

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 665 572**

51 Int. Cl.:

C07D 405/06 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/407 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.09.2013 PCT/US2013/060683**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.03.2014 WO14047328**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.09.2013 E 13839158 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.01.2018 EP 2897610**

54 Título: **Inhibidores de PKC delta para su uso como productos terapéuticos**

30 Prioridad:

19.09.2012 US 201261703081 P

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

26.04.2018

73 Titular/es:

**FALLER & WILLIAMS TECHNOLOGY, LLC
(100.0%)
1809 Linden Lake Road
Fort Collins CO 80524, US**

72 Inventor/es:

**WILLIAMS, ROBERT M. y
FALLER, DOUGLAS V.**

74 Agente/Representante:

CAMPello ESTEBARANZ, Reyes

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 665 572 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de PKC delta para su uso como productos terapéuticos

5 Antecedentes

1. Campo de la invención

La invención se refiere a compuestos que son inhibidores específicos de PKC delta, y, en particular, a composiciones que comprenden los compuestos y compuestos para su uso como tratamientos terapéuticos, y como agentes de diagnóstico para tratar o prevenir trastornos tales como cánceres.

2. Antecedentes de la invención

15 El direccionamiento del producto terapéutico contra el cáncer hacia mutaciones o anomalías específicas en células tumorales no encontradas en tejidos normales tiene las ventajas potenciales de una alta selectividad para el tumor y toxicidades secundarias correspondientemente bajas. Al menos el 30% de todas las neoplasias humanas muestran mutaciones activadoras en los genes *RAS*, y puede que otro 60% muestre otras mutaciones activadoras en, o la actividad excesiva de, las rutas de señalización de p21Ras. Anteriormente se notificó que la activación aberrante de Ras produce una dependencia absoluta de las rutas de supervivencia mediadas por PKC delta (Xia S, Forman LW, & Faller DV 2007 Protein Kinase C {delta} is required for survival of cells expressing activated p21RAS. *J Biol.Chem.* 282 13199-13210; Xia S, Chen Z, Forman LW, & Faller DV 2009 PKC delta survival signaling in cells containing an activated p21Ras protein requires PDK1. *Cell Signal.* 21 502-508). Por lo tanto, la actividad excesiva de la señalización de p21Ras sensibiliza las células tumorales con respecto a la apoptosis inducida por la supresión de PKC delta, mientras que la supresión de PKC delta no es tóxica para las células con niveles normales de actividad o señalización de p21Ras (Chen CY & Faller DV 1995 Direction of p21Ras-generated signals towards cell growth or apoptosis is determined by protein kinase C and Bcl-2. *Oncogene* 111487-1498; Xia S, Forman LW, & Faller DV 2007 Protein Kinase C {delta} is required for survival of cells expressing activated p21RAS. *J Biol.Chem.* 282 13199-13210; Chen CY & Faller DV 1996 Phosphorylation of Bcl-2 protein and association with p21 (Ras) in Ras-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 271 2376-2379; Chen CY, Liou J, Forman LW, & Faller DV 1998a Correlation of genetic instability and apoptosis in the presence of oncogenic Ki-Ras. *Cell Death Differentiation.* 5 984-995; Chen CY, Liou J, Forman LW, & Faller DV 1998b Differential regulation of discrete apoptotic pathways by Ras. *J. Biol. Chem.* 273 16700-16709; Chen CY, Juo P, Liou J, Yu Q, Blenis J, & Faller DV 2001 Activation of FADD and Caspase 8 in Ras-mediated apoptosis. *Cell Growth Differ.* 12 297-306; Liou JS, Chen CY, Chen JS, & Faller DV 2000 Oncogenic Ras mediates apoptosis in response to protein kinase C inhibition through the generation of reactive oxygen species. *J. Biol. Chem.* 275 39001-39011; Liou JS, Chen J-C, & Faller DV 2004 Characterization of p21Ras-mediated apoptosis induced by Protein Kinase C inhibition and application to human tumor cell lines. *J.Cell Physiol.* 198 277-294). Esta susceptibilidad tumoral denominada "apoptosis mediada por Ras" puede aprovecharse para productos terapéuticos contra el cáncer dirigidos específicos.

40 Los tumores neuroendocrinos broncopulmonares, gastrointestinales y pancreáticos son tumores raros que se originan a partir de tejidos neuroendocrinos (Oberg K 1999 Neuroendocrine gastrointestinal tumors--a condensed overview of diagnosis and treatment. *Ann.Oneal.* 10 Suppl 2:S3-8. S3-S8). Los síntomas clínicos a menudo son causados por la producción de sustancias hormonalmente activas por el tumor tales como serotonina, gastrina, insulina, péptido intestinal vasoactivo, polipéptido pancreático o sustancia P. La cromogranina A es producida por el 80-100% de los tumores neuroendocrinos y sirve como un marcador bioquímico fiable. La enfermedad se puede curar mediante cirugía temprana, pero la gran mayoría de los tumores tienen metástasis en el momento del diagnóstico, lo que hace que la paliación sea la piedra angular de la gestión. La cirugía citorreductora, la embolización de la arteria hepática y la quimioterapia tienen el objeto de reducir la masa tumoral, mientras que los análogos de la somatostatina y el IFN se usan para controlar los síntomas (Arnold R, Simon B, & Wied M 2000 Treatment of neuroendocrine GEP tumours with somatostatin analogues: a review. *Digestion.* 62 Suppl1 84-91; Frank M, Klose KJ, Wied M, Ishaque N, Schade-Brittinger C, & Arnold R 1999 Combination therapy with octreotide and alpha-interferon: effect on tumor growth in metastatic endocrine gastroentero pancreatic tumors. *Am. J. Gastroenterol.* 94 1381-1387).

55 Se han usado análogos de somatostatina marcados radiactivamente en los ensayos, con tasas de respuesta del 30% (Arnold R, Wied M, & Behr TH 2002 Somatostatin analogues in the treatment of endocrine tumors of the gastrointestinal tract. *Expert. Opin. Pharmacother.* 3 643-656).

Sin embargo, las tasas de respuesta de los enfoques citorreductores a tales cánceres están generalmente por debajo del 60% y su uso tiene una utilidad limitada porque las respuestas a largo plazo no se mantienen (Obergh K 2001 Chemotherapy and biotherapy in the treatment of neuroendocrine tumours. Ann. Oncol. 12 Suppl2: S111-4.). Por consiguiente, por lo tanto, se necesitan enfoques nuevos y más eficaces en el tratamiento de neoplasias 5 neuroendocrinas.

Los tumores carcinoides y otros tumores neuroendocrinos del tracto gastrointestinal comparten varias de las mismas anomalías genéticas (deleciones y mutaciones) con los adenocarcinomas (Leotela PD, Jauch A, Holtgreve-Grez H, & Thakker RV 2003 Genetics of neuroendocrine 5 and carcinoid tumours. Endocr.Relat Cancer. 10 437-450; Leotela et al. 2003; Arber N, Neugut AI, Weinstein IB, & Holt P 1997 Molecular genetics of small bowel cancer. Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev. 6 745-748). Estas anomalías incluyen la activación de Ras directamente por mutaciones, indirectamente por la pérdida de proteínas reguladoras de Ras tal como NF-1, o mediante la activación constitutiva de las rutas efectoras aguas abajo de Ras, tales como PI3K y Raf/MAP cinasa. Por ejemplo, la activación de H-Ras y Ki-Ras se detecta en una fracción significativa de tumores carcinoides y otros tumores 15 gastrointestinales (65% y 10%, respectivamente) (Liedke M, Karnbach C, Kalinin V, Herbst B, Frilling A, & Broelsch CE 1998 [Detection of H-ras and K-ras in tumors of gastrointestinal-pancreatic system]. Langenbecks Arch.Chir Suppl Kongressbd. 115 255-259; Maitra A, Krueger JE, Tascilar M, Offerhaus GJ, Angeles-Angeles A, Klimstra DS, Hruban RH, & Albores-Saavedra J 2000 Carcinoid tumors of the extrahepatic bile ducts: a study of seven cases. Am.J.Surg.Pathol. 24 1501-1510). Ras también se puede activar en tumores carcinoides y otros neuroendocrinos 20 por mutación puntual o pérdida de reguladores de Ras, tales como RASSF1A o NF-1 (Liu L, Broaddus RR, Yao JC, Xie S, White JA, Wu TT, Hamilton SR, & Rashid A 2005 Epigenetic alterations in neuroendocrine tumors: methylation of RAS association domain family 1, isoform A and p16 genes are associated with metastasis. Mod.Pathol. 18 1632-1640; Stancu M, Wu TT, Wallace C, Houlihan PS, Hamilton SR, & Rashid A 2003; Genetic alterations in goblet cell carcinoids of the vermiform appendix and comparison with gastrointestinal carcinoid tumors. Mod.Pathol. 16 1189-25 1198; Bausch B, Borozdin W, Mautner VF, Hoffmann MM, Boehm D, Robledo M, Cascon A, Harenberg T, Schiavi F, Pawlu C, et al. 2007 Germline No1 mutational spectra and loss-of-heterozygosity analyses in patients with pheochromocytoma and neurofibromatosis type 1. J.Clin.Endocrinol.Metab. 92 2784-2792). La proteína cinasa activada por Raf/mitógeno (Raf/MAP cinasa), o las MAP cinasas directamente aguas abajo de Raf, se activan frecuentemente en tumores carcinoides (Tannapfel A, Vomschloss S, Karhoff D, Markwarth A, Hengge UR, Wittekind C, Arnold R, & Horsch D 2005 BRAF gene mutations are rare events in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. Am.J.Clin.Pathol. 123 256-260; Karhoff D, Sauer S, Schrader J, Arnold R, Fendrich V, Bartsch DK, & Horsch D 2007 Rap1/B-Raf signaling is activated in neuroendocrine tumors of the digestive tract and Raf kinase inhibition constitutes a putative therapeutic target. Neuroendocrinology 85 45-53; Perren A, Schmid S, Locher T, Saremaslani P, Bonvin C, Heitz PU, & Komminoth P 2004 BRAF and endocrine tumors: mutations are frequent in papillary thyroid 35 carcinomas, rare in endocrine tumors of the gastrointestinal tract and not detected in other endocrine tumors. Endocr.Relat Cancer 11 855-860; Kunnimalaiyaan M & Chen H 2006 The Raf-1 pathway: a molecular target for treatment of select neuroendocrine tumors? Anticancer Drugs 17 139-142). La ruta de PI3K se activa en tumores carcinoides a partir de la deleción del gen supresor de tumores PTEN (homólogo de fosfatasa y tensina). La pérdida de PTEN en tumores neuroendocrinos y carcinoides aumenta en frecuencia con la pérdida de diferenciación en el 40 tumor (Wang GG, Yao JC, Worah S, White JA, Luna R, Wu TT, Hamilton SR, & Rashid A 2005 Comparison of genetic alterations in neuroendocrine tumors: frequent loss of chromosome 18 in ileal carcinoid tumors. Mod.Pathol. 18 1079-1087), y la pérdida de la expresión de PTEN puede representar un paso importante en la progresión de tumores neuroendocrinos (Wang L, Ignat A, & Axiotis CA 2002 Differential expression of the PTEN tumor suppressor protein in fetal and adult neuroendocrine tissues and tumors: progressive loss of PTEN expression in poorly 45 differentiated neuroendocrine neoplasms. Appl.Immunohistochem.Mol.Morphol. 10 139-146).

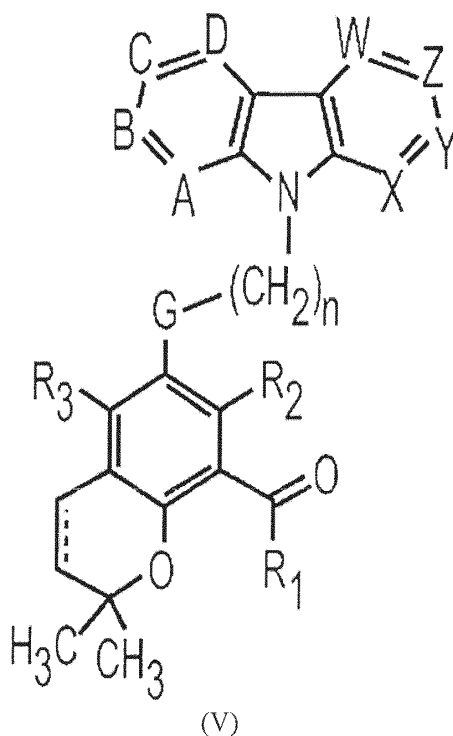
Los tumores carcinoides gastrointestinales y pulmonares son poco comunes, pero desafortunadamente son generalmente refractarios a los enfoques quimioterapéuticos y radioterapéuticos citotóxicos convencionales. Muchos enfoques terapéuticos dirigidos, tal como la inducción de la apoptosis mediada por Ras mediante la inhibición de 50 PKC delta, que aprovecha selectivamente las mutaciones muy oncogénicas que contribuyen a la malignidad del tumor, pueden tener potencial como una modalidad terapéutica novedosa y selectiva para estas neoplasias.

Resumen de la invención

55 La presente invención es como se expone en las reivindicaciones.

En particular, la presente invención es como se expone en las siguientes cláusulas:

1. Un compuesto de la fórmula (V)



en la que:

- 5 R₁ = H,
 R₂ y R₃ pueden ser independientemente o ambos H u OH,
 A, B, C, D = independientemente N o CH,
 X, Y, Z, W = independientemente N o CH,
 G = O, NR, S o CH₂,
 10 R = H, alquilo inferior o arilo, y,
 n = 0, 1, 2, 3 o 4;
 y sales farmacéuticamente aceptables del mismo,
 en la que alquilo inferior se refiere a grupos alquilo sustituidos, sin sustituir, ramificados o no
 ramificados que tienen 1-6 átomos de carbono.
- 15 2. El compuesto de la cláusula 1, en el que alquilo inferior se refiere a metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-
 butilo, sec-butilo o terc-butilo.
 3. El compuesto de la cláusula 1, en el que arilo se refiere a un resto cíclico insaturado que comprende al
 menos un anillo aromático.
 20 4. El compuesto de la cláusula 3, en el que arilo se refiere a un sistema anular carbocíclico mono o bicíclico
 que tiene uno o dos anillos aromáticos.
 5. Una composición terapéutica que comprende:
- 25 un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las cláusulas 1 a 4; y,
 un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable; opcionalmente, en el que la composición
 comprende adicionalmente un agente terapéutico adicional.
- 30 6. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las cláusulas 1 a 4, o una composición terapéutica de
 acuerdo con la reivindicación 5, para su uso en terapia.
 7. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las cláusulas 1 a 4, o una composición terapéutica de
 acuerdo con la cláusula 5, para su uso en el tratamiento del cáncer; opcionalmente, en el que el cáncer se
 selecciona del grupo que consiste en: cáncer broncopulmonar, un cáncer gastrointestinal, cáncer
 neuroendocrino pancreático, cáncer carcinoide, melanoma maligno, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón,
 cáncer colorrectal, cáncer de piel no melanoma, neoplasia hematopoyética de origen mielóide, cáncer de
 ovario, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer del

sistema nervioso, cáncer de riñón, cáncer de retina, cáncer de piel, cáncer de piel con melanoma, cáncer de estómago, cáncer de hígado, cáncer genitourinario, cáncer de próstata y cáncer de vejiga.

8. Uso del compuesto de una cualquiera de las cláusulas 1 a 4, o una composición de acuerdo con la reivindicación 5, para causar la apoptosis *in vitro* de una célula que prolifera anormalmente que tiene un aumento aberrante de la señalización de Ras.

9. El uso de la cláusulas 8, en el que la señalización aumentada de Ras está asociada con la activación de una ruta seleccionada del grupo que consiste en Raf1/MAPK, RasGDS/Ras/Rho, PI3K, y combinaciones de los mismos; opcionalmente, en el que la forma activada de Ras se selecciona del grupo que consiste en K-Ras, H-Ras y N-Ras; opcionalmente, en el que la célula que prolifera anormalmente es una célula maligna o una célula cancerosa.

La presente descripción se refiere en general a compuestos que se descubrió que eran inhibidores específicos de PKC delta, y composiciones de los mismos. En algunos aspectos de la presente descripción, las composiciones que comprenden estos compuestos pueden usarse en un método para tratar cánceres, por ejemplo, tumores carcinoides y neuroendocrinos, melanomas malignos, cáncer de páncreas, gastrointestinales y de pulmón. En el presente documento, los inventores han demostrado que las líneas celulares de tumor neuroendocrino humanas de origen pulmonar y gastrointestinal son sorprendentemente sensibles a la inhibición PKC delta usando los compuestos descritos en el presente documento (Chen, Z., Forman, L.W., Miller, K.A., English, B., Takashima, A., Bohacek, R.A., Williams, R.M., y Faller, D.V.: The proliferation and survival of human neuroendocrine tumors is dependent upon protein kinase C-delta. 2011, Endocrine-Related Cancers, 18:759-71).

En ciertos aspectos de la presente descripción, un compuesto inhibidor de PKC delta para su uso en los métodos, composiciones y kits como se describe en el presente documento es de la fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) (véase la Figura 12).

Los compuestos de la presente descripción inhiben específicamente PKC delta.

La presente descripción también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En el presente documento los inventores han demostrado que un compuesto, como se describe en el presente documento, es un inhibidor específico de PKC delta y produce una disminución dependiente de la dosis y dependiente del tiempo del número de células para varias líneas celulares de tumor neuroendocrino: BON1 (línea celular de tumor carcinoide del intestino anterior), líneas celulares CNDT 2.5 y H727. Adicionalmente, los inventores han demostrado que los compuestos, como se describen en el presente documento, suprimen significativamente el crecimiento celular y la capacidad clonogénica de estas líneas celulares.

Por consiguiente, un aspecto de la presente descripción se refiere a un compuesto de fórmula (V) para su uso en un método para tratar cánceres y/o inhibir la proliferación celular, por ejemplo, tumores neuroendocrinos broncopulmonares, gastrointestinales y pancreáticos, melanomas malignos, cánceres pancreáticos, gastrointestinales y de pulmón.

Otros aspectos de la presente descripción se refieren a compuestos para su uso en métodos para tratar tumores neuroendocrinos humanos. En particular, los inventores han demostrado que la inhibición o regulación descendente de PKC delta por ARNsi, e inhibidores de moléculas pequeñas, tal como un compuesto de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) pueden reprimir eficaz y selectivamente el crecimiento de células neuroendocrinas humanas, derivadas de tumores broncopulmonares, del intestino anterior y del intestino posterior carcinoides y tumores neuroendocrinos, melanomas malignos, cáncer de páncreas, gastrointestinales y de pulmón.

Por consiguiente, en algunos aspectos de la presente descripción, una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto como se describe en el presente documento puede usarse en un método para tratar un cáncer en un sujeto. En algunos aspectos de la presente descripción, se puede usar un compuesto como se describe en el presente documento en un método para tratar un cáncer en un sujeto, por ejemplo, un cáncer broncopulmonar, un cáncer gastrointestinal o un cáncer neuroendocrino pancreático, tumores carcinoides y neuroendocrinos, melanomas malignos, cáncer de páncreas, gastrointestinal y pulmonar. En algunos aspectos de la presente descripción, puede usarse un compuesto como se describe en el presente documento en un método para tratar un cáncer carcinoide y/o neuroendocrino. En algunos aspectos de la presente descripción, un cáncer neuroendocrino se puede derivar de un tumor broncopulmonar o del intestino anterior o del intestino posterior.

En otros aspectos de la presente descripción, los presentes compuestos pueden usarse en un método para tratar una afección patológica en un sujeto que es sensible a la inhibición de PKC delta, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto, o una composición farmacéutica del mismo. En ciertos aspectos de la presente descripción, el compuesto o composición farmacéutica se administra por vía oral. En otros aspectos de la presente descripción, el compuesto o composición farmacéutica se administra por vía parenteral (por ejemplo, por vía intravenosa).

Los compuestos de la presente descripción también se pueden usar en un método para inhibir PKC delta en un sujeto y un método para tratar un sujeto con cáncer, por ejemplo, un cáncer broncopulmonar, un cáncer gastrointestinal o un cáncer pancreático neuroendocrino, melanomas malignos, cánceres de páncreas, gastrointestinales y pulmonares en los que se administra al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito, o una composición farmacéutica del mismo.

La presente descripción se refiere además al uso de los compuestos de la descripción para la fabricación de un medicamento para tratar afecciones patológicas que responden a la inhibición de PKC delta para tratar un sujeto con cáncer, por ejemplo, un cáncer broncopulmonar, un cáncer gastrointestinal o un cáncer neuroendocrino de páncreas, melanomas malignos, cáncer pancreático, gastrointestinal y de pulmón.

Otros aspectos de la presente descripción y las ventajas de la presente descripción se exponen, en parte, en la siguiente descripción, y en parte, pueden ser obvios a partir de esta descripción, o pueden aprenderse de la práctica de la descripción.

Descripción de los dibujos

Figuras 1A-1C. Efectos de PKC delta modificada por ARNsi sobre la proliferación de células neuroendocrinas humanas BON1 y CNDT. Las células BON1 (Figura 1A) y CNDT 2.5 (Figura 1B) se cultivaron al 50% de confluencia en placas de 96 pocillos y después se trataron con PKC delta-ARNsi o ARNsi desorganizado (sc-ARNsi). Los volúmenes equivalentes de disolvente correspondientes se usaron como controles de vehículos (Control). Después de 48, 72 y 96 horas de tratamiento, el número de células se evaluó mediante el ensayo de MTS. (Figura 1C) Los análisis de inmunotransferencia muestran una regulación descendente de PKC delta 72 h después del tratamiento con ARNsi de direccionamiento de PKC delta transfectado con lentivirus frente a controles tratados con ARNsi desorganizado. ARNsi de direccionamiento de PKC delta lentiviral inhibió la expresión de la proteína PKC delta, según lo determinado por inmunotransferencia.

Figuras 2A-2D. Efectos de PKC delta modificada por lentivirus de ARNsh específico de PKC delta sobre la proliferación de células tumorales neuroendocrinas humanas. Las células BON1 (Figura 2A), CNDT 2.5 (Figura 2B) y H727 (Figura 2C) se cultivaron al 50% de confluencia en placas de 96 pocillos y luego se infectaron con Lentivirus de ARNsh de PKC delta o Lentivirus de ARNsh desorganizado (vector). Las células expuestas a una infección lentiviral simulada (vehículo) también sirvieron como controles. Después de 24, 48 y 15 72 horas de tratamiento, se evaluó la proliferación celular mediante el ensayo de MTS. Los valores de control se normalizaron al 100%. Las barras de error representan SEM. Los valores de P para la comparación entre los efectos de lentivirus de control (ARNsh desorganizado) y lentivirus de ARNsh de PKC delta sobre el número de células alcanzaron una significación a las 24 h de exposición ($p < 0,001$) para todas las líneas celulares, y permanecieron significativos en los puntos temporales de 48 y 72 h. (Figura 2D) Análisis de inmunotransferencia de la proteína PKC delta 72 h después de la exposición a ARNsh dirigido a PKC delta transfectado con lentivirus en comparación con infección con lentivirus que contiene un control tratado con ARNsh desorganizado (Sc-ARNsh), o controles infectados de manera simulada.

Figuras 3A-3C. Efectos citotóxicos de PKC delta modificado por lentivirus de ARNsh en líneas celulares de tumor neuroendocrino humanas. Las células BON1 (Figura 3A), CNDT 2.5 (Figura 3B) y H727 (Figura 3C) se cultivaron al 50% de confluencia en placas de 96 pocillos y luego se infectaron con lentivirus de ARNsh de PKC delta o lentivirus de ARNsi desorganizado (vector). Las células expuestas a una infección lentiviral simulada (vehículo) también sirvieron como controles. Después de 24, 48 y 72 horas de tratamiento, se evaluó la citotoxicidad celular mediante ensayo de liberación de LDH. La máxima liberación de LDH total se asigna al valor arbitrario del 100%. Las barras de error representan SEM. Los valores de P para la comparación entre los efectos de lentivirus de control (ARNsh desorganizado) y lentivirus de ARNsh de PKC delta sobre la liberación de LDH alcanzaron una significación a las 24 h de exposición ($p < 0,004$) para todas las líneas celulares, y permanecieron significativos en los puntos temporales de 48 y 72 h.

Figura 4. Efectos de los inhibidores de PKC delta sobre la proliferación de líneas celulares de tumor neuroendocrino humanas. Las células se cultivaron al 80% de confluencia en placas de 96 pocillos y luego

se trataron con control de vehículo (DMSO), Rottlerina o KAM1 a 5, 10, 20 o 40 μm . Los volúmenes de disolvente equivalentes correspondientes se usaron como controles de vehículo. Después de 72 horas de tratamiento, el crecimiento celular se evaluó mediante ensayo de MTT. Los valores de control se normalizaron al 100%. Los valores de p para la comparación entre el control (vehículo) y los efectos de Rottlerina sobre el número de células alcanzaron significación a las 24 h de exposición ($p < 0,004$) para todas las líneas celulares, y permanecieron significativos en los puntos temporales de 48 y 72 h. Los valores de p para la comparación entre el control (vehículo) y los efectos de KAM1 en el número de células alcanzaron significación en 72 horas de exposición ($p < 0,02$) para todas las líneas celulares.

La Figura 5 ilustra la estructura de KAM1, una quimera de rottlerina/estaurosporina.

Figuras 6A-6B. Efectos citotóxicos de los inhibidores de PKC5 en líneas celulares de tumor neuroendocrino humanas. Las células H727 se cultivaron hasta el 50% de confluencia en placas de 96 pocillos y luego se expusieron a Rottlerina (Figura 6A) o KAM1 (Figura 6B) a las concentraciones indicadas. Las células expuestas al vehículo en solitario sirvieron como controles. Después de 24, 48 y 72 horas de tratamiento, se evaluó la citotoxicidad celular mediante ensayo de liberación de LDH. Los valores de liberación de LDH iniciales (tratamiento del vehículo) se restaron en cada punto de tiempo. La máxima liberación de LDH total se asigna al valor arbitrario del 100%. Las barras de error representan SEM. Los valores de p para la comparación entre el control (vehículo) y los efectos de Rottlerina o KAM1 sobre la liberación de LDH alcanzaron significación a las 24 h de exposición ($p < 0,003$), y se mantuvieron significantes en los puntos temporales de 48 y 72 h.

Figuras 7A-7D. Exposición a largo plazo de las líneas celulares de tumor neuroendocrino humanas a inhibidores de PKC delta. Las células BON1 (Figuras 7A y 7C) o las células CNDT (Figuras 7B y 7D) se expusieron a rottlerina a una concentración subóptima (10 μM). Las células expuestas al vehículo en solitario sirvieron como controles. En los puntos temporales indicados, los números de células se estimaron mediante ensayos de MTS. En los cultivos representados en los paneles A y B, los medios no se modificaron. En cultivos representados en los paneles C y D, los medios frescos que contenían el inhibidor de PKC delta se reemplazaron después de 72 horas de exposición (flechas). Las barras de error representan SEM. (La caída en el número de células en cultivos de control en los puntos de tiempo más largos probablemente refleja el crecimiento excesivo observado en los cultivos de control).

Figura 8. Duración de la exposición a inhibidores de PKC delta necesarios para inhibir la proliferación de células tumorales. Las células BON1 se cultivaron a una confluencia del 30% y luego se trataron con vehículo como control (vehículo), o rottlerina a 10 μM , durante 6, 12, 24, 48 o 72 h. Se reemplazó el medio sin inhibidor y se estimó el número de células mediante el ensayo de MTS a las 24, 48 y 72 h. Aquí se muestran los resultados a las 72 h de cultivo después de cada intervalo de lavado. Las barras de error representan SEM. Las diferencias en la proliferación entre cultivos tratados con rottlerina y vehículos se volvieron estadísticamente significativas a las 24 h de exposición, y permanecieron significativas durante todos los períodos de exposición más largos.

Figura 9. Efectos del inhibidor de PKC delta sobre la capacidad clonogénica de las células tumorales. Las células H727 se cultivaron a una confluencia del 30% y luego se trataron con vehículo como control (vehículo), o rottlerina a 10 μM , durante 6, 12, 24, 48 o 72 h. Las células viables se enumeraron y se colocaron en placas de nuevo en medio sin inhibidor, y el número de colonias se cuantificó 96 h más tarde. Las barras de error representan SEM. El valor de p para la comparación del control con DMSO y los efectos de la rottlerina sobre la capacidad clonogénica alcanzó significación ($p = 0,0051$) a las 6 h de exposición y se mantuvo significativo para todos los tiempos de exposición posteriores.

Figuras 10A-10B. Señalización de Ras en líneas celulares de tumor neuroendocrino. La Figura 10A ilustra la actividad de p21Ras en líneas celulares de tumor neuroendocrino. Se usaron lisados libres de elementos nucleares que contenían un total de 400 μg de proteína de cada tipo de célula indicado para el análisis de la actividad de Ras mediante reducción de Raf-RBD de p21Ras unida a GTP. Se demostró una carga igual al volver a analizar la transferencia con anticuerpo anti-actina. Los niveles de expresión de la proteína pan-p21Ras también se analizaron. Los carriles 1-5 representan lisados de: Células NIH/3T3 (control negativo), NIH/3T3-Ras (control positivo), BON1, H727, y CNDT, respectivamente. La Figura 10B ilustra la activación de las rutas de señalización de Ras en líneas celulares de tumor neuroendocrino. Los lisados celulares de las células MCF de control negativo (carril 1); células MCF-10-Ras de control positivo (carril 2); células BON1 (carril 3); células H727 (carril 4); y las células CNDT (carril 5) se separaron mediante electroforesis en gel de SDS poliacrilamida, se transfirieron a una membrana y se inmunotransfirieron con anticuerpos contra ERK, fosfo-ERK, AKT, fosfo-Thr308 AKT y GAPDH (como control de carga).

Las Figuras 11A-11M muestran aspectos preferibles de la presente memoria descriptiva.

Las Figuras 12A-12D y 12F muestran aspectos preferibles de la presente descripción de compuestos para los métodos y la composición de la presente descripción. La Figura 12E muestra un esquema sintético para un aspecto de la presente descripción.

Descripción de la invención

Como se ha analizado anteriormente, sigue existiendo la necesidad de tratamiento de neoplasias. Se describen 5 compuestos de fórmulas generales (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) y (V) que son útiles como inhibidores de PKC delta y, por lo tanto, son útiles para el tratamiento de enfermedades o trastornos asociados con una mayor actividad de PKC delta, y/o aumento o sobreexpresión de PKC delta. En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos son útiles en el tratamiento del cáncer en un sujeto, por ejemplo, un cáncer broncopulmonar, un cáncer gastrointestinal o un cáncer neuroendocrino pancreático.

10

En algunos aspectos de la presente descripción, el cáncer es un cáncer carcinoide y/o neuroendocrino, melanoma maligno, cáncer de páncreas, gastrointestinal o de pulmón. En algunos aspectos de la presente descripción, un cáncer neuroendocrino es de origen pulmonar y gastrointestinal, por ejemplo, un cáncer se deriva de un tumor broncopulmonar, o del intestino anterior o del intestino posterior.

15

Definiciones

Antes de una descripción adicional de la presente descripción, y para que la descripción pueda entenderse más fácilmente, primero se definen y se recogen aquí ciertos términos por comodidad.

20

Ciertos compuestos de la presente descripción, y definiciones de grupos funcionales específicos se describen con más detalle a continuación. Para los propósitos de esta descripción, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75ª Ed., portada interior, y los grupos funcionales específicos generalmente se definen como se describe en la misma.

25

Además, los principios generales de la química orgánica, así como los restos funcionales específicos y la reactividad, se describen en Organic Chemistry, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999. Además, se apreciará por un experto en la técnica que los métodos sintéticos, como se describen en el presente documento, utilizan una diversidad de grupos protectores. Por el término "grupo protector", se ha usado en el presente documento, se entiende que un resto funcional particular, por ejemplo, C, O, S o N, está temporalmente

30

bloqueado de manera que una reacción pueda realizarse selectivamente en otro sitio reactivo en un compuesto multifuncional. En ciertos aspectos de la presente descripción, un grupo protector reacciona selectivamente con buen rendimiento para proporcionar un sustrato protegido que es estable a las reacciones proyectadas; el grupo protector debe eliminarse selectivamente con buen rendimiento mediante reactivos fácilmente disponibles, preferiblemente no tóxicos, que no ataquen a los demás grupos funcionales; el grupo protector forma un derivado

35

fácilmente separable (más preferiblemente sin la generación de nuevos centros estereogénicos); y el grupo protector tiene un mínimo de funcionalidad adicional para evitar sitios de reacción adicionales. Como se detalla en el presente documento, se pueden utilizar grupos protectores de oxígeno, azufre, nitrógeno y carbono. Los ejemplos de grupos protectores se detallan en el presente documento, sin embargo, se apreciará que la presente descripción no pretende limitarse a estos grupos protectores; más bien, se puede identificar fácilmente una diversidad de grupos

40

protectores equivalentes adicionales usando los criterios anteriores y se pueden utilizar en el método de la presente descripción. Adicionalmente, se describen una diversidad de grupos protectores en Protective Groups in Organic Synthesis, Tercera Ed. Greene, T.W. y Wuts, P.G., Eds., John Wiley & Sons, Nueva York: 1999. Además, se describen una diversidad de grupos protectores de carbono en Myers, A.; Kung, D.W.; Zhong, B.; Movassaghi, M.; Kwon, S. J. Am. Chem. Soc. 1999, 121, 8401-8402.

45

El término "PKC delta" se usa de forma intercambiable en el presente documento con PKC delta o PKC, y se refiere a las secuencias de aminoácidos de PKC delta sustancialmente purificada obtenida de cualquier especie, particularmente mamífero, incluyendo bovino, ovino, porcino, murino, equino, y preferiblemente humano, de cualquier fuente ya sea natural, sintético, semisintético o recombinante. PKC delta (también conocido en la técnica como alias: PRKCD; MAY1; MGC49908; nPKC delta) es un miembro de la familia PKC.

50

El término "inhibidor" o "antagonista", como se usa en el presente documento en referencia a un antagonista o inhibidor de PKC delta, se refiere a una molécula que, cuando se une a PKC delta, disminuye la cantidad o la duración del efecto de la actividad biológica o inmunológica de PKC delta, independientemente de si el inhibidor funciona indirecta o directamente en PKC delta.

55

El término "inhibidor de PKC delta" o "antagonista de PKC delta" como se usa en el presente documento se refiere a un agente que reduce o atenúa la actividad biológica del polipéptido PKC delta en una célula, disminuyendo la actividad del polipéptido PKC delta o reduciendo eficazmente la cantidad de polipéptido PKC delta en una célula o

- disminuyendo la actividad enzimática del polipéptido PKC delta. Por lo tanto, el "inhibidor de PKC delta" se refiere a una molécula que tiene la capacidad de inhibir una función biológica de una PKC delta nativa, así como a una proteína PKC delta mutante. Los compuestos que son inhibidores de PKC delta incluyen todos los solvatos, hidratos, sales farmacéuticamente aceptables, tautómeros, estereoisómeros y profármacos de los compuestos. Aunque los
- 5 inhibidores de PKC delta preferidos en el presente documento interactúan específicamente con, por ejemplo, se unen a, una delta PKC, las moléculas que inhiben la actividad biológica de PKC delta al interactuar con otros miembros de la ruta de transducción de señal de PKC delta también se incluyen específicamente dentro de esta definición. Los inhibidores de PKC delta útiles pueden inhibir selectivamente PKC delta, pueden inhibir selectivamente las isoformas de PKC novedosas o independientes de calcio. Una actividad biológica de PKC delta
- 10 preferida inhibida por un inhibidor de PKC delta como se describe en el presente documento está asociada con el desarrollo, crecimiento o diseminación de un tumor o está asociada con el desarrollo o la proliferación. Algunos inhibidores de PKC delta pueden funcionar mediante más de un mecanismo para inhibir la actividad de delta PKC total en una célula.
- 15 El término inhibidor de PKC delta "selectivo" como se usa en el presente documento, se refiere a un agente que inhibe la actividad de PKC delta con una K_i al menos 10 veces menor, preferiblemente, al menos 100 veces menor, que la K_i para la inhibición de una o más otras isoformas de PKC (por ejemplo, PKC alfa, PKC beta y PKC gamma o cualquier otra).
- 20 Un "tratamiento dirigido a PKC delta" es el uso de uno o más inhibidores de PKC delta para reducir terapéuticamente la actividad de PKC delta en una célula. Un inhibidor de PKC delta pueden ser preferiblemente agentes que inhiben selectivamente PKC delta. Como se usa en el presente documento, un agente que "inhibe selectivamente" PKC delta significa un agente que reduce la actividad del PKC delta más que ésta reduce la actividad de una o más isoformas de PKC diferentes.
- 25 El término "actividad de PKC delta disminuida" significa una disminución sustancial en una cantidad estadísticamente significativa en la actividad de polipéptido PKC delta total de la enzima PKC delta como resultado de la inhibición con un compuesto inhibidor de PKC delta como se describe en el presente documento en comparación con en la ausencia de dicho inhibidor.
- 30 El término "biológicamente activo", como se usa en el presente documento, se refiere a una proteína que tiene funciones estructurales, reguladoras o bioquímicas de una molécula de origen natural, y muestra la actividad de la molécula en un ensayo celular y/o *in vivo*.
- 35 Los términos "Ras" y "p21Ras" se usan indistintamente en el presente documento para referirse al producto proteico de un gen Ras. La familia de genes ras de mamíferos consiste en los genes ras Harvey y Kirsten (c-Hras1 y c-Kras2), un pseudogen inactivo de cada uno (c-Hras2 y c-K-rasl) y el gen N-ras. Los productos de proteína p21Ras de los tres genes ras (p21HRas, p21KRas y p21NRas, respectivamente) difieren significativamente solamente en sus 40 aminoácidos C-terminales, y cada uno se activa mediante los mismos o mutaciones activadoras o correspondientes.
- 40 Las tres secuencias del gen ras, así como sus productos proteicos, para una diversidad de animales (por ejemplo, mamíferos, incluidos los seres humanos) se conocen bien en el campo. Los ejemplos de cada una de las secuencias codificantes del gen ras humano se proporcionan en la solicitud internacional WO/20071106424 (véase la Figura 8: H-ras en la Figura 8A, K-ras en la Figura 8B, y N-ras en la Figura 8C).
- 45 Como se usa en el presente documento, la expresión "mutación Ras activada" se refiere a la presencia de una mutación genómica en un gen ras que conduce a la expresión de una forma activada de la proteína Ras. El término "tipo silvestre" se usa en el presente documento para referirse a ácidos nucleicos que codifican proteínas Ras que no contienen mutaciones activantes, y también para referirse a proteínas Ras que no son resultado de mutaciones activadoras.
- 50 El término "señalización de Ras aberrantemente aumentada" como se usa en el presente documento, se refiere a un aumento estadísticamente significativo en la señalización de Ras en una o más células (por ejemplo, células tumorales o pretumorales) según se mide por una determinación del porcentaje de Ras en el estado activado y/o actividad o uno o más efectores aguas abajo de Ras. Dicha determinación se realiza adicionalmente por
- 55 comparación de mediciones similares realizadas en un tipo de células similar en condiciones apropiadas. Se puede suponer una actividad aumentada mediante la detección de un conocido mutante de Ras activado, en el ácido nucleico o en el nivel de proteína. También se puede suponer una actividad aumentada de Ras por un aumento anormal detectado en la actividad y/o presencia de un activador conocido de Ras o una disminución anormal en el desactivador conocido de Ras, como se describe en el presente documento. La verificación del aumento real en la

señalización de Ras se puede usar para confirmar dicha suposición.

- Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" o "paciente" se refiere a cualquier mamífero. El sujeto es preferiblemente humano, pero también puede ser un mamífero que necesite tratamiento veterinario, por ejemplo, animales domésticos, animales de granja y animales de laboratorio. Por ejemplo, el sujeto puede ser un sujeto diagnosticado con un tumor benigno o maligno, un cáncer o una hiperplasia. El sujeto puede ser un paciente con cáncer que está recibiendo modalidades de tratamiento contra el cáncer o se ha sometido a un régimen de tratamiento, por ejemplo, quimioterapia, radiación y/o cirugía. El sujeto puede ser un paciente con cáncer cuyo cáncer parece estar retrocediendo.
- 10 Como se usa en el presente documento, la frase "expresión" se usa para referirse a la transcripción de un producto génico en ARNm (expresión génica) y también se usa para referirse a la expresión de la proteína codificada por el gen.
- 15 Como se usa en el presente documento, el término "sobrexpresión" se usa para referirse a la producción aumentada de un ARNm y/o proteína específico en una célula, en donde el ARNm y el producto de proteína reales no contienen mutaciones activadoras. Como se usa en el presente documento, el término "sobreactivación", como se usa para referirse a Ras o un efector aguas arriba o aguas abajo, se usa para referirse a una señalización aumentada a través de una forma no activada de un miembro de ruta. La sobreactivación de una molécula típicamente es resultado de una activación aumentada (por ejemplo, señalización aguas arriba) o una desactivación disminuida (por ejemplo, regulación negativa aguas abajo) de la molécula. La sobreactivación y la sobreexpresión de un gen/proteína específicos pueden coexistir y, a menudo, la existencia de una contribuye a la existencia de la otra en una célula.
- 20
- 25 La determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz está dentro de la capacidad de los expertos en la técnica. En general, una cantidad terapéuticamente eficaz puede variar con la historia del sujeto, la edad, la condición, el sexo, así como la gravedad y el tipo de la afección médica en el sujeto, y la administración de otros agentes farmacéuticamente activos. Además, las cantidades terapéuticamente eficaces variarán, como reconocen los expertos en la técnica, dependiendo de la enfermedad específica tratada, la vía de administración, el excipiente seleccionado y la posibilidad de una terapia de combinación. Puede medirse un efecto fisiológico de un compuesto como se describe en el presente documento sobre el sujeto para determinar la cantidad terapéuticamente eficaz que incluye, sin limitación, proliferación disminuida en un sujeto y similares.
- 30
- Se apreciará que los compuestos, como se describen en el presente documento, pueden estar sustituidos con cualquier número de sustituyentes o restos funcionales. En general, el término "sustituido", ya esté precedido por el término "opcionalmente" o no, y los sustituyentes contenidos en las fórmulas de esta invención, se refieren al reemplazo de radicales de hidrógeno en una estructura dada con el radical de un sustituyente específico. Cuando más de una posición en cualquier estructura dada puede estar sustituida con más de un sustituyente seleccionado de un grupo específico, el sustituyente puede ser el mismo o diferente en cada posición. Como se usa en el presente documento, se contempla que el término "sustituido" incluye todos los sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos. En un amplio aspecto, los sustituyentes permisibles incluyen sustituyentes acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos de compuestos orgánicos. Para los fines de esta invención, los heteroátomos tales como nitrógeno pueden tener sustituyentes de hidrógeno y/o cualquier sustituyente permisible de compuestos orgánicos descritos en el presente documento que satisfagan las valencias de los heteroátomos. Además, esta invención no pretende estar limitada de ninguna manera por los sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos.
- 35
- 40
- 45
- Las combinaciones de sustituyentes y variables previstas por esta invención son preferiblemente aquellas que dan como resultado la formación de compuestos estables útiles en el tratamiento, por ejemplo, de trastornos proliferativos, incluyendo, pero sin limitación, cáncer.
- 50
- El término "estable", como se usa en el presente documento, se refiere preferiblemente a compuestos que poseen estabilidad suficiente para permitir la fabricación y que mantienen la integridad del compuesto durante un período de tiempo suficiente para detectarse y preferiblemente durante un período de tiempo suficiente para ser útiles para los fines detallados en el presente documento.
- 55
- El término "alifático", como se usa en el presente documento, incluye tanto hidrocarburos alifáticos saturados como insaturados, de cadena lineal (es decir, no ramificados) o ramificados, que están opcionalmente sustituidos con uno o más grupos funcionales. Como apreciará un experto en la técnica, se pretende que "alifático" incluya en el

presente documento, pero sin limitación, restos alquilo, alqueniilo y alquinilo. Por lo tanto, como se usa en el presente documento, el término "alquilo" incluye grupos alquilo lineales y ramificados. Una convención análoga se aplica a otros términos genéricos tales como "alqueniilo", "alquinilo" y similares. Además, como se usa en el presente documento, los términos "alquilo", "alqueniilo", "alquinilo" y similares incluyen grupos sustituidos y no sustituidos. En 5 ciertos aspectos de la presente descripción, como se usa en el presente documento, se usa "alquilo inferior" para indicar aquellos grupos alquilo (sustituidos, sin sustituir, ramificados o no ramificados) que tienen 1-6 átomos de carbono.

El término "alquilo" es un hidrocarburo saturado en una molécula que está unido a otro grupo en la molécula a través 10 de un único enlace covalente sencillo de uno de sus átomos de carbono. Los grupos alquilo pueden ser cíclicos o acíclicos, ramificados o no ramificados (de cadena lineal) y sustituidos o sin sustituir cuando son de cadena lineal o ramificada. Un grupo alquilo típicamente tiene de 1 a 12 átomos de carbono, por ejemplo, de uno a seis átomos de carbono o de uno a cuatro átomos de carbono. Los grupos alquilo inferior tienen de uno a cuatro átomos de carbono e incluyen metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo y terc-butilo. Cuando es cíclico, un grupo alquilo 15 contiene típicamente de 3 a 10 átomos de carbono, por ejemplo, de 3 a 8 átomos de carbono, por ejemplo, un grupo ciclopropilo, un grupo ciclobutilo, un grupo ciclopentilo, un grupo ciclohexilo, un grupo cicloheptilo o un grupo ciclooctilo.

En ciertos aspectos de la presente descripción, los grupos alquilo, alqueniilo y alquinilo empleados en la descripción 20 contienen 1-20 átomos de carbono alifáticos. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los grupos alquilo, alqueniilo y alquinilo empleados en la invención contienen 1-10 átomos de carbono alifáticos.

En aún otros aspectos de la presente descripción, los grupos alquilo, alqueniilo y alquinilo empleados en la descripción contienen 1-8 átomos de carbono alifáticos. En aún otros aspectos de la presente descripción, los 25 grupos alquilo, alqueniilo y alquinilo empleados en la descripción contienen 1-6 átomos de carbono alifáticos.

En aún otros aspectos de la presente descripción, los grupos alquilo, alqueniilo y alquinilo empleados en la descripción contienen 14 átomos de carbono alifáticos. Por lo tanto, los grupos alifáticos ilustrativos incluyen, pero 30 sin limitación, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, alilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, n-pentilo, secpentilo, isopentilo, terc-pentano, n-hexilo, sec-hexilo, restos, y similares, que de nuevo pueden tener uno o más sustituyentes. Los grupos alqueniilo incluyen, pero sin limitación, por ejemplo, etenilo, propenilo, butenilo, 1-metil-2-buten-1-ilo, y similares. Los grupos alquinilo representativos incluyen, pero sin limitación, etinilo, 2-propinilo (propargilo), 1-propinilo, y similares.

El término "alicíclico", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que combinan las 35 propiedades de compuestos alifáticos y cíclicos e incluyen, pero sin limitación, hidrocarburos alifáticos cíclicos o policíclicos y compuestos de cicloalquilo puenteados, que están opcionalmente sustituidos con uno o más grupos funcionales. Como apreciará un experto en la técnica, "alicíclico" pretende incluir en el presente documento, pero sin limitación, restos cicloalquilo, cicloalqueniilo y cicloalquinilo, que están opcionalmente sustituidos con uno o más 40 grupos funcionales. Por lo tanto, los grupos alicíclicos ilustrativos incluyen, por ejemplo, restos ciclopropilo, -CH₂-ciclopropilo, ciclobutilo, -CH₂-ciclobutilo, ciclopentilo, -CH₂-ciclopentilo, ciclohexilo, -CH₂-ciclohexilo, ciclohexeniletilo, ciclohexaniletilo, norborbilo, y similares, que pueden tener uno o más sustituyentes.

El término "alcoxilo" o "alquiloxilo" o "tioalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo 45 alquilo, como se ha definido previamente, unido al resto molecular precursor a través de un átomo de oxígeno o a través de un átomo de azufre. En ciertos aspectos de la presente descripción, el grupo alquilo contiene 1-20 átomos de carbono alifáticos. En ciertos otros aspectos de la presente descripción, el grupo alquilo contiene 1-10 átomos de carbono alifáticos. En aún otros aspectos de la presente descripción, el grupo alquilo contiene 1-8 átomos de carbono alifáticos. En todavía otros aspectos de la presente descripción, el grupo alquilo contiene 1-6 átomos de 50 carbono alifáticos. En aún otros aspectos de la presente descripción, el grupo alquilo contiene 1-4 átomos de carbono alifáticos. Los ejemplos de alcoxi incluyen, pero sin limitación, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, n-butoxi, terc-butoxi, neopentoxi, y n-hexoxi. Los ejemplos de tioalquilo incluyen, pero sin limitación, metiltio, etiltio, propiltio, isopropiltio, n-butiltio y similares.

El término "alquilamino" se refiere a un grupo que tiene la estructura -NHR' en la que R' es alquilo, como se define 55 en el presente documento. El término "aminoalquilo" se refiere a un grupo que tiene la estructura NH₂R'-, en la que R' es alquilo, como se define en el presente documento. En ciertos aspectos de la presente descripción, el grupo alquilo contiene 1-20 átomos de carbono alifáticos. En ciertos otros aspectos de la presente descripción, el grupo alquilo contiene 1-10 átomos de carbono alifáticos. En aún otros aspectos de la presente descripción, el alquilo

contiene 1-8 átomos de carbono alifáticos. En todavía otros aspectos de la presente descripción, el grupo alquilo contiene 1-6 átomos de carbono alifáticos. En aún otros aspectos de la presente descripción, el grupo alquilo contiene 1-4 átomos de carbono alifáticos. Los ejemplos de alquilamino incluyen, pero sin limitación, metilamino, etilamino, isopropilamino, n-propilamino y similares.

5

Algunos ejemplos de sustituyentes de los restos alifáticos (y otros) descritos anteriormente de compuestos de la presente descripción incluyen, pero sin limitación, alifático; heteroalifático; arilo; heteroarilo; alquilarilo; alquilheteroarilo; alcoxi; ariloxi; heteroalcoxi; heteroariloxi; alquiltio; ariltio; heteroalquiltio; heteroariltio; -F; -Cl; -Br; -I; -OH; -NO₂; -CN; -CF₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; -C(O)Rx; -CO₂(Rx); -CON(Rx)₂; -OC(O)Rx; -OCO₂Rx; -OCON(Rx)₂; -N(Rx)₂; -S(O)₂Rx; -NRx(CO)Rx; en donde cada aparición de Rx incluye independientemente, pero sin limitación, alifático, alicíclico, heteroalifático, heterocíclico, arilo, heteroarilo, alquilarilo o alquilheteroarilo, en donde cualquiera de los sustituyentes alifáticos, heteroalifáticos, alquilarilo, o alquilheteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento puede estar sustituido o sin sustituir, ser ramificado o no ramificado, cíclico o acíclico, y en donde cualquiera de los sustituyentes arilo o heteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento puede estar sustituido o sin sustituir. Se ilustran ejemplos adicionales de sustituyentes generalmente aplicables mediante los aspectos específicos de la presente descripción descrita en el presente documento.

En general, el término "resto aromático", como se usa en el presente documento, se refiere a un resto insaturado mono o policíclico estable que tiene preferiblemente 3-14 átomos de carbono, cada uno de los cuales puede estar sustituido o sin sustituir. En ciertos aspectos de la presente descripción, el término "resto aromático" se refiere a un anillo plano que tiene orbitales p perpendiculares al plano del anillo en cada átomo del anillo y que cumple la regla de Huckel donde está el número de electrones pi en el anillo ($4n + 2$), en donde n es un número entero. Un resto insaturado mono o policíclico que no satisface uno o todos estos criterios de aromaticidad se define en el presente documento como "no aromático" y está incluido por el término "alícíclico".

En general, el término "resto heteroaromático", como se usa en el presente documento, se refiere a un resto insaturado mono o policíclico estable que tiene preferiblemente 3-14 átomos de carbono, cada uno de los cuales puede estar sustituido o no sustituido; y que comprende al menos un heteroátomo seleccionado de O, S y N dentro del anillo (es decir, en el lugar de un átomo de carbono del anillo). En ciertos aspectos de la presente descripción, el término "resto heteroaromático" se refiere a un anillo plano que comprende al menos un heteroátomo, que tiene orbitales p perpendiculares al plano del anillo en cada átomo del anillo y que cumple la regla de Huckel donde está el número de electrones pi en el anillo ($4n + 2$), en donde n es un número entero.

Se apreciará también que los restos aromáticos y heteroaromáticos, como se definen en el presente documento, pueden estar unidos a través de un resto alquilo o heteroalquilo y, por lo tanto, también incluyen 5-(alquil)aromático, -(heteroalquilo)aromático, -(heteroalquilo)heteroaromático y -restos (heteroalquilo)heteroaromáticos. Por lo tanto, como se usa en el presente documento, las frases "restos aromáticos o heteroaromáticos" y "aromáticos, heteroaromáticos, - (alquil)aromáticos, -(heteroalquil)aromáticos, -(heteroalquil)heteroaromáticos y - (heteroalquil)heteroaromáticos" son intercambiables. Los sustituyentes incluyen, pero sin limitación, cualquiera de los sustituyentes mencionados previamente, es decir, los sustituyentes indicados para restos alifáticos, o para otros restos como se describe en el presente documento, dando como resultado la formación de un compuesto estable.

El término "arilo", como se usa en el presente documento, no difiere significativamente del significado común del término en la técnica, y se refiere a un resto cíclico insaturado que comprende al menos un anillo aromático. En ciertos aspectos de la presente descripción, "arilo" se refiere a un sistema anular carbocíclico mono o bicíclico que tiene uno o dos anillos aromáticos que incluyen, pero sin limitación, fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo, indenilo y similares.

El término "heteroarilo", como se usa en el presente documento, no difiere significativamente del significado común del término en la técnica, y se refiere a un radical aromático cíclico que tiene de cinco a diez átomos en el anillo, de los cuales un átomo del anillo se selecciona de S, O, y N; cero, uno o dos átomos en el anillo son heteroátomos adicionales seleccionados independientemente de S, O y N; y los átomos del anillo restantes son carbono, estando el radical unido al resto de la molécula a través de cualquiera de los átomos del anillo, tales como, por ejemplo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isooxazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, tiofenilo, furanilo, quinolinilo, isoquinolinilo, y similares.

Se apreciará que los grupos arilo y heteroarilo (incluyendo grupos arilo bicíclicos) pueden estar sin sustituir o sustituidos, en los que la sustitución incluye el reemplazo de uno o más de los átomos de hidrógeno en los mismos

independientemente con uno cualquiera o más de los siguientes restos incluyendo, pero sin limitación, alifático; alicíclico; heteroalifático; heterocíclico; aromático; heteroaromático; arilo; heteroarilo; alquilarilo; heteroalquilarilo; alquilheteroarilo; heteroalquilheteroarilo; alcoxi; ariloxi; heteroalcoxi; heteroariloxi; alquiltio; ariltio; heteroalquiltio; heteroariltio; -F; -Cl; -Br, -I; -OH; -NO₂; -CN; -CF₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; 5 -C(O)Rx; -CO₂(Rx); -CON(Rx)₂; -OC(O)Rx; -OCO₂Rx; -OCON(Rx)₂; -N(Rx)₂; -S(O)₂Rx; y -NRx(CO)Rx; en donde cada aparición de Rx incluye independientemente, pero sin limitación, alifático, alicíclico, heteroalifático, heterocíclico, aromático, heteroaromático, arilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, heteroalquilarilo o heteroalquilheteroarilo, en donde cualquiera de los sustituyentes alifáticos, alicíclicos, heteroalifáticos, heterocíclicos, alquilarilo o alquilheteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o sin 10 sustituir, ramificados o no ramificados, saturados o insaturados, y en donde cualquiera de los sustituyentes aromáticos, heteroaromáticos, arilo, heteroarilo, -(alquil)arilo o (alquil)heteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento puede estar sustituido o sin sustituir. Adicionalmente, se apreciará que cualquiera de los dos grupos adyacentes tomados conjuntamente puede representar un resto alicíclico o heterocíclico sustituido o sin sustituir de 4, 5, 6 o 7 miembros. Se ilustran ejemplos adicionales de sustituyentes generalmente aplicables 15 mediante los aspectos específicos de la presente descripción descrita en el presente documento.

El término "cicloalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere específicamente a grupos que tienen de tres a diez, preferiblemente de tres a siete átomos de carbono. Los cicloalquilos adecuados incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y similares, que, como en el caso de restos 20 alifáticos, alicíclicos, heteroalifáticos o heterocíclicos, pueden estar opcionalmente sustituidos con sustituyentes que incluyen, pero sin limitación, alifático; alicíclico; heteroalifático; heterocíclico; aromático; heteroaromático; arilo; heteroarilo; alquilarilo; heteroalquilarilo; alquilheteroarilo; heteroalquilheteroarilo; alcoxi; ariloxi; heteroalcoxi; heteroariloxi; alquiltio; ariltio; heteroalquiltio; heteroariltio; -F; -Cl; -Br, -I; -OH; -NO₂; -CN; -CF₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; -C(O)Rx; -CO₂(Rx); -CON(Rx)₂; -OC(O)Rx; -OCO₂Rx; -OCON(Rx)₂; -N(Rx)₂; -S(O)₂Rx; y -NRx(CO)Rx; en donde cada aparición de Rx incluye independientemente, pero sin limitación, 25 alifático, alicíclico, heteroalifático, heterocíclico, aromático, heteroaromático, arilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, heteroalquilarilo o heteroalquilheteroarilo, en donde cualquiera de los sustituyentes alifáticos, alicíclicos, heteroalifáticos, heterocíclicos, alquilarilo o alquilheteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o sin sustituir, ramificados o no ramificados, saturados o insaturados, y en 30 donde cualquiera de los sustituyentes aromáticos, heteroaromáticos, arilo o heteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento puede estar sustituido o sin sustituir. Se ilustran posibilidades adicionales de sustituyentes generalmente aplicables mediante los aspectos específicos de la presente descripción descrita en el presente documento.

El término "heteroalifático", como se usa en el presente documento, se refiere a restos alifáticos en los que uno o más átomos de carbono en la cadena principal se han sustituido con un heteroátomo. Por lo tanto, un grupo heteroalifático se refiere a una cadena alifática que contiene uno o más átomos de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio, por ejemplo, en lugar de átomos de carbono. Los restos heteroalifáticos pueden ser lineales o ramificados, y saturados o insaturados. En ciertos aspectos de la presente descripción, los restos heteroalifáticos se 40 sustituyen por el reemplazo independiente de uno o más de los átomos de hidrógeno en los mismos con uno o más restos que incluyen, pero sin limitación, alifático; alicíclico; heteroalifático; heterocíclico; aromático; heteroaromático; arilo; heteroarilo; alquilarilo; alquilheteroarilo; alcoxi; ariloxi; heteroalcoxi; heteroariloxi; alquiltio; ariltio; heteroalquiltio; heteroariltio; -F; -Cl; -Br, -I; -OH; -NO₂; -CN; -CF₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; -C(O)Rx; -CO₂(Rx); -CON(Rx)₂; -OC(O)Rx; -OCO₂Rx; -OCON(Rx)₂; -N(Rx)₂; -S(O)₂Rx; y -NRx(CO)Rx; en donde 45 cada aparición de Rx incluye independientemente, pero sin limitación, alifático, alicíclico, heteroalifático, heterocíclico, aromático, heteroaromático, arilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, heteroalquilarilo o heteroalquilheteroarilo, en donde cualquiera de los sustituyentes alifáticos, alicíclicos, heteroalifáticos, heterocíclicos, alquilarilo o alquilheteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o sin sustituir, ramificados o no ramificados, saturados o insaturados, y en donde cualquiera de los sustituyentes 50 aromáticos, heteroaromáticos, arilo o heteroarilo descritos en el presente documento puede estar sustituido o sin sustituir. Se ilustran posibilidades adicionales de sustituyentes generalmente aplicables mediante los aspectos específicos de la presente descripción descrita en el presente documento.

El término "heterocicloalquilo", "heterociclo" o "heterocíclico", como se usa en el presente documento, se refiere a 55 compuestos que combinan las propiedades de compuestos heteroalifáticos y cíclicos e incluyen, pero sin limitación, sistemas anulares cíclicos mono o policíclicos saturados e insaturados que tienen 5-16 átomos en donde al menos un átomo del anillo es un heteroátomo seleccionado de O, S y N (en donde los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados), en donde los sistemas anulares están opcionalmente sustituidos con uno o más grupos funcionales, como se define en el presente documento. En ciertos aspectos de la presente descripción,

el término "heterocicloalquilo", "heterociclo" o "heterocíclico" se refiere a un anillo no aromático de 5, 6 o 7 miembros o un grupo policíclico en el que al menos un átomo del anillo es un heteroátomo seleccionado de O, S y N (en donde los heteroátomos de nitrógeno y azufre se pueden oxidar opcionalmente), incluyendo, pero sin limitación, un grupo bi o tricíclico, que comprende anillos fusionados de seis miembros que tienen entre uno y tres heteroátomos

5 seleccionados independientemente de oxígeno, azufre y nitrógeno, en donde (i) cada anillo de 5 miembros tiene de 0 a 2 dobles enlaces, cada anillo de 6 miembros tiene de 0 a 2 dobles enlaces, y cada anillo de 7 miembros tiene de 0 a 3 dobles enlaces, (ii) los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados, (iii) el heteroátomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado, e (iv) cualquiera de los anillos heterocíclicos anteriores puede estar condensado con un anillo de arilo o heteroarilo. Los heterociclos representativos incluyen,

10 pero sin limitación, heterociclos tales como furanilo, tiofuranilo, piranilo, pirrolilo, tienilo, pirrolidinilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, oxazolilo, oxazolidinilo, isooxazolilo, isoxazolidinilo, dioxazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, tetrazolilo, triazolilo, tiatriazolilo, oxatriazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, morfolinilo, tiazolilo, tiazolidinilo, isotiazolilo, isotiazolidinilo, ditiazolilo, ditiazolidinilo, tetrahydrofurilo, y derivados benzocondensados de los mismos. En ciertos aspectos de la presente descripción, se utiliza un grupo

15 "heterociclo sustituido, heterocicloalquilo o heterocíclico" y como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo heterociclo, o heterocicloalquilo o heterocíclico, como se ha definido anteriormente, sustituido por el reemplazo independiente de uno, dos o tres de los átomos de hidrógeno en el mismo con, pero sin limitación, alifático; alicíclico; heteroalifático; heterocíclico; aromático; heteroaromático; arilo; heteroarilo; alquilarilo; heteroalquilarilo; alquilheteroarilo; heteroalquilheteroarilo; alcoxi; ariloxi; heteroariloxi; heteroariloxi; alquiltio; ariltio;

20 heteroalquiltio; heteroariltio; F; Cl; Br; I; -OH; NO₂; -CN; -CF₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; -C(O)Rx; -CO₂(Rx); -CON(Rx)₂; -OC(O)Rx; -OCO₂Rx; -OCON(Rx)₂; -N(Rx)₂; -S(O)₂Rx; -NRx(CO)Rx; en donde cada aparición de Rx incluye independientemente, pero sin limitación, alifático, alicíclico, heteroalifático, heterocíclico, aromático, heteroaromático, arilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, heteroalquilarilo o heteroalquilheteroarilo, en donde cualquiera de los sustituyentes alifáticos, alicíclicos, heteroalifáticos, heterocíclicos,

25 alquilarilo o alquilheteroarilo descritos anteriormente y en el presente documento pueden estar sustituidos o sin sustituir, ramificados o no ramificados, saturados o insaturados, y en donde cualquiera de los sustituyentes aromáticos, heteroaromáticos, arilo o heteroarilo descritos en el presente documento puede estar sustituido o sin sustituir. Se ilustran ejemplos adicionales o sustituyentes generalmente aplicables mediante los aspectos específicos de la presente descripción descrita en el presente documento. Adicionalmente, se apreciará que cualquiera de los

30 restos alicíclicos o heterocíclicos descritos en el presente documento puede comprender un resto arilo o heteroarilo fusionado a los mismos. Se ilustran ejemplos adicionales de sustituyentes generalmente aplicables mediante los aspectos específicos de la presente descripción descrita en el presente documento. El término "acilo", como se usa en el presente documento, se refiere a una funcionalidad que contiene carbonilo, por ejemplo, -C(O)R, en la que R es un resto alifático, alicíclico, heteroalifático, heterocíclico, arilo, heteroarilo, (alifático)arilo, (heteroalifático)arilo,

35 heteroalifático(arilo), o heteroalifático(heteroarilo), por lo que cada uno de los restos alifáticos, heteroalifáticos, arilo o heteroarilo está sustituido o sin sustituir, o es una funcionalidad que contiene oxígeno o nitrógeno sustituido (por ejemplo, restos de hidrógeno o alifático, heteroalifático, arilo o heteroarilo) (por ejemplo, formación de una funcionalidad de ácido carboxílico, éster o amida). Los grupos acilo se pueden hidrolizar o escindir de un compuesto mediante enzimas, ácidos o bases. Uno o más de los átomos de hidrógeno de un grupo acilo pueden estar

40 sustituidos, como se describe a continuación. Típicamente, se elimina un grupo acilo antes de que un compuesto de la presente descripción se una a un ión metálico tal como hierro (III). Los sustituyentes adecuados para grupos alquilo o acilo incluyen -OH, -O(R"), -COOH, =O, -NH₂, -NH(R"), -NO₂, -COO(R"), -CONH₂, -CONH(R"), -CON(R")₂, y guanidina. Cada R" es independientemente un grupo alquilo o un grupo arilo. Estos grupos pueden estar

45 adicionalmente sustituidos por un grupo arilo (por ejemplo, un grupo alquilo puede estar sustituido con un grupo aromático para formar un grupo arilalquilo). Un grupo alquilo o acilo sustituido puede tener más de un sustituyente. Los grupos arilo incluyen grupos aromáticos carbocíclicos tales como fenilo, p-tolilo, 1-naftilo, 2-naftilo, 1-antracilo y 2-antracilo. Los grupos alquilo también incluyen grupos heteroaromáticos tales como N-imidazolilo, 2-imidazolilo, 2-tienilo, 3-tienilo, 2-furanilo, 3-furanilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 2-pirimidilo, 4-pirimidilo, 2-piranilo, 3-piranilo, 3-pirazolilo, 4-pirazolilo, 5-pirazolilo, 2-pirazinilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo y 5-oxazolilo.

50 Los grupos arilo también incluyen sistemas anulares aromáticos policíclicos condensados en los que un anillo carbocíclico, alicíclico o aromático o un anillo heteroarílico se fusiona con uno o más anillos heteroarilo o arilo. Los ejemplos incluyen 2-benzotienilo, 3-benzotienilo, 2-benzofuranilo, 3-benzofuranilo, 2-indolilo, 3-indolilo, 2-quinolinilo, 3-quinolinilo, 2-benzotiazolilo, 2-benzoxazolilo, 2-bencimidazolilo, 1-isoquinolinilo, 3-isoquinolinilo, 1-isoindolilo y 3-isoindolilo.

55 El término "grupo protector de O" se refiere a un sustituyente que protege grupos hidroxilo frente a reacciones no deseadas durante los procedimientos sintéticos. Los ejemplos de grupos protectores de O incluyen, pero sin limitación, metoximetilo, benciloximetilo, 2-metoxietoximetilo, 2-(trimetilsilil)etoximetilo, bencilo, trifenilmetilo, 2,2,2-tricloroetilo, t-butilo, trimetilsililo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo, acetal de metileno, acetónido benciliden acetal,

orto-ésteres cíclicos, metoximetileno, carbonatos cíclicos y boronato cíclicos.

El término "grupo saliente" se refiere a un fragmento molecular que puede partir con un par de electrones en la escisión del enlace heterolítico. Los ejemplos de grupos salientes incluyen, pero sin limitación, haluros, tales como F, Br, Cl, I; sulfonatos, tales como tosilatos, nosilatos, miselatos; nonaflatos; triflatos; fluorosulfonatos; nitratos; y fosfatos.

Los términos "halo" y "halógeno" como se usan en el presente documento, se refieren a un átomo seleccionado de flúor, cloro, bromo y yodo.

El término "haloalquilo" representa un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, que tiene uno, dos o tres átomos de halógeno unidos al mismo y se ilustra mediante grupos tales como clorometilo, bromoetilo, trifluorometilo y similares. En ciertos aspectos de la presente descripción, el grupo alquilo se perhalogeno (por ejemplo, perfluorado).

El término "amino", como se usa en el presente documento, se refiere a una amina primaria (-NH₂), secundaria (-NHR_x), terciaria (-NR_xR_y), o cuaternaria (-N⁺R_xR_yR_z), donde R_x, R_y, y R_z son independientemente un resto alifático, alicíclico, heteroalifático, heterocíclico, aromático o heteroaromático, como se define en el presente documento. Los ejemplos de grupos amino incluyen, pero sin limitación, metilamino, dimetilamino, etilamino, dietilamino, dietilaminocarbonilo, metiletilamino, isopropilamino, piperidino, trimetilamino y propilamino.

El término "alquilideno", como se usa en el presente documento, se refiere a un radical divalente sustituido o sin sustituir, lineal o ramificado saturado de átomos de carbono e hidrógeno, que tiene de uno a n átomos de carbono y que tiene una valencia libre en ambos extremos del radical. El resto alquilideno puede estar sustituido.

El término "alquenilideno", como se usa en el presente documento, se refiere a un radical divalente insaturado, lineal o ramificado, sustituido o sin sustituir de átomos de carbono e hidrógeno, que tiene de dos a n átomos de carbono y tiene una valencia libre en ambos extremos del radical, y en donde la insaturación está presente solamente como dobles enlaces y en donde puede existir un doble enlace entre el primer carbono de la cadena y el resto de la molécula. El resto alquenilideno puede estar sustituido.

El término "alquinilideno", como se usa en el presente documento, se refiere a un radical divalente insaturado, lineal o ramificado, sustituido o sin sustituir de átomos de carbono e hidrógeno, que tiene de dos a n átomos de carbono, tiene una valencia libre "-" en ambos extremos del radical, y en donde la insaturación está presente solamente como triples enlaces y en donde puede existir un triple enlace entre el primer carbono de la cadena y el resto de la molécula. El resto alquinilideno puede estar sustituido.

El término "carbamato", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier derivado de carbamato conocido por los expertos en la técnica. Los ejemplos de carbamatos incluyen t-Boc, Fmoc, benciloxicarbonilo, alloc, carbamato de metilo, carbamato de etilo, carbamato de 9-(2-sulfo)fluorenilmetilo, carbamato de 9-(2,7-dibromo)fluorenilmetilo, Tbfmoc, Climoc, Bimoc, DBD-Tmoc, Bsmoc, Troc, Teoc, carbamato de 2-feniletilo, Adpoc, carbamato de 2-cloroetilo, carbamato de 1,1-dimetil-2-haloetilo, DB-t-BOC, TCBOC, Bpoc, t-Bumeoc, Pyoc, Bnpeoc, carbamato de *N*-(2-pivaloilamino)-1,1-dimetiletilo, NpSSPeoc. En ciertos aspectos de la presente descripción, los carbamatos se usan como grupos protectores de nitrógeno.

A menos que se indique otra cosa, como se usa en el presente documento, los términos "alquilo", "alquenilo", "alquinilo", "heteroalquilo", "heteroalquenilo", "heteroalquinilo", "alquilideno", "alquinilideno", -(alquil)arilo, -(heteroalquil)arilo, -(heteroalquil)arilo, -(heteroalquil)heteroarilo, y similares incluyen grupos sustituidos y sin sustituir, y lineales y ramificados. De forma similar, los términos "alifático", "heteroalifático" y similares incluyen grupos sustituidos y sin sustituir, saturados e insaturados, y lineales y ramificados. De forma similar, los términos "cicloalquilo", "heterociclo", "heterocíclico" y similares incluyen grupos sustituidos y sin sustituir, y grupos saturados e insaturados. Adicionalmente, los términos "cicloalquenilo", "cicloalquinilo", "heterocicloalquenilo", "heterocicloalquinilo", "aromático", "heteroaromático", "arilo", "heteroarilo" y similares incluyen grupos sustituidos y sin sustituir.

Los ácidos comúnmente empleados para formar sales de adición de ácidos a partir de compuestos con grupos básicos son ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y similares, y ácidos orgánicos tales como ácido p-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido p-bromofenilsulfónico, ácido carbónico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido acético, y

similares. Las posibilidades para dichas sales incluyen el sulfato, piro-sulfato, bisulfato, sulfito, bisulfito, fosfato, monohidrogenofosfato, dihidrogenofosfato, metafosfato, pirofosfato, cloruro, bromuro, yoduro, acetato, propionato, decanoato, caprilato, acrilato, formiato, isobutirato, caproato, heptanoato, propiolato, oxalato, malonato, succinato, suberato, sebacato, fumarato, maleato, butin-1,4-dioato, hexino-1,6-dioato, benzoato, clorobenzoato, benzoato de metilo, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, ftalato, sulfonato, xilenosulfonato, acetato de fenilo, propionato de fenilo, butirato de fenilo, citrato, lactato, gammahidroxibutirato, glicolato, tartrato, metanosulfonato, propanosulfonato, naftaleno-1-sulfonato, naftaleno-2-sulfonato, mandelato y similares.

La frase "derivado farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, representa cualquier sal, éster o sal farmacéuticamente aceptable de dicho éster, de dicho compuesto, o cualquier otro aducto o derivado que, tras la administración a un paciente, es capaz de proporcionar (directa o indirectamente) un compuesto como se describe en el presente documento de otro modo, o un metabolito o residuo del mismo. Los derivados farmacéuticamente aceptables incluyen, por lo tanto, entre otros profármacos. Un profármaco es un derivado de un compuesto, normalmente con actividad farmacológica significativamente reducida, que contiene un resto adicional, que es susceptible de la eliminación *in vivo* produciendo la molécula precursora como la especie farmacológicamente activa. Un ejemplo de un profármaco es un éster, que se escinde *in vivo* para producir un compuesto de interés. Los profármacos de una diversidad de compuestos, y los materiales y métodos para derivatizar los compuestos precursores para crear los profármacos, se conocen y pueden adaptarse a la presente descripción. La actividad biológica de los profármacos también se puede alterar añadiendo funcionalidad al compuesto, que puede catalizarse por una enzima. Además, se incluyen las reacciones de oxidación y reducción, incluyendo las reacciones de oxidación y reducción catalizadas por enzimas. Ciertas composiciones farmacéuticas ejemplares y derivados farmacéuticamente aceptables se analizan con más detalle en el presente documento.

"Compuesto": El término "compuesto" o "compuesto químico" como se usa en el presente documento, puede incluir compuestos organometálicos, compuestos orgánicos, metales, complejos de metales de transición, y moléculas pequeñas. En ciertos aspectos de la presente descripción, los polinucleótidos se excluyen de la definición de compuestos. En otros aspectos de la presente descripción, los polinucleótidos y péptidos se excluyen de la definición de compuestos. En ciertos aspectos de la presente descripción, el término compuesto se refiere a moléculas pequeñas (por ejemplo, preferiblemente, no peptídicas y no oligoméricas) y excluye péptidos, polinucleótidos, complejos de metales de transición, metales y compuestos organometálicos.

"Molécula pequeña": Como se usa en el presente documento, el término "molécula pequeña" se refiere a un compuesto orgánico no peptídico, no oligomérico, sintetizado en el laboratorio o de origen natural. Una molécula pequeña se caracteriza típicamente porque contiene varios enlaces carbono-carbono, y tiene un peso molecular de menos de 2000 g/mol, preferiblemente menos de 1500 g/mol, aunque esta caracterización no pretende ser limitante para los fines de la presente descripción. Los ejemplos de "moléculas pequeñas" que se producen en la naturaleza incluyen, pero sin limitación, taxol, dinemicidad y rapamicina. Los ejemplos de "moléculas pequeñas" que se sintetizan en el laboratorio incluyen, pero sin limitación, compuestos descritos en T an et al., ("Stereoselective Synthesis of over Two Million Compounds Having Structural Features Both Reminiscent of Natural Products and Compatible with Miniaturized Cell-Based Assays" J. Am. Chem. Soc. 1998,120, 8565).

"Muestra biológica": Como se usa en el presente documento, el término "muestra biológica" incluye, sin limitación, cultivos celulares, o extractos de los mismos; material de biopsia obtenido de un animal (por ejemplo, mamífero) o extractos de los mismos; y sangre, saliva, orina, heces, semen, lágrimas u otros fluidos corporales o extractos de los mismos. Por ejemplo, el término "muestra biológica" se refiere a cualquier muestra sólida o fluida obtenida, excretada o secretada por cualquier organismo vivo, incluyendo microorganismos unicelulares (tales como bacterias y levaduras) y organismos multicelulares (tales como plantas y animales, por ejemplo, un vertebrado o un mamífero, y en particular un sujeto humano sano o aparentemente sano o un paciente humano afectado por una afección o enfermedad a diagnosticar o investigar). La muestra biológica puede estar en cualquier forma, incluyendo un material sólido tal como un tejido, células, un sedimento celular, un extracto celular, homogeneizados celulares, o fracciones celulares; o una biopsia, o un fluido biológico. El fluido biológico se puede obtener de cualquier sitio (por ejemplo, sangre, saliva (o un enjuague bucal con células bucales), lágrimas, plasma, suero, orina, bilis, líquido cefalorraquídeo, líquido amniótico, líquido peritoneal y líquido pleural, o células de los mismos, humor acuoso o vítreo, o cualquier secreción corporal), un transudado, un exudado (por ejemplo, fluido obtenido de un absceso o cualquier otro sitio de infección o inflamación), o fluido obtenido de una articulación (por ejemplo, una articulación normal o una articulación afectada por una enfermedad, tal como artritis reumatoide, osteoartritis, gota o artritis séptica). La muestra biológica puede obtenerse de cualquier órgano o tejido (incluyendo una biopsia o muestra de autopsia), o puede comprender células (ya sean células primarias o células cultivadas) o un medio acondicionado por cualquier célula, tejido u órgano. Las muestras biológicas también pueden incluir secciones de tejidos tales como

secciones congeladas tomadas con fines histológicos.

Las muestras biológicas también incluyen mezclas de moléculas biológicas que incluyen proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos generados por fraccionamiento parcial o completo de homogeneizados celulares o tisulares. Aunque la muestra se toma preferiblemente de un sujeto humano, las muestras biológicas pueden ser de cualquier animal, planta, bacteria, virus, levadura, etc.

"Sal farmacéuticamente aceptable": Como se usa en el presente documento, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que, dentro del alcance de un criterio médico sólido, son adecuadas para su uso en contacto con tejidos humanos y animales inferiores sin demasiada toxicidad, irritación, respuesta alérgica, y similares, y son acordes con una relación beneficio/riesgo razonable. Las sales farmacéuticamente aceptables de aminas, ácidos carboxílicos y otros tipos de compuestos se conocen bien en la técnica. Por ejemplo, Berge et al. describen sales farmacéuticamente aceptables en detalle en J. Pharmaceutical Sciences 1977, 6, 1-19. Las sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales de un compuesto de la descripción, o por separado haciendo reaccionar una función de ácido libre o base libre con un reactivo adecuado, como se describe generalmente a continuación. Por ejemplo, una base libre puede hacerse reaccionar con un ácido adecuado. Además, cuando el compuesto de la descripción lleva un resto ácido, las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas del mismo pueden incluir sales metálicas tales como sales de metales alcalinos, por ejemplo, sales de sodio o potasio; y sales de metales alcalinotérreos, por ejemplo, sales de calcio o magnesio. Los ejemplos de sales de adición de ácidos no tóxicas farmacéuticamente aceptables son sales de un grupo amino formado con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico; o mediante el uso de otros métodos utilizados en la técnica, tal como intercambio iónico. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adipato, alginato, ascorbato, aspartato, benzenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptoato, hexanoato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato, valerato, y similares. Las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos representativas incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables adicionales incluyen, cuando sea apropiado, cationes no tóxicos de amonio, amonio cuaternario y amina no tóxicos formados usando contraiones tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, sulfonato de alquilo inferior y sulfonato de arilo.

Los términos "disminuir", "reducido", "reducir", "disminuir" o "inhibir" se usan todos en el presente documento en general para indicar una disminución en una cantidad estadísticamente significativa. Sin embargo, para evitar dudas, "reducido", "reducción" o "disminución" o "inhibir" significa una disminución de al menos un 10% en comparación con un nivel de referencia, por ejemplo una disminución de al menos un 20%, o al menos un 30%, o al menos un 40%, o al menos un 50%, o al menos un 60%, o al menos un 70%, o al menos un 80%, o al menos un 90% o hasta e incluyendo una disminución del 100% (por ejemplo, el nivel ausente en comparación con una muestra de referencia), o cualquier disminución entre el 10-100% en comparación con un nivel de referencia (por ejemplo, en ausencia de un compuesto de la descripción).

Los términos "aumentado", "aumentar" o "potenciar" o "activar" se usan todos en el presente documento para referirse generalmente a un aumento en una cantidad estadísticamente significativa; para evitar cualquier duda, los términos "aumentado", "aumentar" o "mejorar" o "activar" significan un aumento de al menos un 10% en comparación con un nivel de referencia, por ejemplo, un aumento de al menos un 20%, o al menos un 30%, o al menos un 40%, o al menos un 50%, o al menos un 60%, o al menos un 70%, o al menos un 80%, o al menos un 90% o hasta e incluyendo un aumento del 100% o cualquier aumento entre el 10-100% en comparación con un nivel de referencia, o al menos un aumento de 2 veces, o al menos 3 veces, o al menos 4 veces, o al menos 5 veces o al menos 10 veces, o cualquier aumento entre 2 veces y 10 veces o más en comparación con un nivel de referencia (por ejemplo, en ausencia de un compuesto de la descripción).

El término "estadísticamente significativo" o "significativamente" se refiere a la significación estadística y generalmente se refiere a una desviación estándar de dos (2 DE) por debajo de la concentración normal, o inferior, del marcador. El término se refiere a la evidencia estadística de que hay una diferencia. Se define como la probabilidad de tomar una decisión para rechazar la hipótesis nula cuando la hipótesis nula es realmente verdadera. La decisión a menudo se toma usando el valor de p.

El término "sustancialmente" como se usa en el presente documento, significa una proporción de al menos el 60%, o preferiblemente al menos el 70%, o al menos el 80%, o al menos el 90%, o al menos el 95%, o al menos el 97% o al menos el 99% o más, o cualquier número entero entre el 70% y el 100%.

5

Como se usa en el presente documento, el término "que comprende" o "comprende" se usa en referencia a composiciones, métodos y componentes respectivos de los mismos, que son esenciales para la descripción, aunque abiertos a la inclusión de elementos no especificados, ya sean esenciales o no.

10 Como se usa en el presente documento, el término "que consiste esencialmente en" se refiere a los elementos requeridos para un aspecto dado de la presente descripción. El término permite la presencia de elementos adicionales que no afectan materialmente a las características básicas y novedosas o funcionales de ese aspecto de la presente descripción.

15 El término "que consiste en" se refiere a composiciones, métodos y componentes respectivos de los mismos como se describe en el presente documento, que son exclusivos de cualquier elemento no mencionado en esa descripción del aspecto de la presente descripción.

Como se usa en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen referencias plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, las referencias al "método" incluyen uno o más métodos, y/o etapas del tipo descrito en el presente documento y/o que se harán evidentes para los expertos en la materia tras leer esta descripción, etc.

Aparte de en los ejemplos operativos, o cuando se indique lo contrario, todos los números que expresan cantidades de ingredientes o condiciones de reacción usados en el presente documento deben entenderse como modificados en todos los casos por el término "aproximadamente". El término "aproximadamente" al usarse en relación con porcentajes puede significar $\pm 1\%$.

En esta solicitud y en las reivindicaciones, el uso del singular incluye el plural, a menos que se indique específicamente lo contrario. Además, el uso de "o" significa "y/o", a menos que se indique lo contrario. Además, el uso del término "que incluye", así como otras formas, tales como "incluye" e "incluido", no es limitante. Además, términos tales como "elemento" o "componente" incluyen tanto elementos como componentes que comprenden una unidad y elementos y componentes que comprenden más de una unidad a menos que se indique específicamente lo contrario.

35

A menos que se defina lo contrario en el presente documento, los términos científicos y técnicos utilizados en relación con la presente solicitud tendrán los significados que comúnmente comprenden los expertos en la técnica a los que pertenece esta descripción. Debe entenderse que esta descripción no está limitada a la metodología, protocolos y reactivos particulares, etc., descritos en el presente documento y, como tales, pueden variar. La terminología usada en el presente documento tiene el propósito de describir aspectos particulares de la presente descripción únicamente, y no pretende limitar el alcance de la presente descripción, que se define únicamente por las reivindicaciones. Las definiciones de términos comunes en inmunología y biología molecular se pueden encontrar en el The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 18ª Edición, publicado por Merck Research Laboratories, 2006 (ISBN 0-911910-18-2); Robert S. Porter et al. (eds.), The Encyclopedia of Molecular Biology, publicada por Blackwell Science Ltd., 1994 (ISBN 0-632-02182-9); y Robert A. Meyers (ed.), Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference, publicado por VCH Publishers, Inc., 1995 (ISBN 1-56081-569-8); Immunology by Werner Luttmann, publicado por Elsevier, 2006. Se encuentran definiciones de términos comunes en biología molecular en Benjamin Lewin, Genes IX, publicado por Jones & Bartlett Publishing, 2007 (ISBN-13: 9780763740634); Kendrew et al. (eds.), The Encyclopedia of Molecular Biology, publicada por Blackwell Science Ltd., 1994 (ISBN 0-632-02182-9); y Robert A. Meyers (ed.), Maniatis et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., Estados Unidos (1982); Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2ª ed.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., Estados Unidos (1989); Davis et al., Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier Science Publishing, Inc., Nueva York, Estados Unidos (1986); o Methods in Enzymology: Guide to Molecular Cloning Techniques Vol.152, S. L. Berger y A. R. Kimmberl Eds., Academic Press Inc., San Diego, Estados Unidos (1987); Current Protocols in Molecular Biology (CPMB) (Fred M. Ausubel, et al. ed., John Wiley and Sons, Inc.), Current Protocols in Protein Science (CPPS) (John E. Coligan, et al., ed., John Wiley and Sons, Inc.) y Current Protocols in Immunology (CPI) (John E. Coligan, et al., ed. John Wiley and Sons, Inc.).

55

Se entiende que la descripción detallada anterior y los siguientes ejemplos son solo ilustrativos y no deben tomarse como limitaciones sobre el alcance de la invención. Además, se hace referencia a todas las patentes, solicitudes de patentes y publicaciones identificadas con el fin de describir y divulgar, por ejemplo, las metodologías descritas en dichas publicaciones que podrían usarse en relación con la presente invención.

5

Compuestos de la invención

Los compuestos de esta descripción incluyen aquellos que se han expuesto anteriormente y se describen en el presente documento, y se ilustran, en parte, por las diversas clases, subgéneros y especies que se describen en otra parte del presente documento. La presente descripción proporciona compuestos que inhiben PKC delta, que tienen la fórmula general (V), como se expone en las reivindicaciones. Se describe el compuesto de fórmula (Ia), en la que Z es CH₂, O, NH, S, C(R^{'''})(R^{''''}); cada aparición R' es independientemente hidrógeno; halógeno; alifático cíclico o acíclico, sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; heteroalifático cíclico o acíclico, sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; acilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; arilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; heteroarilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; ORB; -C(=O)RB; -CO₂RB; -C(=O)N(RB)₂; -CN; -SCN; -SRB; -SORB; -SO₂RB₂O; -NO₂; -N(RB)₂; -NHC(O)RB; o -C(RB)₃; en donde cada caso de RB es independientemente hidrógeno; halógeno; un grupo protector; alifático; heteroalifático; acilo; resto arilo; heteroarilo; hidroxilo; alcoxi; ariloxi; alquiltioxi; ariltioxi; amino; alquilamino; dialquilamino; heteroariloxi; o heteroariltioxi; dos R' pueden tomarse juntos para formar un grupo cíclico condensado; cada aparición de R'' es independientemente hidrógeno; halógeno; alifático cíclico o acíclico, sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; heteroalifático cíclico o acíclico, sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; acilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; arilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; heteroarilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; ORB; -C(=O)RB; -CO₂RB; -C(=O)N(RB)₂; -CN; -SCN; -SRB; -SORB; -SO₂RB; -NO₂; -N(RB)₂; -NHC(O)RB₃; o -C(RB)₃; en donde cada aparición de RB es independientemente hidrógeno; halógeno; un grupo protector; alifático; heteroalifático; acilo; resto arilo; heteroarilo; hidroxilo; alcoxi; ariloxi; alquiltioxi; ariltioxi; amino; alquilamino; dialquilamino; heteroariloxi; o heteroariltioxi; cada aparición de R''' es independientemente hidrógeno; halógeno; alifático cíclico o acíclico, sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; heteroalifático cíclico o acíclico, sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; acilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; arilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; heteroarilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; ORB; -C(=O)RB; -CO₂RB; -C(=O)N(RB)₂; -CN; -SCN; -SRB; -SORB; -SO₂RB; -NO₂; -N(RB)₂; -NHC(O)RB; o -C(RB)₃; en donde cada aparición de RB es independientemente hidrógeno; halógeno; un grupo protector; alifático; heteroalifático; acilo; arilo; heteroarilo; hidroxilo; alcoxi; ariloxi; alquiltioxi; ariltioxi; amino; alquilamino; dialquilamino; heteroariloxi; o heteroariltioxi; y n es un número entero 1-4, inclusive, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

35

En algunos aspectos, Z es CH₂, O, NH, S, C(R^{'''})(R^{''''}). En algunos aspectos de la presente descripción, cada aparición de R' es independientemente hidrógeno; hidroxilo, ORB; en donde RB es hidrógeno; un grupo protector; alquilo C₁₋₆; arilo; o heteroarilo.

40 En algunos aspectos de la presente descripción, cada aparición de R'' es independientemente hidrógeno; hidroxilo, u ORB; en donde RB es hidrógeno; un grupo protector; o alquilo C₁₋₆. En algunos aspectos de la presente descripción, cada aparición de R''' es independientemente hidrógeno; alquilo C₁₋₆ hidroxilo, u ORB; en donde RB es hidrógeno; un grupo protector; o alquilo C₁₋₆. En algunos aspectos de la presente descripción, n es un número entero 1-4, inclusive.

45 En ciertos aspectos, el compuesto es de fórmula (IIa) en la que Z es CH₂, O, NH, S, o C(R^{'''})(R^{''''}); X es CH₂, o C(=O); Y es CH₂, o C(=O); cada aparición de R' es independientemente hidrógeno; halógeno; alifático cíclico o acíclico, sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; heteroalifático cíclico o acíclico, sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; acilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; arilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; heteroarilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; ORB; -C(=O)RB; -CO₂RB; -C(=O)N(RB)₂; -CN; -SCN; -SRB; -SORB; -SO₂RB; -NO₂; -N(RB)₂; -NHC(O)RB; o -C(RB)₃; en donde cada aparición de RB es independientemente hidrógeno; halógeno; un grupo protector; alifático; heteroalifático; acilo; resto arilo; heteroarilo; hidroxilo; alcoxi; ariloxi; alquiltioxi; ariltioxi; amino; alquilamino; dialquilamino; heteroariloxi; o heteroariltioxi; dos R' pueden tomarse juntos para formar un grupo cíclico condensado; cada aparición de R'' es independientemente hidrógeno; halógeno; alifático cíclico o acíclico, sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; heteroalifático cíclico o acíclico, sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; acilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; arilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; heteroarilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; ORB; -C(=O)RB; -CO₂RB; -C(=O)N(RB)₂; -CN; -SCN; -SRB; -SORB; -SO₂RB; -NO₂; -N(RB)₂; -NHC(O)RB; o -C(RB)₃; en donde cada aparición de RB es independientemente hidrógeno; halógeno; un grupo protector; alifático; heteroalifático; acilo; resto arilo; heteroarilo; hidroxilo; alcoxi; ariloxi; alquiltioxi;

55

- ariltioxi; amino; alquilamino; dialquilamino; heteroariloxi; o heteroariltioxi; cada aparición de R^{'''} es independientemente hidrógeno; halógeno; alifático cíclico o acíclico, sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; heteroalifático cíclico o acíclico, sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; acilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; arilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; heteroarilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; ORB; - C(=O)RB; -CO₂RB; -C(=O)N(RB)₂; -CN; -SCN; -SRB; -SORB; -SO₂RB; -NO₂; -N(RB)₂; - NHC(O)RB; o -C(RB)₃; en donde cada aparición de RB es independientemente hidrógeno; halógeno; un grupo protector; alifático; heteroalifático; acilo; arilo; heteroarilo; hidroxilo; alcoxi; ariloxi; alquiltioxi; ariltioxi; amino; alquilamino; dialquilamino; heteroariloxi; o heteroariltioxi; y n es un número entero 1-4, inclusive, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.
- 10 En algunos aspectos, Z es CH₂, O, NH, S, C(R^{'''})(R^{'''}). En algunos aspectos de la presente descripción, X es CH₂, o C(=O). En algunos aspectos de la presente descripción, Y es CH₂, o C(=O). En algunos aspectos de la presente descripción, cada aparición de R' es independientemente hidrógeno; hidroxilo, ORB; en donde RB es hidrógeno; un grupo protector; alquilo C₁₋₆; arilo; o heteroarilo. En algunos aspectos de la presente descripción, cada aparición de R'' es independientemente hidrógeno; hidroxilo, u ORB; en la que RB es hidrógeno; un grupo protector; o alquilo C₁₋₆.
- 15 En algunos aspectos de la presente descripción, cada aparición de R^{'''} es independientemente hidrógeno; alquilo C₁₋₆ hidroxilo, u ORB; en la que RB es hidrógeno; un grupo protector; o alquilo C₁₋₆. En algunos aspectos de la presente descripción, n es un número entero 1-4, inclusive.
- 20 En ciertos aspectos, el compuesto es de fórmula (IIIa) en la que cada aparición de R' es independientemente hidrógeno; halógeno; alifático cíclico o acíclico, sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; heteroalifático cíclico o acíclico, sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; acilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; arilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; heteroarilo sustituido o sin sustituir, ramificado o no ramificado; -ORB; -C(=O)RB; -CO₂RB; -C(=O)N(RB)₂; -CN; -SCN; - SRB; -SORB; -SO₂RB; -NO₂; -N(RB)₂; - NHC(O)RB; o -C(RB)₃; en donde cada aparición de RB es independientemente hidrógeno; halógeno; un grupo protector; alifático; heteroalifático; acilo; resto arilo; heteroarilo; hidroxilo; alcoxi; ariloxi; alquiltioxi; ariltioxi; amino; alquilamino; dialquilamino; heteroariloxi; o heteroariltioxi, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.
- 25 En algunos aspectos, cada aparición de R' es independientemente hidrógeno; hidroxilo, ORB; en donde RB es hidrógeno; un grupo protector; alquilo C₁₋₆; arilo; o heteroarilo.
- 30 En ciertos aspectos, el compuesto es de fórmula (IVa), en la que X es CH₂, o C(=O); Y es CH₂, o C(=O); cada aparición de R^{'''} cada aparición de R'' es independientemente hidrógeno; alquilo C₁₋₆ hidroxilo, u ORB; en la que RB es hidrógeno; un grupo protector; o alquilo C₁₋₆; y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.
- 35 En ciertos aspectos de la presente descripción, el compuesto de fórmula (V) es como se describe en la Figura 12C y 12D. En algunos aspectos, el compuesto de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (V) como se describe en el presente documento no incluye ninguno de N-fenetil-carbazol (SMILES: C(Cn1c2ccccc2c2ccccc12)c1ccccc1), crotmadina (SMILES: CC1(C)CCc2c(O)ccc(C(=O)\C=C\ c3ccc(O)cc3)c2O1), 9-(1H-inden-2-il)-9H-carbazol (SMILES: C1C(=Cc2ccccc12)n1c2ccccc2c2ccccc12), rottlerina (malltoxina), derivado de NDGA ácido tetra-a-metil nordihidroguaiarético (M4N o terameprocol), UNC-01(7-0H estaurosporina) y CGP41251 (PKC412, 4'-N-benzoil estaurosporina), KAI-9803.

Composiciones farmacéuticas

- 45 Los aspectos de la presente descripción se refieren al uso de cualquiera o una combinación de compuestos de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) como se describe en el presente documento como un inhibidor de PKC delta. En particular, un compuesto de (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) como se describe en el presente documento, inhibe selectivamente PKC delta sobre otras isoformas de PKC. En particular, un compuesto de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) como se describe en el presente documento, como inhibidores de PKC delta selectivos son ventajosos frente a los inhibidores de PKC delta existentes, ya que son más potentes en la inhibición de la proliferación celular y no son tóxicos para las células con niveles normales de señalización p21Ras.
- 50 Además, aunque algunos inhibidores de PKC delta se usan en combinación, por ejemplo, rottlerina y estaurosporina, los presentes compuestos inhibidores de PKC delta de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) son ventajosas para inhibir los compuestos PKC delta en una sola molécula.

La presente descripción proporciona nuevos compuestos útiles en el tratamiento de enfermedades o trastornos asociados con la actividad de PKC delta. Los compuestos son útiles en el tratamiento de una enfermedad o afección

que se beneficia de la inhibición de PKC delta, por ejemplo, en una enfermedad o afección en la que hay una elevación o aumento en la actividad y/o expresión de PKC delta. En algunos aspectos de la presente descripción, los compuestos como se describen en el presente documento, son útiles para métodos para el tratamiento o prevención de trastornos en los que es deseable la inhibición de PKC delta, por ejemplo, enfermedades asociadas con sensibilidad alternada a la insulina o enfermedad de hígado graso (FLD), incluyendo esteatosis hepática y diabetes tipo 2, y esteatohepatitis no alcohólica (NASH), según los métodos descritos en la Solicitud Internacional WO/2011/041385.

En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos como se describen en el presente documento, son útiles en el tratamiento de enfermedades proliferativas, tales como el cáncer. En algunos aspectos de la presente descripción, el cáncer es, por ejemplo, un cáncer broncopulmonar, un cáncer gastrointestinal o un cáncer neuroendocrino pancreático, un cáncer carcinoide y/o neuroendocrino, melanoma maligno, cáncer pancreático, gastrointestinal o de pulmón. En algunos aspectos de la presente descripción, un cáncer neuroendocrino se puede derivar de un tumor broncopulmonar o del intestino anterior o del intestino posterior (por ejemplo, tumor neuroendocrino de origen pulmonar y gastrointestinal).

En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos como se describen en el presente documento, son útiles en el tratamiento de enfermedades caracterizadas por proliferación de células de tejido conectivo, o depósito excesivo de matriz por esas células, tal como en las enfermedades fibróticas. Las enfermedades fibróticas abarcan un amplio espectro de entidades clínicas, que incluyen enfermedades multisistémicas, tales como esclerosis sistémica (esclerodermia), fibroesclerosis multifocal, enfermedad de injerto contra huésped esclerodermatosa en receptores de trasplante de médula ósea, y fibrosis sistémica nefrogénica, así como también trastornos específicos de órganos, tal como la fibrosis pulmonar, hepática y renal. Se incluyen específicamente en estas enfermedades fibróticas: enfermedad renal crónica, fibrosis hepática, fibrosis pulmonar/de pulmón, esclerosis sistémica, fibrosis pulmonar idiopática; fibrosis quística, cirrosis, fibrosis endomiocárdica (corazón); fibrosis mediastínica (tejido blando del mediastino), mielofibrosis (médula ósea), fibrosis retroperitoneal (tejido blando del retroperitoneo), fibrosis masiva progresiva (pulmones); una complicación de la neumoconiosis de los trabajadores del carbón, fibrosis sistémica nefrótica (piel), enfermedad de Crohn (intestino), queloide (piel), infarto de miocardio antiguo (corazón), esclerodermia/esclerosis sistémica (piel, pulmones), artrofibrosis (rodilla, hombro, otras articulaciones), y algunas formas de capsulitis adhesiva (hombro), y fibrosis después de radiación ("fibrosis post-radiación"), y después de la administración de ciertos fármacos, tal como bleomicina ("fibrosis pulmonar inducida por bleomicina").

Aunque su etiología y mecanismos causales son diferentes, las enfermedades fibróticas comparten la característica común de la deposición desordenada y exagerada de la matriz extracelular en los tejidos afectados. La expresión elevada de genes que codifican proteínas de la matriz extracelular es una función común y característica de estas afecciones, y la fibrosis resultante altera la arquitectura normal de los órganos afectados, lo que finalmente conduce a su disfunción y fallo. La activación persistente de las células fibroblásticas distingue la reparación controlada, tal como la que ocurre durante la cicatrización normal de heridas, de la fibrosis incontrolada que es el sello distintivo de este grupo de enfermedades. El factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta) es un mediador crítico en la patogénesis de la fibrosis tisular. Una ruta de TGF-beta implica proteína cinasa C-delta (PKC-delta). En respuesta a TGF-beta, la PKC delta está fosforilada; delta PKC fosforilada elimina entonces los factores inhibidores del promotor del gen de colágeno en el núcleo, lo que aumenta la actividad transcripcional del gen de colágeno. La inhibición de PKC-delta mediante técnicas farmacológicas o biológicas moleculares disminuyó el aumento de la expresión génica de colágeno inducida por TGF-beta y la de fibroblastos de esclerosis sistémica cultivados (Jimenez SA, Gaidarova S, Saitta B, Sandorfi N, Herrich DJ, Rosenbloom JC. et al., Role of protein kinase C-delta in the regulation of collagen gene expression in scleroderma fibroblasts. *J Clin. Invest.* 2001;1081395-403).

Por consiguiente, en otro aspecto de la presente descripción, se proporcionan composiciones farmacéuticas, que comprenden uno cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento (o una sal farmacéuticamente aceptable u otro derivado farmacéuticamente aceptable del mismo) y opcionalmente un excipiente farmacéuticamente aceptable. En ciertos aspectos de la presente descripción, estas composiciones opcionalmente comprenden adicionalmente uno o más agentes terapéuticos adicionales. Como alternativa, un compuesto de esta descripción se puede administrar a un paciente que lo necesite junto con la administración de uno o más agentes terapéuticos diferentes. Por ejemplo, en el tratamiento del cáncer, un agente terapéutico adicional para la administración conjunta o la inclusión en una composición farmacéutica con un compuesto de esta descripción puede ser un agente quimioterapéutico aprobado.

También se apreciará que algunos de los compuestos de la presente descripción pueden existir en forma libre para

el tratamiento, o cuando sea apropiado, como un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo. De acuerdo con la presente descripción, un derivado farmacéuticamente aceptable incluye, pero sin limitación, sales farmacéuticamente aceptables, ésteres, sales de dichos ésteres, o un profármaco u otro aducto o derivado de un compuesto de esta descripción que tras la administración a un paciente que lo necesita es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto como se describe en el presente documento de otra manera, o un metabolito o residuo del mismo.

Como se ha descrito anteriormente, las composiciones farmacéuticas de la presente descripción comprenden opcionalmente un excipiente farmacéuticamente aceptable, que, como se usa en el presente documento, incluye cualquiera y todos los disolventes, diluyentes u otro vehículo líquido, dispersantes o auxiliares de suspensión, agentes tensioactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, antioxidantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, según se adapten a la forma de dosificación particular deseada. Remington's Pharmaceutical Sciences, decimosexta edición, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, PA, 1980) describe varios excipientes utilizados en la formulación de composiciones farmacéuticas y técnicas conocidas para la preparación de los mismos. Excepto en la medida en que cualquier medio de excipiente convencional sea incompatible con los compuestos de la invención, tal como produciendo cualquier efecto biológico no deseado o interactuando de otro modo de manera nociva con cualquier otro componente de la composición farmacéutica, se contempla su uso dentro del alcance de esta descripción. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, azúcares tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados tales como carboximetil celulosa sódica, etil celulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; 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; glicoles; tal como propilenglicol; ésteres tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar, ciclodextrinas y derivados, agentes tamponantes tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido alginico; agua libre de pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico y soluciones de tampón fosfato, así como otros lubricantes compatibles no tóxicos tales como lauril sulfato sódico y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, saporíferos y perfumantes, conservantes y antioxidantes también pueden estar presentes en la composición, de acuerdo con el criterio del formulador.

Las formas de dosificación líquida para administración oral incluyen, pero sin limitación, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, 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, maní, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos. Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, emulsificantes y de suspensión, edulcorantes, saporíferos y aromatizantes. Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones inyectables estériles acuosas u oleaginosas, pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida usando agentes de dispersión o humectantes adecuados y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, una solución en 1,3-butano-diol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear se encuentran agua, una solución de Ringer, U.S.P. y una solución isotónica de cloruro sódico. Además, se emplean convencionalmente aceites fijos estériles como un disolvente o medio de suspensión. Para este fin se puede emplear cualquier aceite fijo suave incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, se usan ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de inyectables.

Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, por filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o por incorporación de agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes del uso.

Para prolongar el efecto de un fármaco, frecuentemente resulta deseable ralentizar la absorción del fármaco a partir de una inyección intramuscular o subcutánea. Esto puede lograrse mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con poca solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño de los cristales y de la forma cristalina. Como alternativa, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada por vía parenteral se logra

disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso. Las formas de depósito inyectable se preparan formando matrices microencapsuladas del fármaco en polímeros biodegradables tales como polilactida-policlicólido. Dependiendo de la relación de fármaco con respecto al polímero y la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del fármaco. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen 5 poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales.

Las composiciones para administración rectal o vaginal son preferiblemente supositorios que se pueden preparar mezclando los compuestos de esta invención con excipientes o vehículos no irritantes adecuados tales como 10 manteca de cacao, polietilenglicol o una cera de supositorio, que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a temperatura corporal y, por lo tanto, se derriten en el recto o la cavidad vaginal y liberan el compuesto activo.

Las formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y 15 gránulos. En dichas formas de dosificación sólidas, el compuesto activo se mezcla con al menos un excipiente o vehículo inerte farmacéuticamente aceptable tal como citrato de sodio o fosfato de dicalcio y/o a) cargas o extensores tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, b) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidinona, sacarosa y acacia, c) humectantes tales como glicerol, d) agentes desintegrantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y carbonato de sodio, e) agentes retardantes de soluciones tales como 20 parafina, f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes tales como caolín y arcilla de bentonita, e i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato sódico y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma de dosificación también puede comprender agentes tamponantes.

Las composiciones sólidas de tipo similar también pueden emplearse como cargas en cápsulas rellenas de gelatina 25 dura o blanda usando excipientes tales como lactosa o azúcar de leche así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y cubiertas tales como el recubrimiento entérico y otros recubrimientos bien 30 conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Opcionalmente pueden contener agentes opacificantes y también pueden presentar una composición por la que liberen el o los principios activos únicamente, o preferiblemente, en una parte determinada del tracto intestinal, opcionalmente, de forma retardada. Los ejemplos de composiciones inclusoras que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. Las composiciones sólidas de tipo similar también pueden emplearse como cargas en cápsulas rellenas de gelatina dura o blanda usando 35 excipientes tales como lactosa o azúcar de leche así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Los compuestos activos también pueden estar en forma microencapsulada con uno o más excipientes, tal como se ha indicado anteriormente. Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y cubiertas tales como el recubrimientos entéricos, recubrimientos de liberación controlada, y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. En dichas 40 formas de dosificación sólidas, el compuesto activo se puede mezclar con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa y almidón. Dichas formas de dosificación también pueden comprender, como en la práctica normal, sustancias adicionales distintas de diluyentes inertes, por ejemplo, lubricantes de formación de comprimidos y otros adyuvantes de formación de comprimidos tales como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación también pueden comprender agentes 45 tamponantes. Opcionalmente pueden contener agentes opacificantes y también pueden presentar una composición por la que liberen el o los principios activos únicamente, o preferiblemente, en una parte determinada del tracto intestinal, opcionalmente, de forma retardada. Los ejemplos de composiciones incluidas que pueden utilizarse incluyen sustancias poliméricas y ceras.

50 La presente descripción incluyen formulaciones tópicas farmacéuticamente aceptables de compuestos descritos. El término "formulación tópica farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, significa cualquier formulación que sea farmacéuticamente aceptable para la administración intradérmica de un compuesto de la descripción por aplicación de la formulación a la epidermis. En ciertos aspectos de la presente descripción, la formulación tópica comprende un sistema excipiente. Los excipientes farmacéuticamente eficaces incluyen, pero sin 55 limitación, disolventes (por ejemplo, alcoholes, polialcoholes, agua), cremas, lociones, ungüentos, aceites, emplastos, liposomas, polvos, emulsiones, microemulsiones y soluciones tamponadas (por ejemplo, solución salina hipotónica o tamponada) o cualquier otro excipiente conocido en la técnica para la administración tópica de productos farmacéuticos. Se proporciona una lista más completa de talladores conocidos en la técnica mediante textos de referencia que son estándar en la técnica, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 16ª Edición,

1980 y 17ª Edición, 1985, ambos publicados por Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania. En ciertos otros aspectos de la presente descripción, las formulaciones tópicas de la descripción pueden comprender excipientes. Se puede usar cualquier excipiente farmacéuticamente aceptable conocido en la técnica para preparar las formulaciones tópicas farmacéuticamente aceptables descritas. Los ejemplos de excipientes que se pueden incluir en las formulaciones tópicas de la descripción incluyen, pero sin limitación, conservantes, antioxidantes, humectantes, emolientes, agentes tamponantes, agentes solubilizantes, otros agentes de penetración, protectores de la piel, tensioactivos y propulsores, y/o agentes terapéuticos adicionales usados junto con el compuesto descrito. Los conservantes adecuados incluyen, pero sin limitación, alcoholes, aminas cuaternarias, ácidos orgánicos, parabenos y fenoles. Los antioxidantes adecuados incluyen, pero sin limitación, ácido ascórbico y sus ésteres, bisulfito sódico, hidroxitolueno butilado, hidroxiarisol butilado, tocoferoles y agentes quelantes como EDTA y ácido cítrico. Los humectantes adecuados incluyen, pero sin limitación, glicerina, sorbitol, polietilenglicoles, urea y propilenglicol. Los agentes tamponantes adecuados para usar con la descripción incluyen, pero sin limitación, tampones de ácido cítrico, clorhídrico y láctico. Los agentes solubilizantes adecuados incluyen, pero sin limitación, cloruros de amonio cuaternario, ciclodextrinas, benzoato de bencilo, lecitina y polisorbatos. Los protectores de la piel adecuados que se pueden usar en las formulaciones tópicas de la descripción incluyen, pero sin limitación, aceite de vitamina E, alantoína, dimeticona, glicerina, vaselina y óxido de cinc.

En ciertos aspectos de la presente descripción, las formulaciones tópicas farmacéuticamente aceptables de la descripción comprenden al menos un compuesto de la descripción y un agente potenciador de la penetración. La elección de la formulación tópica dependerá de varios factores, incluyendo la afección a tratar, las características fisicoquímicas del compuesto descrito y otros excipientes presentes, su estabilidad en la formulación, el equipo de fabricación disponible, y las limitaciones de costes. Como se usa en el presente documento, el término "agente potenciador de la penetración" se refiere a un agente capaz de transportar un compuesto farmacológicamente activo a través del estrato córneo y dentro de la epidermis o dermis, preferiblemente, con poca o ninguna absorción sistémica. Se ha evaluado una amplia variedad de compuestos en cuanto a su eficacia para mejorar la tasa de penetración de fármacos a través de la piel. Véase, por ejemplo, Percutaneous Penetration Enhancers, Maibach H. I. y Smith H. E. (eds.), CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla. (1995), que examina el uso y la prueba de diversos potenciadores de la penetración de la piel, y Buyuktimkin et al., Chemical Means of Transdermal Drug Permeation Enhancement in Transdermal and Topical Drug Delivery Systems, Gosh T. K., Pfister W. R., Yum S. I. (Eds.), Interpharm Press Inc., Buffalo Grove, Ill. (1997). En ciertos aspectos ilustrativos de la presente descripción, los agentes de penetración para su uso con la descripción incluyen, pero sin limitación, triglicéridos (por ejemplo, aceite de soja), composiciones de aloe (por ejemplo, gel de aloe vera), alcohol etílico, alcohol isopropílico, octofenilpolietilenglicol, ácido oleico, polietilenglicol 400, propilenglicol, N-decilmethylsulfoxido, ésteres de ácidos grasos (por ejemplo, miristato de isopropilo, metilaurato, monooleato de glicerol y monooleato de propilenglicol) y N-metilpirrolidona.

En ciertos aspectos de la presente descripción, las composiciones pueden estar en forma de ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, aerosoles, inhalantes o parches. En ciertos aspectos ilustrativos de la presente descripción, las formulaciones de las composiciones de acuerdo con la descripción son cremas, que pueden contener adicionalmente ácidos grasos saturados o insaturados tales como ácido esteárico, ácido palmítico, ácido oleico, ácido palmito-oleico, alcoholes cetílicos o oleílicos, siendo el ácido esteárico particularmente preferido.

Las cremas de la descripción también pueden contener un tensioactivo no iónico, por ejemplo, polioxi-40-estearato. En ciertos aspectos de la presente descripción, el componente activo se mezcla en condiciones estériles con un excipiente farmacéuticamente aceptable y cualquier conservante o tampón necesario que se requiera. La formulación oftálmica, gotas óticas y gotas para los ojos también se contemplan dentro del alcance de esta descripción. Adicionalmente, la presente descripción contempla el uso de parches transdérmicos, que tienen la ventaja adicional de proporcionar la administración controlada de un compuesto al cuerpo. Dichas formas de dosificación se preparan disolviendo o dispensando el compuesto en el medio apropiado. Como se ha analizado anteriormente, los agentes potenciadores de la penetración también pueden usarse para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad puede controlarse proporcionando una membrana de control de la velocidad o dispersando el compuesto en una matriz polimérica (por ejemplo, PLGA) o gel.

También se apreciará que los compuestos y composiciones farmacéuticas de la presente descripción se pueden formular y emplear en terapias de combinación, es decir, los compuestos y composiciones farmacéuticas se pueden formular con o administrar simultáneamente con, antes o después de, uno o más productos terapéuticos o procedimientos médicos deseados. La combinación particular de terapias (productos terapéuticos o procedimientos) para emplear en un régimen de combinación tendrá en cuenta la compatibilidad de los productos terapéuticos y/o procedimientos deseados y el efecto terapéutico deseado a alcanzar. También se apreciará que las terapias

empleadas pueden lograr un efecto deseado para el mismo trastorno (por ejemplo, un compuesto descrito puede administrarse simultáneamente con otro agente inmunomodulador o agente anticanceroso), o pueden lograr diferentes efectos (por ejemplo, control de cualquier efecto adverso).

5 Por ejemplo, otras terapias o agentes anticancerosos que pueden usarse junto con los compuestos descritos de la presente descripción para terapia contra el cáncer incluyen cirugía, radioterapia (en algunos ejemplos, radiación γ , radioterapia de haz de neutrones, radioterapia de haz de electrones, terapia de protones, braquiterapia e isótopos radioactivos sistémicos, por nombrar algunos), terapia endocrina, modificadores de la respuesta biológica (interferón, interleucinas y factor de necrosis tumoral (TNF) por nombrar algunos), hipertermia y crioterapia, agentes para
 10 atenuar cualquier efecto adverso efectos (por ejemplo, antieméticos), y otros fármacos quimioterapéuticos aprobados, incluyendo, pero sin limitación, fármacos alquilantes (mecloretamina, clorambucilo, ciclofosfamida, melfalán, ifosfamida), antimetabolitos (metotrexato), antagonistas de la purina y antagonistas de pirimidina (6-mercaptopurina, 5-Fluorouracilo, citarabina, Gemcitabina), venenos fusiformes (Vinblastina, Vincristina, Vinorelbina, Paclitaxel), podofilotoxinas (Etopósido, Irinotecán, Topotecán), antibióticos (doxorubicina, bleomicina, mitomicina),
 15 nitrosoureas (carmustina, lomustina), iones inorgánicos (cisplatino, carboplatino), enzimas (asparaginasa) y hormonas (tamoxifeno, leuprolida, flutamida y megestrol), por nombrar algunos. Para un análisis más completo de las terapias contra el cáncer actualizadas, véase, The Merck Manual, Decimoséptima Ed. 1999. Véase también el sitio web del National Cancer Institute (CNI) y el sitio web de la Food and Drug Administration (FDA) para obtener una lista de los medicamentos oncológicos aprobados por la FDA.

20 En ciertos aspectos de la presente descripción, las composiciones farmacéuticas de la presente descripción comprenden adicionalmente uno o más principios terapéuticamente activos adicionales (por ejemplo, quimioterapéuticos y/o paliativos). Para los fines de la descripción, el término "paliativo" se refiere al tratamiento que se centra en el alivio de los síntomas de una enfermedad y/o los efectos secundarios de un régimen terapéutico,
 25 pero no es curativo. Por ejemplo, el tratamiento paliativo incluye analgésicos, medicamentos contra las náuseas y medicamentos contra la enfermedad. Además, la quimioterapia, la radioterapia y la cirugía se pueden usar paliativamente (es decir, para reducir los síntomas sin cura, por ejemplo, para reducir tumores y reducir la presión, el sangrado, el dolor y otros síntomas de cáncer).

30 Además, la presente descripción proporciona derivados farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos, y métodos de tratamiento de un sujeto que usa estos compuestos, composiciones farmacéuticas de los mismos, o cualquiera de estos junto con uno o más agentes terapéuticos adicionales.

También se apreciará que algunos de los compuestos de la presente descripción pueden existir en forma libre para
 35 el tratamiento, o cuando sea apropiado, como un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo. De acuerdo con la presente descripción, un derivado farmacéuticamente aceptable incluye, pero sin limitación, sales farmacéuticamente aceptables, ésteres, sales de dichos ésteres, de un compuesto de esta descripción que tras la administración a un paciente que lo necesita es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto como se describe en el presente documento de otra manera, o un metabolito o residuo del mismo.

40 Otro aspecto de la descripción se refiere a un kit para realizar de forma conveniente y eficaz los métodos de acuerdo con la presente descripción. En general, el paquete o kit farmacéutico comprende uno o más recipientes llenos con uno o más de los ingredientes de las composiciones farmacéuticas de la descripción. Dichos kits son especialmente adecuados para la administración tópica de los compuestos descritos. Opcionalmente asociado con dicho recipiente
 45 o recipientes puede ser un aviso en la forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos, cuyo aviso refleja la aprobación por parte de la agencia de fabricación, uso o venta para administración humana.

Usos farmacéuticos y métodos de tratamiento

50 Un aspecto de la presente descripción se refiere a los compuestos de fórmula (Ia), (V) como se describe en el presente documento para su uso en un método para tratar una enfermedad o trastorno asociado con la actividad de PKC delta aberrante. Por consiguiente, en algunos aspectos de la presente descripción, los compuestos son útiles en el tratamiento de una enfermedad o afección que se beneficia de la inhibición de PKC delta, por ejemplo, en una
 55 enfermedad o afección en la que hay una elevación o aumento en la actividad y/o expresión de PKC delta. En general, los métodos para usar los compuestos de la presente descripción comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención. Los compuestos de la descripción son generalmente inhibidores de la actividad de PKC delta. Como se ha analizado anteriormente, los compuestos de la descripción son típicamente inhibidores de PKC delta y, como tales, son útiles en el tratamiento de

trastornos en los que PKC delta aumenta o se sobreexpresa. Las enfermedades asociadas con PKC delta pueden tratarse mediante un compuesto descrito que inhibe PKC delta.

PKC Delta

- 5 Sin desear quedar ligado por la teoría, hay al menos 12 isoformas de PKC que se clasifican en tres subfamilias de acuerdo con la estructura del dominio regulador N-terminal, que determina su sensibilidad a los segundos mensajeros Ca₂ y diacilglicerol (DAG). A pesar del alto grado de homología, sin embargo, existe un sorprendente grado de no redundancia. Por lo tanto, las isoformas de PKC individuales median funciones celulares diferentes y
- 10 únicas en diferentes tipos de células y diferentes tejidos. PKC delta pertenece a la subfamilia de nuevas isoformas (PKC δ PKC ε, PKC θ y PKC η), que son insensibles a Ca₂. Se considera ampliamente que PKC delta tiene propiedades pro-apoptóticas. La activación de caspasa media la escisión de PKC delta que da como resultado la liberación del dominio catalítico activo. Además, se sabe que la actividad de PKC delta inicia varias señales proapoptóticas, tal como una mayor expresión y estabilidad de p53 (Johnson CL, 2002 y Abbas T, 2004), liberación
- 15 mitocondrial del citocromo C (Majumder PK, 2000 y Basu A, 2001) y activación c-Abl. Sin embargo, bajo ciertas condiciones, se ha informado que PKC delta tiene un papel protector en la supervivencia celular. También se ha informado que PKC delta regula la supervivencia de los linfocitos B. PKC delta también media la fibrosis tisular en parte por estimulación de la síntesis de colágeno y otros componentes de la matriz extracelular.
- 20 Los experimentos knock-out han demostrado que los ratones deficientes en delta PKC tienen un sistema inmune desregulado y desarrollan una enfermedad autoinmune, pero son fértiles y crecen hasta la edad adulta. Los aspectos de la presente descripción se refieren al uso de cualquiera o una combinación de compuestos de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) como se describe en el presente documento como un inhibidor de PKC delta. En particular, un compuesto de (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) como se describe en el presente documento, inhibe
- 25 selectivamente PKC delta sobre otras isoformas de PKC. En particular, un compuesto de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) como se describe en el presente documento, como inhibidores de PKC delta selectivos son ventajosos frente a los inhibidores de PKC delta existentes, ya que son más potentes en la inhibición de la proliferación celular y no son tóxicos para las células con niveles normales de señalización p21Ras.
- 30 Por consiguiente, un aspecto de la presente descripción se refiere a un método para tratar un sujeto con un trastorno proliferativo, denominado en el presente documento cáncer. En algunos aspectos de la presente descripción, el método comprende determinar el genotipo Ras del tumor, es decir, buscar la presencia de una señalización de Ras aumentada. Un sujeto que tiene un tumor asociado con señalización aumentada de Ras en el tumor puede tratarse de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento, y puede administrarse un compuesto inhibidor de
- 35 PKC delta de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (V) como se describe en el presente documento.
- Otros aspectos de la presente descripción se refieren a métodos para dirigir el tratamiento de un sujeto con un tumor. El estado del nivel de señalización de Ras del tumor del sujeto indica un sujeto susceptible de tratamiento de acuerdo con los métodos y la composición como se describe en el presente documento. En algunos aspectos de la
- 40 presente descripción, un sujeto es susceptible de tratamiento de acuerdo con los métodos y composiciones usando un compuesto de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) como se describe en el presente documento donde la señalización de Ras del tumor del sujeto aumenta en relación con las células comparables.
- Un aspecto de la presente descripción se refiere a un método para tratar un sujeto con, o en riesgo de desarrollar un
- 45 tumor que tiene una señalización de Ras aumentada de manera aberrante, que comprende obtener una muestra biológica del sujeto; determinar si la muestra biológica contiene células que tienen señalización de Ras aumentada de manera aberrante; y administrar al sujeto una composición que comprende un inhibidor de PKC delta de un compuesto de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (V) como se describe en el presente documento para el sujeto tras la determinación de la señalización de Ras aumentada de forma aberrante, para así inhibir PKC delta en la célula. En
- 50 un aspecto de la presente descripción, la señalización de Ras aumentada de forma aberrante es resultado de una o más apariciones, incluyendo la expresión de Ras activada, la sobreexpresión de Ras de tipo salvaje, o la sobreactivación de Ras de tipo salvaje.
- La expresión de Ras activada puede detectarse mediante ELISA, transferencia Western, tinción de anticuerpos,
- 55 inmunohistoquímica, inmunofluorescencia, o cualquier combinación de los mismos. Como alternativa, puede detectarse mediante la determinación de la presencia de una mutación en una secuencia de ácido nucleico de Ras, mediante reacción en cadena de la polimerasa, extensión de cebador, hibridación de sonda específica de alelo, extensión de cebador específica de alelo, amplificación de alelo específico, secuenciación de nucleótidos, digestión de nucleasas 5', ensayo molecular de balizas, ensayo de ligación de oligonucleótidos, polimorfismo de conformación

monocatenario, o combinaciones de los mismos.

Por consiguiente, en ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) descritos en el presente documento son útiles en un método para el tratamiento de una enfermedad o trastorno proliferativo, tal como cáncer o tumor. En algunos aspectos de la presente descripción, el cáncer es, por ejemplo, un cáncer broncopulmonar, un cáncer gastrointestinal o un cáncer neuroendocrino pancreático, un cáncer carcinoide y/o neuroendocrino, un melanoma maligno, cáncer pancreático, gastrointestinal o de pulmón. En algunos aspectos de la presente descripción, un cáncer neuroendocrino se puede derivar de un tumor broncopulmonar, del intestino anterior o del intestino posterior (por ejemplo, línea celular de tumor neuroendocrino de origen pulmonar y gastrointestinal).

En ciertos aspectos de la presente descripción, el método implica la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo a un sujeto (incluyendo, pero sin limitación, un ser humano o animal) que necesita tratamiento. En algunos aspectos de la presente descripción, el sujeto que necesita tratamiento tiene cáncer o es probable que contraiga cáncer.

En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos como útiles para el tratamiento del cáncer, incluyen, pero sin limitación, cáncer broncopulmonar, un cáncer gastrointestinal o un cáncer neuroendocrino pancreático, o un cáncer carcinoide y/o neuroendocrino, un cáncer maligno de melanoma, pancreático, gastrointestinal o pulmonar. En algunos aspectos de la presente descripción, un cáncer neuroendocrino se puede derivar de un tumor broncopulmonar o del intestino anterior o del intestino posterior.

En algunos aspectos de la presente descripción, los métodos que se describen en el presente documento comprenden administrar a un sujeto con cáncer una composición que comprende un compuesto de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) como se describe en el presente documento, en los que un sujeto tiene un cáncer seleccionado de cualquiera o una combinación de: glioblastoma, retinoblastoma, cáncer de mama, cáncer de cuello del útero, cáncer de colon y recto, leucemia, linfoma, cáncer de pulmón (incluyendo, pero sin limitación, cáncer de pulmón de células pequeñas), melanoma y/o cáncer de piel, mieloma múltiple, linfoma no Hodgkin, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata y gástrico, cáncer de vejiga, cáncer de útero, cáncer de riñón, cáncer testicular, cáncer de estómago, cáncer cerebral, cáncer de hígado o cáncer de esófago). En algunos aspectos de la presente descripción, el cáncer no es melanoma.

En algunos aspectos de la presente descripción, los métodos como se describen en el presente documento comprenden administrar a un sujeto con cáncer una composición que comprende un compuesto de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) como se describe en el presente documento, en los que un sujeto tiene un cáncer seleccionado de cualquiera, o una combinación de, pero sin limitación: cáncer de mama, cáncer de cuello del útero, cáncer de colon y recto, leucemia, cáncer de pulmón, melanoma, mieloma múltiple, linfoma no Hodgkin, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata y cáncer gástrico, por nombrar algunos. En ciertos aspectos de la presente descripción, los agentes anticancerosos descritos son activos contra células de leucemia y células de melanoma y, por lo tanto, son útiles para el tratamiento de leucemias (por ejemplo, leucemias mieloides, linfocíticas, mielocíticas y linfoblásticas) y melanomas malignos. En aún otros aspectos de la presente descripción, los agentes anticancerosos descritos son activos contra tumores sólidos.

En algunos aspectos de la presente descripción, los compuestos de la descripción son útiles en el tratamiento de enfermedades proliferativas, por ejemplo, cáncer, neoplasias benignas, enfermedad inflamatoria, enfermedades autoinmunes. En otros aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos son útiles en el tratamiento de enfermedades autoinmunes; enfermedades alérgicas e inflamatorias; enfermedades del sistema nervioso central (SNC), tales como enfermedades neurodegenerativas (por ejemplo, enfermedad de Huntington); enfermedades vasculares, tal como reestenosis; enfermedades musculoesqueléticas; enfermedades cardiovasculares, tal como ictus; enfermedades pulmonares; enfermedades gástricas; enfermedades infecciosas, y enfermedades fibróticas, tales como enfermedad renal crónica, fibrosis hepática, fibrosis pulmonar/de pulmón, esclerosis sistémica, fibrosis pulmonar idiopática; fibrosis quística, cirrosis, fibrosis endomiocárdica (corazón); fibrosis mediastínica (tejido blando del mediastino), mielofibrosis (médula ósea), fibrosis retroperitoneal (tejido blando del retroperitoneo), fibrosis masiva progresiva (pulmones); una complicación de la neumoconiosis de los trabajadores del carbón, fibrosis sistémica nefrótica (piel), enfermedad de Crohn (intestino), queloide (piel), infarto de miocardio antiguo (corazón), esclerodermia/esclerosis sistémica (piel, pulmones), fibrosis post-radiación, y fibrosis inducida por fármacos.

En otro aspecto de la presente descripción, se proporcionan métodos para el tratamiento de un cáncer en un sujeto, comprendiendo el método administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito, como se

describe en el presente documento, a un sujeto que lo necesite. En ciertos aspectos de la presente descripción, se proporciona un método para el tratamiento de cáncer que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito, o una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito a un sujeto que lo necesite, en dichas cantidades y durante dicho tiempo como sea necesario para lograr el resultado deseado.

En algunos aspectos de la presente descripción, las Patentes de Estados Unidos 4.313.872 y 7.276.567 y las Solicitudes de Patente Internacional WO2006/060196, WO2005/065666, WO20071106424 describen el uso de inhibidores de PKC delta para el tratamiento del cáncer. Sin embargo, estas aplicaciones no enseñan, sugieren o analizan el uso de un compuesto de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa) o (IVa) como se describe en el presente documento para el tratamiento del cáncer.

En ciertos aspectos de la presente descripción, el compuesto descrito se administra por vía parenteral. En ciertos aspectos de la presente descripción, el compuesto descrito se administra por vía intravenosa. En ciertos aspectos, el compuesto descrito se administra por vía tópica. En ciertos aspectos de la presente descripción, una "cantidad terapéuticamente eficaz" del compuesto o composición farmacéutica que se describe es la cantidad eficaz para matar o inhibir el crecimiento de células tumorales. Los compuestos y composiciones pueden administrarse usando cualquier cantidad y cualquier ruta de administración eficaz para matar o inhibir el crecimiento de células tumorales. Por lo tanto, la expresión "cantidad eficaz para matar o inhibir el crecimiento de las células tumorales", como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad suficiente de agente para matar o inhibir el crecimiento de las células tumorales. La cantidad exacta requerida variará de un sujeto a otro, dependiendo de la especie, la edad y el estado general del sujeto, la gravedad de la infección, el agente anticanceroso particular, su modo de administración, y similares.

En algunos aspectos de la presente descripción, los compuestos como se describen en el presente documento, son útiles para métodos para el tratamiento o prevención de trastornos en los que es deseable la inhibición de PKC delta, por ejemplo, enfermedades asociadas con sensibilidad alternada a la insulina o enfermedad de hígado graso (FLD), incluyendo esteatosis hepática y diabetes tipo 2, y esteatohepatitis no alcohólica (NASH), según los métodos descritos en la Solicitud Internacional WO/2011/041385.

Como se describe en el presente documento, los inventores han demostrado que los compuestos de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) como se describen en el presente documento inhiben la proliferación celular, en algunos aspectos de la presente descripción, los compuestos como se describen en el presente documento, se pueden usar en un método para prevenir la reestenosis de los vasos sanguíneos en un sujeto con un trauma tal como angioplastia y colocación de stent. Por ejemplo, incluidos en el presente documento en la descripción, los compuestos de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) son útiles como un recubrimiento para dispositivos médicos implantados, tales como tubos, derivaciones, catéteres, implantes artificiales, grapas, implantes eléctricos, tales como marcapasos, y especialmente para stents arteriales o venosos, incluidos los stents expansibles con balón. En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos se incluyen para su uso en el recubrimiento de un dispositivo médico implantable, o como alternativa, se adsorben pasivamente en la superficie del dispositivo implantable. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos pueden formularse para que queden contenidos dentro, o adaptados para ser liberados por un dispositivo o implante quirúrgico o médico, tales como, por ejemplo, stents, suturas, catéteres permanentes, prótesis, y similares.

Por ejemplo, los fármacos que tienen actividades antiproliferativas y antiinflamatorias se han evaluado como recubrimientos de stent, y se han mostrado prometedores para prevenir la reestenosis (véase, por ejemplo, Presbitero et al., "Drug eluting stents do they make the difference?", *Minerva Cardioangiol.*, 2002, 50(5): 431-442; Ruygrok et al., "Rapamycin in cardiovascular medicine", *Intern. Med. J.*, 2003, 33(3):103-109; y Marx et al., "Bench to bedside: the development of rapamycin and its application to stent restenosis", *Circulation*, 2001, 104(8): 852-855).

De acuerdo con esto, sin desear quedar ligado a la teoría, los compuestos de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) que inhiben la proliferación celular y tienen efectos antiproliferativos pueden usarse como recubrimientos de stent y/o en dispositivos de administración de fármacos de stent, entre otros para la prevención de la reestenosis o la reducción de la tasa de reestenosis en un sujeto. Se describen revestimientos adecuados y la preparación general de dispositivos implantables recubiertos en las patentes de Estados Unidos 6.099.562; 5.886.026; y 5.304.121. En la técnica se conocen una diversidad de composiciones y métodos relacionados con el recubrimiento de stents y/o la administración local de fármacos de stent para prevenir la reestenosis (véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos N.º 6.517.889; 6.273.913; 6.258.121; 6.251.136; 6.248.127; 6.231.600; 6.203.551; 6.153.252; 6.071.305; 5.891.507; 5.837.313, y la solicitud de patente de Estados Unidos publicada N.º: US200110027340).

En algunos aspectos de la presente descripción, los compuestos como se describen en el presente documento se pueden usar en un método para eliminar una obstrucción biliar, gastrointestinal, esofágica, traqueal/bronquial, uretral y/o vascular usando un stent recubierto con una composición como se describe en el presente documento. Se conocen en la técnica métodos para eliminar obstrucciones biliares, gastrointestinales, esofágicas, traqueales/bronquiales, uretrales y/o vasculares usando stents. El profesional experto sabrá cómo adaptar estos métodos en la puesta en práctica de la presente descripción. Por ejemplo, se puede encontrar una guía en la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 2003/0004209 en los párrafos [0146]-[0155].

10 Además, la presente descripción proporciona derivados farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos, y métodos de tratamiento de un sujeto que usa dichos compuestos, composiciones farmacéuticas de los mismos, o cualquiera de estos junto con uno o más agentes terapéuticos adicionales.

Otro aspecto de la descripción se refiere a un método para tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad o afección asociada con un trastorno de proliferación en un paciente, comprendiendo dicho método una etapa de administrar a dicho paciente, un compuesto de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (V) o una composición que comprende dicho compuesto.

Los compuestos de la descripción se formulan preferiblemente en forma de unidad de dosificación para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. La expresión "forma unitaria de dosificación" como se usa en el presente documento se refiere a una unidad físicamente discreta de agente terapéutico apropiada para el paciente a tratar. Se entenderá, sin embargo, que el uso diario total de los compuestos y composiciones de la presente descripción será decidido por el médico tratante dentro del alcance del buen criterio médico. El nivel de dosis terapéuticamente eficaz específico para cualquier paciente u organismo particular dependerá de una diversidad de factores incluyendo el trastorno que se está tratando y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del paciente; el tiempo de administración, la ruta de administración y la tasa de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; fármacos usados en combinación o coincidentes con el compuesto específico empleado; y factores similares ya conocidos en las técnicas médicas (véase, por ejemplo, Goodman y Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Décima Edición, A. Gilman, J. Hardman y L. Limbird, eds., McGraw-Hill Press, 155-173, 2001).

Otro aspecto de la descripción se refiere a un método para inhibir la actividad de PKC delta en una muestra biológica o un paciente, método que comprende administrar al paciente, o poner en contacto dicha muestra biológica con un compuesto descrito o una composición que comprende dicho compuesto.

En algunos aspectos de la presente descripción, se selecciona un sujeto al que se le administra una composición que comprende un compuesto de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) donde se selecciona el sujeto si tiene un nivel elevado o aumentado de señalización de Ras en una muestra biológica obtenida del sujeto, donde la muestra biológica es una muestra de cáncer, o una muestra de biopsia obtenida del sujeto. En algunos aspectos de la presente descripción, un nivel aumentado de señalización de Ras es un nivel de aumento estadísticamente significativo de la señalización de Ras en comparación con una muestra normal (por ejemplo, una muestra de tejidos normales de un sujeto normal y/o una muestra de tejido no neoplásico o no canceroso). La señalización de Ras puede medirse por cualquier medio comúnmente conocido en la técnica, por ejemplo, por cualquier medio como se describe en la Solicitud Internacional WO/20071106424.

Ras activado típicamente se detecta directamente (es decir, el anticuerpo contra el antígeno de interés está marcado) o indirectamente (es decir, un anticuerpo secundario que reconoce que el anticuerpo contra el antígeno de interés está marcado) usando un marcador detectable. La etiqueta particular o grupo detectable usado en el ensayo generalmente no es crítico, siempre que no interfiera significativamente con la unión específica de los anticuerpos usados en el ensayo. La cantidad de proteína Ras activada en una muestra puede medirse indirectamente midiendo la cantidad de proteína Ras activada añadida (exógena) desplazada de un agente de captura, es decir, un anticuerpo anti-Ras activada, por Ras activada en la muestra. En ensayos no competitivos, la cantidad de Ras activada en una muestra se mide directamente. En algunos aspectos de la presente descripción, puede usarse un ensayo "sándwich" no competitivo para medir Ras activada donde el agente de captura (por ejemplo, un primer anticuerpo) se une directamente a un soporte sólido (por ejemplo, membrana, placa de microtitulación, tubo de ensayo, tira reactiva, perla de vidrio o plástico) donde está inmovilizado. El agente inmovilizado captura entonces cualquier antígeno de interés presente en la muestra. El antígeno inmovilizado de interés puede detectarse entonces usando un segundo anticuerpo marcado contra el antígeno de interés. Como alternativa, el segundo anticuerpo

puede detectarse usando un anticuerpo secundario marcado que reconoce el segundo anticuerpo.

En algunos aspectos de la presente descripción, un método que mide la expresión de Ras activada es mediante tinción de anticuerpo con un anticuerpo que se une específicamente al antígeno empleando una estrategia de marcado que utiliza luminiscencia o fluorescencia. Dicha tinción se puede realizar en tejidos o células fijas que finalmente se ven y se analizan bajo un microscopio. La tinción realizada de esta manera puede puntuarse visualmente o usando mediciones de densidad óptica. La tinción también se realiza usando células enteras vivas o fijas en solución, por ejemplo, células aisladas de sangre o biopsia tumoral. Dichas células pueden analizarse usando un clasificador celular activado por fluorescencia (FACS), que puede determinar tanto el número de células teñidas como la intensidad de la luminiscencia o fluorescencia. Dichas técnicas se conocen bien en la técnica, y las técnicas ejemplares se describen en Luwor et al. ((2001), Cancer Res. 61: 5355-61). Un experto en la técnica apreciará que otras técnicas de detección de expresión pueden ser más o menos sensibles que estas técnicas. Como se quiere decir en el presente documento, las células expresan poco o ningún antígeno si se puede detectar poco o ningún antígeno usando una técnica de tinción de anticuerpos que se basa en la luminiscencia o la fluorescencia.

Como alternativa, la expresión de Ras activada en células, particularmente células tumorales, puede detectarse *in vivo* en un sujeto introduciendo en el sujeto un anticuerpo marcado contra la proteína Ras activada. Por ejemplo, el anticuerpo puede marcarse con un marcador radioactivo cuya presencia y ubicación en un sujeto pueden detectarse mediante técnicas de imagen estándar.

En algunos aspectos de la presente descripción, se pueden usar, por ejemplo, técnicas de inmunohistoquímica ("IHC") e inmunocitoquímica ("ICC"). IHC es la aplicación de inmunohistoquímica a secciones de tejido, mientras que ICC es la aplicación de inmunohistoquímica a células o impresiones de tejido después de que se hayan sometido a preparaciones citológicas específicas tales como, por ejemplo, preparaciones basadas en líquido. La inmunohistoquímica es una familia de técnicas basadas en el uso de un anticuerpo específico, en el que los anticuerpos se usan para dirigirse específicamente a moléculas dentro o sobre la superficie de las células. El anticuerpo típicamente contiene un marcador que experimentará una reacción bioquímica y, por lo tanto, experimentará un cambio de color al encontrarse con las moléculas diana.

En algunos casos, la amplificación de señal se puede integrar en el protocolo particular, en el que un anticuerpo secundario, que incluye la tinción del marcador, sigue la aplicación de un anticuerpo específico primario. Los expertos en la técnica conocen ensayos inmunohistoquímicos (por ejemplo, véase Jalkanen, et al., J. Cell. Biol. 101: 976-985 (1985); Jalkanen, et al., J. Cell. Biol. 105:3087-3096 (1987)).

En algunos aspectos de la presente descripción, para la inmunohistoquímica, las secciones de tejido se obtienen de un paciente y se fijan mediante un agente de fijación adecuado tal como alcohol, acetona y paraformaldehído, con los que se hace reaccionar un anticuerpo. Los métodos convencionales para inmunohistoquímica se describen en Harlow y Lane (eds) (1988) In "Antibodies A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, Nueva York; Ausbel et al. (eds) (1987), en Current Protocols In Molecular Biology, John Wiley and Sons (Nueva York, NY). Las muestras biológicas apropiadas para dichos ensayos de detección incluyen, pero sin limitación, células, biopsia de tejido, sangre completa, plasma, suero, esputo, fluido cerebroespinal, aspirados de mama, fluido pleural, orina y similares. Para las técnicas de marcado directo, se utiliza un anticuerpo marcado. Para las técnicas de marcado indirecto, la muestra se vuelve a hacer reaccionar con una sustancia etiquetada. Como alternativa, puede utilizarse inmunocitoquímica. En general, las células se obtienen de un paciente y se fijan mediante un agente de fijación adecuado tal como alcohol, acetona y paraformaldehído, con los que se hace reaccionar un anticuerpo. Los métodos de tinción inmunocitológica de muestras humanas se conocen por los expertos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Brauer et al., 2001 (FASEB J, 15, 2689- 2701), Smith-Swintosky et al., 1997. Los métodos inmunológicos de la presente descripción son ventajosos porque requieren solamente pequeñas cantidades de material biológico, por ejemplo, una muestra de tejido de cáncer de biopsia. Dichos métodos pueden realizarse a nivel celular y, por lo tanto, requieren un mínimo de una célula. Opcionalmente, se obtienen varias células de un paciente afectado o en riesgo de desarrollar cáncer y se ensayan de acuerdo con los métodos de la presente descripción.

En algunos aspectos de la presente descripción, Ras activada puede detectarse mediante un kit y/o sistemas de detección de mutaciones, incluyendo, pero sin limitación, conjuntos de sonda y cebador empaquetados (por ejemplo, conjuntos de sonda/cebador TaqMan), matrices/micromatrices de moléculas de ácido nucleico, y perlas que contienen una o más sondas, cebadores u otros reactivos de detección para detectar mutaciones de Ras activadas. Los kits/sistemas pueden incluir opcionalmente diversos componentes electrónicos de hardware; por ejemplo, las

matrices ("chips de ADN") y los sistemas microfluídicos (sistemas "lab-on-a-chip", sistemas microelectromecánicos biomédicos (bioMEM), o sistemas integrados multicomponente) proporcionados por diversos fabricantes comprenden típicamente componentes de hardware. Otros kits/sistemas (por ejemplo, conjuntos sonda/cebador) pueden no incluir componentes electrónicos de hardware, pero pueden estar compuestos, por ejemplo, por uno o más reactivos de detección de mutaciones (junto con, opcionalmente, otros reactivos bioquímicos) empaquetados en uno o más contenedores.

En algunos aspectos de la presente descripción, el sujeto al que se administra una composición que comprende un compuesto de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (V) tiene señalización de Ras aumentada de forma aberrante, por ejemplo, como un resultado de la expresión de Ras activada. En algunos aspectos de la presente descripción, la señalización de Ras aumentada de forma aberrante se determina mediante la detección de una proteína Ras activada o una secuencia de nucleótidos que codifica una forma activada de la proteína Ras.

En algunos aspectos de la presente descripción, el aumento de la señalización de Ras está asociada con la activación de una ruta seleccionada del grupo que consiste en Raf1/MAPK, RasGDS/Ras/Rho, PI3K, y combinaciones de los mismos. En algunos aspectos de la presente descripción, la forma activada de Ras se selecciona del grupo que consiste en K-ras, H-ras y N-ras. En algunos aspectos de la presente descripción, la señalización de Ras aumentada de forma aberrante es resultado de la sobreexpresión de Ras de tipo salvaje, o de una activación aumentada de una o más rutas efectoras aguas abajo de Ras.

Además, después de la formulación con un excipiente farmacéuticamente aceptable apropiado en una dosificación deseada, las composiciones farmacéuticas de esta descripción se pueden administrar a seres humanos y otros animales por vía oral, rectal, parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (como polvos, ungüentos, cremas o gotas), bucal, como un aerosol oral o nasal, o similares, dependiendo de la gravedad de la infección que se está tratando. En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos de la descripción se pueden administrar a niveles de dosificación de 0,001 mg/kg a 50 mg/kg, de 0,01 mg/kg a 25 mg/kg, o de 0,1 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal del sujeto al día, una o más veces al día, para obtener el efecto terapéutico deseado. También se apreciará que pueden administrarse a un sujeto dosis inferiores a 0,001 mg/kg o superiores a 50 mg/kg (por ejemplo, 50-100 mg/kg). En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos se administran por vía oral o parenteral.

Usos

La presente descripción proporciona nuevos compuestos útiles en el tratamiento de enfermedades o trastornos asociados con la actividad de PKC delta. Los compuestos son útiles en el tratamiento de enfermedades o afecciones que se benefician de la inhibición de PKC delta. En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos como útiles para el tratamiento del cáncer, incluyen, pero sin limitación, cáncer broncopulmonar, un cáncer gastrointestinal o un cáncer neuroendocrino pancreático, o un cáncer carcinoide y/o neuroendocrino, un cáncer maligno de melanoma, pancreático, gastrointestinal o pulmonar. En algunos aspectos de la presente descripción, un cáncer neuroendocrino se puede derivar de un tumor broncopulmonar o del intestino anterior o del intestino posterior.

En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos son útiles en el tratamiento de enfermedades proliferativas celulares, tales como cáncer (por ejemplo, linfoma cutáneo de linfocitos T) o enfermedades proliferativas benignas tales como enfermedades fibróticas que incluyen esclerosis sistémica, fibrosis inducida por radiación y fibrosis pulmonar; enfermedades autoinmunes; enfermedades alérgicas e inflamatorias; enfermedades del sistema nervioso central (SNC), tales como enfermedades neurodegenerativas (por ejemplo, enfermedad de Huntington); enfermedades vasculares, tal como reestenosis; enfermedades musculoesqueléticas; enfermedades cardiovasculares; ictus; enfermedades pulmonares; enfermedades gástricas; y enfermedades infecciosas.

En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos de la presente descripción son útiles como inhibidores de PKC delta y, por lo tanto, son útiles como agentes antiproliferativos, y por lo tanto, pueden ser útiles en el tratamiento del cáncer, efectuando la muerte celular tumoral o inhibiendo el crecimiento de células tumorales, y en otras enfermedades caracterizadas por una proliferación excesiva de células, tales como enfermedades fibróticas, al inhibir la proliferación de células que contribuyen a la fibrosis o producción de colágeno por estas células. En ciertos aspectos ilustrativos de la presente descripción, los compuestos descritos son útiles en el tratamiento de cánceres y otros trastornos proliferativos, que incluyen, pero sin limitación, cáncer de mama, cáncer de cuello del útero, cáncer de colon y recto, leucemia, cáncer de pulmón, melanoma, mieloma múltiple, linfoma no

Hodgkin, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata y cáncer gástrico, por nombrar algunos. En ciertos aspectos de la presente descripción, los agentes anticancerosos descritos son activos contra células de leucemia y células de melanoma y, por lo tanto, son útiles para el tratamiento de leucemias (por ejemplo, leucemias mieloides, linfocíticas, mielocíticas y linfoblásticas) y melanomas malignos. En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos son activos contra el linfoma cutáneo de linfocitos T. Adicionalmente, como se describe en el presente documento, los compuestos descritos también pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones por protozoos. Adicionalmente, como se describe en el presente documento, los compuestos descritos también pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades autoinmunes o inflamatorias y enfermedades fibróticas. Además, como se describe en el presente documento, los compuestos descritos también pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas. Como se describe en el presente documento, los compuestos descritos también pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

Las proteínas Ras activadas desempeñan un papel clave en el desarrollo de muchos cánceres humanos. "Ras" y "p21Ras" se usan indistintamente en el presente documento. Se observan mutaciones en Ras en aproximadamente un tercio de todos los tumores (Bos, *Cancer Res* 49: 4682-4689 [1989]; y Clark y Der, en *GTPases in Biology* [eds. Dickey y Birnbauer], Springer-Verlag London Ltd., págs. 259-287 [1993]). De hecho, la frecuencia de la mutación Ras se acerca al 100% en algunos tipos de tumores (por ejemplo, adenocarcinoma pancreático). Estas proteínas Ras mutadas demuestran una actividad de GTPasa disminuida inherente, y son resistentes a la acción de las proteínas activadoras de GTPasa (GAP). Por lo tanto, estas mutaciones, por ejemplo, mutaciones localizadas en los codones 12, 13, 59, 61, 63, 116, 117 y 146, son mutaciones de activación que dan como resultado que la proteína Ras se bloquee en una conformación activa, lo que conduce finalmente a una señalización de proliferación celular inapropiada. Además, las formas activadas de la proteína Ras son útiles en la inducción de tumores, proporcionando así evidencia directa de la participación de Ras en la transformación de células malignas y la tumorigénesis. Además, la eliminación del gen Ras activado de las líneas celulares de tumor altera su tumorigenicidad (Paterson et al., *Cell* 51: 803-812 [1987]; y Shirasawa et al., *Science* 260: 85-88 [1993]). Tres genes Ras estrechamente relacionados son H-ras (Acceso N.º de GenBank NM_005343, K-ras (Acceso N.º de GenBank NM_004985;) y N-ras (Acceso N.º de GenBank NM_002524). Las proteínas Ras de tipo salvaje, que se encuentran en individuos sanos normales, se ciclan entre un estado activo (unido a GTP) y un estado inactivo (unido a GDP) Las proteínas Ras activadas son resultado de las mutaciones de activación que tienen una actividad de GTPasa inherente disminuida, y son resistentes a la acción de las proteínas activadoras de GTPasa (GAP), los reguladores negativos naturales de las proteínas Ras. Por lo tanto, estas mutaciones, por ejemplo, mutaciones localizadas en los codones 12, 13, 59, 61, 63, 116, 117 y 146, son mutaciones de activación que dan como resultado que la proteína Ras se bloquee en una conformación activa. La presencia de la forma activada de Ras en una célula conduce finalmente a una señalización de proliferación celular inapropiada.

Las proteínas Ras activadas desempeñan un papel clave en el desarrollo de muchos cánceres humanos. Dichas mutaciones en Ras en aproximadamente un tercio de todos los tumores (Bos, *Cancer Res* 49: 4682-4689 [1989]; y Clark y Der, en *GTPases in Biology* [eds. Dickey y Birnbauer], Springer- Verlag London Ltd., págs. 259-287 [1993]). De hecho, la frecuencia de la mutación Ras se acerca al 100% en algunos tipos de tumores (por ejemplo, adenocarcinoma pancreático).

Además de la correlación entre la presencia de mutaciones Ras activada en un alto porcentaje de una diversidad de cánceres, una gran cantidad de evidencia experimental indica que la actividad aumentada de Ras está implicada en la transformación de células malignas y la tumorigénesis. Por ejemplo, las formas activadas de la proteína Ras pueden usarse para transformar experimentalmente las células en cultivo e inducir tumores en modelos animales. Además, la eliminación del gen Ras activado de las líneas celulares de tumor altera su tumorigenicidad (Paterson et al., *Cell* 51: 803-812 [1987]; y Shirasawa et al., *Science* 260: 85-88 [1993]).

En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos de la descripción son útiles para el tratamiento de enfermedades y trastornos en los que existe una señalización de Ras aberrante o aumentada. Dichos trastornos se describen en la solicitud internacional WO2007/0106424, y la solicitud de patente de Estados Unidos US2009/0330503. La señalización aberrante a través de las rutas de señalización de Ras se produce como resultado de varias clases diferentes de daño mutacional en las células tumorales. La Tabla 1 proporciona una lista de métodos de activación aumentada de la ruta de señalización de Ras en diferentes tumores, e incluye cánceres susceptibles de ser tratados de acuerdo con los métodos y composiciones que se describen en el presente documento.

Tabla 1
Activación de rutas de señalización de RAS en diferentes tumores

Defecto o mutación	Tipo de tumor	Frecuencia
Mutación RAS	Páncreas	90(K)
	Adenocarcinoma de pulmón (células no pequeñas)	35(K)
	Colorrectal	45(K)
	Tiroides (foliculo)	55 (H, K, N)
	Tiroides (indiferenciado, papilar)	60 (H, K, N)
	Seminoma	45 (K, N)
	Melanoma	34 (N)
	Vejiga	10 (H)
	Hígado	30 (N)
	Riñón	10 (H)
	Síndrome mielodisplásico	40 (N, K)
	Leucemia mielógena aguda	30 (N)
	Mutación BRAF	Melanoma
	Colorrectal	12
Sobreexpresión de EGFR	Mayor parte de los carcinomas	>50
Amplificación de ERBB2	Mama	30
Pérdida de PTEN	Glioblastoma multiforme	20-30
	Próstata	20
	Páncreas	40
Amplificación de AKT2	Ovario	12
	Páncreas	10
Amplificación de PI3K	Ovario	40

EGFR = receptor del factor de crecimiento epidérmico

PI3K = fosfotidilinositol-3-cinasa

H, K y N se refieren a HRAS, KRAS y NRAS, respectivamente

Tabla de: Downward J. Targeting RAS signaling pathways in cancer therapy. Nat. Rev. Cancer. 2003 Jan.; 3(1): 11-22.

Como se detalla en el presente documento, en ensayos para determinar la capacidad de los compuestos para inhibir la actividad de PKC delta, ciertos compuestos descritos pueden presentar valores de IC50 <100 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <50 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <40 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <<30 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <20 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <10 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <7,5 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <5 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <2,5 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <1 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <0,75 µM. En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <0,5 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <5 0,25 µM. En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <0,1 µM. En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <75 nM. En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <50 nM. En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <25 nM. En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <10 nM.

En ensayos para determinar la capacidad de los compuestos para inhibir el crecimiento de células cancerosas, ciertos compuestos descritos pueden presentar valores de IC50 <100 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <50 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <40 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <30 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <20 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <10 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <7,5 µM. En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <5 µM. En

ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <2,5 µM. En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <1 µM. En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <0,75 µM. En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <0,5 µM. En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <0,25 µM. En ciertos aspectos de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <0,1 µM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <75 nM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <50 nM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <25 nM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentan valores de IC50 <10 nM. En ciertos aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentaban valores de IC50 <7,5 nM. En otros aspectos diferentes de la presente descripción, los compuestos descritos presentaban valores de IC50 <5 nM.

15 En relación con la administración del fármaco, una "cantidad efectiva" indica una cantidad que da como resultado un efecto beneficioso para al menos una fracción de pacientes estadísticamente significativa, tal como una mejora de los síntomas, una cura, una reducción de la carga de enfermedad, reducción de la masa tumoral o el número de células, extensión de la vida, mejora en la calidad de vida, u otro efecto generalmente reconocido como positivo por médicos familiarizados con el tratamiento del tipo particular de enfermedad o afección.

20 La dosificación eficaz del principio activo empleado puede variar dependiendo del compuesto particular empleado, el modo de administración y la gravedad de la afección que se trata. El experto en la técnica conoce la dosis eficaz para cada paciente, que puede variar con la gravedad de la enfermedad, la variación genética individual o la tasa metabólica. Sin embargo, en general, se obtienen resultados satisfactorios cuando los compuestos de la descripción se administran a una dosificación diaria de 0,5 a 1000 mg/kg de peso corporal, opcionalmente dada en dosis divididas de dos a cuatro veces al día, o en forma de liberación sostenida. La dosis diaria total se prevé que sea de 1 a 1000 mg, preferiblemente de 2 a 500 mg. Las formas de dosificación adecuadas para uso interno comprenden de 0,5 a 1000 mg del compuesto activo en mezcla íntima con un vehículo farmacéuticamente aceptable sólido o líquido. Este régimen de dosificación puede ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Por ejemplo, pueden administrarse varias dosis divididas diariamente o la dosis puede reducirse proporcionalmente según lo indicado por las exigencias de la situación terapéutica. La vía de administración puede ser intravenosa (I.V.), intramuscular (I.M.), subcutánea (S.C.), intradérmica (I.D.), intraperitoneal (I.P.), intratecal (I.T.), intrapleurales, intrauterina, rectal, vaginal, tópica, intratumoral, y similares. Los compuestos de la descripción pueden administrarse por vía parenteral mediante inyección o mediante infusión gradual en el tiempo y pueden administrarse por medios peristálticos.

La administración puede ser por medios transmucosales o transdérmicos. Para la administración transmucosal o transdérmica, se usan en la formulación penetrantes apropiados para la barrera a penetrar. Dichos penetrantes son generalmente conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, la administración transmucosal de sales biliares y derivados de ácido fusídico. Además, los detergentes pueden usarse para facilitar la penetración. La administración transmucosal puede ser a través de aerosoles nasales, por ejemplo, o usando supositorios. Para administración oral, los compuestos de la descripción se formulan en formas de administración oral convencionales tales como cápsulas, comprimidos y tónicos. Para la administración tópica, la composición farmacéutica (inhibidor de la actividad cinasa) se formula en ungüentos, pomadas, geles o cremas, como se conoce generalmente en la técnica. Las composiciones terapéuticas de esta descripción, por ejemplo, inhibidores de PKC delta, se administran convencionalmente por vía intravenosa, por inyección de una dosis unitaria, por ejemplo.

El término "dosis unitaria" cuando se usa en referencia a una composición terapéutica de la presente descripción se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como una dosis unitaria para el sujeto, contenido cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con los diluyentes requeridos; es decir, portador o vehículo.

Las composiciones se administran de una manera compatible con la formulación de dosificación, y en una cantidad terapéuticamente eficaz. La cantidad a administrar y el tiempo dependen del sujeto a tratar, la capacidad del sistema del sujeto para utilizar el principio activo, y el grado de efecto terapéutico deseado. Las cantidades precisas de principio activo requeridas a administrar dependen del juicio del médico y son peculiares de cada individuo. Las composiciones terapéuticas útiles para poner en práctica los métodos de la presente descripción, por ejemplo, los inhibidores de PKC delta, se describen en el presente documento. Se puede usar cualquier formulación o sistema de administración de fármacos que contenga los principios activos, que sea adecuado para el uso previsto, como se

conoce generalmente por los expertos en la técnica. Los vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados para la administración oral, rectal, tópica o parenteral (incluyendo administración por inhalación, subcutánea, intraperitoneal, intramuscular e intravenosa) se conocen por los expertos en la técnica.

- 5 Los siguientes ejemplos ilustran aspectos de la presente descripción, pero no deben considerarse como limitativos del alcance de la descripción. Los ejemplos que no están dentro del alcance reivindicado se proporcionan por referencia.

Ejemplos

10

Líneas celulares: BON1, una línea celular de tumor carcinoide del intestino anterior (pancreático) humano (Parekh et al. 1994) se obtuvo de Kjell Oberg (Uppsala University, Suecia) a través del Dr. Evan Vosburgh. Las células H727, derivadas de un tumor carcinoide broncopulmonar humano (Schuller et al., 1987), se adquirieron en la ATCC. La línea celular CNDT 2.5, inicialmente descrita como línea celular de tumor carcinoide de intestino medio humano (Van Buren et al., 2007), se proporcionó por Dr. Lee Ellis, (MD Anderson Cancer Center). La procedencia de esta línea celular está actualmente bajo revisión por parte del originador. Las células BON1, H727, MCF10 y CNDT 2.5 se propagaron en FBS al 10% (Invitrogen); modificación de Dulbecco de medio de Earle/50:50 de medio Hams F-12 (Cellgro); L-glutamina 2 mM (Invitrogen); 200 U de penicilina/ml; 200 µg de estreptomina/ml (Invitrogen); 10 ng/ml de factor de crecimiento nervioso (Invitrogen); 1 x aminoácidos no esenciales MEM (Cellgro); 1 x solución de vitamina MEM (Cellgro); Piruvato de sodio 1 mM; Tampón HEPES 0,015 M (pH 7,3) (American Bioanalytical).

20

Ensayos clonogénicos: Se sembraron 100.000 células en placas de 100 mm con 10 ml de medio por placa (Li et al., 2004). El día 4, las células se trataron con un inhibidor de PKC delta, o control de vehículo durante 6, 18, 24 o 48 horas. Las células se tripsinizaron; se contaron a través del Método de exclusión de azul de tripano para determinar el número de células vivas en la muestra, y 500 células vivas se sembraron por triplicado en placas de 6 pocillos. Las células se controlaron para determinar el tamaño de colonia apropiado y se volvieron a suministrar cada tres o cuatro días. El día 17, las células se tiñeron con bromuro de etidio (Guda et al., 2007) y se contaron usando el software UVP LabWorks.

25

- 30 *Ensayos de actividad de PKC cinasa:* Los ensayos se realizaron usando PKC alfa o PKC gamma recombinante, (Invitrogen) y los ensayos de cinasa Omnia® (Invitrogen) con un sustrato peptídico de "PKC cinasa específico". La incorporación de un fluoróforo potenciado por quelación (CHEF) da como resultado un aumento de la fluorescencia ex360/em485) tras la fosforilación. El kit se usó de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

35

Reactivos: Se adquirió rottlerina en (EMD Biosciences). El inhibidor de PKC delta KAMI es una molécula química que combina la porción de cromolina de la rottlerina con la porción de carbazol de la estaurosporina.

40

Ensayos de proliferación celular: Se evaluó la proliferación celular usando un ensayo de MTT [bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio] (Roche, Mannheim, Alemania). Se estimó el número de células viables que crecían en un único pocillo en una placa de microtitulación de 96 pocillos mediante la adición de 10 µl de solución de MTT (5 mg/ml en una solución salina tamponada con fosfato [PBS]). Después de 4 h de incubación a 37 °C, la tinción se diluye con 100 µl de dimetilsulfóxido. Las densidades ópticas se cuantifican a una longitud de onda de ensayo de 570 nm y una longitud de onda de referencia de 690 nm en un espectrofotómetro de múltiples pocillos. En algunos ensayos, se usó MTS como sustrato (Promega, Madison, WI), y se controló la absorbancia del producto a

45

Ensayo de citotoxicidad: La liberación de LDH se evaluó midiendo espectrofotométricamente la oxidación de NADH tanto en las células como en el medio. Las células se sembraron en placas de 24 pocillos, y se expusieron a inhibidores de PKC delta o vehículo. Después de diferentes tiempos de exposición, la citotoxicidad se cuantificó mediante una medición estándar de la liberación de LDH con el uso del kit de ensayo de LDH (Roche Molecular Biochemicals) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Brevemente, el medio de cultivo total se eliminó mediante la centrifugación. Para el ensayo de LDH liberada, se recogieron los sobrenadantes. Para evaluar la LDH total en las células, se añadió Triton X-100 a los pocillos de vehículo (control) para liberar la LDH intracelular. Se añadió reactivo de ensayo de LDH a lisados o sobrenadantes y se incubó durante hasta 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad, se detuvo la reacción, y la absorbancia se midió a 490 nm. El porcentaje de liberación de LDH se calculó entonces como la LDH en los sobrenadantes como una fracción de la LDH total.

50

55

Análisis de inmunotransferencia: Los niveles de proteínas se midieron y se cuantificaron en líneas celulares carcinoideas, tal como se ha informado previamente (Xia et al., 2007). Las células cosechadas se alteraron en un

tampón que contenía Tris 20 mM (pH 7,4), NP-40 al 0,5% y NaCl 250 mM. La proteína total (40 µg) se separó en geles de SDS-poliacrilamida al 10% y se transfirió a membranas de nitrocelulosa o membranas de PVDF. Las membranas se bloquean durante una noche y se sondan con anticuerpos purificados por afinidad contra PKC alfa y delta (BD Transduction Lab) o beta actina (Sigma). Después del lavado, las transferencias se incubaron con anticuerpos secundarios conjugados con peroxidasa de rábano picante y se visualizaron usando el sistema ECL de quimioluminiscencia mejorado de Amersham, y se cuantificaron mediante densitometría digital. Los anticuerpos contra ERK humano, fosfo-ERK, AKT y fosfo-Ser473-AKT se adquirieron en Cell Signaling (Danvers, MA). Se ensayó Ras unido a GTP mediante purificación por afinidad usando un conjugado de agarosa Raf-1/RBD (Upstate Biotechnology, Lake Placid, NY), y se detectó con un anticuerpo pan-Ras (Cell Signaling, Danvers, MA), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Regulación descendente de PKC delta por ARNsi y vectores lentivirales: ARNsi modificado de PKC delta y PKC alfa: dúplex de ARNsi para PKC delta (ARNsi) se obtienen en Qiagen (Valencia, Ca). Las secuencias de ARNsi para el direccionamiento a PKC delta son PKC delta-ARNsi-1 (5'-GAUGAAGGAGGCGCUCAGTT-3'; SEQ ID NO 1) y PKC delta ARNsi-2 (5'-GGCUGAGUUCUGGCUGGA-CTT-3'; SEQ ID NO 2). Los ARNsi correspondientes desorganizados se usaron como control negativo. Estas secuencias de ARNsi también se clonaron en el vector pRNA6.1-Neo con una etiqueta GFP de acuerdo con las instrucciones del fabricante (GenScript, Piscataway, NJ). El ARNsi para PKC alfa (PKCPCPK alfa-V6) se adquiere en Upstate (Lake Placid, NY). La transfección de ARNsi (oligo) se realiza usando ARNsi de PKC delta 50 nM, o la misma cantidad de ARNsi desorganizado y Lipofectamine 2000 (Invitrogen, Carlsbad, CA), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La transfección de vectores de ARNsi basados en plásmidos se realiza usando el mismo método. Los niveles de proteína PKC delta se determinaron mediante análisis de inmunotransferencia (véase a continuación). Los vectores lentivirales se describieron previamente (Xia et al., 2009).

Análisis estadístico. Los experimentos se realizar por triplicado para todas las condiciones experimentales. Los datos se muestran como media ± DE. Cuando fue aplicable, se realizó una prueba t de Student de dos colas en los medios de dos conjuntos de datos de muestra y se consideró significativa si $p < 0,05$.

EJEMPLO 1

30

La depleción de PKCd por ARNsi inhibe la proliferación e induce la citotoxicidad en líneas celulares neuroendocrinas humanas.

Para determinar los efectos de la depleción específica de PKC delta sobre la proliferación y la supervivencia de líneas celulares tumorales neuroendocrinas humanas, se usó ARNsi específico de PKC delta para modificar el ARNm/proteína de PKC delta. La línea celular estudiada para determinar la sensibilidad incluía BON1, una línea celular de tumor carcinoide del intestino anterior (pancreático); células H727, derivadas de un tumor carcinoide broncopulmonar humano; y la línea celular CNDT 2.5, una línea celular humana con marcadores neuroendocrinos, inicialmente descrita como una línea celular de tumor carcinoide de intestino medio humano. La exposición de las líneas celulares BON1 y CNDT a ARNsi específico de PKC delta en cultivo dio como resultado una inhibición profunda de la proliferación (**Figura 1**). Por el contrario, la exposición de las mismas células a un ARNsi de control (codificado) no afectó a la proliferación. La modificación eficiente de la proteína PKC delta mediante ARNsi específico se verificó mediante inmunotransferencia. Para confirmar y extender estos experimentos, se construyeron vectores lentivirales que contenían las mismas secuencias de ARNsh (específicas de PKC delta o desorganizadas). La infección de las líneas celulares BON1, H727 y CNDT con estos vectores demostró una inhibición específica de PKC delta de la proliferación (**Figura 2A-C**). El vector lentiviral que contiene la secuencia desorganizada (control) tenía consistentemente un modesto efecto inhibitor sobre la proliferación de ambas líneas celulares, pero esto nunca alcanzó una significación estadística. La modificación eficiente de la proteína PKC delta mediante ARNsi específico se verificó mediante inmunotransferencia. Para determinar si la inhibición de la proliferación de células tumorales mediante la modificación de PKC delta estaba acompañada de efectos citotóxicos sobre las células tumorales, se evaluó la citotoxicidad en estas líneas celulares cuantificando la liberación de LDH. La lactosa deshidrogenasa (LDH), una enzima citoplásmica estable, se libera rápidamente en el medio de cultivo celular después del daño de la membrana plasmática, y su nivel se correlaciona cuantitativamente con el grado de citotoxicidad. Se detectaron aumentos significativos en la liberación de LDH/citotoxicidad en las 24 h de exposición al vector lentiviral que contenía el ARNsh de PKC delta, y esta liberación aumentó hasta alcanzar la máxima liberación de LDH posible (lisis celular completa, control positivo) en 72 h (**Figura 3A-C**). Solo los incrementos modestos, pero detectables, en la liberación de LDH se indujeron por el vector lentiviral de control.

EJEMPLO 2

Los inhibidores de moléculas pequeñas de PKC delta son citotóxicos para las líneas celulares de tumor neuroendocrino

5 A continuación, se determinó si una serie de inhibidores de PKC delta de molécula pequeña inhibirían el crecimiento de líneas celulares de tumor neuroendocrino humanas. Si bien no es tan específico para la isozima de PKC delta como la tecnología que emplea la modificación genética del ARNm y la proteína PKC delta, dichos inhibidores de molécula pequeña son más relevantes para una eventual aplicación terapéutica. La rottlerina es un producto de origen natural que inhibe la PKC delta purificada a una IC50 de 1-3 mM *in vitro*, e inhibe la PKC delta en células
 10 cultivadas con una IC50 de 5 μ M *in vivo*. Es relativamente selectiva para PKC delta (PKC delta/PKC alfa [IC50:IC50 es >1:30) (Gschwendt et al. 1994; Kikkawa et al. 2002), y se confirma en estos ensayos *in vitro* (no se muestra). Además, este compuesto no solo inhibe directamente la PKC delta purificada, sino que también, durante períodos más largos de exposición, regula negativamente significativamente la proteína PKC delta específicamente en células, sin tener ningún efecto sobre los niveles de otras isozimas de PKC (Xia et al. 2007). La exposición a
 15 rottlerina produjo una disminución dependiente de la dosis y del tiempo en el número de células en las líneas celulares BON1, CNDT 2.5 y H727, con una IC50 de aproximadamente 5 μ M en 48 horas (no se muestra), y una reducción significativa en el número de células relativas en 72 horas a las concentraciones más altas probadas (**Figura 4**). En contraste, se ha demostrado previamente que la exposición a rottlerina en estas mismas condiciones de cultivo no tiene un efecto significativo sobre el crecimiento de células murinas o humanas no tumorigénicas en
 20 cultivo (Xia et al. 2007). Se realizaron estudios de acoplamiento para predecir cómo la rottlerina se une a PKC delta. La rottlerina se acopló al sitio de unión catalítica de varias estructuras cristalinas de PKC diferentes. La estructura de PKC θ complejada con estaurosporina (código pdb 1XJD) se seleccionó como el modelo más adecuado. Se sabe a partir de estructuras cristalinas de muchos complejos cinasa/inhibidor que el sitio activo de cinasa es flexible, por lo tanto, las regiones que se sabe que son flexibles se dejaron libres durante los procedimientos de acoplamiento. Las
 25 moléculas quiméricas se diseñaron usando el modelo PKC delta desarrollado a partir de los estudios de acoplamiento de rottlerina. La estrategia consistió en retener la mayor parte del cromeno de rottlerina, que se supone que da a la rottlerina su especificidad, pero para variar el "grupo principal" que se supone que se une a la región de bisagra del sitio activo de cinasa. Un nuevo inhibidor de PKC delta, KAM1, que es una molécula quimérica que contiene la porción cromeno sustituida de rottlerina y la porción carbazol N-alkilada de estaurosporina (un
 30 inhibidor de pan-PKC no selectivo) (**Figura 5**), se ensayó después para determinar los efectos citotóxicos sobre las células tumorales neuroendocrinas. Los análisis comparativos de la actividad inhibitoria de PKC delta mostraron una IC50 de 0,2 mM para rottlerina y una IC50 de 0,9 μ M para KAM1. Por el contrario, la IC50 de PKC alfa fue superior a 50 μ M para cada compuesto, lo que demuestra cierta especificidad por la nueva isozima de PKC delta sobre la isozima clásica de PKC alfa. KAM1 produjo una disminución dependiente de la dosis y del tiempo en el número de
 35 células en las líneas celulares BON1, CNDT 2.5 y H727, con una IC50 de aproximadamente 12 μ M en 48 horas (no se muestra), y una reducción del 80% en el número de células por 72 horas a las concentraciones más altas ensayadas (**Figuras 4A y B**). En paralelo, la citotoxicidad, según se evaluó mediante la liberación de LDH, se indujo por exposición de las células H727 a rottlerina, aumentando la citotoxicidad en función del tiempo y la concentración de este inhibidor (**Figura 6**). Se exploró si las líneas celulares tumorales neuroendocrinas podrían escapar de las
 40 acciones antitumorales de los inhibidores de PKC mediante la exposición a largo plazo a los inhibidores, en dos diseños experimentales. En el primero, las células se colocaron en placas a una densidad más baja para permitir el control durante períodos más largos para el crecimiento potencial. En estos estudios de tratamiento "continuo", se añadió un inhibidor de PKC delta a una concentración "subóptima", y se observaron efectos sobre la proliferación hasta 144 horas después de la exposición (**Figura 7A y B**). La disminución observada en la señal MTS desde las
 45 células de control (tratadas con vehículo) a las 144 h representó tanto el sobrecrecimiento de estos cultivos como el agotamiento de los medios de cultivo. Para permitir la evaluación durante períodos aún más largos de exposición, otros cultivos se volvieron a suministrar con medio de crecimiento nuevo que contenía el mismo inhibidor de PKC delta a la misma concentración. En estos estudios, los efectos inhibitorios del crecimiento persistieron hasta 168 h de exposición acumulativa (**Figura 7 C y D**). La duración de la exposición a la inhibición de PKC delta requerida para
 50 la actividad antitumoral se evaluó a continuación. Las líneas tumorales neuroendocrinas se expusieron a una concentración subóptima de un inhibidor de PKC delta para diferentes intervalos de tiempo, el inhibidor se eliminó entonces por lavado del cultivo, y los efectos sobre el crecimiento celular se evaluaron durante las siguientes 72 h. Las diferencias en la proliferación entre cultivos tratados con rottlerina y vehículo se volvieron estadísticamente significativas a las 24 h de exposición, y permanecieron significativas durante todos los períodos de exposición más
 55 largos (**Figura 8**).

La liberación de LDH evalúa el daño citotóxico suficiente para comprometer la integridad de la membrana en un lapso de tiempo relativamente corto. Un método alternativo, que evalúa el daño acumulativo letal, pero no necesariamente inmediato, en la célula tumoral es un ensayo clonogénico. En este ensayo, las células tumorales

que permanecen viables después de la exposición al compuesto se analizan en cuanto a su capacidad para proliferar suficientemente a lo largo del tiempo para formar colonias de células tumorales. H727 tratado con vehículo o un inhibidor de PKC delta a concentraciones subóptimas con duraciones variables. Después de volver a colocar en placas células viables en medios sin inhibidor, el número de colonias se cuantificaron en el tiempo.

5 Los efectos significativos de los inhibidores de PKC delta sobre los efectos sobre la reducción de la capacidad clonogénica alcanzaron significación después de tan solo 6 h de exposición, y se mantuvieron significativos para todos los tiempos de exposición posteriores (**Figura 9**). Las células BON1 mostraron una disminución similar de la capacidad clonogénica, alcanzando una significación entre 12 y 24 h de exposición a los inhibidores de PKC delta.

10

EJEMPLO 3

Señalización de Ras en líneas celulares de tumor neuroendocrino

15 Debido a su sensibilidad a la inhibición de PKC delta y a la "apoptosis mediada por Ras", la actividad de p21Ras en estas líneas celulares tumorales neuroendocrinas se evaluó mediante el descenso por afinidad de especies de p21Ras unida a GTP. La actividad de Ras endógena era alta en las células H727, era células solo modestamente elevadas, y no era evidente en la línea CNDT, que contenía niveles de p21Ras unida a GTP20 comparables a los encontrados en células no transformadas (**Figura 10A**).

20

Se ha demostrado previamente que la activación aberrante de ciertas rutas de señalización de Ras, incluyendo la ruta PI³K-AKT o la ruta Raf-MAPK, son suficientes para hacer que las células tumorales sean susceptibles a la inhibición de PKC delta (Xia et al. 2007). Por lo tanto, se exploró el estado de activación de los elementos aguas abajo de estas rutas de señalización en estas líneas celulares tumorales neuroendocrinas. La evidencia de la activación de MAPK, como se define por la elevación relativa de los niveles de fosfo-ERK, se observó en las líneas H727 y CNDT (en comparación con la línea celular de control negativo no transformada MCF10) (**Figura 10B**). Se observó evidencia de cierta activación de PI3K, con respecto a la línea celular de control negativo no transformada MCF10, según se define por la activación de la fosforilación de AKT (Ser473), en las tres líneas celulares tumorales neuroendocrinas (**Figura 10A**).

30

EJEMPLO 4

Síntesis ejemplar. Estos ejemplos son solo ilustrativos y un experto en la técnica sabría cómo modificar la secuencia sintética para obtener los mismos o diferentes compuestos de la descripción (véase la Figura 12E).

35

A menos que se indique lo contrario, todos los reactivos se obtuvieron de proveedores comerciales y se usaron sin purificación adicional. Todas las reacciones sensibles al aire o a la humedad se realizaron bajo una presión positiva de argón en cristalería secada a la llama. Tetrahidrofurano (THF), tolueno, éter dietílico (Et₂O), diclorometano, benceno (PhH), acetonitrilo (MeCN), trietilamina (NEt₃), piridina, diisopropilamina, metanol (MeOH), dimetilsulfóxido (DMSO) y N,N-dimetilformamida (DMF) se obtuvieron a partir de disolventes desgasificados por el sistema disolvente seco (Ar) administrados a través de columnas de alúmina activadas, presión positiva de argón). La cromatografía en columna se realizó en gel de sílice Merck Kieselgel 60 (malla 230-400). Los espectros de ¹H RMN y ¹³C RMM se registraron en espectrómetros Varian 300 o 400 MHz. Los desplazamientos químicos se informan en ppm en relación con CHCl₃ a δ 7,27 (¹H RMN) y δ 77,23 (¹³C RMN). Los espectros de masas se obtuvieron en Fisons VG Autospec. Los espectros de IR se obtuvieron a partir de películas finas en una placa de NaCl usando un espectrómetro FT-IR de la serie Perkin-Elmer 1600. Véase el Compuesto 2, Figura 12F.

45

Síntesis de 6-bromo-2,2-dimetil-2H-cromen-8-carbaldehído (2): En un matraz de fondo redondo secado a la llama de 100 ml que contenía 5,54 ml (57,2 mmol, 1,15 equiv) 2-metilbut-3-in-2-ol disuelto en 50 ml de MeCN seco a 0 °C se añadieron 11,1 ml (74,6 mmol, 1,5 equiv.) de DBU seguido de la adición gota a gota de 8,08 ml (57,2 mmol, 1,15 equiv.) TFAA recién destilado. La reacción se agitó a 0 °C durante 30 min antes de añadirse a través de una cánula en un matraz de fondo redondo de 250 ml que contenía 10,0 g (49,7 mmol, 1 equiv.) de 5-bromo-2-hidroxibenzaldehído, 9,65 ml (64,6 mmol, 1,3 equiv.) de DBU, y 8,5 mg (0,050 mmol, 0,001 equiv.) de CuCh-2H₂O disuelto en MeCN seco a -5 °C. La reacción se agitó durante 16 h a temperatura ambiente antes de concentrarse a presión reducida. El residuo resultante se recogió en EtOAc, se lavó una vez con H₂O, una vez con HCl 1 M, y una vez con salmuera antes de secarse sobre Na₂SO₄, y concentrarse. Este residuo se sometió a cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con 19:1 a 4:1 de hex/EtOAc para producir 11,17 g (84%) del producto deseado (**2**) en forma de un sólido de color amarillo pálido. Véase el Compuesto 3, Figura 12F. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 10,27 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,55 (d, J = 8,4, 1H), 7,38 (d, J = 8,4, 1H), 2,63 (s, 1H), 1,67 (s, 6H); ¹³C RMN

55

(75 MHz, CDCl₂) δ 188,8, 157,4, 137,5, 130,9, 130,2, 122,8, 116,1, 84,7, 76,3, 74,5, 29,7; IR (NaCl, película) 3294, 1687, 1588, 1471 cm⁻¹; HRMS (+TOF) 267,0015 calc. para C₁₂H₁₂BrO₂ [M+H]⁺, observado: 267,0016; F_r = 0,38 (5 9: 1 de hex./EtOAc).

5 **Síntesis de 6-bromo-2,2-dimetil-2H-cromen-8-carbaldehído (3):** En un recipiente de reacción para microondas de 80 ml que contenía 4,00 g (14,8 mmol, 1 equiv.) de 5-bromo-2-((2-metilbut-3-in-2-il)oxi)benzaldehído disuelto en 60 ml de MeCN seco se añadieron 66,0 mg (0,300 mmol, 0,02 equiv.) de BHT. La reacción se calentó en un reactor para microondas a 180 °C durante 20 min antes de concentrarse y purificarse por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con 19:1 de hex./EtOAc para producir 2,10 g (53%) del producto deseado (**3**) en forma de un aceite de color amarillo. Véase el Compuesto 4, Figura 12F. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 10,35 (s, 1H), 7,73 (d, J = 2,7, 1H), 7,27 (dd, J = 2,7, 0,3, 1H), 6,29 (d, J = 9,9, 1H), 5,75 (d, J = 9,9, 1H), 1,50 (s, 3H); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ 188,0, 155,3, 134,3, 132,8, 129,4, 125,6, 124,6, 120,8, 113,4, 78,4, 28,4; IR (NaCl, película) 2863, 1678, 1574 cm⁻¹; HRMS(+TOF) 267,0015 calc. para C₁₂H₁₂BrO₂ [M+H]⁺, observado: 267,0012; F_r = 0,33 (9: 1 de hex./EtOAc).

15

Síntesis de 1-(6-bromo-2,2-dimetil-2H-cromen-8-il)-3-fenilprop-2-in-1-ol (4): En un matraz de fondo redondo de 100 ml secado a la llama que contenía 745 mg (7,30 mmol, 1,3 equiv.) de etinilbenceno disuelto en 30 ml de THP seco a -78 °C se añadieron gota a gota 4,2 ml (6,7 mmol, 1,2 equiv.) de una solución 1,6 M de n-BuLi en hexanos. La reacción se dejó agitar a -78 °C durante 30 min antes de la adición de 1,50 g (5,62 mmol, 1 equiv.) de 6-bromo-2,2-dimetil-2H-cromen-8-carbaldehído disuelto en 10 ml de THF seco. Después de agitar durante 30 min a -78 °C, la reacción se vertió en NH₄Cl(ac.)₂ saturado, se extrajo en EtOAc, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con 4:1 de hex./EtOAc produciendo 2,1 g (99%) del producto deseado (**4**) en forma de un aceite de color amarillo. Véase el Compuesto 5, Figura 12F.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,52 (d, J = 2,4, 1H), 7,46 (m, 2H), 7,33 (m, 3H), 7,10 (d, J = 2,4, 1H), 6,27 (d, J = 9,9, 1H), 5,78 (s, 1H), 5,69 (d, J = 9,6, 1H), 3,06 (s, 1H), 1,49 (s, 3H), 1,48 (s, 3H); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ 149,5, 132,2, 132,0, 130,3, 130,1, 129,1, 128,7, 128,5, 123,6, 122,7, 121,4, 113,1, 88,2, 86,3, 77,8, 61,3, 28,2, 28,2; IR (NaCl, película) 3428 a, 2230 cm⁻¹; HRMS (+TOF) 351,0379 calc. para C₂₀H₁₆BrO [M-H₂O]⁺, observado: 351,0389; F_r = 0,40 (4: 1 de hex./EtOAc).

30 **Síntesis de (E)-1-(6-bromo-2,2-dimetil-2H-cromen-8-il)-3-fenilprop-5 2-en-1-ol (5):**

En un matraz de fondo redondo de 10 ml que contenía 100 mg (0,271 mmol, 1 equiv.) de 1-(6-bromo-2,2-dimetil-2H-cromen-8-il)-3-fenilprop-2-in-1-ol disuelto en 1,5 ml de THP seco se añadieron 12 mg (0,33 mmol, 1,2 equiv.) de LiAlH₄. La reacción se calentó a reflujo durante 1 h y se enfrió a temperatura ambiente. La reacción se interrumpió por la adición de H₂O seguido de NaOH(ac.) al 15% y después EtOAc. La capa orgánica se separó y después se filtró a través de un lecho corto de gel de sílice antes de concentrarse para producir 100 mg (99%) del producto deseado (**5**) en forma de un aceite de color amarillo. Véase el Compuesto 6, Figura 12F.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,40-7,24 (m, 6H), 7,06 (d, J = 2,4, 1H), 6,70 (d, J = 15,9, 1H), 6,38 (dd, J = 15,9, 5,4, 1H), 6,26 (d, J = 9,9, 1H), 5,66 (d, J = 9,9, 1H), 5,50 (m, 1H), 1,44(s, 3H), 1,42 (s, 3H); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ 149,0, 136,9, 132,5, 132,0, 130,6, 129,5, 128,8, 128,8, 128,3, 127,9, 126,8, 123,5, 121,6, 113,3, 77,4, 70,7, 28,3, 28,2; IR (NaCl, película) 3416 a cm⁻¹; HRMS (+TOF) 353,0536 calc. para C₁₁H₁₅O₃ [M-H₂O]⁺, observado: 353,0548; F_r = 0,26 (9: 1 de hex./EtOAc).

45 **Síntesis de (E)-1-(6-bromo-2,2-dimetil-2H-cromen-8-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona (6):**

En un matraz de fondo redondo de 50 ml que contenía 1,41 g (3,80 mmol, 1 equiv.) de (E)-1-(6-bromo-2,2-dimetil-2H-cromen-8-il)-3-fenilprop-2-en-1-ol disuelto en 20 ml de CH₂Ch seco se añadieron 1,98 g (22,8 mmol, 6 equiv.) MnO₂ y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción se filtró a través de celite y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con 19:1 a 4:1 de hex./EtOAc produciendo 1,25 g (89%) del producto deseado (**6**) en forma de un aceite de color amarillo. Véase el Compuesto 8, Figura 12F.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,70-7,39 (m, 8H), 7,22 (d, J = 2,4, 1H), 6,31 (d, J = 9,9, 1H), 5,72 (d, J = 9,9, 1H), 1,49 (s, 6H); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ 190,6, 151,3, 143,4, 135,3, 132,3, 130,6, 129,8, 129,2, 128,7, 128,5, 126,7, 124,2, 121,4, 113,2, 78,0, 28,5; IR (NaCl, película) 1654, 1603, 1435 cm⁻¹; HRMS (+TOP) 369,0485 calc. para C₂₀H₁₈BrO₂ [M+H]⁺, observado: 369,0489; F_r = 0,50 (4:1 de hex./EtOAc).

Síntesis del compuesto 8 (KAM-1): En un matraz de fondo redondo de 10 ml que contenía 92 mg (0,25 mmol, 1

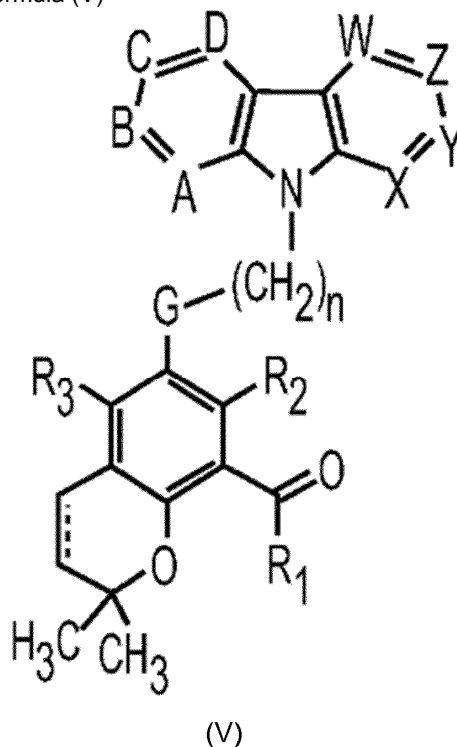
equiv.) de (E)-1-(6-bromo-2,2-dimetil-2H-cromen-8-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona y 83 mg (0,28 mmol, 1,1 equiv.) de sal de Molander XX se añadieron 59 mg (0,012 mmol, 0,05 equiv.) de PdCb(dppf)-CH₂Ch y 245 mg (0,75 mmol, 3 equiv.) de Cs₂CO₃ seguido de 1,5 ml de PhMe seco y 0,5 ml de H₂O. La reacción se calentó a 80 °C durante 12 h, se filtró a través de algodón y se concentró. La purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice 5 eluyendo con 9:1 de hex./EtOAc produjo 78 mg (65%) del producto deseado (8) en forma de un aceite de color amarillo.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 8,10 (d, *J* = 7,5, 2H), 7,71-7,20 (m, 14H), 6,76 (d, *J* = 2,4, 1H), 6,21 (d, *J* = 9,9, 1H), 5,65 (d, *J* = 9,9, 1H), 4,51 (t, *J* = 7,8, 2H), 3,06 (t, *J* = 7,8, 2H), 1,48 (s, 6H). ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 191,9, 151,3, 142,6, 140,3, 135,6, 131,3, 131,1, 130,8, 130,4, 130,1, 129,2, 128,5, 128,3, 127,2, 125,8, 123,1, 122,5, 122,2, 10 120,6, 119,1, 108,8, 44,9, 34,3, 28,4. IR (NaCl, película) 1655, 1596, 1485, 1453 cm⁻¹. HRMS (+TOF) 484,2271 calc. para C₃₄H₃₀NO₂ [M+H]⁺, observado: 484,2269; *F*_r = 0,21 (9: 1 de hex./EtOAc).

Otras realizaciones y usos de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la consideración de la memoria descriptiva y la práctica de la invención descrita en el presente documento. El término 15 que comprende, siempre que se use, pretende incluir los términos que consiste y que consiste esencialmente en. Además, los términos que comprende, que incluyendo, y que contiene, no pretenden ser limitantes.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula (V)



5 en la que:

R₁ = H,

R₂ y R₃ pueden ser independientemente o ambos H u OH,

A, B, C, D = independientemente N o CH,

10 X, Y, Z, W = independientemente N o CH,

G = O, NR, S o CH₂,

R = H, alquilo inferior o arilo, y,

n = 0, 1, 2, 3 o 4;

y sales farmacéuticamente aceptables del mismo,

15 en la que alquilo inferior se refiere a grupos alquilo sustituidos, sin sustituir, ramificados o no ramificados que tienen 1-6 átomos de carbono.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que alquilo inferior se refiere a metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo o terc-butilo.

20

3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que arilo se refiere a un resto cíclico insaturado que comprende al menos un anillo aromático.

4. El compuesto de la reivindicación 3, en el que arilo se refiere a un sistema anular carbocíclico mono o
25 bicíclico que tiene uno o dos anillos aromáticos.

5. Una composición terapéutica que comprende:

un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4; y,

30 un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable; opcionalmente, en el que la composición comprende adicionalmente un agente terapéutico adicional.

6. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una composición

terapéutica de acuerdo con la reivindicación 5, para su uso en terapia.

7. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una composición terapéutica de acuerdo con la reivindicación 5, para su uso en el tratamiento del cáncer; opcionalmente, en el que el 5 cáncer se selecciona del grupo que consiste en:

cáncer broncopulmonar, un cáncer gastrointestinal, cáncer neuroendocrino pancreático, cáncer carcinoide, melanoma maligno, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal, cáncer de piel no melanoma,

10 neoplasia hematopoyética de origen mielóide, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer del sistema nervioso, cáncer de riñón, cáncer de retina, cáncer de piel, melanoma de cáncer de piel, cáncer de estómago, cáncer de hígado, cáncer genitourinario, cáncer de próstata y cáncer de vejiga.

15 8. Uso del compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una composición de acuerdo con la reivindicación 5, para causar la apoptosis *in vitro* de una célula que prolifera anormalmente que tiene un aumento aberrante de la señalización de Ras.

9. El uso de la reivindicación 8, en el que la señalización aumentada de Ras está asociada con la 20 activación de una ruta seleccionada del grupo que consiste en Raf1/MAPK, RasGDS/Ras/Rho, PI3K, y combinaciones de los mismos; opcionalmente, en el que la forma activada de Ras se selecciona del grupo que consiste en K-Ras, H-Ras y N-Ras; opcionalmente, en el que la célula que prolifera anormalmente es una célula maligna o una célula cancerosa.

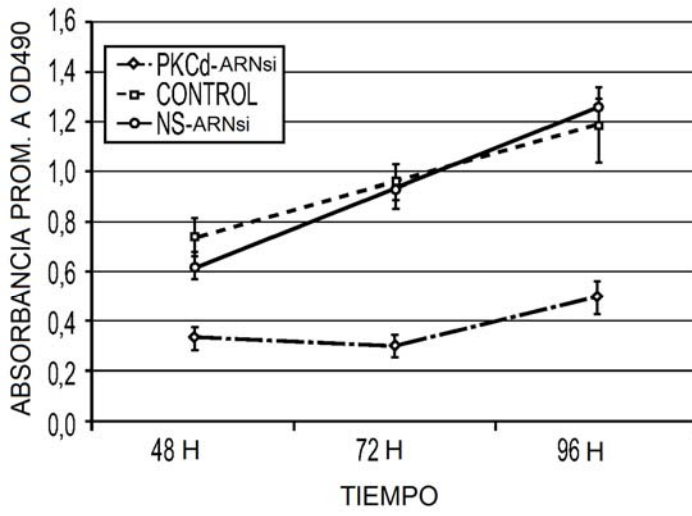


FIG. 1A

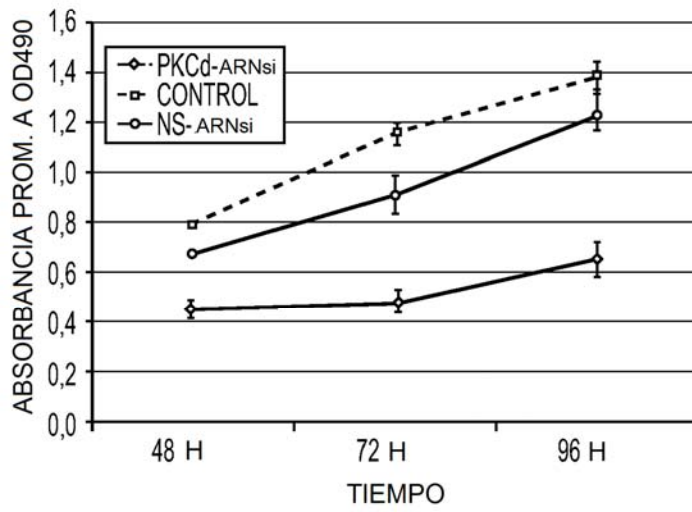


FIG. 1B

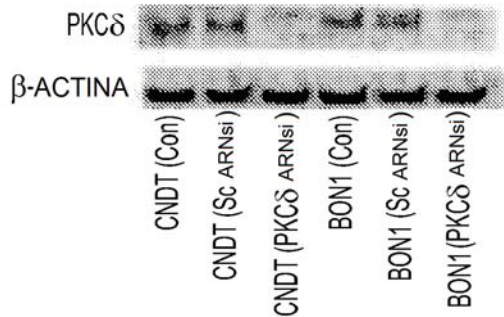


FIG. 1C

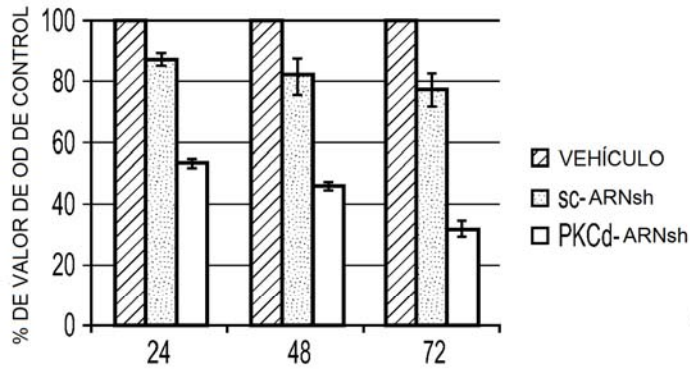


FIG. 2A

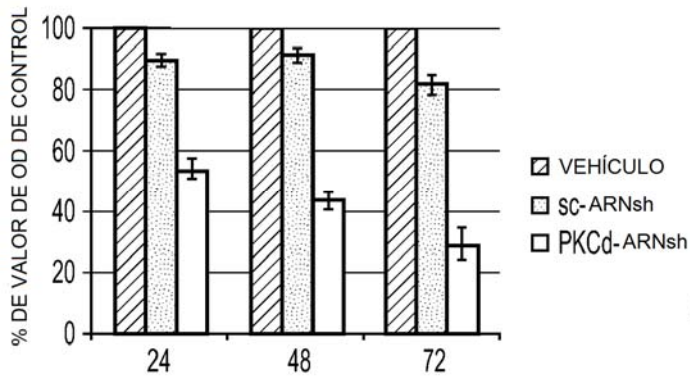


FIG. 2B

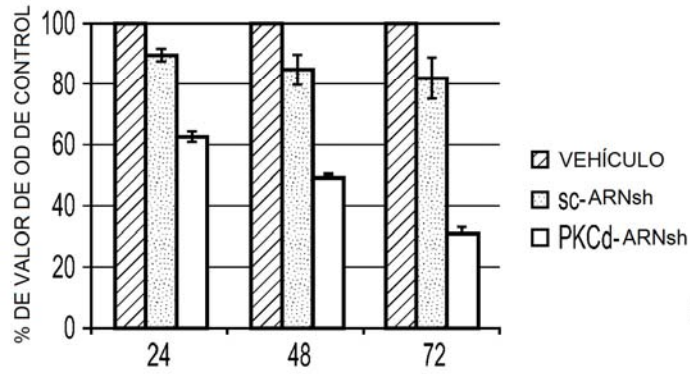


FIG. 2C

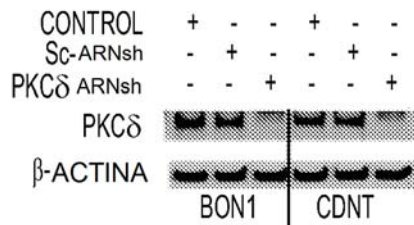


FIG. 2D

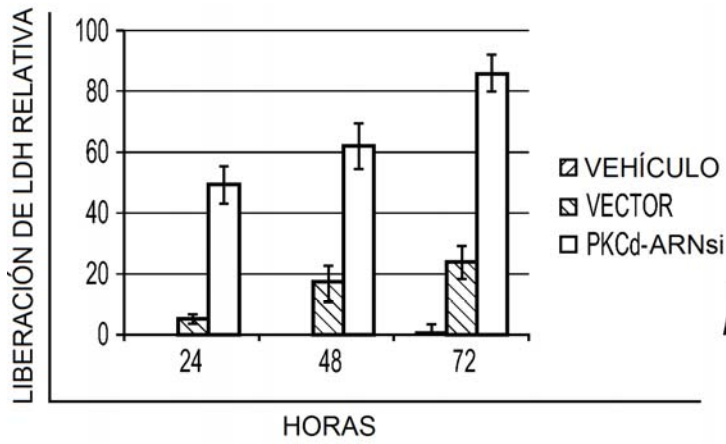


FIG. 3A

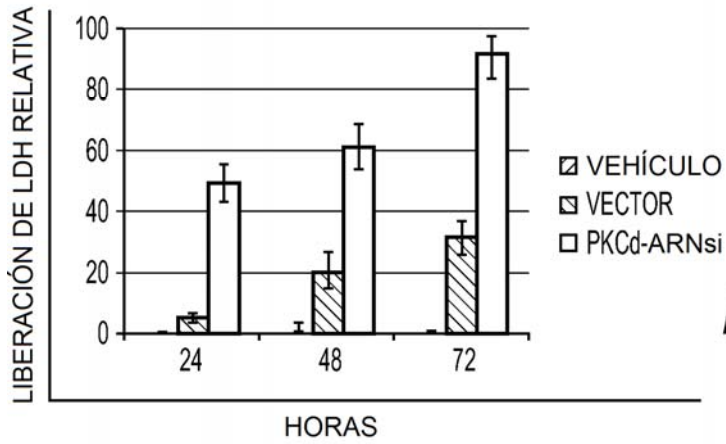


FIG. 3B

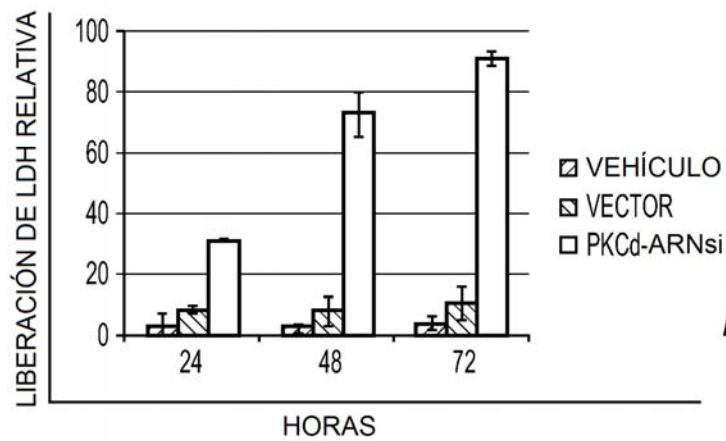


FIG. 3C

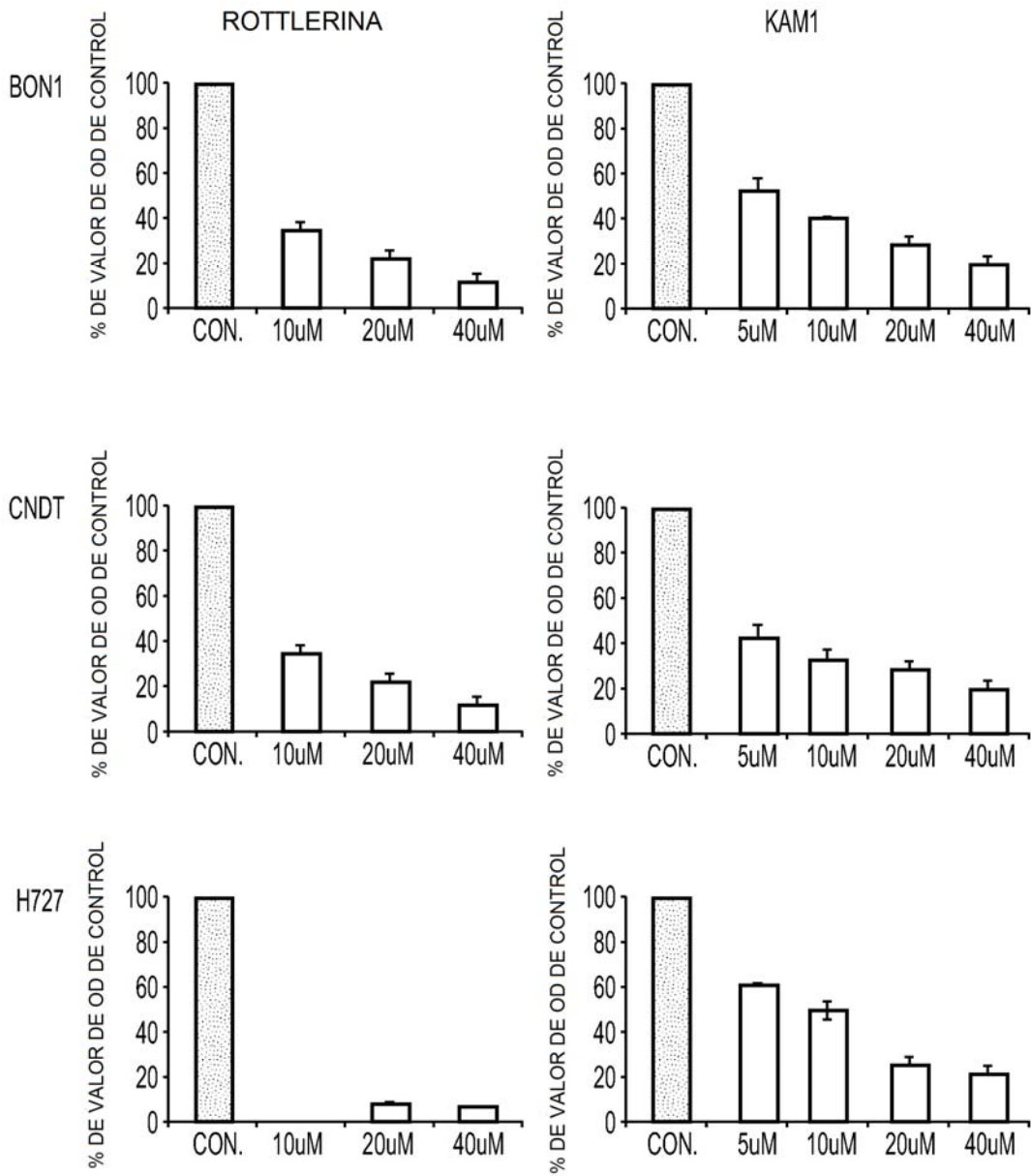


FIG. 4

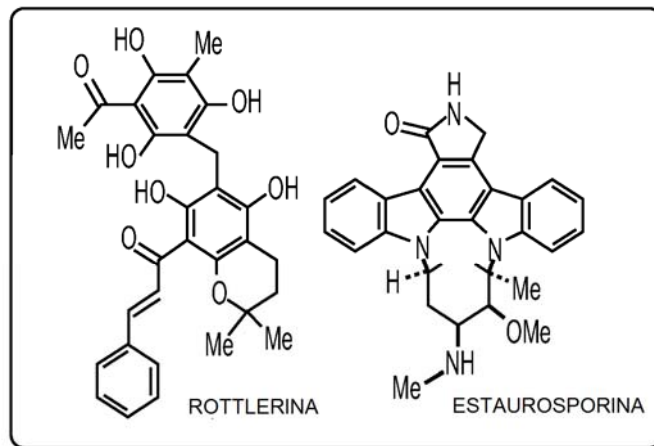
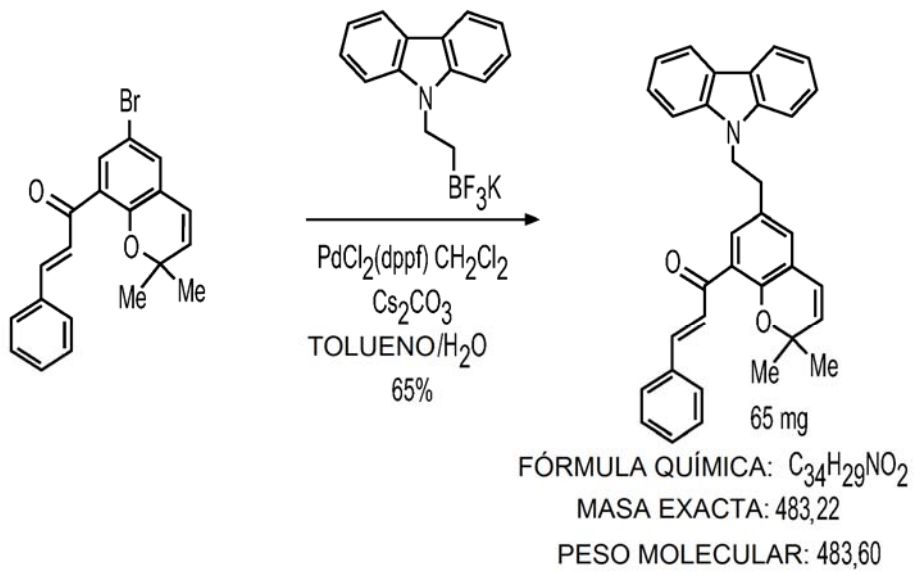


FIG. 5

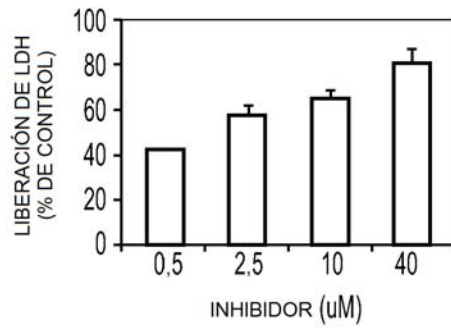
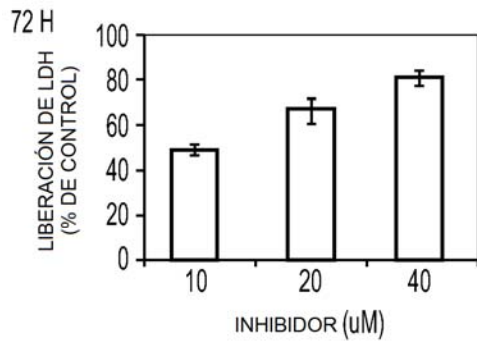
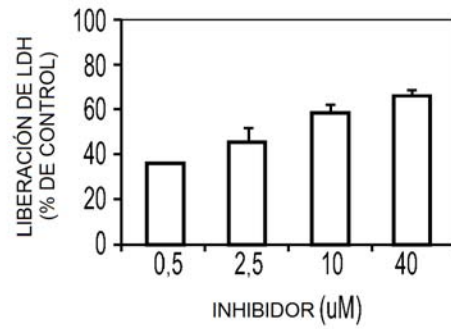
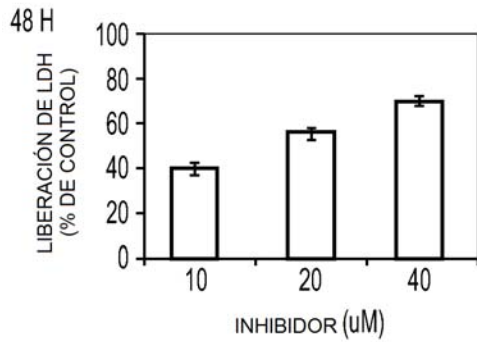
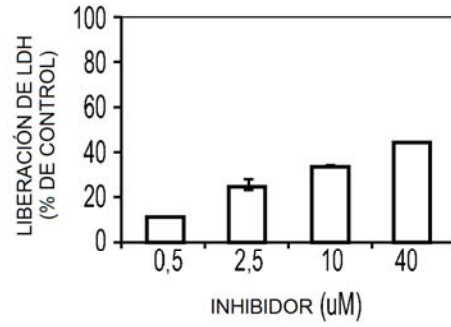
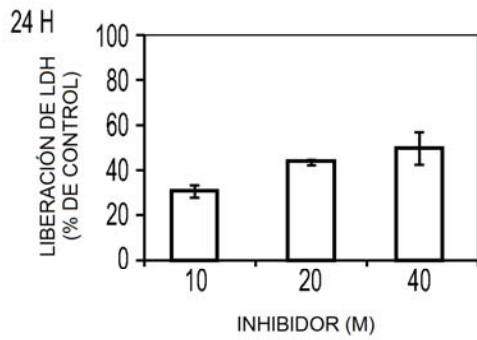


FIG. 6A

FIG. 6B

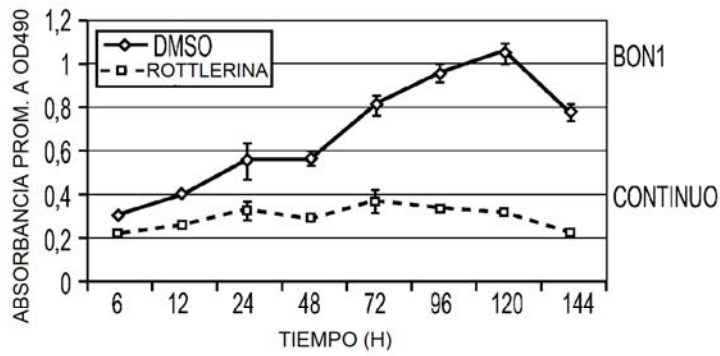


FIG. 7A

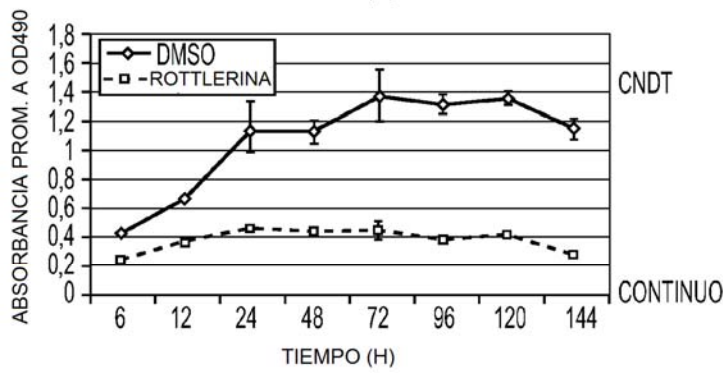


FIG. 7B

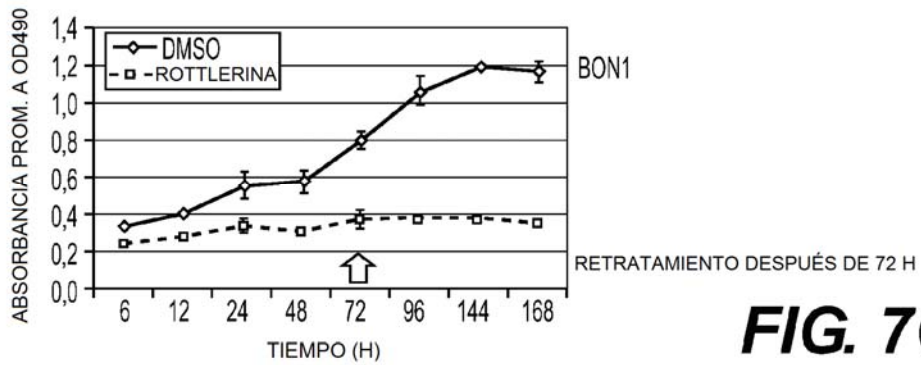


FIG. 7C

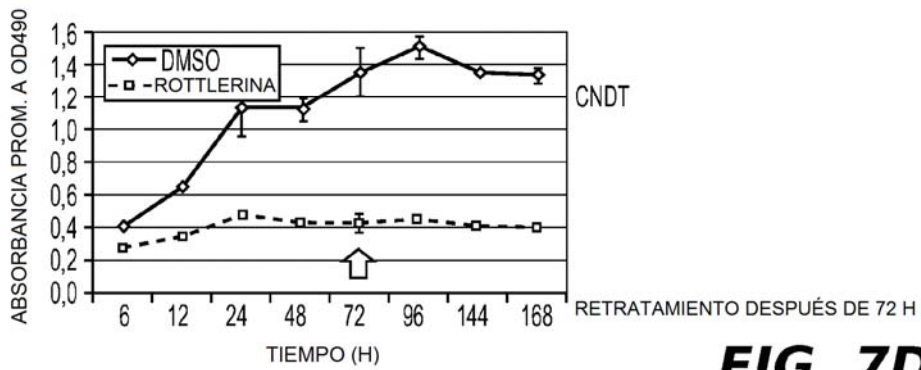


FIG. 7D

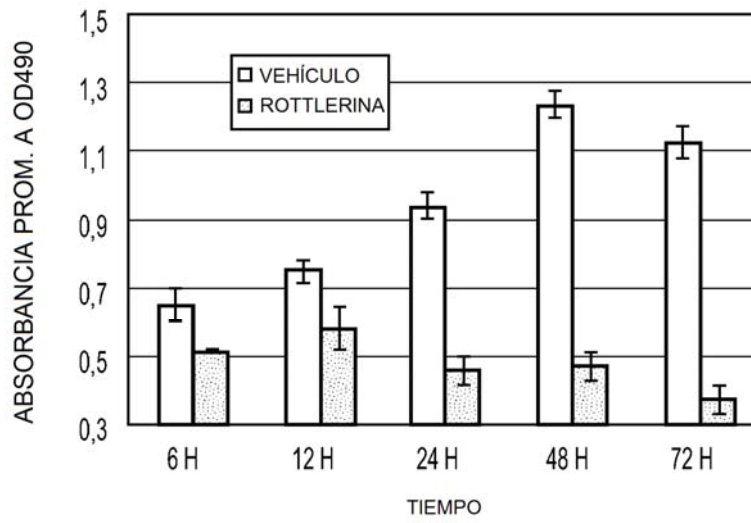


FIG. 8

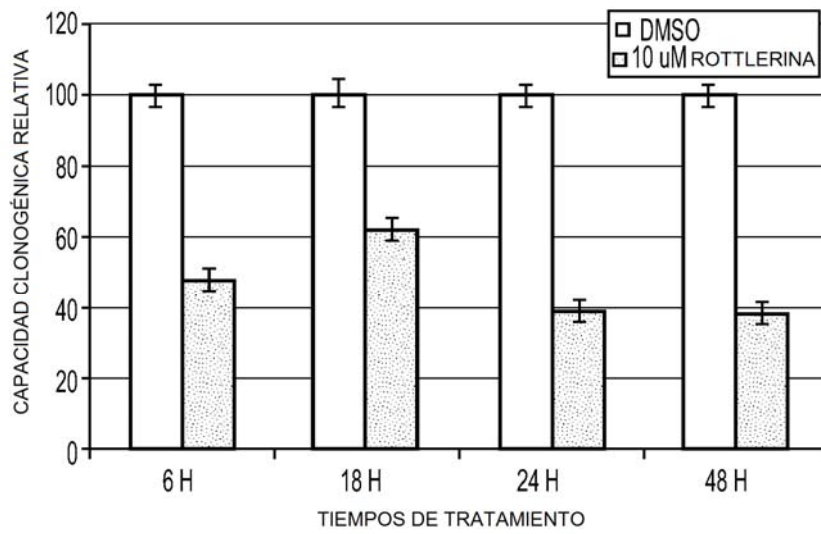


FIG. 9

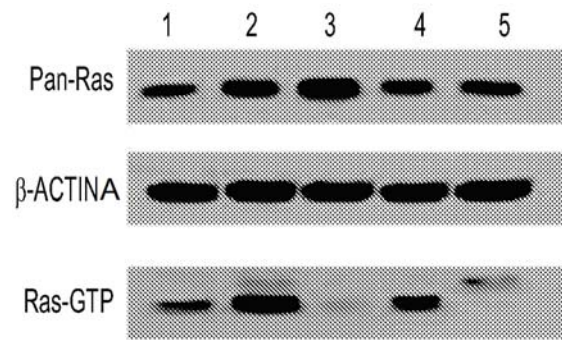


FIG. 10A

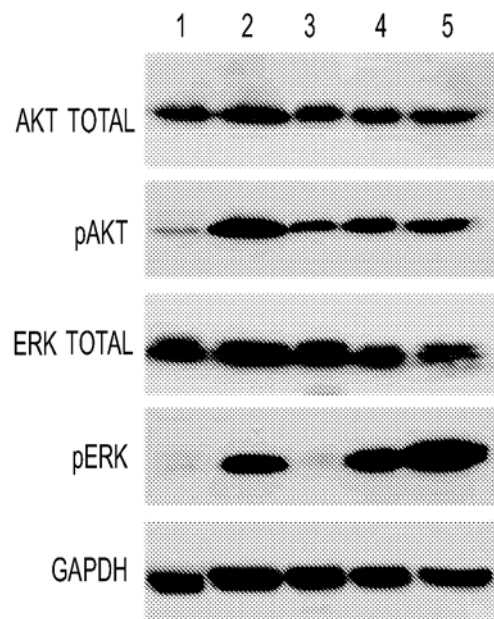


FIG. 10B

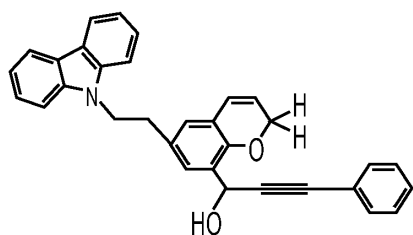


FIG. 11A

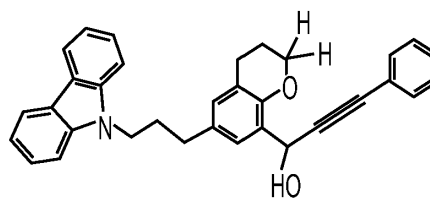


FIG. 11E

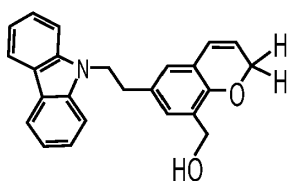


FIG. 11B

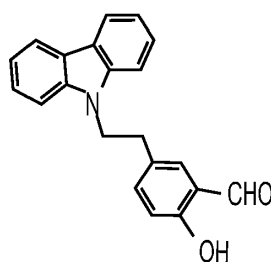


FIG. 11F

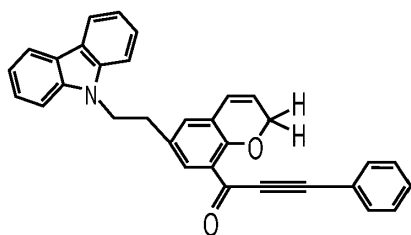


FIG. 11C

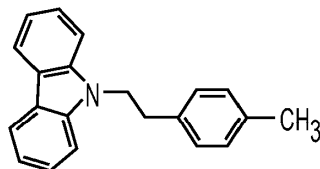


FIG. 11G

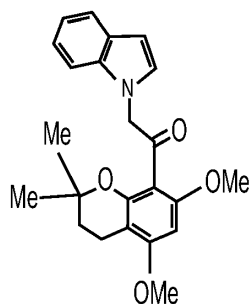


FIG. 11D

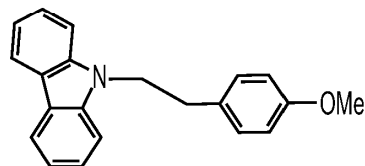


FIG. 11H

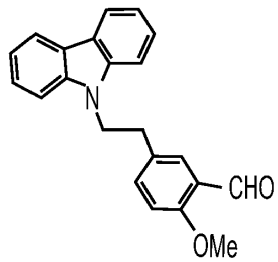


FIG. 11I

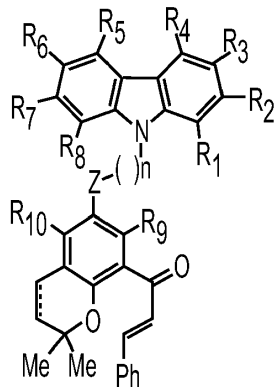


FIG. 11J

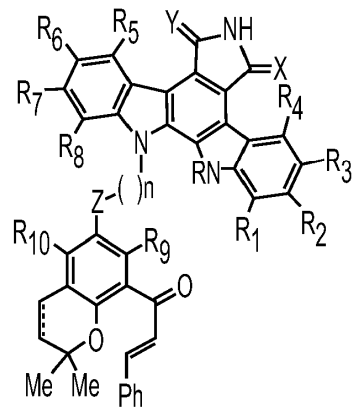


FIG. 11K

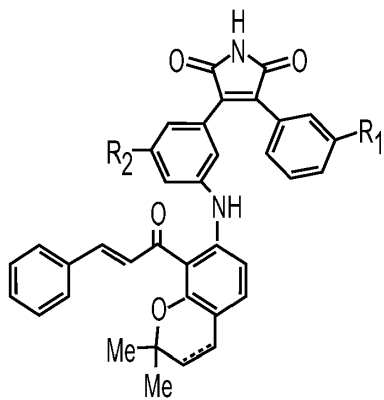


FIG. 11L

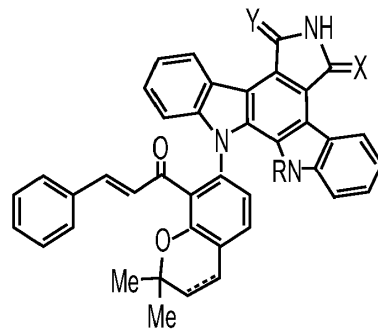


FIG. 11M

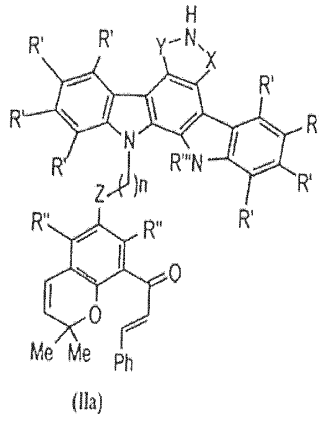
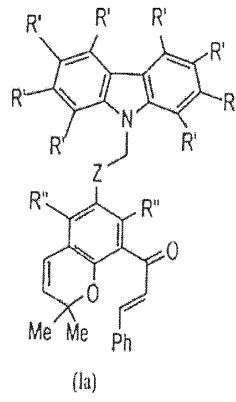


FIG.12A

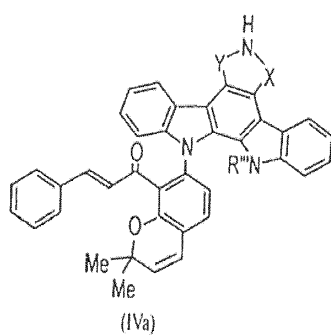
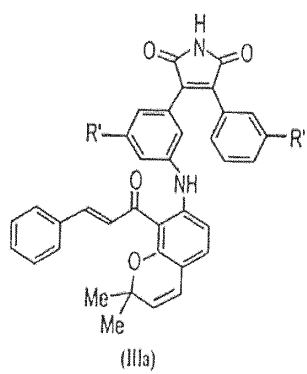
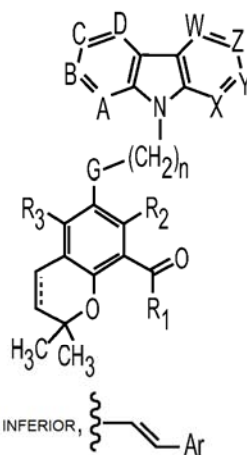


FIG. 12B



R_2 Y R_3 PUEDEN SER INDEPENDIENTEMENTE O AMBOS H; OH;

A, B, C, D = INDEPENDIENTEMENTE N O CH

X, Y, Z, W = INDEPENDIENTEMENTE N O CH

G = O, NR, S, CH₂

(v)

EN LA QUE:



Ar = ARYL

R_2 Y R_3 PUEDEN SER INDEPENDIENTEMENTE O AMBOS H; OH;

A, B, C, D = INDEPENDIENTEMENTE N O CH

X, Y, Z, W = INDEPENDIENTEMENTE N O CH

G = O, NR, S, CH₂

R = H, ALQUILO INFERIOR, ARILO

n = 0, 1, 2, 3, 4

FIG. 12C

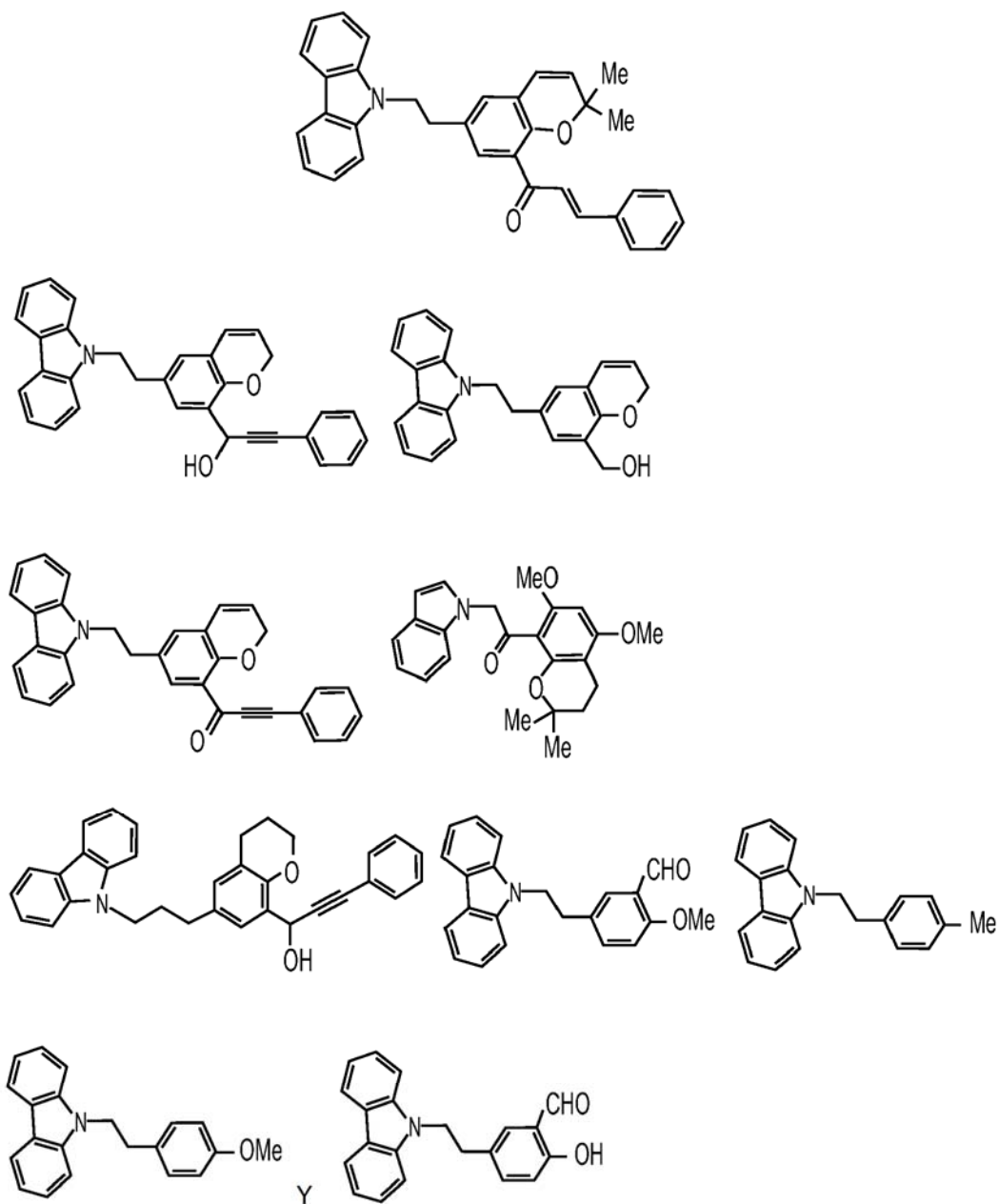
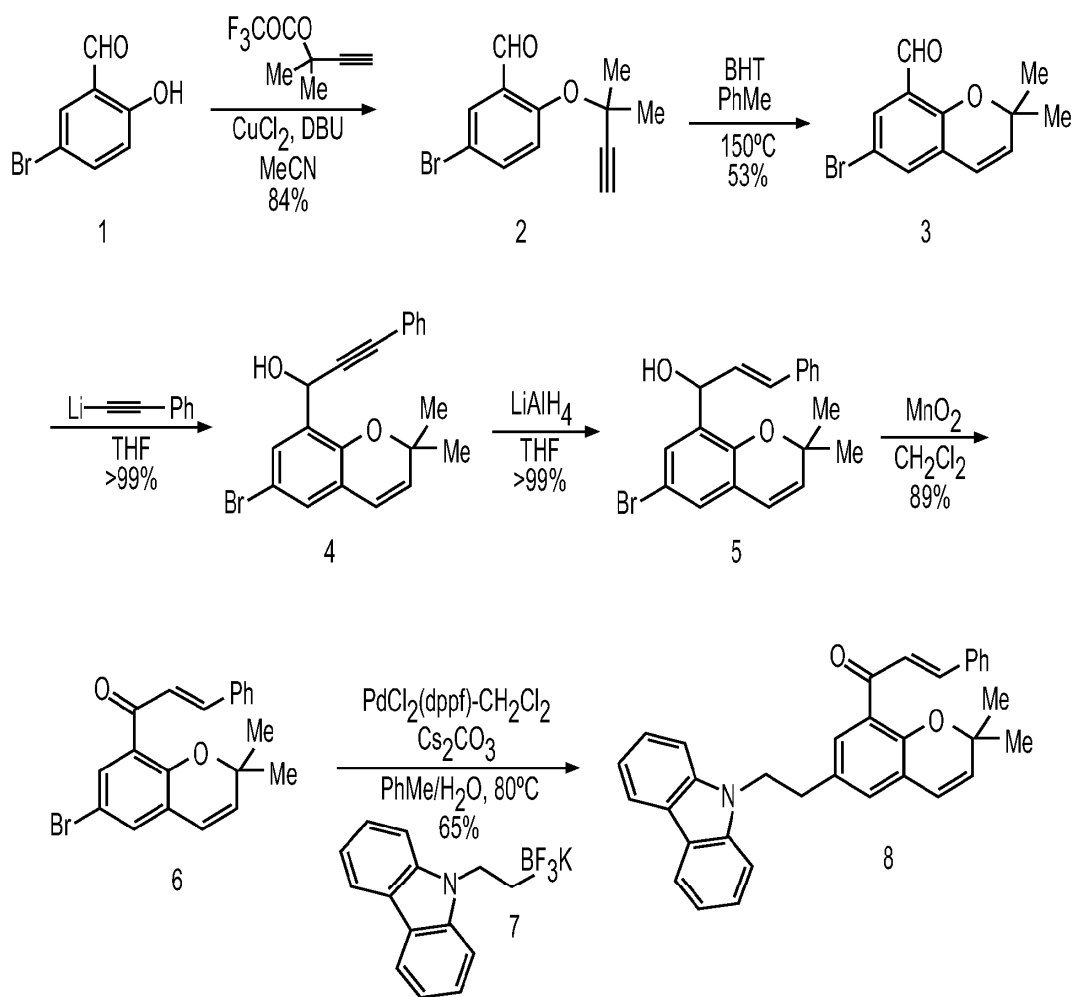
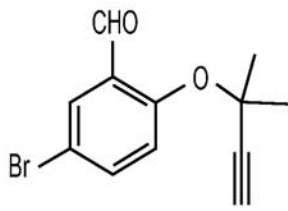
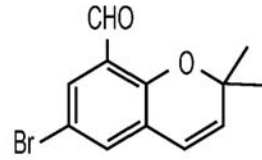


FIG. 12D

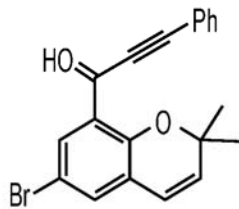
**FIG. 12E**



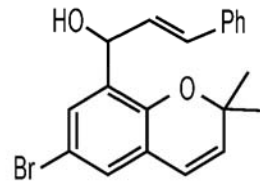
COMPUESTO 2



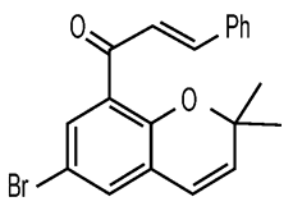
COMPUESTO 3



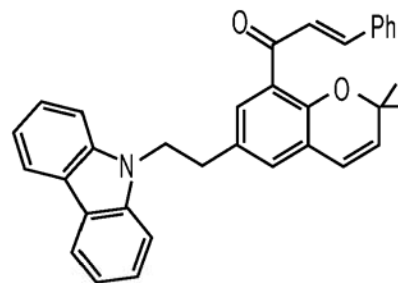
COMPUESTO 4



COMPUESTO 5



COMPUESTO 6



COMPUESTO 8

FIG. 12F