas con MHV con un inhibidor del proteasoma dio como resultado una disminución en la replicación vírica, que se correlaciona con un título vírico reducido en comparación con el de células no tratadas. El virus de la hepatitis B humana (HBV), un miembro de la familia de virus *Hepadreaviridae*, requiere asimismo proteínas de sobre codificadas víricamente para propagarse. Inhibir la ruta de la degradación del proteasoma causa una reducción significativa en la cantidad de proteínas de sobre secretadas (Simsek et al, J Virol 79:12914-12920, 2005). Además de HBV, otros virus de hepatitis (A, C, D y E) pueden utilizar también la ruta de la degradación de ubiquitina-proteasoma para secreción, morfogénesis y patogénesis. Se describe en la presente memoria un método para tratar la infección vírica, tal como SARS o hepatitis A, B, C, D y E, que comprende poner en contacto una célula con (o administrar a un sujeto) una cantidad eficaz de un compuesto descrito en la presente memoria.

La lesión por isquemia y reperfusión da como resultado hipoxia, una afección en la que hay una deficiencia del oxígeno que alcanza los tejidos del cuerpo. Esta afección causa una degradación aumentada de I κ -B α , dando como resultado de este modo la activación de NF- κ B (Koong et al., 1994). Se ha demostrado que la gravedad de la lesión que da como resultado hipoxia puede ser reducida con la administración de un inhibidor del proteasoma (Gao et al., 2000; Bao et al., 2001; Pye et al., 2003). Por lo tanto, se describe en la presente memoria un método para tratar una afección isquémica o lesión por reperfusión que comprende administrar a un sujeto necesitado de tal tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor del proteasoma descrito en la presente memoria. Los ejemplos de tales afecciones o lesiones incluyen, pero no se limitan a, síndrome coronario agudo (placas vulnerables), enfermedad oclusiva arterial (oclusiones cardíacas, cerebrales, arteriales periféricas y vasculares), aterosclerosis (esclerosis coronaria, enfermedad de la arteria coronaria), infartos, fallo cardíaco, pancreatitis, hipertrofia miocárdial, estenosis y restenosis.

Otros factores de transcripción eucarióticos que requieren procesamiento proteolítico incluyen el factor de transcripción general TFIIA, la proteína accesoria del virus del herpes simple VP16 (factor de célula huésped), la proteína factor 2 reguladora de IFN inducible por virus, y la proteína 1 de unión a elementos reguladores de esterol unido a la membrana.

Se describen en la presente memoria métodos para afectar a los ciclos celulares eucarióticos dependientes de ciclina, que comprenden exponer una célula (in vitro o in vivo) a una composición inhibidora del proteasoma descrita en la presente memoria. Las ciclinas son proteínas implicadas en el control del ciclo celular. El proteasoma participa en la degradación de las ciclinas. Los ejemplos de ciclinas incluyen ciclinas mitóticas, ciclinas G1 y ciclina B. La degradación de las ciclinas permite a una célula salir de una fase del ciclo celular (p.ej., mitosis) y entrar en otra (p.ej., división). Se cree que todas las ciclinas están asociadas con la proteína cinasa p34^{cdc2} o cinasas relacionadas. La señal dirigida a proteólisis está localizada en los aminoácidos 42-RAALGNISEN-50 (caja de destrucción). Hay evidencias de que la ciclina es convertida en una forma vulnerable a una ubiquitina ligasa, o que una ligasa específica a ciclina es activada durante la mitosis (Ciechanover, A., Cell, (1994) 79:13-21). La inhibición del proteasoma inhibe la degradación de la ciclina, y por lo tanto inhibe la proliferación celular, por ejemplo, en cánceres relacionados con ciclina (Kumatori et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990) 87:7071-7075). También se describe un método para tratar una enfermedad proliferativa en un sujeto (p.ej., cáncer, psoriasis o restenosis), que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una composición inhibidora del proteasoma descrita en la presente memoria. También se describe en la presente memoria un método para tratar la inflamación relacionada con ciclina en un sujeto, que comprende administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición inhibidora del proteasoma descrita en la presente memoria.

También se describen métodos para afectar a la regulación dependiente de proteasoma de oncoproteínas y métodos para tratar o inhibir el crecimiento del cáncer, comprendiendo cada método exponer una célula (in vivo, p.ej., en un sujeto, o in vitro) a una composición inhibidora del proteasoma descrita en la presente memoria. Las proteínas E6 derivadas de HPV-16 y HPV-18 estimulan la conjugación y degradación dependiente de ATP y ubiquitina de p53 en lisados de reticulocitos brutos. Se ha demostrado que el oncogén recesivo p53 se acumula a la temperatura no permisiva en una línea celular con un El termolábil mutado. Niveles elevados de p53 pueden conducir a apoptosis. Los ejemplos de proto-oncoproteínas degradadas por el sistema de ubiquitina incluyen c-Mos, c-Fos, y c-Jun. También se describe un método para tratar la apoptosis relacionada con p53, que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de una composición inhibidora de proteasoma descrita en la presente memoria.

Las composiciones descritas pueden ser útiles para el tratamiento de una infección parasítica, tal como infecciones causadas por parásitos protozoicos. Se considera que el proteasoma de estos parásitos está implicado principalmente en actividades de diferenciación y replicación celular (Paugam et al., Trends Parasitol. 2003, 19(2): 55-59). Además, se ha mostrado que especies de entamoeba pierden la capacidad de enquistación cuando son

expuestas a inhibidores del proteasoma (Gonzales, et al., Arch. Med. Res. 1997,28, Spec No: 139-140). En ciertos casos, los protocolos administrativos para las composiciones inhibidoras del proteasoma son útiles para el tratamiento de infecciones parasíticas en seres humanos causadas por un parásito protozoico seleccionado de Plasmodium sps. (incluyendo P. falciparum, P. vivax, P. malariae y P. ovale, que causan la malaria), Trypanosoma sps. (incluyendo T. cruzi, que causa la enfermedad de Chagas', y T. brucei, que causa la enfermedad del sueño africana), Leishmania sps. (incluyendo L. amazonensis, L. donovani, L. infantum, L. mexicana, etc.), Pneumocystis carinii (un protozoo conocido por causar neumonía en pacientes de SIDA y otros paciente inmunodeprimidos), Toxoplasma gondii, Entamoeba histolytica, Entamoeba invadens y Giardia lamblia. En ciertos ejemplos, las composiciones inhibidoras del proteasoma descritas son útiles para el tratamiento de infecciones parasíticas en animales y ganado causadas por un parásito protozoico seleccionado de Plasmodium hermani, Cryptosporidium sps., Echinococcus granulosus, Eimeria tenella, Sarcocystis neurona y Neurospora crassa. Se describen otros compuestos útiles como inhibidores del proteasoma en el tratamiento de enfermedades parasíticas en la solicitud de patente internacional WO 98/10779.

En los ejemplos, las composiciones inhibidoras del proteasoma inhiben la actividad del proteasoma en un parásito sin recuperación en las células rojas de la sangre y las células blancas de la sangre. En ciertos de tales ejemplos, la larga semivida de las células de la sangre puede proporcionar protección prolongada con respecto a la terapia contra exposiciones recurrentes a parásitos. En ciertas realizaciones, las composiciones inhibidoras del proteasoma pueden proporcionar protección prolongada con respecto a la quimioprofilaxis contra una infección futura.

Se ha demostrado también que inhibidores que se unen al proteasoma 20S estimulan la formación de hueso en cultivos de órganos óseos. Además, cuando tales inhibidores se han administrado sistemáticamente a ratones, ciertos inhibidores del proteasoma aumentaron el volumen óseo y las velocidades de formación de hueso más de 70% (Garrett, I. R. et al., J. Clin. Invest. (2003) 111: 1771-1782), sugiriendo por lo tanto que la maquinaria de ubiquitina-proteasoma regula la diferenciación de osteoblastos y la formación de hueso. Por lo tanto, las composiciones inhibidoras del proteasoma descritas pueden ser útiles en el tratamiento y/o prevención de enfermedades asociadas con la pérdida ósea, tales como osteoporosis.

La inhibición del proteasoma ya ha sido validada como una estrategia terapéutica para el tratamiento del cáncer, particularmente mieloma múltiple. Sin embargo, en base a modelos tanto in vitro como in vivo, se predeciría que podría servir como estrategia contra otros cánceres, particularmente malignidades relacionadas con el hemo y tumores sólidos. Por lo tanto, se describe en la presente memoria un método para tratar cánceres que comprende administrar a un sujeto necesitado de tal tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor del proteasoma descrito en la presente memoria.

Administración

Los compuestos preparados como se describe en la presente memoria pueden administrarse de diversas formas, dependiendo del trastorno a ser tratado y la edad, condición y peso corporal del paciente, como es bien sabido en la técnica. Por ejemplo, donde los compuestos son para ser administrados por vía oral, pueden formularse como comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos o jarabes; o para administración parenteral, pueden formularse como inyecciones (intravenosas, intramusculares o subcutáneas), preparaciones de infusión por goteo o supositorios. Para aplicación por la vía de la membrana mucosa oftálmica, pueden formularse como gotas para los ojos o pomadas para los ojos. Estas formulaciones pueden prepararse por medios convencionales, y si se desea, el ingrediente activo puede mezclarse con cualquier aditivo o excipiente convencional, tal como un aglutinante, un agente disgregante, un lubricante, un corrector, un agente solubilizante, un auxiliar de la suspensión, un agente emulsionante, un agente de revestimiento, una ciclodextrina y/o un amortiguador. Aunque la dosificación variará dependiendo de los síntomas, la edad y el peso corporal del paciente, la naturaleza y gravedad del trastorno a ser tratado o prevenido, la vía de administración y la forma del fármaco, en general, se recomienda una dosificación diaria de 0,01 a 2.000 mg del compuesto para un paciente humano adulto, y esto puede administrarse en una única dosis o en dosis divididas. La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con un material de vehículo para producir una forma de dosificación única será generalmente la cantidad del compuesto que produzca un efecto terapéutico.

El momento preciso de administración y/o la cantidad de la composición que dará los resultados más eficaces en términos de eficacia de tratamiento en un paciente dado dependerán de la actividad, farmacocinética y biodisponibilidad de un compuesto particular, la condición fisiológica del paciente (incluyendo edad, sexo, tipo y fase de la enfermedad, condición física general, respuesta a una dosificación dada y tipo de medicación), vía de administración, etc. Sin embargo, las directrices anteriores pueden usarse como base para ajustar finalmente el tratamiento, p.ej., determinar el momento y/o cantidad óptimos de administración, lo que requerirá no más que una experimentación de rutina que consiste en hacer un seguimiento del sujeto y ajustar la dosificación y/o la elección de los tiempos oportunos.

La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea en la presente memoria para hacer referencia a aquellos ligandos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que sean, dentro del alcance del juicio médico sensato, adecuados para el uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación excesivos, proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable.

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

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

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

También pueden estar presentes en las composiciones agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como laurilsulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de revestimiento, agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes.

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

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

En formas de dosificación sólidas para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el ingrediente activo se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato de dicalcio, y/o cualquiera de los siguientes: (1) cargas o extensores, tales como almidones, ciclodextrinas, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o goma arábiga; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato de sodio; (5) agentes retardantes de la disolución, tales como parafina; (6) aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol acetílico y monoestearato de glicerol; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio y mezclas de los mismos; y (10) agentes colorantes. En el caso de las cápsulas, comprimidos y

píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes amortiguadores. También pueden emplearse como cargas composiciones sólidas de un tipo similar en cápsulas rellenas de gelatina blanda y dura usando excipientes tales como lactosa o azúcar de leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

5 Un comprimido se puede preparar por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos preparados por compresión pueden prepararse usando aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, glicolato de almidón sódico o carboximetilcelulosa sódica reticulada), agente tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeados pueden prepararse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del (de los) inhibidor(es) en polvo
10 humedecido(s) con un diluyente líquido inerte.

Los comprimidos, y otras formas de dosificación sólidas, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden ser opcionalmente marcados o preparados con revestimientos y cortezas, tales como revestimientos entéricos y otros revestimiento bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Pueden formularse también para proporcionar una liberación lenta o controlada del ingrediente activo en los mismos, usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Pueden esterilizarse, por ejemplo, por filtración a través de un filtro que retiene bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en la forma de composiciones sólidas estériles que pueden ser disueltas en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de su uso. Estas
15 composiciones pueden contener opcionalmente también agentes opacificantes, y pueden ser de una composición que libere el (los) ingrediente(s) activo(s) solamente, o preferentemente, en una cierta parte del tracto intestinal, opcionalmente, de una manera retardada. Los ejemplos de composiciones recubridoras que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también puede estar en forma microencapsulada, si fuera apropiado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

Las formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen emulsiones farmacéuticamente aceptables, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires. Además del ingrediente activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, castaña, maíz, germen de trigo, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácido graso de sorbitán, y mezclas de los
25 mismos.

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

35 Las suspensiones, además del (de los) inhibidor(es) activo(s) puede contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilensorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

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

Las formulaciones que son adecuadas para administración vaginal también incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas, o formulaciones de pulverización que contienen vehículos tales como los que son conocidos en la técnica como apropiados.

Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un(os) inhibidor(es) incluyen polvos, pulverizadores, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. El componente activo puede mezclarse bajo condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y con cualesquiera conservantes, amortiguadores o propelentes que puedan requerirse.

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

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

El (los) inhibidor(es) puede(n) ser administrado(s) alternativamente por aerosol. Esto se lleva a cabo preparando un aerosol acuoso, preparación liposomal o partículas sólidas que contienen la composición. Podría usarse una suspensión no acuosa (p.ej., propelente de fluorocarbono). Se prefieren nebulizadores sónicos porque minimizan la exposición del agente al cizallamiento, que puede dar como resultado la degradación del compuesto.

- 5 Habitualmente, un aerosol acuoso se prepara formulando una disolución o suspensión acuosa del agente junto con vehículos y estabilizantes farmacéuticamente aceptables convencionales. Los vehículos y estabilizantes varían con los requisitos de la composición particular, pero incluyen típicamente tensioactivos no iónicos (Tweens, Pluronic, ésteres de sorbitán, lecitina, cremóforos), codisolventes farmacéuticamente aceptables tales como polietilenglicol, proteínas inocuas como albúmina de suero, ácido oleico, aminoácidos tales como glicina, amortiguadores, sales, azúcares o alcoholes de azúcar. Los aerosoles se preparan generalmente a partir de disoluciones isotónicas.

10 Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar una entrega controlada de un(os) inhibidor(es) al cuerpo. Tales formas de dosificación pueden prepararse disolviendo o dispersando el agente en el medio apropiado. También pueden usarse potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del (de los) inhibidor(es) a través de la piel. La velocidad de tal flujo puede ser controlada proporcionando una membrana controladora de la velocidad o bien dispersando el inhibidor(es) en una matriz polimérica o gel.

15 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración parenteral comprenden uno o más inhibidor(es) en combinación con uno o más disoluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que pueden ser reconstituidos en disoluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso, que pueden contener antioxidantes, amortiguadores, bacteriostáticos, solutos que hacen a la formulación isotónica con la sangre del receptor al que se destina o agentes de suspensión o espesantes.

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

25 Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de los microorganismos puede asegurarse mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes de ajuste de la tonicidad, tales como azúcares, cloruro de sodio y similares en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede ser producida por la inclusión de agentes que retrasan la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

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

35 Las formas inyectables de actividad prolongada se preparan formando matrices microencapsuladas del (de los) inhibidor(es) en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicolida. Dependiendo de la relación de fármaco a polímero y la naturaleza del polímero particular empleado, la velocidad de liberación del fármaco puede ser controlada. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). También se preparan formulaciones inyectables de actividad prolongada atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales.

40 Las preparaciones de agentes pueden darse por vía oral, parenteral, tópica o rectal. Son dadas, por supuestos, por formas adecuadas para cada vía de administración. Por ejemplo, se administran en forma de comprimidos o cápsulas, por inyección, inhalación, loción ocular, pomada, supositorio, infusión; por vía tópica por loción o pomada; y por vía rectal por supositorios. Se prefiere la administración oral.

45 Las frases "administración parenteral" y "administrado por vía parenteral", como se emplean en la presente memoria, significan modos de administración distintos a administración lateral y tópica, habitualmente por inyección, e incluyen, sin limitación, inyección intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoide, intraespinal e intraesternal, e infusión.

50 Las frases "administración sistémica", "administrado sistémicamente", "administración periférica" y "administrado periféricamente", como se emplean en la presente memoria, significan la administración de un ligando, fármaco u otro material distinta a directamente en el sistema nervioso central, de tal modo que entra en el sistema del paciente y por tanto, es sometida al metabolismo y otros procesos similares, por ejemplo, administración subcutánea.

Estos inhibidores pueden ser administrados a los seres humanos y otros animales para terapia por cualquier vía adecuada de administración, que incluye por vía oral, nasal, como por, por ejemplo, un pulverizador, rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal, y tópica, como por polvos, pomadas o gotas, incluyendo por vía bucal y sublingual.

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

Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden ser variados para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para conseguir la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración particulares, sin ser tóxicas para el paciente.

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

También se describe en la presente memoria una terapia conjunta en donde se administran uno o más de otros agentes terapéuticos con el inhibidor del proteasoma. Tal tratamiento conjunto puede conseguirse por medio de la dosificación simultánea, secuencial o independiente de los componentes individuales del tratamiento.

En ciertos ejemplos, se administra conjuntamente un compuesto con uno o más de otros inhibidor(es) del proteasoma.

En ciertos ejemplos, se administra conjuntamente un compuesto descrito en la presente memoria con un quimioterapéutico. Los quimioterapéuticos adecuados pueden incluir productos naturales tales como alcaloides de la vinca (es decir, vinblastina, vincristina y vinorelbina), paclitaxel, epididodofilotoxinas (es decir, etopósido, tenipósido), antibióticos (dactinomicina (actinomicina D) daunorubicina, doxorubicina e idarubicina), antraciclinas, mitoxantrona, bleomicinas, plicamicina (mitramicina) y mitomicina, enzimas (L-asparaginasa, que metaboliza sistémicamente la L-asparagina y priva a las células que no tienen la capacidad de sintetizar su propia asparagina); agentes antiplaquetas; agentes de alquilación antiproliferativos/antimitóticos tales como mostazas de nitrógeno (mecloretamina, ciclofosfamida y análogos, melfalán, clorambucilo), etileniminas y metilmelaminas (hexametilmelamina y tiotepa), sulfonatos de alquilo (busulfán), nitrosoureas (carmustina (BCNU) y análogos, estreptozocina), trazenos - dacarbazina (DTIC); antimetabolitos antiproliferativos/antimitóticos tales como análogos del ácido fólico (metotrexato), análogos de pirimidina (fluorouracilo, floxuridina y citarabina), análogos de purina e inhibidores relacionados (mercaptopurina, tioguanina, pentostatina y 2-clorodesoxiadenosina); inhibidores de la aromatasas (anastrozol, exemestano y letrozol); y complejos de coordinación de platino (cisplatino, carboplatino), procarbazona, hidroxiaurea, mitotano, aminoglutetimida; inhibidores de la histona desacetilasa (HDAC); hormonas (es decir, estrógeno) y agonistas de hormonas tales como agonistas de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) (goserelina, leuprolida y triptorelina). Otros agentes quimioterapéuticos pueden incluir mecloretamina, camptotecina, ifosfamida, tamoxifeno, raloxifeno, gemcitabina, navelbina, o cualquier análogo o variante derivada de los anteriores.

En ciertos ejemplos, se administra un compuesto descrito en la presente memoria conjuntamente con una citocina. Las citocinas incluyen, pero no se limitan a, Interferón- γ , $-\alpha$, y $-\beta$, Interleucinas 1-8, 10 y 12, Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos y Monocitos (GM-CSF), TNF- α y $-\beta$, y TGF- β .

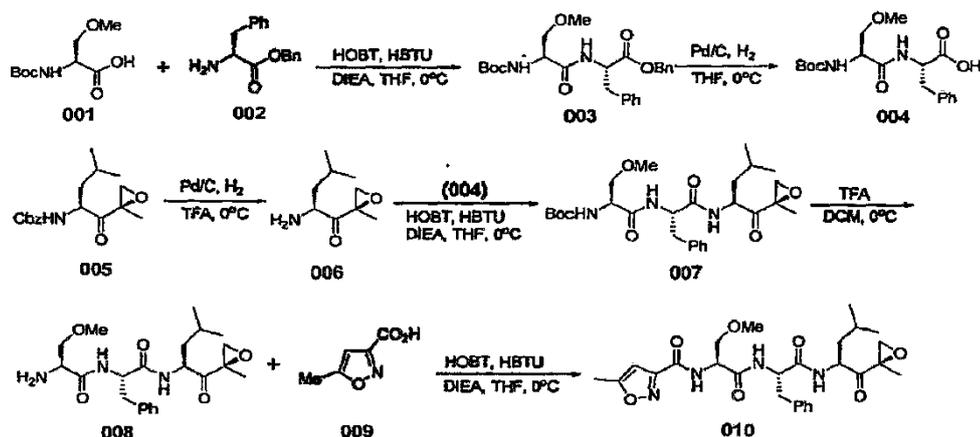
En ciertos ejemplos, se administra un compuesto descrito en la presente memoria conjuntamente con un esteroide. Los esteroides adecuados pueden incluir, pero no se limitan a, 21-acetoxipregnenolona, alclometasona, algestona, amcinonida, beclometasona, betametasona, budesonida, cloroprednisona, clobetasol, clocortolona, clprednol, corticosterona, cortisona, cortivazol, deflazacort, desonida, desoximetasona, dexametasona, diflorasona, diflucortolona, difuprednato, enoxolona, fluazacort, flucloronida, flumetasona, flunisolido, acetónido de fluocinolona, fluocinonida, fluocortina butilo, fluocortolona, fluorometolona, acetato de fluperolona, acetato de fluprednideno, fluprednisolona, flurandrenolida, propionato de fluticasona, formocortol, halcinonida, propionato de halobetasol, halometasona, hidrocortisona, etabonato de loteprednol, maziaprednol, medrisona, meprednisolona, metilprednisolona, furoato de mometasona, parametasona, prednicarbato, prednisolona, 25-dietilaminoacetato de prednisolona, fosfato de prednisolona sodio, prednisolona, prednival, prednilideno, rimexolona, tixocortol, triamcinolona, acetónido de triamcinolona, benetonido de triamcinolona, hexacetónido de triamcinolona, y sales y/o derivados de los mismos.

En ciertos ejemplos, se administra un compuesto descrito en la presente memoria conjuntamente con un agente inmunoterapéutico. Los agentes inmunoterapéuticos adecuados pueden incluir, pero no se limitan a, moduladores de MDR (verapamilo, valsopodar, biricodar, tariquidar, laniquidar), rapamicina, micofenilato mofetilo, ciclofosomida, ciclosporina, talidomida y anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos monoclonales pueden ser desnudos o bien conjugados, tales como rituximab, tositumomab, alemtuzumab, daclizumab, epratuzumab, ibritumomab tiuxetan, gemtuzumab ozogamicina, bevacizumab, cetuximab, erlotinib y trastuzumab.

Ejemplos

Ejemplo 1 (Ejemplo de referencia)

Esquema 1: Síntesis del Compuesto 010



10

Compuesto (003):

A una disolución a 0°C de N-Boc serina(éter metílico) (001) (2,5 g, 11,4 mmol), hidrocloreto de éster bencílico de L-alanina (002) (3,3 g, 11,4 mmol), HOBT (2,5 g, 18,2 mmol) y HBTU (6,9 g, 18,24 mmol) en tetrahidrofurano (400 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (8,0 ml, 45,6 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) durante 10 minutos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas. La mayoría de los disolventes se retiraron a presión reducida y el material resultante se diluyó con acetato de etilo (300 ml). Después se lavó la disolución con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (100 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía de desarrollo rápido (hexano y acetato de etilo), y el compuesto deseado (003) (4,4 g) se aisló y caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 457,23).

15

20

Compuesto (004):

A una disolución a 0°C de (003) (5,14 g, 11,25 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió Pd/C al 10% (500 mg). La mezcla resultante se dejó en agitación en una atmósfera de hidrógeno durante 4 horas. La mezcla se filtró a través de Celite-545 y la pasta del filtro se lavó con tetrahidrofurano. El filtrado orgánico se concentró a presión reducida y se puso a alto vacío durante 2 horas para proporcionar (004), confirmado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 367,18), que se usó sin purificación adicional.

25

Compuesto (006):

A una disolución de (005) (para una síntesis de (005) véase la solicitud de patente de EE.UU. con número de serie 11/131,688) (3,9 g, 13 mmol) en ácido trifluoroacético (50 ml) se añadió Pd/C al 10% (600 mg). La mezcla resultante se dejó en agitación en una atmósfera de hidrógeno durante 6 horas. La mezcla se filtró a través de Celite-545 y la pasta del filtro se lavó con diclorometano (200 ml). El filtrado se concentró a presión reducida y se puso a alto vacío durante una noche para proporcionar (006), confirmado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 172,13), y se usó en la transformación posterior sin purificación adicional.

30

Compuesto (007):

A una disolución a 0°C de (004) y (006), HOBT (2,5 g, 18 mmol) y HBTU (6,9 g, 18 mmol) en tetrahidrofurano (400 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropilamina (8 ml, 46 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) durante 10 minutos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas. La mayoría de los disolventes se retiraron a presión reducida y el material remanente se diluyó con acetato de etilo (400 ml). La disolución resultante se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el

40

residuo se purificó por cromatografía de desarrollo rápido (hexano y acetato de etilo), para proporcionar (007) (3,5 g), caracterizado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 520,29).

Compuesto (008):

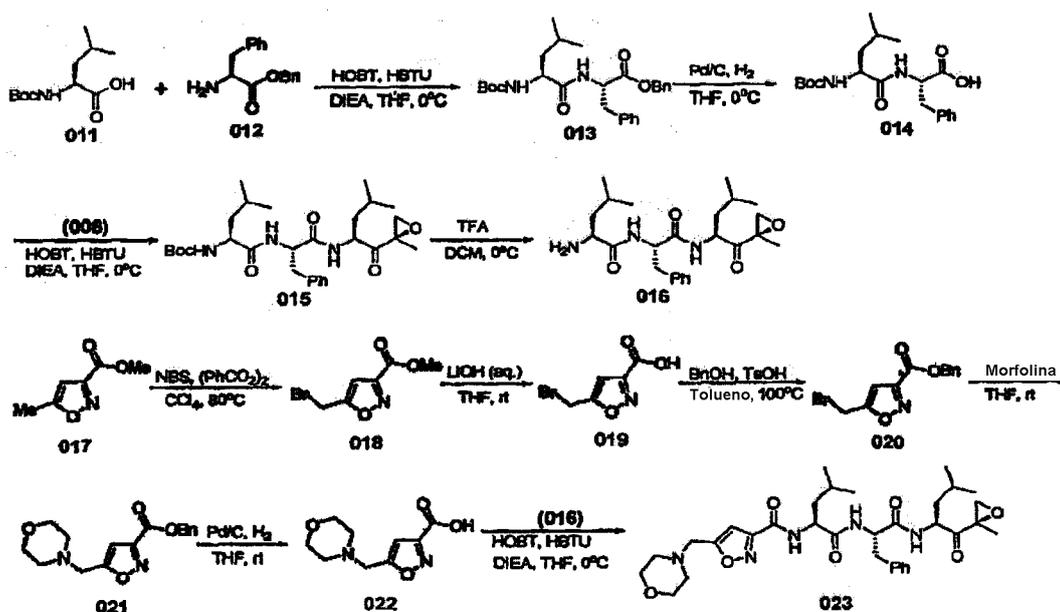
- 5 A una disolución a 0°C de (007) (320 mg, 0,616 mmol) en diclorometano (10 ml) se añadió ácido trifluoroacético (10 ml) y la disolución resultante se agitó a la misma temperatura durante otra hora. Las capas orgánicas se concentraron a presión reducida y después se pusieron a alto vacío durante 2 horas para proporcionar (008), confirmado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 420,24), que se usó sin purificación adicional.

Compuesto (010):

- 10 A una disolución a 0°C de (008), ácido 5-metil-isoxazol-3-carboxílico (009) (94 mg, 0,74 mmol), HOBT (135 mg, 1,0 mmol) y HBTU (350 mg, 1,0 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml, 2,5 mmol) en tetrahidrofurano (2 ml) durante 5 minutos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas y después se diluyó con acetato de etilo (200 ml). Después se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml) y las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (010) (195 mg), caracterizado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 529,26); >90% de inhibición del proteasoma CT-L a 40 mg/kg PO.

Ejemplo 2 (Ejemplo de Referencia)

Esquema 2: Síntesis del Ejemplo 023



- 20 Compuesto (013):

- 25 A una disolución a 0°C de N-Boc L-leucina (011) (2,6 g, 11 mmol), hidrocloreto de éster bencílico de L-fenilalanina (012) (2,9 g, 10 mmol), HOBT (1,7 g, 11 mmol) y HBTU (3,9 g, 11 mmol) en tetrahidrofurano (200 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (4,9 ml, 30 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) durante 5 minutos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas y se hizo homogénea. Después se diluyó con acetato de etilo (300 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (100 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía de desarrollo rápido (hexano y acetato de etilo), para proporcionar (013) (4,4 g), caracterizado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 469,26).

Compuesto (014):

- 30 A una disolución a 0°C de (013) (4,32 g, 9,24 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió Pd/C al 10% (500 mg). La mezcla resultante se dejó en agitación en una atmósfera de hidrógeno durante 4 horas. La mezcla se filtró a través de Celite-545 y la pasta del filtro se lavó con tetrahidrofurano. El filtrado orgánico se concentró a presión reducida y se puso a alto vacío durante una noche para proporcionar (014) (3,5 g), confirmado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 378,22), que se usó sin purificación adicional.

Compuesto (015):

5 A una disolución a 0°C de (014) (3,5 g, 9,24 mmol) y (006) (2,4 g, 11 mmol), HOBT (1,7 g, 11 mmol) y HBTU (3,9 g, 11 mmol) en tetrahidrofurano (200 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (4,9 ml, 30 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) durante 5 minutos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas y se hizo homogénea. Después se diluyó con acetato de etilo (400 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía de desarrollo rápido (hexano y acetato de etilo), y el compuesto deseado (015) (5,0 g) se aisló y caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 532,33).

10 Compuesto (016):

A una disolución a 0°C de (015) (5,0 g, 9,40 mmol) en diclorometano (50 ml) se añadió ácido trifluoroacético (20 ml) durante 5 minutos, y la disolución resultante se agitó a la misma temperatura durante otra hora. Las capas orgánicas se concentraron a presión reducida y se pusieron a alto vacío durante una noche para proporcionar (016), confirmado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 432,33), que se usó sin purificación adicional.

15 Compuesto (018):

20 A una disolución de 5-metil-3-isoxazolcarboxilato de metilo (017) (14,1 g, 100 mmol) en tetracloruro de carbono (500 ml) se añadió N-bromosuccinimida (23 g, 130 mmol) y peróxido de benzoilo (2,5 g, 10 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a 80°C en una atmósfera de argón durante una noche. Después se enfrió la reacción y se diluyó con 500 ml de diclorometano, y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (3 x 100 ml). La fase acuosa se extrajo con 200 ml de diclorometano, y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO₄. Se retiraron los disolventes y el residuo se purificó por cromatografía de desarrollo rápido (hexano y acetato de etilo), para proporcionar (018) (7,9 g), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 219,95).

Compuesto (019):

25 A una disolución a 0°C de (018) (12 g, 55 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml) se añadió hidróxido de litio acuoso (35 ml, 4N). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después se aciduló con ácido clorhídrico (2N) hasta pH = 1 y se extrajo con tetrahidrofurano (3 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 ml), se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron. Se retiraron los disolventes y el residuo se liofilizó para dar (019) (8,2 g), que se confirmó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 205,95), y se usó sin purificación adicional.

Compuesto (020):

35 Una disolución de (019) (6,0 g, 30 mmol), alcohol bencílico (3,5 ml), y ácido p-toluenosulfónico (1,1 g, 6 mmol) en tolueno (100 ml) se agitó a 100°C durante una noche. Después se dejó enfriar, se diluyó con 300 ml de acetato de etilo y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado. Después la fase acuosa se extrajo con 200 ml de acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron. Se retiraron los disolventes y el residuo se purificó por cromatografía de desarrollo rápido (hexano y acetato de etilo), para proporcionar (020) (5,8 g), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 295,98).

Compuesto (021):

40 Una disolución de (020) (2,0 g, 6,8 mmol) y morfolina (3,0 ml) en tetrahidrofurano (50 ml) se agitó a temperatura ambiente durante dos horas. Después se retiraron los disolventes y el residuo se purificó por cromatografía de desarrollo rápido (hexano y acetato de etilo/metanol), para proporcionar (021) (820 mg), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 303,13).

Compuesto (022):

45 A una disolución de (021) (400 mg, 1,32 mmol) en tetrahidrofurano (40 ml) se añadió Pd/C al 10% (100 mg) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de hidrógeno durante 2 horas. Después se filtró a través de Celite y se concentró para dar (022), que se confirmó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 213,08), y se usó sin purificación adicional.

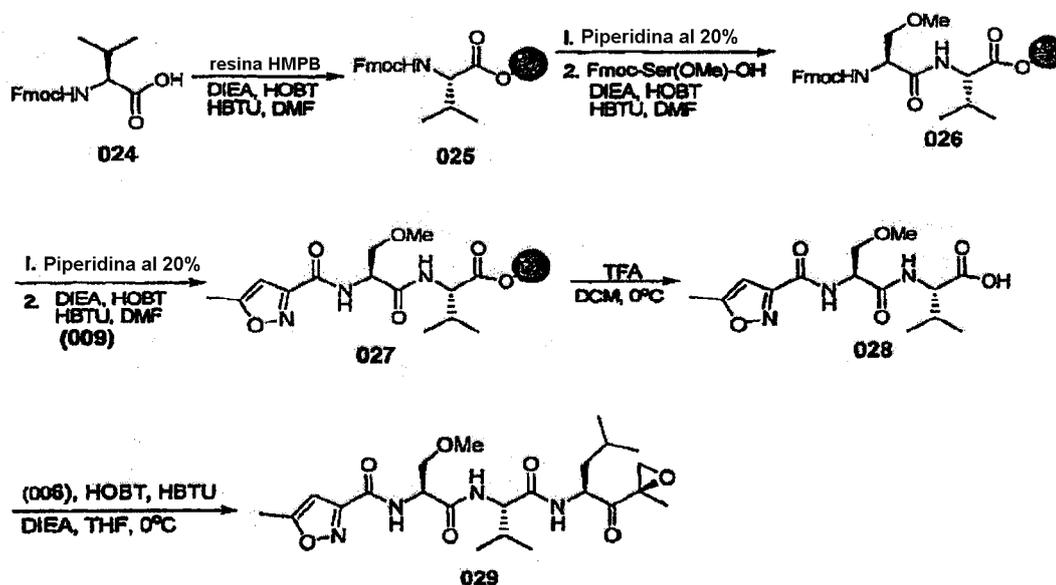
Compuesto (023):

50 A una disolución a 0°C de (016) (130 mg, 0,3 mmol) y (022) (70 mg, 0,4 mmol), HOBT (70 mg, 0,5 mmol) y HBTU (170 mg, 0,5 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml, 2,5 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas y se hizo homogénea. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y

acetonitrilo) para proporcionar el compuesto (023) (125 mg), que se caracterizó por LCIMS (LCRS (MH) m/z: 626,35); >80% de inhibición del proteasoma CT-L a 40 mg/kg PO.

Ejemplo 3 (Ejemplo de referencia)

Esquema 3: Síntesis del Ejemplo 029



5

Compuesto (025):

A una disolución a 0°C de Fmoc-Val-OH (024) (348 mg, 1,6 mmol) en diclorometano (4 ml) se añadieron MSNT (474 mg, 1,6 mmol) y N-metilimidazol (0,13 ml, 1,6 mmol). Se añadió resina HMPB (400 mg, 0,32 mmol) una vez que la mezcla se hizo homogénea. La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación durante dos horas a temperatura ambiente. La resina se retiró por filtración, se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml), y se dejó secar al aire para dar (025).

10

Compuesto (026):

La resina (025) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La resina se retiró por filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml).

15

A una disolución a 0°C de Fmoc-Ser(OMe)-OH (546 mg, 1,6 mmol) en N,N-dimetilformamida (4 ml) se añadieron HOBT (245 mg, 1,6 mmol), HBTU (606 mg, 1,6 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (0,6 ml, 3,2 mmol). Se añadió la resina una vez que la mezcla de reacción se hizo homogénea. La mezcla resultante se dejó en agitación durante una noche. Después la resina se retiró por filtración, se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml), y se dejó secar al aire para dar (026).

20

Compuesto (027):

La resina (026) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La resina se retiró por filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml).

A una disolución a 0°C de ácido 5-metil-isoxazol-3-carboxílico (009) (162 mg, 1,6 mmol) en N,N-dimetilformamida (4 ml) se añadieron HOBT (245 mg, 1,6 mmol), HBTU (606 mg, 1,6 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (0,6 ml, 3,2 mmol). Una vez que la mezcla resultante se hizo homogénea, se añadió la resina y la mezcla de reacción resultante se dejó en agitación durante una noche. Después la resina se retiró por filtración, se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml), y se dejó secar la resina al aire para dar (027).

25

Compuesto (028):

A la resina (027) se añadió una disolución de ácido trifluoroacético al 50% en diclorometano (10 ml), y la mezcla resultante se dejó en agitación durante 30 minutos. Después la resina se retiró por filtración y se lavó con diclorometano (3 x 10 ml). Los volátiles se retiraron a presión reducida para proporcionar (028), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 328,14) y se usó sin purificación adicional.

30

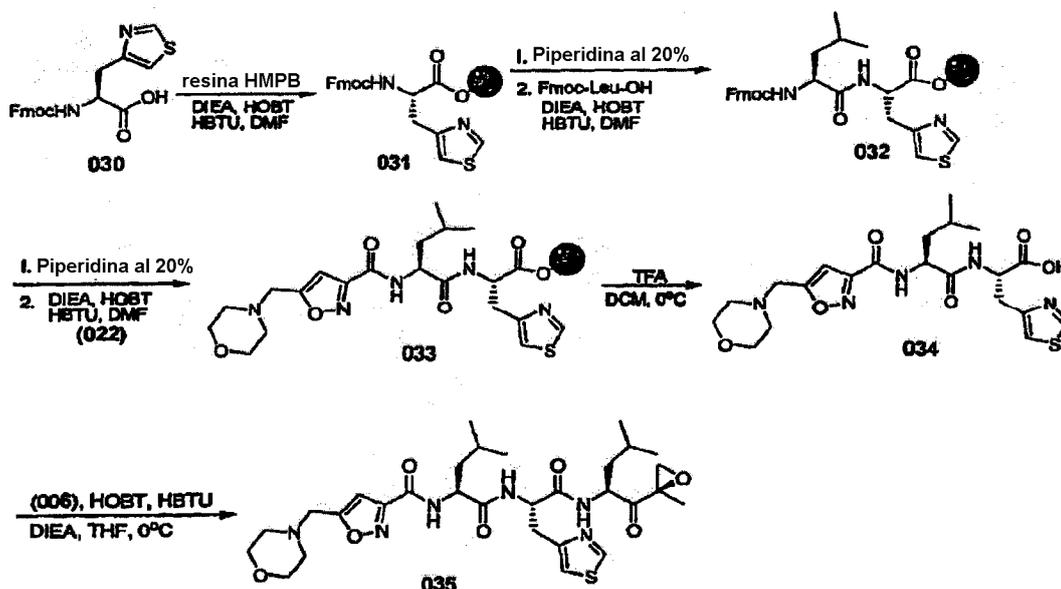
Compuesto (029):

A una disolución a 0°C de (029) y (006) (117 mg, 0,4 mmol), HOBT (70 mg, 0,5 mmol) y HBTU (170 mg, 0,5 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml, 2,5 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas y se hizo homogénea.

- 5 Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (029) (125 mg), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 481,26); >70% de inhibición del proteasoma CT-L a 20 mg/kg PO.

10 Ejemplo 4 (Ejemplo de Referencia)

Esquema 4: Síntesis del Ejemplo 035



Compuesto (031):

- 15 A una disolución a 0°C de Fmoc-L-4-tiazolilalanina (030) (1,0 g, 2,5 mmol) en diclorometano (4 ml) se añadieron N-metil-imidazol (150 ul, 1,9 mmol), MSNT (755 mg, 2,55 mmol), y se añadió resina HMPB (800 mg, 0,51 mmol) una vez que la mezcla se hizo homogénea. La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación durante dos horas a temperatura ambiente. Después la resina se retiró por filtración, se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml), y se dejó secar al aire para dar (031).

Compuesto (032):

- 20 La resina (031) (360 mg, 0,23 mmol) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después la resina se retiró por filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml).

- 25 A una disolución a 0°C de Fmoc-L-Leucina (204 mg, 0,58 mmol) en N,N-dimetilformamida (4 ml) se añadieron HOBT (124 mg, 0,92 mmol), HBTU (349 mg, 0,92 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (402 ul, 2,3 mmol). Después se añadió la resina una vez que la mezcla de reacción se hizo homogénea. La mezcla resultante se dejó en agitación a 5°C durante 5 horas. Después la resina se retiró por filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml), y se dejó secar la resina resultante al aire para dar (032).

Compuesto (033):

- 30 La resina (032) (0,23 mmol) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después, se retiró la resina por filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml).

A una disolución a 0°C de (022) (123 mg, 0,58 mmol) en N,N-dimetilformamida (4 ml) se añadieron HOBT (124 mg, 0,92 mmol), HBTU (349 mg, 0,92 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (402 ul, 2,3 mmol). Una vez que la mezcla resultante se hizo homogénea, se añadió la resina y la mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a

temperatura ambiente durante una noche. Después la resina se retiró por filtración, se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml), y se dejó secar la resina resultante al aire para dar (033).

Compuesto (034):

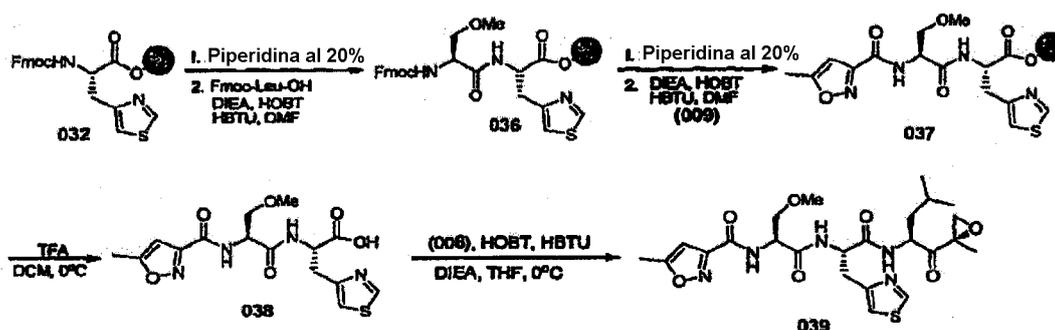
5 A la resina (033) se añadió una disolución de ácido trifluoroacético al 50% en diclorometano (10 ml), y la mezcla resultante se dejó en agitación durante 30 minutos. Después se retiró por filtración y la resina se lavó con diclorometano (3 x 10 ml). Los volátiles se retiraron a presión reducida para proporcionar (34), caracterizado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 480,18), que se usó sin purificación adicional.

Compuesto (035):

10 A una disolución a 0°C de (034) y (006) (70 mg, 0,23 mmol), HOBT (50 mg, 0,37 mmol) y HBTU (140 mg, 0,37 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiltilamina (0,5 ml, 2,5 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas y después se diluyó con acetato de etilo (200 ml). Después se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545 y los disolventes se retiraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (035) (15 mg), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 633,3); >90% de inhibición del proteasoma CT-L a 40 mg/kg PO.

Ejemplo 5 (Ejemplo de Referencia)

Esquema 5: Síntesis del Ejemplo 039



20 Compuesto (036):

La resina (031) (800 mg, 0,23 mmol) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La resina se retiró por filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml).

25 A una disolución a 0°C de Fmoc-Ser(OMe)-OH (435 mg, 1,3 mmol) en N,N-dimetilformamida (10 ml) se añadieron HOBT (276 mg, 2,0 mmol), HBTU (710 mg, 2,0 mmol) y N,N-diisopropiltilamina (0,9 ml, 5,1 mmol). Después se añadió la resina una vez que la mezcla de reacción se hizo homogénea. La mezcla resultante se dejó en agitación a 5°C durante 5 horas. Después la resina se retiró por filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml), y se dejó secar al aire para dar (036).

Compuesto (037):

30 La resina (036) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La resina se retiró por filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml).

35 A una disolución a 0°C de (009) (162 mg, 1,3 mmol) en N,N-dimetilformamida (4 ml) se añadieron HOBT (276 mg, 2,0 mmol), HBTU (710 mg, 2,0 mmol) y N,N-diisopropiltilamina (0,9 ul, 5,1 mmol). Una vez que la mezcla resultante se hizo homogénea, se añadió la resina y la mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche. Después la resina se retiró por filtración, se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml), y se dejó secar al aire para dar (037).

Compuesto (038):

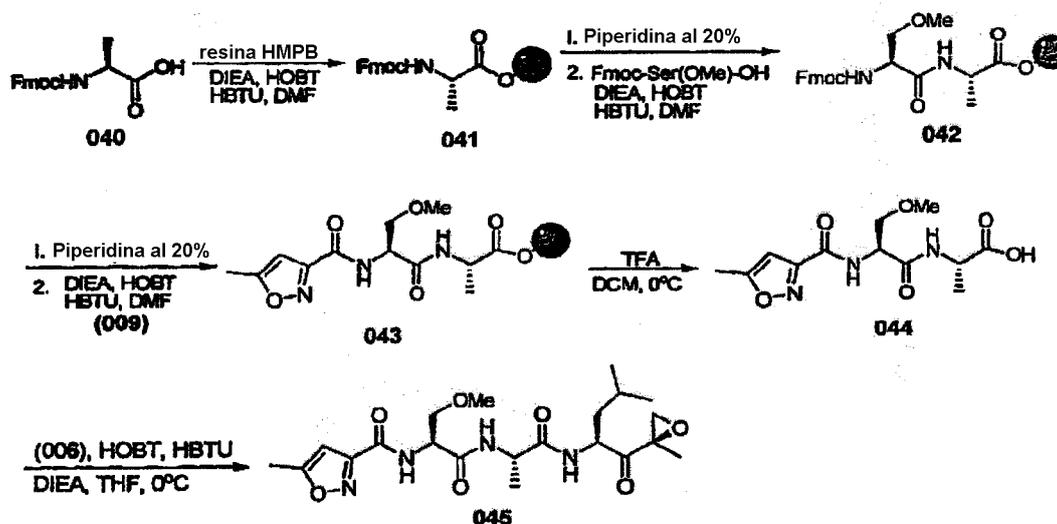
40 A (037) se añadió una disolución de ácido trifluoroacético al 50% en diclorometano (10 ml), y la mezcla resultante se dejó en agitación durante 30 minutos. Después la resina se retiró por filtración y se lavó con diclorometano (3 x 10 ml). Los volátiles se retiraron a presión reducida para proporcionar (38), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 383,09) y se usó sin purificación adicional.

Compuesto (039):

5 A una disolución a 0°C de (038) y (006) (156 mg, 0,51 mmol), HOBT (111 mg, 0,82 mmol) y HBTU (311 mg, 0,82 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml, 2,5 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas y se hizo homogénea. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (039) (22 mg), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 536,21); >75% de inhibición del proteasoma CT-L a 20 mg/kg PO.

10 Ejemplo 6 (Ejemplo de referencia)

Esquema 6: Síntesis del Ejemplo 045 (estrategia A)



Compuesto (041):

15 A una disolución a 0°C de Fmoc-L-alanina (040) (1,0 g, 3,2 mmol) en diclorometano (30 ml) se añadieron N-metilimidazol (190 µl, 12,4 mmol), MSNT (950 mg, 3,2 mmol), y resina HMPB (1,0 mg, 0,64 mmol), que se añadió una vez que la mezcla se hizo homogénea. La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación durante dos horas a temperatura ambiente. Después la resina se retiró por filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml) para dar (041).

Compuesto (042):

20 La resina (041) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La resina se retiró por filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml).

25 A una disolución a 0°C de Fmoc-Ser(OMe)-OH (546 mg, 1,6 mmol) en N,N-dimetilformamida (10 ml) se añadieron HOBT (346 mg, 2,6 mmol), HBTU (970 mg, 2,6 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (1,1 ml, 6,4 mmol). Después se añadió la resina una vez que la mezcla de reacción se hizo homogénea. La mezcla resultante se dejó en agitación a 5°C durante 5 horas. Después la resina se retiró por filtración, se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml), y se dejó secar al aire para dar (042).

Compuesto (043):

30 La resina (042) (0,23 mmol) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La resina se retiró por filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 10 ml) y diclorometano (3 x 10 ml).

35 A una disolución a 0°C de (009) (203 mg, 1,6 mmol) en N,N-dimetilformamida (10 ml) se añadieron HOBT (346 mg, 2,6 mmol), HBTU (970 mg, 2,6 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (1,1 ml, 6,4 mmol). Una vez que la mezcla resultante se hizo homogénea, se añadió la resina y la mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche. Después la resina se retiró por filtración, se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml), y se dejó secar al aire para dar (043).

Compuesto (044):

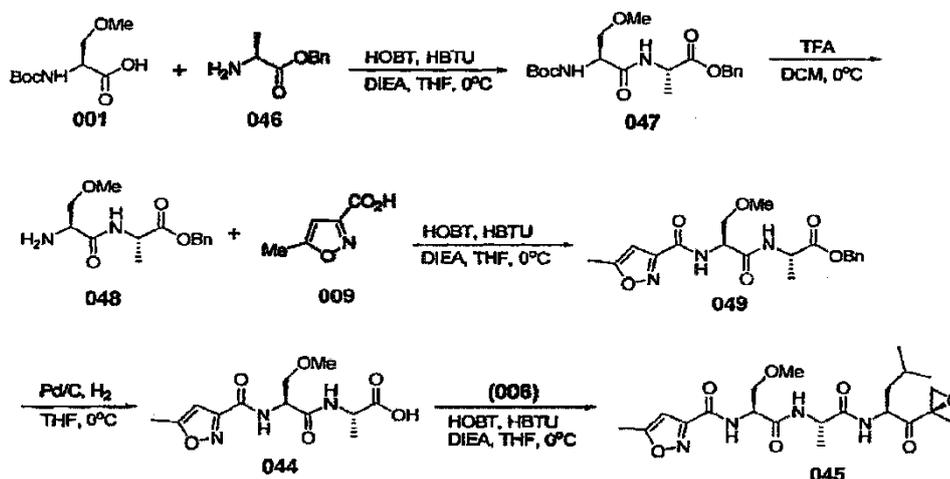
A (043) se añadió una disolución de ácido trifluoroacético al 50% en diclorometano (10 ml), y la mezcla resultante se dejó en agitación durante 30 minutos. Después la resina se retiró por filtración y se lavó con diclorometano (3 x 10 ml). Los volátiles se retiraron a presión reducida para proporcionar (044), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 300,11) y se usó sin purificación adicional.

Compuesto (045):

A una disolución a 0°C de los intermedios mencionados anteriormente (044) y (006) (195 mg, 0,64 mmol), HOBT (137 mg, 1,0 mmol) y HBTU (357 mg, 1,0 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml, 2,5 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (045) (84 mg), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 453,23); >80% de inhibición del proteasoma CT-L a 20 mg/kg PO.

Ejemplo 7 (Ejemplo de referencia)

Esquema 7: Síntesis del Ejemplo 045 (estrategia B)



Compuesto (047):

A una disolución a 0°C de N-Boc serina(éter metílico) (001) (6,57 g, 33 mmol), hidrocloreuro de éster bencílico de L-alanina (046) (6,45 g, 30 mmol), HOBT (5,05 g, 33 mmol) y HBTU (11,8 g, 33 mmol) en tetrahidrofurano (400 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (9,0 ml, 70 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) durante 10 minutos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas y se hizo homogénea. Después la mayoría del disolvente se retiró a presión reducida y el material resultante se diluyó con acetato de etilo (500 ml). Se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 150 ml) y salmuera (200 ml) y las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía de desarrollo rápido (hexano y acetato de etilo), para proporcionar (047) (11,8 g), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 381,19).

Compuesto (048):

A una disolución a 0°C de (047) (11,8 g, 31,0 mmol) en diclorometano (100 ml) se añadió ácido trifluoroacético (50 ml) durante 10 minutos, y la mezcla resultante se agitó a la misma temperatura durante otras 3 horas. Después los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se puso a alto vacío durante una noche para proporcionar la sal de TFA de (048), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 281,15) y se usó sin purificación adicional.

Compuesto (049):

A una disolución a 0°C de (048), ácido 5-metil-isoxazol-3-carboxílico (009) (3,93 g, 31 mmol), HOBT (4,7 g, 35 mmol) y HBTU (12,5 g, 35 mmol) en tetrahidrofurano (400 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (20 ml) en tetrahidrofurano (100 ml) durante 10 minutos, y el pH de la mezcla resultante fue ~8. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas. Después la mayoría del disolvente se retiró a presión reducida y se diluyó con acetato de etilo (1,0 l). Después se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml) y las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los

disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía de desarrollo rápido (hexano y acetato de etilo), para proporcionar (049) (10,8 g), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 390,16).

Compuesto (044):

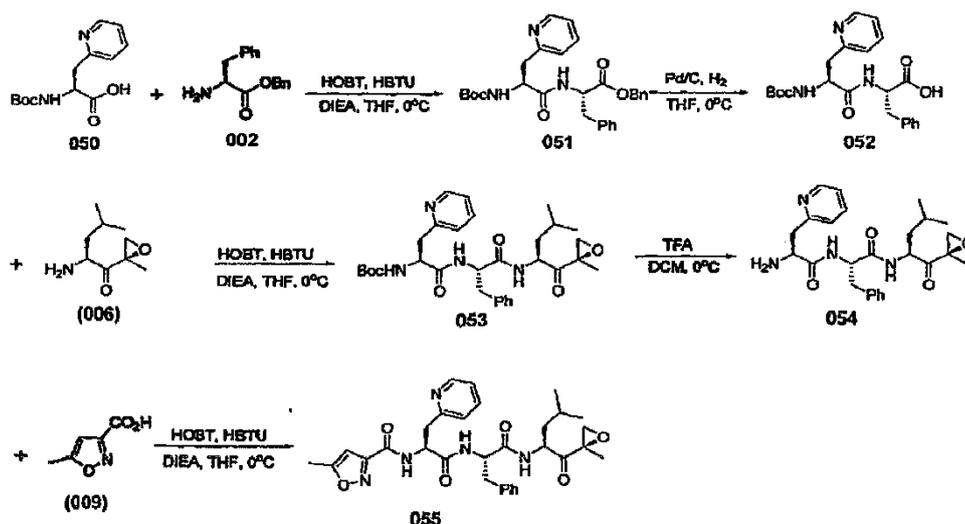
5 A una disolución a 0°C de (049) (3,28 g, 8,4 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió Pd/C al 10% (500 mg). La mezcla resultante se dejó en agitación en atmósfera de hidrógeno durante 4 horas. Después la mezcla se filtró a través de Celite-545 y la pasta del filtro se lavó con tetrahidrofurano. El filtrado orgánico se concentró a presión reducida y se puso a alto vacío durante 2 h para dar (044), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 281,15) y se usó sin purificación adicional.

Compuesto (045):

10 A una disolución a 0°C de (044) y (006) (1,9 mg, 8,5 mmol), HOBT (2,0 mg, 13 mmol) y HBTU (5,4 mg, 14 mmol) en tetrahidrofurano (200 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (5,4 ml, 42 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas. Después la mayoría del disolvente se retiró a presión reducida y el material resultante se diluyó con acetato de etilo (400 ml). Después se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml) y las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (045) (1,35 mg), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 453,23).

Ejemplo 8 (Ejemplo de referencia)

Esquema 8: Síntesis del Ejemplo 055



20

Compuesto (051):

25 A una disolución a 0°C de N-Boc-L-2-piridilalanina (050) (1,0 g, 3,76 mmol), hidrocloreto de éster bencilico de L-fenilalanina (002) (1,3 g, 3,76 mmol), HOBT (0,68 g, 5,0 mmol) y HBTU (1,8 g, 5,0 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (1,6 ml) en tetrahidrofurano (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas y después se diluyó con acetato de etilo (200 ml), se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (100 ml) y las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía de desarrollo rápido (hexano y acetato de etilo), para proporcionar (051) (1,45 g), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 504,24).

30 Compuesto (052):

35 A una disolución a 0°C de (051) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió Pd/C al 10% (100 mg) y la mezcla resultante se dejó en agitación en una atmósfera de hidrógeno durante 4 horas. Después la mezcla se filtró a través de Celite-545 y la pasta del filtro se lavó con tetrahidrofurano. Después el filtrado orgánico se concentró a presión reducida y se puso a alto vacío para proporcionar (052) por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 414,2) que se usó sin purificación adicional.

Compuesto (053):

5 A una disolución a 0°C de (052) y (006) (0,85 g, 3,9 mmol), HOBT (0,70 g, 5,3 mmol) y HBTU (1,70 g, 4,9 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (3 ml) en tetrahidrofurano (10 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545, y los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía de desarrollo rápido (hexano y acetato de etilo) y HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (053) (1,51 g), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 567,21).

Compuesto (054):

10 A una disolución a 0°C de (053) (200 mg, 0,352 mmol) en diclorometano (10 ml) se añadió ácido trifluoroacético (10 ml) y la disolución resultante se agitó a la misma temperatura durante otra hora. La disolución se concentró a presión reducida y se puso a alto vacío para proporcionar (054), confirmado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 467,26), que se usó sin purificación adicional.

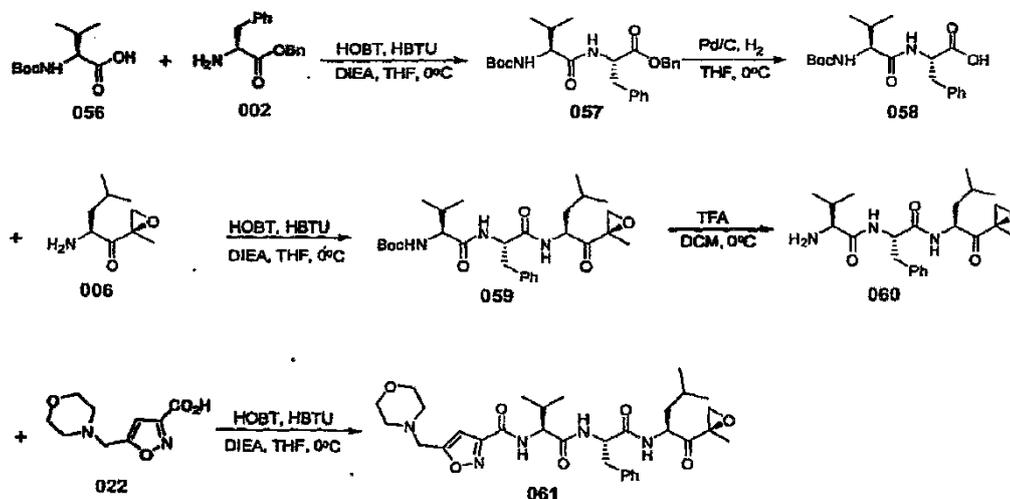
Compuesto (055):

15 A una disolución a 0°C de (054) y ácido 5-metil-isoxazol-3-carboxílico (009) (127 mg, 1,0 mmol), HOBT (135 mg, 1,0 mmol) y HBTU (350 mg, 1,0 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml) en tetrahidrofurano (2 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545, los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (055) (40 mg), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 576,27); >80% de inhibición del proteasoma CT-L a 20 mg/kg PO.

20

Ejemplo 9 (Ejemplo de referencia)

Esquema 9: Síntesis del Ejemplo 061



Compuesto (057):

30 A una disolución a 0°C de N-Boc-L-n-valina (056) (1,0 g, 4,6 mmol), hidrocloreto de éster bencílico de L-fenilalanina (002) (1,4 g, 4,6 mmol), HOBT (1,0 g, 7,4 mmol) y HBTU (2,8 g, 7,4 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (3,2 ml, 18,4 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas y después se diluyó con acetato de etilo (200 ml), se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (100 ml) y las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía de desarrollo rápido (hexano y acetato de etilo), para proporcionar (057), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 455,25).

35 Compuesto (058):

A una disolución a 0°C de (057) (1,30 g, 2,875 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió Pd/C al 10% (100 mg). La mezcla resultante se dejó en agitación en una atmósfera de hidrógeno durante 4 horas. La mezcla se filtró a través de Celite-545 y la pasta del filtro se lavó con tetrahidrofurano. Después el filtrado se concentró a presión

reducida y se puso a alto vacío durante una noche para proporcionar (058), confirmado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 365,2), que se usó sin purificación adicional.

Compuesto (059):

5 A una disolución a 0°C de (058) y (006) (0,99 mg, 4,6 mmol), HOBT (0,62 mg, 4,6 mmol) y HBTU (1,70 mg, 4,9 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (2,4 ml) en tetrahidrofurano (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche y después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Después los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (059) (1,21 mg), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 518,32).

Compuesto (060):

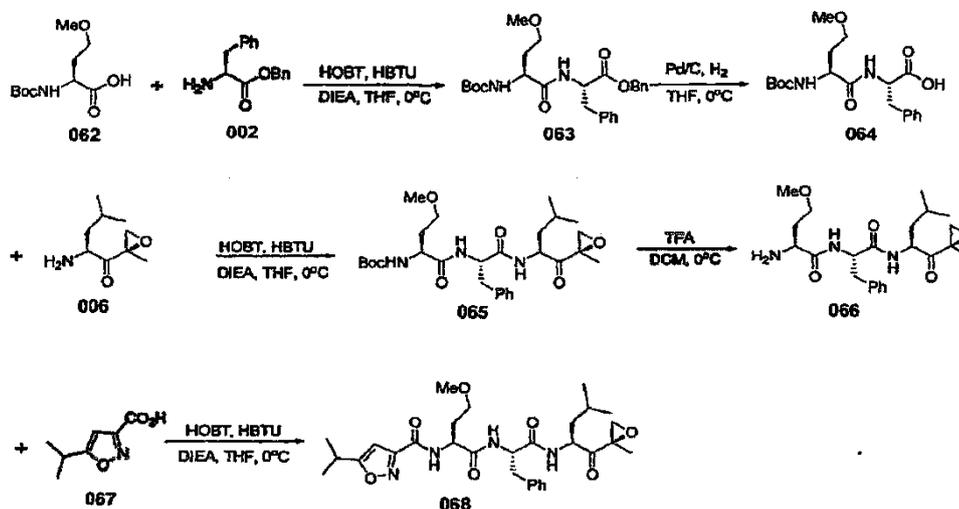
15 A una disolución a 0°C de (059) (250 mg, 0,48 mmol) en diclorometano (10 ml) se añadió ácido trifluoroacético (10 ml) y la disolución resultante se agitó a la misma temperatura durante otra hora. Las capas orgánicas se concentraron a presión reducida y se pusieron a alto vacío durante una noche para proporcionar (060), confirmado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 418,26), que se usó sin purificación adicional.

Compuesto (061):

20 A una disolución a 0°C de (060) y (022) (122 mg, 0,58 mmol), HOBT (104 mg, 0,77 mmol) y HBTU (292 mg, 0,72 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,35 ml) en tetrahidrofurano (2 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 4 horas. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (061) (88,4 mg), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 612,33); >80% de inhibición del proteasoma CT-L a 40 mg/kg PO.

Ejemplo 10 (Ejemplo de referencia)

25 Esquema 10: Síntesis del Ejemplo 068



Compuesto (063):

30 A una disolución a 0°C de N-Boc-HoSer(OMe)-OH (062) (1,0 g, 4,3 mmol), hidrocloreto de éster bencílico de L-fenilalanina (002) (1,3 g, 4,3 mmol), HOBT (0,88 g, 6,5 mmol) y HBTU (2,3 g, 6,5 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (2,0 ml) en tetrahidrofurano (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas y después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (100 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía de desarrollo rápido (hexano y acetato de etilo), para proporcionar (063) (1,81 g), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 471,24).

Compuesto (064):

A una disolución a 0°C de (063) (1,35 g, 2,875 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió Pd/C al 10% (100 mg). La mezcla resultante se dejó en agitación en 1 atmósfera de hidrógeno durante 4 horas. La mezcla se filtró a través

de Celite-545 y la pasta del filtro se lavó con tetrahidrofurano. El filtrado orgánico se concentró a presión reducida y se puso a alto vacío durante una noche para proporcionar (064), confirmado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 381,19), que se usó sin purificación adicional.

Compuesto (065):

- 5 A una disolución a 0°C de (065) y (006) (0,99 mg, 4,6 mmol), HOBT (0,62 mg, 4,6 mmol) y HBTU (1,70 g, 4,9 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (2,4 ml) en tetrahidrofurano (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche y después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (065) (1,11 mg), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 534,31).

Compuesto (066):

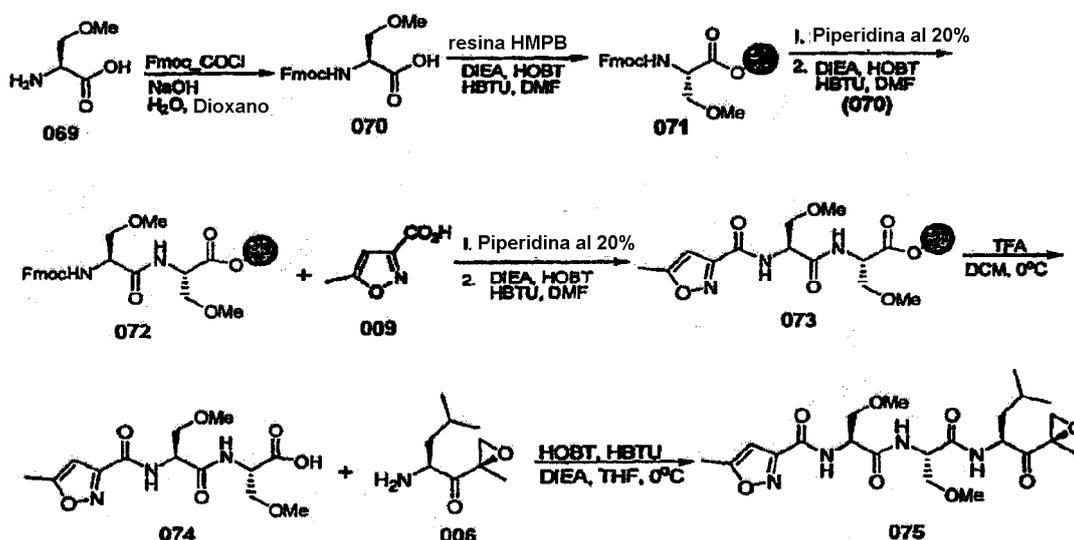
- 15 A una disolución a 0°C de (065) (230 mg, 0,43 mmol) en diclorometano (20 ml) se añadió ácido trifluoroacético (10 ml), y la disolución resultante se agitó a la misma temperatura durante otra hora. Después la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y se puso a alto vacío para proporcionar (066), confirmado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 434,26), que se usó sin purificación adicional.

Compuesto (068):

- 20 A una disolución a 0°C de (066) y ácido 5-isopropilisoxazol-3-carboxílico (067) (81 mg, 0,52 mmol), HOBT (93 mg, 0,69 mmol) y HBTU (262 mg, 0,69 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,30 ml) en tetrahidrofurano (2 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 4 horas. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (068) (75,7 mg), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 571,31); >70% de inhibición del proteasoma CT-L a 40 mg/kg PO.

Ejemplo 11 (Ejemplo de referencia)

Esquema 11: Síntesis del Ejemplo 075 (estrategia A)



Compuesto (070):

- 30 A una disolución de hidrocloreto de L-serina (éster metílico) (069) (1,0 g, 6,4 mmol) en agua/dioxano (1:1, 80 ml) se añadió hidróxido de sodio (768 mg, 19,2 mmol). Después de agitar la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos, se enfrió hasta 0°C, y se añadió gota a gota una disolución de cloroformiato de 9-fluorenilmetilo (1,65 g, 6,4 mmol) en dioxano (16 ml). La mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante otras 4 horas. Después se retiraron los disolventes, el residuo se diluyó con agua y el pH se ajustó a ~1 con HCl 1N, y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (4 x 100 ml). Las capas orgánicas se concentraron a presión reducida y se pusieron a alto vacío para proporcionar (070) (1,8 mg), confirmado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 342,13), que se usó sin purificación adicional.

Compuesto (071):

5 La resina HMPB-BHA (500 mg, 0,32 mmol) se lavó con diclorometano. En un matraz seco, se disolvió Fmoc-Ser(Me)-OH (070) (546 mg, 1,6 mmol) en diclorometano y se añadió a la disolución 1-metilimidazol (95 µl, 1,2 mmol) seguido de MSNT (474 mg, 1,6 mmol). Una vez que la mezcla resultante se hubo hecho homogénea (10 minutos) se añadió a la resina HMPB-BHA como una suspensión en diclorometano (5 ml). La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación durante una noche. Después la resina se retiró por filtración y se lavó con DMF (3 x 20 ml), MeOH (3 x 20 ml), DCM (3 x 20 ml), y se dejó secar al aire para dar (071).

Compuesto (072):

10 La resina (071) (300 mg, 0,192 mmol) se puso en una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. La resina se retiró por filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml) dos veces.

15 A una disolución a 0°C de Fmoc-Ser(OMe)-OH (070) (0,48 mmol, 163 mg) en N,N-dimetilformamida (10 ml) se añadieron HOBT (104 mg, 0,77 mmol), HBTU (291 mg, 0,77 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (0,34 ml, 1,92 mmol). Una vez que la mezcla resultante se hizo homogénea, se añadió la resina (0,13 mmol, 200 mg) y la mezcla de reacción resultante se dejó en agitación durante una noche. Después la resina se retiró por filtración y se lavó con DMF (10 ml), DCM (10 ml), MeOH (10 ml), H₂O (10 ml), DMF (10 ml), MeOH (10 ml), y DCM (10 ml), y se dejó secar al aire para dar (072).

Compuesto (073):

20 A (072) (300 mg, 0,19 mmol) se añadió una disolución de piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (20 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. La resina se retiró por filtración y se lavó con N,N-dimetilformamida (3 x 20 ml) y diclorometano (3 x 20 ml) dos veces.

25 A una disolución a 0°C de (009) (61 mg, 0,48 mmol) en N,N-dimetilformamida (2 ml) se añadieron HOBT (104 mg, 0,77 mmol), HBTU (291 mg, 0,77 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (0,34 ml, 1,92 mmol). Una vez que la mezcla resultante se hizo homogénea, se añadió la resina (300 mg, 0,192 mmol) y la mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche. Después la resina se retiró por filtración, se lavó con DMF (10 ml), DCM (10 ml), MeOH (10 ml), H₂O (10 ml), DMF (10 ml), MeOH (10 ml), y DCM (10 ml), y se dejó secar al aire para dar (073).

Compuesto (074):

30 A (073) se añadió una disolución de ácido trifluoroacético al 50% en diclorometano (10 ml), y la mezcla resultante se dejó en agitación durante 30 minutos. Después la resina se retiró por filtración y se lavó con diclorometano (3 x 10 ml). Los volátiles se retiraron a presión reducida, y el compuesto deseado (074) se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 330,12) y se usó sin purificación adicional.

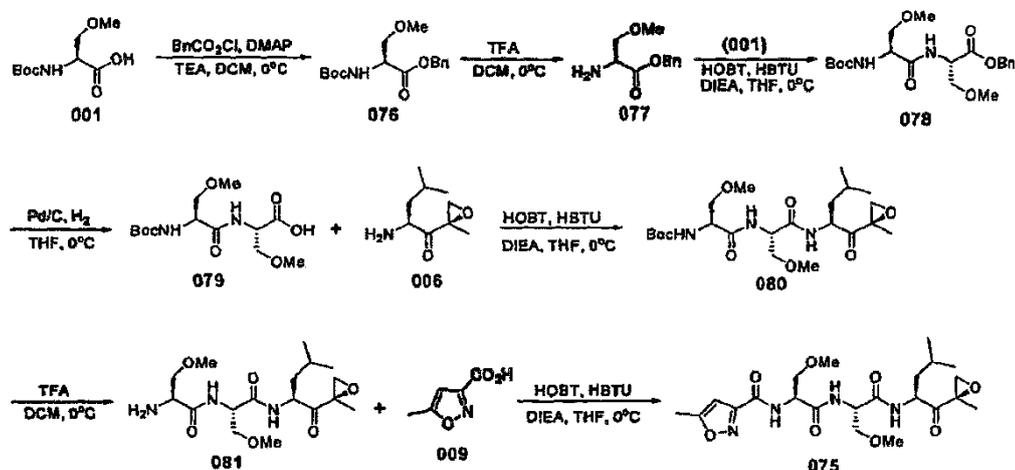
Compuesto (075):

35 A una disolución a 0°C de (074) y (006) (78 mg, 0,38 mmol), HOBT (41 mg, 0,30 mmol) y HBTU (116 mg, 0,30 mmol) en acetonitrilo (50 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,1 ml, 0,6 mmol). La mezcla se agitó a 0-4°C durante una noche y después se diluyó con acetato de etilo (200 ml). Después se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml) y las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (075) (29 mg), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 483,24); >80% de inhibición del proteasoma CT-L a 20 mg/kg PO.

40

Ejemplo 12 (Ejemplo de referencia)

Esquema 12: Síntesis del Ejemplo 075 (estrategia B)



Compuesto (076):

- 5 A una disolución a 0°C de N-Boc serina(éter metílico)-OH (43,8 g, 200 mmol), trietilamina (26,5 g, 260 mmol) y 4-(dimetilamino)piridina en diclorometano (1,2 l) se añadió una disolución de cloroformiato de bencilo (41 g, 240 mmol) en diclorometano (250 ml) durante 30 minutos y la mezcla resultante se agitó a la misma temperatura durante otras 3 horas. Después se añadió bicarbonato de sodio acuoso saturado (200 ml) y la capa orgánica se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (200 ml) y salmuera (200 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía de desarrollo rápido (hexano y acetato de etilo), para proporcionar (076) (54 g), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 310,16).
- 10

Compuesto (077):

- 15 A una disolución a 0°C de (076) (54 g, 174,6 mmol) en diclorometano (200 ml) se añadió ácido trifluoroacético (200 ml) durante 10 minutos, y la mezcla resultante se agitó a la misma temperatura durante otras 3 horas. Después los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se puso a alto vacío durante una noche dando la sal de TFA de (077), confirmada por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 210,11) y se usó sin purificación adicional.

Compuesto (078):

- 20 A una disolución a 0°C de (077) (43,8 g, 200 mmol), N-Boc serina(éter metílico)-OH (36,7 g, 167 mmol), HOBT (27 g, 200 mmol) y HBTU (71,4 g, 200 mmol) en tetrahidrofurano (1,2 l) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (75 g, 600 mmol) en tetrahidrofurano (250 ml) durante 10 minutos, y el pH de la mezcla resultante fue ~ 8 . La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas. Después la mayoría del disolvente se retiró a presión reducida y el material resultante se diluyó con acetato de etilo (1,0 l). Después se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 150 ml) y salmuera (200 ml) y las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía de desarrollo rápido (hexano y acetato de etilo), para proporcionar (078) (65 g), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 411,21).
- 25

Compuesto (079):

- 30 A una disolución a 0°C de (079) (13,4 g, 32,7 mmol) en tetrahidrofurano (300 ml) se añadió Pd/C al 10% (2,7 g) y la mezcla resultante se dejó en agitación en una atmósfera de hidrógeno durante 4 horas. La mezcla se filtró a través de Celite-545 y la pasta del filtro se lavó con tetrahidrofurano. Las capas orgánicas se concentraron a presión reducida y se pusieron a alto vacío durante una noche para proporcionar (079), confirmado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 321,16), que se usó sin purificación adicional.

Compuesto (080):

- 35 A una disolución a 0°C de (079) y (006) (5,6 g, 26 mmol), HOBT (6,0 g, 41,4 mmol) y HBTU (14,8 g, 41,4 mmol) en tetrahidrofurano (400 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (23 ml) en tetrahidrofurano (40 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después la mayoría del disolvente se retiró a presión reducida y el material resultante se diluyó con acetato de etilo (500 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por
- 40

cromatografía de desarrollo rápido (hexano y acetato de etilo), para proporcionar (080) (9,2 g), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 474,27).

Compuesto (081):

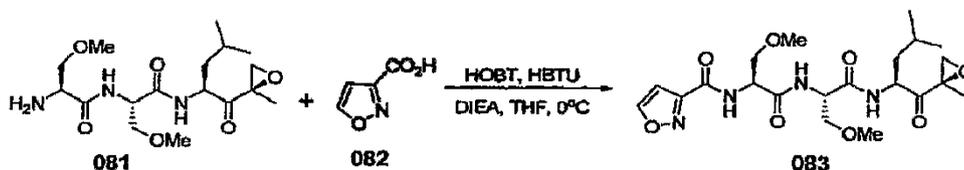
5 A una disolución a 0°C de (080) (200 mg, 0,43 mmol) en diclorometano (10 ml) se añadió ácido trifluoroacético (10 ml) y la disolución resultante se agitó a la misma temperatura durante otra hora. Las capas orgánicas se concentraron a presión reducida y se pusieron a alto vacío durante una noche para proporcionar (081), confirmado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 374,22), que se usó sin purificación adicional.

Compuesto (075):

10 A una disolución a 0°C de (081) y ácido 5-isoxazol-3-carboxílico (009) (65 mg, 0,5 mmol), HOBT (65 mg, 0,5 mmol) y HBTU (175 mg, 0,5 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml) en tetrahidrofurano (2 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (075) (85 mg), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 483,24).

Ejemplo 13 (Ejemplo de referencia)

Esquema 13: Síntesis del Ejemplo 083

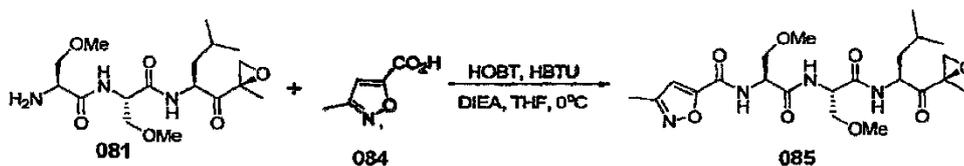


Compuesto (083):

20 A una disolución a 0°C de (081) (160 mg, 0,43 mmol) y ácido isoxazol-3-carboxílico (082) (60 mg, 0,5 mmol), HOBT (65 mg, 0,5 mmol) y HBTU (175 mg, 0,5 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml) en tetrahidrofurano (2 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas. Después se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (083) (74 mg), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 469,22); >80% de inhibición del proteasoma CT-L a 20 mg/kg PO.

Ejemplo 14 (Ejemplo de referencia)

Esquema 14: Síntesis del Ejemplo 085

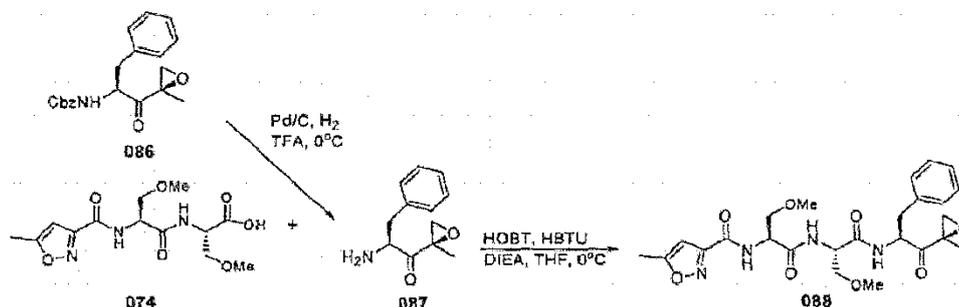


Compuesto (085):

35 A una disolución a 0°C de (081) (160 mg, 0,43 mmol) y ácido isoxazol-3-carboxílico (084) (65 mg, 0,5 mmol), HOBT (65 mg, 0,5 mmol) y HBTU (175 mg, 0,5 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) se añadió una disolución de N,N-diisopropiletilamina (0,5 ml) en tetrahidrofurano (2 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 5 horas. Después la reacción se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545. Los disolventes se retiraron a presión reducida y el residuo se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (085) (71 mg), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 483,24); >50% de inhibición del proteasoma CT-L a 20 mg/kg PO.

40

Esquema 15: Síntesis del Ejemplo 088



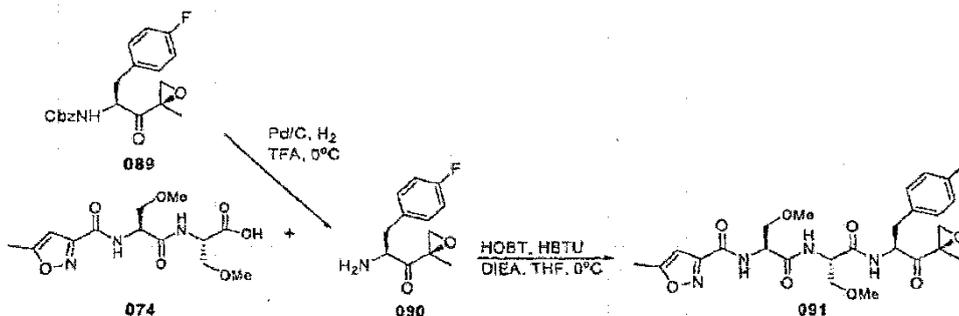
Compuesto (087):

5 A una disolución de (086) (preparada usando el mismo procedimiento que (005) excepto que se sustituyó la Cbz-Leucina por Cbz-fenilalanina) (0,100 g, 0,0295 mmol) en ácido trifluoroacético (10 ml) se añadió Pd/C al 10% (20 mg). La mezcla resultante se dejó en agitación en una atmósfera de hidrógeno durante 6 horas. Después la mezcla se filtró a través de Celite-545 y la pasta del filtro se lavó con diclorometano (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida y se puso a alto vacío durante una noche para proporcionar (087), confirmado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 206,1), que se usó en la transformación posterior sin purificación adicional.

10 Compuesto (088):

15 A una disolución a 0°C de (087) y (074) (166 mg, 0,354 mmol), HOBT (54 mg, 0,354 mmol) y HBTU (134 mg, 0,354 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml) se añadió N,N-diisopropiletamina (0,2 ml, 1,18 mmol). La mezcla se agitó a 0°C durante una noche y se hizo homogénea. Después se diluyó con acetato de etilo (20 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron a través de Celite-545 y se concentraron a presión reducida, y el residuo se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (088) (10 mg), caracterizado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 517,69); >80% de inhibición del proteasoma CT-L a 20 mg/kg PO.

Esquema 16: Síntesis del Ejemplo 091



20 Compuesto (090):

25 A una disolución de (089) (preparada usando el mismo procedimiento que (005) excepto que se sustituyó la Cbz-Leucina por Cbz-4-fluorofenilalanina) (0,100 g, 0,28 mmol) en ácido trifluoroacético (10 ml) se añadió Pd/C al 10% (20 mg). La mezcla resultante se dejó en agitación en una atmósfera de hidrógeno durante 6 horas. La mezcla se filtró a través de Celite-545 y la pasta del filtro se lavó con diclorometano (50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida y se puso a alto vacío durante una noche para proporcionar (090), confirmado por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 224,1), que se usó en la transformación posterior sin purificación adicional.

Compuesto (091):

30 A una disolución a 0°C de (090) y (074) (110 mg, 0,336 mmol), HOBT (51 mg, 0,336 mmol) y HBTU (127 mg, 0,336 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml) se añadió N,N-diisopropiletamina (0,2 ml, 1,18 mmol). La mezcla se agitó a 0°C durante una noche y se hizo homogénea. Después se diluyó con acetato de etilo (20 ml) y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 x 10 ml) y salmuera (10 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron a través de Celite-545, y se concentraron a presión reducida. Después el residuo se purificó por HPLC (acetato de amonio acuoso y acetonitrilo) para proporcionar (091) (60 mg), que se caracterizó por LC/MS (LCRS (MH) m/z: 535,69); >80% de inhibición del proteasoma CT-L a 20 mg/kg PO.

Actividad biológica

5 Los compuestos se formularon en un vehículo de PS80/NaCitrato al 10% (pH 3) y se administraron a ratones por vía oral (PO) (3 animales/cohorte). Una hora después de la dosificación, se sacrificaron los animales y se recogieron los siguientes tejidos: sangre, cerebro, glándula adrenal, corazón e hígado. La sangre entera (~200 µl) se lavó dos veces con PBS y se lisó por choque hipotónico (300 µl de Tris 50 mM pH 8, EDTA 5 mM). Los lisados sanguíneos se almacenaron a -80°C hasta el ensayo. Los lisados sanguíneos se clarificaron por centrifugación en una microcentrífuga. La actividad específica CT-L del proteasoma en cada lisado se evaluó determinando: a) la concentración de proteína por ensayo de Bradford modificado con gammaglobulina bovina como patrón; y b) la velocidad de escisión del sustrato fluorogénico del proteasoma LLVY-AMC. El porcentaje de actividad del proteasoma para los animales tratados con los análogos se calculó dividiendo la actividad específica media para cada cohorte dosificada con los análogos por la actividad específica media de la cohorte dosificada con el vehículo. El porcentaje de inhibición del proteasoma se calculó restando el porcentaje de actividad del proteasoma de 100.

Equivalentes

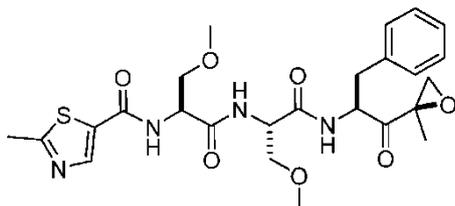
15 Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de determinar usando no más que la experimentación de rutina, numerosos equivalentes a los compuestos y métodos de uso de los mismos descritos en la presente memoria. Se considera que tales equivalentes están dentro del alcance de la invención y están cubiertos por las siguientes reivindicaciones.

Todas las referencias y publicaciones citadas anteriormente se incorporan por la presente memoria por referencia.

20

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula:



- 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de la inflamación, enfermedad neurodegenerativa, enfermedades de desgaste muscular, cáncer, enfermedades infecciosas crónicas, una afección hiperproliferativa, desuso muscular, afecciones relacionadas con el sistema inmunitario; para uso en inhibir o reducir la infección por HIV; para uso en afectar al nivel de expresión de genes víricos en un sujeto; o para uso en alterar la variedad de péptidos antigénicos producidos por el proteasoma en un organismo.
- 10 2. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, para uso en el tratamiento de la inflamación, enfermedad neurodegenerativa, enfermedades de desgaste muscular, cáncer, enfermedades infecciosas crónicas, una afección hiperproliferativa, desuso muscular, afecciones relacionadas con el sistema inmunitario; para uso en inhibir o reducir la infección por HIV; para uso en afectar al nivel de expresión de genes víricos en un sujeto; o para uso en alterar la variedad de péptidos antigénicos producidos por el proteasoma en un organismo.
- 15 3. La composición farmacéutica de la reivindicación 2 para uso en el tratamiento del cáncer, en donde el cáncer es una malignidad relacionada con el hemo.
4. La composición farmacéutica de la reivindicación 2 para uso en el tratamiento del cáncer, en donde el cáncer es mieloma múltiple.
- 20 5. El compuesto de la reivindicación 1 para uso en el tratamiento del cáncer, en donde el cáncer es una malignidad del hemo.
6. El compuesto de la reivindicación 1 para uso en el tratamiento del cáncer, en donde el cáncer es mieloma múltiple.
7. El compuesto de la reivindicación 1 para uso en el tratamiento del cáncer, en donde el cáncer es un tumor sólido.
- 25 8. La composición farmacéutica de la reivindicación 2 para uso en el tratamiento del cáncer, en donde el cáncer es un tumor sólido.
9. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 2, 3, 4 o 8, que es una forma de dosificación disponible por vía oral seleccionada de un comprimido, una cápsula, un gránulo, un polvo o un jarabe.
- 30 10. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, en donde el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo está presente en una cantidad que varía de 0,01 a 2.000 mg.
11. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, en donde el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo está presente en una cantidad que varía de 0,01 a aproximadamente 50 mg/kg.