

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 668 556**

51 Int. Cl.:

C07D 231/44 (2006.01)

C07D 231/06 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

A61K 31/4152 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.11.2009** **PCT/US2009/006237**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.05.2010** **WO10059241**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.11.2009** **E 09827890 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2018** **EP 2367798**

54 Título: **Derivados de pirazolona útiles en el tratamiento de esclerosis lateral amiotrófica**

30 Prioridad:

20.11.2008 US 116571 P

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

18.05.2018

73 Titular/es:

NORTHWESTERN UNIVERSITY (100.0%)

633 Clark Street

Evanston, IL 60208, US

72 Inventor/es:

KIRSCH, DONALD, R.;

BENMOHAMED, RADHIA;

ARVANITES, ANTHONY, C.;

MORIMOTO, RICHARD, I.;

CHEN, TIAN y

SILVERMAN, RICHARD, B.

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 668 556 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de pirazolona útiles en el tratamiento de esclerosis lateral amiotrófica.

5 Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta aplicación reivindica la prioridad de la solicitud provisional de Estados Unidos número de serie 61/116.571, presentada el 20 de noviembre de 2008.

10 Apoyo del gobierno

Esta invención se hizo con el apoyo del gobierno con la subvención n.º R43 NS057849, otorgada por el National Institutes of Health. El Gobierno tiene ciertos derechos sobre la presente invención.

15 Antecedentes de la invención

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es un trastorno neurodegenerativo mortal causado por la muerte de neuronas motoras (Rowland *et al.*, *N Engl. J. Med.*, **2001**, 334, 1688-1700) y caracterizado, en parte, por la presencia de agregados anormales de proteína insoluble en poblaciones selectivamente vulnerables de neuronas y glía. Se estima que la ELA, una enfermedad huérfana, afecta a aproximadamente 87.000 personas en todo el mundo, pero su prevalencia sería mucho más alta si no fuera por el hecho de que los pacientes con ELA sobreviven solamente de 3 a 5 años después del diagnóstico. Aproximadamente el 10% de los casos de ELA son familiares, siendo el resto de casos esporádicos (Rowland *et al.*, *N Engl. J. Med.*, **2001**, 334, 1688-1700). Aproximadamente el 20% de los casos de ELA familiar son causados por mutaciones heredadas en la proteína Cu/Zn superóxido dismutasa (SOD1) *Nature*, **1993**, 362, 59-62). Los modelos de roedores en SOD1 mutante se usan a menudo como un modelo de enfermedad debido a su parecido fenotípico y patológico con ELA humana esporádica y familiar (Dal Canto *et al.*, *Brain Res.*, **1995**, 676, 25-40; Wong, *et al.*, *Neuron*, **1995**, 14, 1105-1116; Bruijin *et al.*, *Science*, **1998**, 281, 1851-1854; Bruijn *et al.*, *Neuron*, **1997**, 18, 327-338; Wang *et al.*, *Hum. Mol. Genet.*, **2003**, 12, 2753-2764; Wang *et al.*, *Neurobiol. Dis.*, **2002**, 10, 128-138; Jonsson *et al.*, *Brain*, **2004**, 127, 73-88).

Las causas de la ELA esporádica siguen siendo desconocidas, y los cursos clínicos son variables, lo que sugiere que están implicados múltiples factores. Se han propuesto diferentes hipótesis, tales como excitotoxicidad mediada por glutamato, función mitocondrial alterada, estrés oxidativo y agregación de proteínas aberrantes (Dib *et al.*, *Drugs*, **2003**, 63, 289-310; Strong *et al.*, *Pharmacology & Therapeutics*, **2003**, 98, 379-414; Kunst *et al.*, *Am. J. Hum. Genet.*, **2004**, 75, 933-947; Bruijn *et al.*, *Annu. Rev. Neurosci.*, **2004**, 27, 723-749; Dibernardo *et al.*, *Biochimica et Biophysica Acta*, **2006**, 1762, 1139-1149). Riluzol, que disminuye la excitotoxicidad del glutamato, es el único fármaco para ELA aprobado por la FDA (Jimonet *et al.*, *J. Med. Chem.*, **1999**, 42, 2828-2843). Sin embargo, solamente puede extender la media de supervivencia durante 2 a 3 meses, lo que sugiere que se deben considerar distintos mecanismos de la excitotoxicidad mediada por glutamato durante el desarrollo de fármacos para ELA (Miller *et al.*, *ALS and Other Motor Neuron Disorders*, **2003**, 4, 191-206; Taylor *et al.*, *Neurology*, **2006**, 67, 20-27).

Los desequilibrios en la homeostasis de proteínas, que pueden estar causados por el estrés celular o la expresión de ciertas proteínas mutantes, pueden dar como resultado la aparición de estados conformacionales alternativos que pueden autoasociarse para formar agregados de proteínas y cuerpos de inclusión. En formas familiares, así como esporádicas de ELA y modelos transgénicos SOD1 mutantes, se ha informado que la agregación de proteínas aberrante es una característica común (Bruijin *et al.*, *Science*, **1998**, 281, 1851-1854; Leigh *et al.*, *Cytoskeletal pathology in Motor Neuron Diseases*, en: Rowland, L. P. (Editor), *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disease*, Raven Press, Nueva York, **1991**, págs. 3-págs. 23; Mather *et al.*, *Neurosci. Lett.*, **1993**, 160, 13-16; Pasinelli *et al.*, *Neuron*, **2004**, 43, 19-30; Watanabe, *et al.*, *Neurobiol. Dis.*, **2001**, 8, 933-941). La ubicuidad de esta característica en diversas formas de ELA sugiere que quizás los fármacos que inhiben la agregación de proteínas aberrantes pueden proporcionar opciones de tratamiento nuevas y mejoradas. Por lo tanto, existe la necesidad urgente de identificar y desarrollar fármacos para el tratamiento de ELA.

El documento WO 98/01427 desvela un proceso para preparar derivados de pirazolona y su uso, así como un proceso para la gamma-alkilación de beta-cetoésteres en la fase sólida, beta-cetoésteres alquilados en la fase sólida y el uso de este proceso.

El documento WO 01/09121 desvela ciertas 2-pirazolin-5-onas, que son inhibidores de proteína cinasas, particularmente tirosina cinasas y serina/treonina cinasas, así como también composiciones farmacéuticas que contienen estas pirazolinonas y procesos para preparar estas pirazolinonas.

El documento EP 1 693 369 desvela inhibidores de la formación de productos de modificación proteica, particularmente un medicamento que inhibe la formación de productos de modificación proteica tales como productos finales de glicación avanzada (AGE) y productos finales de lipoxidación avanzada (ALE), que se forman mediante la reacción con compuestos de carbonilo en condiciones no enzimáticas.

El documento US 2007/049574 se refiere a derivados de pirazolona útiles como inhibidores de 11b-HSD1 (T2D).

AYMEN S. ABU HATAB ET AL., "Synthesis of New 4-Substituted-3-alkoxy-2-butenic Acid Esters and Pyrazole-3-one Derivatives", JORDAN JOURNAL OF CHEMISTRY., (200809), vol. 3, n.º 3, páginas 211 - 221 desvela ésteres de ácido 4-sustituido-3-alcoxi-2-butenico que se han sintetizado a través de la reacción de (2E)-4-bromo-3-alcoxibut-2-enoatos de etilo con fenoles o naftoles en presencia de carbonato potásico y acetona.

ISOO ITO ET AL., "Synthesis of Pyrazolone Derivatives. XX. On the Cyclization of 4-Bromo-3-(2-formamidophenyl)thiomethyl-2-methyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-one J", JOURNAL OF THE PHARMACEUTICAL SOCIETY OF JAPAN., (19730225), vol. 93, n.º 2, páginas 207 - 213, XP009090689 desvela varios 2'-fenil-espiro [1,3-dioxolano-2,5'-indazoles] que tienen cadenas laterales alquilo o alcoxi en 1'(III), 3'a (IV) y 3'(V) y que se prepararon como agentes analgésicos.

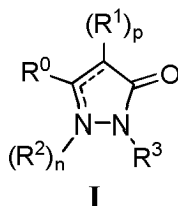
Los documentos EP1714960 A1, Kimata et al., J. Med. Chem. 50(21) 2007 5053-5056 y W02008/053764 A1 describen derivados de pirazolona útiles en el tratamiento de ELA o afecciones causadas por la acumulación de proteína priónica.

Sumario de la invención

La presente invención incluye el reconocimiento de la necesidad de nuevos compuestos y métodos para tratar pacientes con esclerosis lateral amiotrófica (ELA) u otras enfermedades neurodegenerativas caracterizadas por la presencia de agregados de proteínas aberrantes.

La presente invención se refiere a la identificación de compuestos proporcionados y composiciones farmacéuticas de los mismos para tratar enfermedades neurodegenerativas caracterizadas por la presencia de agregados de proteínas aberrantes. Entre otras cosas, la presente invención proporciona compuestos para su uso en métodos de tratamiento de la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) sin desear quedar ligados a ninguna teoría particular, siempre que los compuestos puedan ser útiles en el tratamiento de ELA u otras enfermedades neurodegenerativas donde se ha visto implicada la agregación anormal de proteínas, ya que pueden evitar la agregación de proteínas en una célula o limitar la toxicidad de dichos agregados.

En un aspecto, la divulgación proporciona compuestos de la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, o un tautómero de los mismos, en la que R^0 , R^1 , R^2 , R^3 , n , y p son como se definen en el presente documento. En algunas realizaciones, dichos compuestos, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, o tautómeros de los mismos, se usan en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.

La invención proporciona compuestos de la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de un sujeto con esclerosis lateral amiotrófica (ELA) u otra enfermedad neurodegenerativa (por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, enfermedad priónica, o enfermedad de Huntington) administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención, o una composición farmacéutica del mismo. En ciertas realizaciones, el compuesto es de una de las clases descritas en el presente documento o es una especie descrita en el presente documento. En otro aspecto, la divulgación proporciona métodos para tratar un sujeto con ELA u otra enfermedad neurodegenerativa, administrando tanto un compuesto de la invención o una composición farmacéutica del mismo, como un segundo agente terapéutico o una composición farmacéutica del mismo. Los dos compuestos y/o composiciones se pueden administrar como una composición de combinación que comprende ambos compuestos. Como alternativa, los dos compuestos se pueden administrar por separado (por ejemplo, como dos composiciones diferentes), ya sea de manera simultánea o secuencial.

La presente descripción también proporciona métodos para identificar compuestos que protegen contra los efectos citotóxicos de la agregación de proteínas anormal. Además, la presente divulgación proporciona métodos para identificar compuestos que previenen, inhiben o invierten la agregación de proteínas. En algunas realizaciones, el ensayo implica el uso de células PC12 que expresan la proteína SOD1. En ciertas realizaciones, SOD1 se marca con un resto detectable (por ejemplo, un resto fluorescente). Los ensayos pueden ser ensayos de alto rendimiento.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona métodos para inhibir o invertir la agregación de proteínas anormal (por ejemplo, agregados de proteína SOD1). La inhibición o reversión de la agregación de proteínas anormal puede producirse in vivo (por ejemplo, en un sujeto como se describe en el presente documento) o in vitro (por ejemplo, en una célula). En otro aspecto más, la divulgación proporciona métodos para proteger las células de los efectos citotóxicos de la proteína agregada (por ejemplo, SOD1) usando un compuesto de la invención. La protección de las células puede producirse in vivo o in vitro. En algunas realizaciones, la protección se produce in vitro y las células son células PC12. En otro aspecto, la divulgación proporciona métodos para modular la actividad del proteosoma in vivo o in vitro usando un compuesto proporcionado. En algunas realizaciones, la protección se produce in vitro, y las células usadas son células PC12 o células HeLa. En ciertas realizaciones, las células son células de mamífero. En ciertas realizaciones, las células están en un organismo (por ejemplo, un mamífero).

Definiciones

Alifático. El término "alifático" o "grupo alifático", como se usa en el presente documento, se refiere a una cadena hidrocarburo de cadena lineal (es decir, no ramificada) o ramificada, sustituida o sin sustituir que está completamente saturada o que contiene una o más unidades de insaturación, o un hidrocarburo monocíclico o un hidrocarburo bicíclico que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que es no aromático (también denominado en el presente documento como "carbociclo" "cicloalifático" o "cicloalquilo"), que tiene un único punto de unión al resto de la molécula. A menos que se especifique otra cosa, los grupos alifáticos contienen 1-20 átomos alifáticos de carbono. En algunas realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-12 átomos alifáticos de carbono. En algunas realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-6 átomos alifáticos de carbono. En algunas realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-5 átomos alifáticos de carbono. En otras realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-4 átomos alifáticos de carbono. En otras realizaciones más, los grupos alifáticos contienen 1-3 átomos de carbono alifáticos, y en otras realizaciones más, los grupos alifáticos contienen 1-2 átomos alifáticos de carbono. En algunas realizaciones, "cicloalifático" (o "carbociclo" o "cicloalquilo") se refiere a un hidrocarburo monocíclico C_3-C_6 que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático, que tiene un único punto de unión al resto de la molécula. Los grupos alifáticos adecuados incluyen, pero sin limitación, grupos alquilo, alqueno, alquino lineales o ramificados, sustituidos o sin sustituir e híbridos de los mismos, tales como (cicloalquil)alquilo, (cicloalqueno)alquilo o (cicloalquil)alqueno.

Alquilo: Como se usa en el presente documento, el término "alquilo" se refiere a grupos alifáticos saturados, incluyendo grupos alquilo de cadena lineal, grupos alquilo de cadena ramificada, grupos cicloalquilo (alíclicos), grupos cicloalquilo sustituidos con alquilo, y grupos alquilo sustituidos con cicloalquilo.

Alquilenilo: El término "alquilenilo" se refiere a un grupo alquilo bivalente. Una "cadena alquilenilo" es un grupo polimetileno, es decir, $-(CH_2)_n-$, en el que n es un número entero positivo, preferiblemente de 1 a 20, 1 a 12, 1 a 6, de 1 a 4, de 1 a 3, de 1 a 2, o de 2 a 3. Una cadena alquilenilo sustituida es un grupo polimetileno en el que uno o más átomos de hidrógeno de metileno se reemplazan con un sustituyente. Los sustituyentes adecuados incluyen los descritos a continuación para un grupo alifático sustituido.

Alqueno: Como se usa en el presente documento, el término "alqueno" se refiere a grupos alifáticos insaturados análogos en la sustitución posible a los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un doble enlace.

Alquilenilo: Como se usa en el presente documento, el término "alquilenilo" se refiere a un grupo alqueno bivalente. Una cadena alquilenilo sustituida es un grupo polimetileno que contiene al menos un doble enlace en el que uno o más átomos de hidrógeno se reemplazan con un sustituyente. Los sustituyentes adecuados incluyen los descritos a continuación para un grupo alifático sustituido.

Alquino: Como se usa en el presente documento, el término "alquino" se refiere a grupos alifáticos insaturados análogos en la sustitución posible a los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un triple enlace.

Animal: Como se usa en el presente documento, el término "animal" se refiere a cualquier miembro del reino animal. En algunas realizaciones, "animal" se refiere a seres humanos, en cualquier fase de desarrollo. En algunas realizaciones, "animal" se refiere a animales no humanos, en cualquier fase de desarrollo. En ciertas realizaciones, el animal no humano es un mamífero (por ejemplo, un roedor, un ratón, una rata, un conejo, un mono, un perro, un gato, una oveja, ganado, un primate, y/o un cerdo). En algunas realizaciones, los animales incluyen, pero sin limitación, mamíferos, aves, reptiles, anfibios, peces, y/o gusanos. En algunas realizaciones, un animal puede ser un animal transgénico, un animal modificado genéticamente, y/o un clon.

Aproximadamente: Como se usa en el presente documento, los términos "aproximadamente" o "casi" en referencia a un número deben tomarse generalmente para incluir números comprendidos en un intervalo del 5%, 10%, 15%, o 20% en cualquier dirección (mayor o menor) respecto del número salvo que se indique otra cosa o sea evidente otra cosa según el contexto (salvo donde dicho número fuera menor del 0% o excediera un 100% del un posible valor).

En algunas realizaciones, el uso del término "aproximadamente" en referencia a dosificaciones significa ± 5 mg/kg/día.

Arilo: El término "arilo" usado solo o como parte de un resto mayor como en "aralquilo", "aralcoxi", o "ariloxialquilo", se refiere a sistemas anulares monocíclicos y bicíclicos que tienen un total de cinco a catorce miembros en el anillo, en los que al menos un anillo en el sistema es aromático, y en el que cada anillo en el sistema contiene de tres a siete miembros en el anillo. En determinadas realizaciones de la presente invención, "arilo" se refiere a un sistema anular aromático que incluye, pero sin limitación, fenilo, bifenilo, naftilo, antracilo y similares, que puede tener uno o más sustituyentes. También se incluyen dentro del alcance del término "arilo", como se usa en el presente documento, es un grupo en que un anillo aromático está condensado con uno o más anillos no aromáticos, tales como indanilo, ftalimidilo, naftimidilo, fenantridinilo, o tetrahidronaftilo, y similares.

Arialquilo: Como se usa en el presente documento, el término "arialquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con arilo, en el que los términos "arilo" y "alquilo" se definen en el presente documento, y en el que el grupo arilo está unido al grupo alquilo, lo que a su vez está unido a la molécula precursora. Un grupo arialquilo ejemplar incluye bencilo.

Porción característica: Como se usa en el presente documento, la expresión "porción característica" de una proteína o polipéptido es una que contiene un tramo continuo de aminoácidos, o una colección de tramos continuos de aminoácidos, que juntos son característicos de una proteína o polipéptido. Cada uno de dicho tramo continuo contendrá generalmente al menos dos aminoácidos. Además, los expertos en la técnica apreciarán que típicamente al menos 5, 10, 15, 20 o más aminoácidos se requieren como característicos de una proteína. En general, una porción característica es aquella que, además de la identidad de secuencia especificada anteriormente, comparte al menos una característica funcional con la proteína intacta relevante.

Secuencia característica: Una "secuencia característica" es una secuencia que se encuentra en todos los miembros de una familia de polipéptidos o ácidos nucleicos, y por lo tanto, puede ser utilizada por los expertos en la técnica para definir miembros de la familia.

Cantidad efectiva: Como se usa en el presente documento, una "cantidad eficaz" es una cantidad que logra, o se espera que logre, un resultado deseado, y puede administrarse en una dosis o en dosis múltiples. Se puede considerar que las composiciones contienen una cantidad eficaz si incluyen una dosis que es eficaz en el contexto de un régimen de dosificación, incluso si no se espera que la composición como una dosis única sea eficaz.

Heteroarilo: El término "heteroarilo", usado en solitario o como parte de un resto más grande como en "heteroaralquilo" o "heteroarilalcoxi", se refiere a sistemas de anillos monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos que tienen un total de cinco a catorce miembros en el anillo, en donde uno o más anillos en el sistema son aromáticos, uno o más anillos en el sistema contienen uno o más heteroátomos, y en donde cada anillo en el sistema contiene de 3 a 7 miembros de anillo. El término "heteroátomo" se refiere a nitrógeno, oxígeno o azufre, e incluye cualquier forma oxidada de nitrógeno o azufre, y cualquier forma cuaternizada de un nitrógeno básico. Los grupos heteroarilo incluyen, sin limitación, tienilo, furanilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolizinilo, purinilo, naftiridinilo, y pteridinilo. Los términos "heteroarilo" y "heteroar-", como se usan en el presente documento, también incluyen grupos en los que un anillo heteroaromático está condensado con uno o más anillos de arilo, cicloalifáticos, o heterocíclico, donde el radical o punto de unión está en el anillo heteroaromático. Los ejemplos no limitantes incluyen indolilo, isoindolilo, benzotienilo, benzofuranilo, dibenzofuranilo, indazolilo, benzoimidazolilo, benzotiazolilo, quinolilo, isoquinolilo, cinolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, 4H-quinolizinilo, carbazolilo, acridinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxazinilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, y pirido[2,3-b]-1,4-oxazin-3(4H)-ona. Un grupo heteroarilo puede ser mono- o bicíclico. El término "heteroarilo" puede usarse de forma intercambiable con los términos "anillo de heteroarilo", "grupo heteroarilo", o "heteroaromático", cualquiera de cuyos términos incluye anillos que están opcionalmente sustituidos. El término "heteroaralquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido por un heteroarilo, en el que las porciones de alquilo y heteroarilo están opcionalmente sustituidas independientemente.

Heteroátomo: El término "heteroátomo" significa uno o más de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio (incluyendo cualquier forma oxidada de nitrógeno, azufre, fósforo o silicio; la forma cuaternizada de cualquier nitrógeno básico o; un nitrógeno sustituible de un anillo heterocíclico, por ejemplo, N (como en 3,4-dihidro-2H-pirrolilo), NH (como en pirrolidinilo) o NR (como en pirrolidinilo N-sustituido)).

Heterociclo: Como se usa en el presente documento, los términos "heterociclo", "heterocíclico", "radical heterocíclico", y "anillo heterocíclico" se usan de forma intercambiable y se refieren a un resto heterocíclico estable monocíclico de 5 a 7 miembros o bicíclico de 7-10 miembros que está saturado o parcialmente insaturado, y que tiene, además de átomos de carbono, uno o más, preferiblemente de uno a cuatro, heteroátomos, como se ha definido anteriormente. Al usarse en referencia a un átomo del anillo de un heterociclo, el término "nitrógeno" incluye un nitrógeno sustituido. Como ejemplo, en un anillo saturado o parcialmente insaturado que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados de oxígeno, azufre o nitrógeno, el nitrógeno puede ser N (como en 3,4-dihidro-2H-pirrolilo), NH (como

en pirrolidinilo), o ⁺NR (como en pirrolidinilo *N*-sustituido).

Un anillo heterocíclico se puede unir a su grupo colgante en cualquier heteroátomo o átomo de carbono que dé como resultado una estructura estable y cualquiera de los átomos del anillo puede estar opcionalmente sustituido.

- 5 Los ejemplos de dichos radicales heterocíclicos saturados o parcialmente insaturados incluyen, sin limitación, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotiofenilo pirrolidinilo, piperidinilo, pirrolinilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, decahidroquinolinilo, oxazolidinilo, piperazinilo, dioxanilo, dioxolanilo, diazepinilo, oxazepinilo, tiazepinilo, morfolinilo, y quinuclidinilo. Los términos "heterociclo", "heterociclilo", "anillo de heterociclilo", "grupo heterocíclico", "resto heterocíclico", y "radical heterocíclico", se usan de forma intercambiable en el presente documento, y también
- 10 incluyen grupos en los que un anillo de heterociclilo está condensado con uno o más anillos de arilo, heteroarilo, o cicloalifáticos, tales como indolinilo, 3*H*-indolilo, cromanilo, fenantridinilo, o tetrahidroquinolinilo, donde el radical o punto de unión está en el anillo de heterociclilo. Un grupo heterociclilo puede ser mono- o biccíclico. El término "heterociclilalquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con un heterociclilo, en el que las porciones de alquilo y heterociclilo independientemente están opcionalmente sustituidas.

- 15 *Intraperitoneal*: Las expresiones "administración intraperitoneal" e "administración intraperitoneal" como se usan en el presente documento tienen su significado entendido en la técnica que se refiere a la administración de un compuesto o composición en el peritoneo de un sujeto.

- 20 *In vitro*: Como se usa en el presente documento, el término "in vitro" se refiere a eventos que se producen en un entorno artificial, *por ejemplo*, en un tubo de ensayo o recipiente de reacción, en cultivo celular, *etc.*, en lugar de dentro de un organismo (por ejemplo, animal, planta y/o microbio).

- 25 *In vivo*: Como se usa en el presente documento, el término "in vivo" se refiere a eventos que se producen dentro de un organismo (por ejemplo, animal, planta y/o microbio).

Alquilo inferior: El término "alquilo inferior" se refiere a un grupo alquilo C₁₋₄ lineal o ramificado. Los grupos alquilo inferior ejemplares son metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, y terc-butilo.

- 30 *Haloalquilo inferior*: El término "haloalquilo inferior" se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ lineal o ramificado que está sustituido con uno o más átomos de halógeno.

- Opcionalmente sustituido*: Como se describe en el presente documento, los compuestos de la invención pueden contener restos "opcionalmente sustituidos". En general, el término "sustituido", ya esté precedido o no por el
- 35 término "opcionalmente", significa que se reemplazan uno o más hidrógenos del resto designado con un sustituyente adecuado. A menos que se indique otra cosa, un grupo "opcionalmente sustituido" puede tener un sustituyente adecuado en cada posición sustituible del grupo, y cuando más de una posición en una estructura dada puede estar sustituida con más de un sustituyente seleccionado entre un grupo especificado, el sustituyente puede ser el mismo o diferente en cada posición. Las combinaciones de sustituyentes previstas por la presente invención son preferentemente aquellas que dan como resultado la formación de compuestos estables o químicamente factibles. El
- 40 término "estable", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que no están alterados de forma sustancial cuando se los somete a condiciones para permitir su producción, detección y, en determinadas realizaciones, su recuperación, purificación y uso para uno o más de los fines desvelados en el presente documento.

- 45 A menos que se indique otra cosa, los sustituyentes monovalentes adecuados en un átomo de carbono sustituible de un grupo "opcionalmente sustituido" son independientemente halógeno; -(CH₂)₀₋₄R°; -(CH₂)₀₋₄OR°; -O(CH₂)₀₋₄R°; -O-(CH₂)₀₋₄C(O)OR°; -(CH₂)₀₋₄CH(OR°)₂; -(CH₂)₀₋₄SR°; -(CH₂)₀₋₄Ph, que puede sustituirse con R°; -(CH₂)₀₋₄O(CH₂)₀₋₁Ph que puede sustituirse con R°; -CH=CHPh, que puede sustituirse con R°; -(CH₂)₀₋₄O(CH₂)₀₋₁-piridilo que puede sustituirse con R°; -NO₂; -CN; -N₃; -(CH₂)₀₋₄N(R°)₂; -(CH₂)₀₋₄N(R°)C(O)R°; -N(R°)C(S)R°; -(CH₂)₀₋₄N(R°)C(O)NR°₂; -
- 50 N(R°)C(S)NR°₂; -(CH₂)₀₋₄N(R°)C(O)OR°; -N(R°)N(R°)C(O)R°; -N(R°)N(R°)C(O)NR°₂; -N(R°)N(R°)C(O)OR°; -(CH₂)₀₋₄C(O)R°; -C(S)R°; -(CH₂)₀₋₄C(O)OR°; -(CH₂)₀₋₄C(O)SR°; -(CH₂)₀₋₄C(O)OSiR°₃; -(CH₂)₀₋₄OC(O)R°; -OC(O)(CH₂)₀₋₄SR-, SC(S)SR°; -(CH₂)₀₋₄SC(O)R°; -(CH₂)₀₋₄C(O)NR°₂; -C(S)NR°₂; -C(S)SR°; -SC(S)SR°; -(CH₂)₀₋₄OC(O)NR°₂; -C(O)N(OR°)R°; -C(O)C(O)R°; -C(O)CH₂C(O)R°; -C(NOR°)R°; -(CH₂)₀₋₄SSR°; -(CH₂)₀₋₄S(O)₂R°; -(CH₂)₀₋₄S(O)₂OR°; -(CH₂)₀₋₄OS(O)₂R°; -S(O)₂NR°₂; -(CH₂)₀₋₄S(O)R°; -N(R°)S(O)₂NR°₂; -N(R°)S(O)₂R°; -N(OR°)R°; -C(NH)NR°₂; -
- 55 P(O)₂R°; -P(O)R°₂; -OP(O)R°₂; -OP(O)(OR°)₂; SiR°₃; -(alquileo C₁₋₄ lineal o ramificado)C(O)O-N(R°)₂; o -(alquileo C₁₋₄ lineal o ramificado)C(O)O-N(R°)₂, en los que cada R° puede sustituirse como se define a continuación y es independientemente hidrógeno, alifático C₁₋₆, -CH₂Ph, -O(CH₂)₀₋₁Ph, -CH₂-(anillo de heteroarilo de 5-6 miembros), o un anillo de 5-6 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o, a pesar de la definición anterior, dos apariciones
- 60 independientes de R°, tomadas junto con su átomo o átomos intermedios, forman un anillo de 3-12 miembros saturado, parcialmente insaturado, o arilo mono- o biccíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre, que puede sustituirse como se define a continuación.

- A menos que se indique otra cosa, los sustituyentes monovalentes adecuados de R° (o el anillo formado tomando
- 65 dos apariciones independientes de R° junto con sus átomos intermedios), son independientemente halógeno, -(CH₂)₀₋₂R°, -(haloR°), -(CH₂)₀₋₂OH, -(CH₂)₀₋₂OR°, -(CH₂)₀₋₂CH(OR°)₂; -O(haloR°), -CN, -N₃, -(CH₂)₀₋₂C(O)R°, -(CH₂)₀₋

${}^2\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{C}(\text{O})\text{OR}^*$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{SR}^*$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{SH}$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NHR}^*$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NR}^{*2}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{SiR}^{*3}$, $-\text{OSiR}^{*3}$, $-\text{C}(\text{O})\text{SR}^*$, $-(\text{alquileo } \text{C}_{1-4} \text{ lineal o ramificado})\text{C}(\text{O})\text{OR}^*$, o $-\text{SSR}^*$ en la que cada R^* está sin sustituir, o cuando va precedido por "halo", está sustituido solamente con uno o más halógenos, y se selecciona independientemente entre alifático C_{1-4} , $-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre. Los sustituyentes divalentes adecuados en un átomo de carbono saturado de R^0 incluyen $=\text{O}$ y $=\text{S}$.

A menos que se indique otra cosa, los sustituyentes divalentes adecuados en un átomo de carbono de un grupo "opcionalmente sustituido" incluyen los siguientes: $=\text{O}$, $=\text{S}$, $=\text{NNR}^{*2}$, $=\text{NNHC}(\text{O})\text{R}^*$, $=\text{NNHC}(\text{O})\text{OR}^*$, $=\text{NNHS}(\text{O})_2\text{R}^*$, $=\text{NR}^*$, $=\text{NOR}^*$, $-\text{O}(\text{C}(\text{R}^{*2}))_{2-3}\text{O}-$ o $-\text{S}(\text{C}(\text{R}^{*2}))_{2-3}\text{S}-$, en donde cada aparición independiente de R^* se selecciona de hidrógeno, alifático C_{1-6} que puede estar sustituido como se define a continuación, o un anillo sin sustituir de 5-6 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. A menos que se indique otra cosa, los sustituyentes divalentes adecuados que se unen a carbonos sustituibles próximos de un grupo "opcionalmente sustituido" incluyen: $-\text{O}(\text{CR}^{*2})_{2-3}\text{O}-$, en donde cada aparición independiente de R^* se selecciona de hidrógeno, alifático C_{1-6} que puede estar sustituido como se define a continuación, o un anillo sin sustituir de 5-6 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

A menos que se indique otra cosa, los sustituyentes adecuados del grupo alifático de R^* incluyen halógeno, $-\text{R}^*$, $-(\text{haloR}^*)$, $-\text{OH}$, $-\text{OR}^*$, $-\text{O}(\text{haloR}^*)$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^*$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}^*$, $-\text{NR}^{*2}$, o $-\text{NO}_2$, en los que cada R^* está sin sustituir o cuando está precedido por "halo" se sustituye solo con uno o más halógenos y es, independientemente, alifático C_{1-4} , $-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre.

A menos que se indique otra cosa, los sustituyentes adecuados en un nitrógeno sustituible de un grupo "opcionalmente sustituido" incluyen $-\text{R}^+$, $-\text{NR}^{+2}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^+$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^+$, $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{R}^+$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{R}^+$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^+$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{+2}$, $-\text{C}(\text{S})\text{NR}^{+2}$, $-\text{C}(\text{NH})\text{NR}^{+2}$, o $-\text{N}(\text{R}^+)\text{S}(\text{O})_2\text{R}^+$; en los que cada R^+ es independientemente hidrógeno, alifático C_{1-6} que puede sustituirse como se define a continuación, $-\text{OPh}$ sin sustituir o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo sin sustituir de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno, o azufre, o, a pesar de la definición anterior, dos apariciones independientes de R^+ , tomadas junto con su átomo o átomos intermedios forman un anillo sin sustituir de 3-12 miembros saturado, parcialmente saturado, o de arilo mono- o bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

A menos que se indique otra cosa, los sustituyentes adecuados del grupo alifático de R^+ son independientemente halógeno, $-\text{R}^+$, $-(\text{haloR}^+)$, $-\text{OH}$, $-\text{OR}^+$, $-\text{O}(\text{haloR}^+)$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^+$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}^+$, $-\text{NR}^{+2}$, o $-\text{NO}_2$, en los que cada R^+ está sin sustituir o cuando está precedido por "halo" se sustituye solo con uno o más halógenos y es, independientemente, alifático C_{1-4} , $-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre.

Oral: Las expresiones "administración oral" y "administrado oralmente" como se usan en el presente documento tienen su significado entendido en la técnica que se refiere a la administración oral de un compuesto o composición.

Parenteral: Las expresiones "administración parenteral" y "administrado por vía parenteral" como se usan en el presente documento tienen su significado entendido en la técnica que se refiere a modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, usualmente mediante inyección, e incluyen, sin limitación, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, e inyección e infusión intraesternal.

Parcialmente insaturado: Como se usa en el presente documento, la expresión "parcialmente insaturado" se refiere a un resto anular que incluye al menos un doble o triple enlace. La expresión "parcialmente insaturado" pretende abarcar anillos que tienen sitios múltiples de insaturación, pero no pretende incluir restos arilo o heteroarilo, como se define en el presente documento.

Paciente: Como se usa en el presente documento, el término "paciente", "sujeto" o "sujeto de ensayo" se refiere a cualquier organismo en el que se usa un compuesto proporcionado de acuerdo con la presente invención, por ejemplo, con fines experimentales, de diagnóstico, profilácticos y/o terapéuticos. Los sujetos típicos incluyen animales (por ejemplo, mamíferos tales como ratones, ratas, conejos, primates no humanos, y seres humanos, insectos; gusanos; etc.). En algunas realizaciones, un sujeto puede padecer y/o ser susceptible a una enfermedad, trastorno y/o afección (por ejemplo, una enfermedad neurodegenerativa, una enfermedad, trastorno o afección asociada con la agregación de proteínas, ELA, etc.).

Farmacéuticamente aceptable: La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones, y/o formas de dosificación que se encuentran comprendidos, dentro del alcance de un juicio médico sólido, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de

los seres humanos y animales sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, proporcionado con una relación beneficio/riesgo razonable.

Profármaco: En general, un "profármaco", que es el término como se entiende en la técnica, es una entidad que, cuando se administra a un organismo, se metaboliza en el cuerpo para administrar un agente terapéutico de interés. Se conocen varias formas de "profármacos" en la técnica. Para ejemplos de dichos derivados de profármacos, véase:

- a) *Design of Prodrugs*, editado por H. Bundgaard, (Elsevier, 1985) y *Methods in Enzymology*, 42:309-396, editado por K. Widder, *et al.* (Academic Press, 1985);
- b) A Textbook of Drug Design and Development, editado por Krogsgaard-Larsen;
- c) Bundgaard, Capítulo 5 "Design and Application of Prodrugs", de H. Bundgaard, págs. 113-191 (1991);
- d) Bundgaard, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 8: 1-38 (1992);
- e) Bundgaard, *et al.*, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 77:285 (1988); y
- f) Kakeya, *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.*, 32:692 (1984).

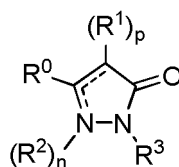
Los métodos y estructuras que se describen en el presente documento relacionados con los compuestos proporcionados también se aplican sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Grupo protector: La expresión "grupo protector", como se usa en el presente documento, son bien conocidos en la técnica e incluyen los descritos con detalle en *Protecting Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene y P. G. M. Wuts, 3ª edición, John Wiley & Sons, 1999. Los grupos protectores amino incluyen carbamato de metilo, carbamato de etilo, carbamato de 9-fluorenilmetilo (Fmoc), carbamato de 9-(2-sulfo)fluorenilmetilo, carbamato de 9-(2,7-dibromo)fluorenilmetilo, carbamato de 2,7-di-*t*-butil-[9-(10,10-dioxo-10,10,10-tetrahidrotioxanthil)]metilo (DBD-Tmoc), carbamato de 4-metoxifenilo (Phenoc), carbamato de 2,2,2-tricloroetilo (Troc), carbamato de 2-trimetilsililetilo (Teoc), carbamato de 2-feniletilo (hZ), carbamato de 1-(1-adamantil)-1-metiletilo (Adpoc), carbamato de 1,1-dimetil-2-haloetilo, carbamato de 1,1-dimetil-2,2-dibromoetilo (DB-*t*-BOC), carbamato de 1,1-dimetil-2,2,2-tricloroetilo (TCBOC), carbamato de 1-metil-1-(4-bifenil)etilo (Bpoc), carbamato de 1-(3,5-di-*t*-butilfenil)-1-metiletilo (*t*-Bumcoc), carbamato de 2-(2'- y 4'-piridil)etilo (Pyoc), carbamato de 2-(*N,N*-diciclohexilcarboxamido)etilo, carbamato de *t*-butilo (BOC), carbamato de 1-adamantilo (Adoc), carbamato de vinilo (Voc), carbamato de alilo (Alloc), carbamato de 1-isopropilalilo (Ipaoc), carbamato de cinnamilo (Coc), carbamato de 4-nitrocinnamilo (Noc), carbamato de 8-quinolilo, carbamato de *N*-hidroxipiperidinilo, carbamato de alquilditio, carbamato de bencilo (Cbz), carbamato de *p*-metoxibencilo (Moz), carbamato de *p*-nitrobencilo, carbamato de *p*-bromobencilo, carbamato de *p*-clorobencilo, carbamato de 2,4-diclorobencilo, carbamato de 4-metilsulfinilbencilo (MsZ), carbamato de 9-antrilmetilo, carbamato de difenilmetilo, carbamato de 2-metiltoetilo, carbamato de 2-metilsulfonylmetilo, carbamato de 2-(*p*-toluenosulfonyl)etilo, carbamato de [2-(1,3-ditianil)]metilo (Dmoc), carbamato de 4-metiltiofenilo (Mtpc), carbamato de 2,4-dimetiltiofenilo (Bmpc), carbamato de 2-fosfonioetilo (Peoc), carbamato de 2-trifenilfosfonioisopropilo (Ppoc), carbamato de 1,1-dimetil-2-cianoetilo, carbamato de *m*-cloro-*p*-aciloxibencilo, carbamato de *p*-(dihidroxiboril)bencilo, carbamato de 5-benzoisoxazolilmetilo, carbamato de 2-(trifluorometil)-6-cromonilmetilo (Tcroc), carbamato de *m*-nitrofenilo, carbamato de 3,5-dimetoxibencilo, carbamato de *o*-nitrobencilo, carbamato de 3,4-dimetoxi-6-nitrobencilo, carbamato de fenil(*o*-nitrofenil)metilo, carbamato de fenotiazinil-(10)-carbonilo, derivado de *N'*-*p*-toluenosulfonilaminocarbonilo, derivado de *N'*-fenilaminotiocarbonilo, carbamato de *t*-amilo, tiocarbamato de *S*-bencilo, carbamato de *p*-cianobencilo, carbamato de ciclobutilo, carbamato de ciclohexilo, carbamato de ciclopentilo, carbamato de ciclopropilmetilo, carbamato de *p*-deciloxibencilo, carbamato de 2,2-dimetoxycarbonilvinilo, carbamato de *o*-(*N,N*-dimetilcarboxamido)bencilo, carbamato de 1,1-dimetil-3-(*N,N*-dimetilcarboxamido)propilo, carbamato de 1,1-dimetilpropinilo, carbamato de di(2-piridil)metilo, carbamato de 2-furanilmetilo, carbamato de 2-yodoetilo, carbamato de isoborinilo, carbamato de isobutilo, carbamato de isonicotinilo, carbamato de *p*-(*p'*-metoxifenilazo)bencilo, carbamato de 1-metilciclobutilo, carbamato de 1-metilciclohexilo, carbamato de 1-metil-1-ciclopropilmetilo, carbamato de 1-metil-1-(3,5-dimetoxifenil)etilo, carbamato de 1-metil-1-(*p*-fenilazofenil)etilo, carbamato de 1-metil-1-feniletilo, carbamato de 1-metil-1-(4-piridil)etilo, carbamato de fenilo, carbamato de *p*-(fenilazo)bencilo, carbamato de 2,4,6-tri-*t*-butilfenilo, carbamato de 4-(trimetilamonio)bencilo, carbamato de 2,4,6-trimetilbencilo, formamida, acetamida, cloroacetamida, tricloroacetamida, trifluoroacetamida, fenilacetamida, 3-fenilpropanamida, picolinamida, 3-piridilcarboxamida, derivado de *N*-benzoilfenilalanilo, benzamida, *p*-fenilbenzamida, *o*-nitrofenilacetamida, *o*-nitrofenoxiacetamida, acetoacetamida, (*N'*-ditiobenciloxycarbonilamino)acetamida, 3-(*p*-hidroxifenil)propanamida, 3-(*o*-nitrofenil)propanamida, 2-metil-2-(*o*-nitrofenoxi)propanamida, 2-metil-2-(*o*-fenilazofenoxi)propanamida, 4-clorobutanamida, 3-metil-3-nitrobutanamida, *o*-nitrocinnamida, derivado de *N*-acetilmietionina, *o*-nitrobenzamida, *o*-(benzoiloximetil)benzamida, 4,5-difenil-3-oxazolin-2-ona, *N*-ftalimida, *N*-ditiasuccinimida (Dts), *N*-2,3-difenilmaleimida, *N*-2,5-dimetilpirrol, aducto de *N*-1,1,4,4-tetrametildisililazaciclopentano (STABASE), 1,3-dimetil-1,3,5-triazaciclohexan-2-ona 5-sustituida, 1,3-dibencil-1,3,5-triazaciclohexan-2-ona 5-sustituida, 3,5-dinitro-4-piridona 1-sustituida, *N*-metilamina, *N*-alilamina, *N*-[2-(trimetilsilil)etoxi]metilamina (SEM), *N*-3-acetoxipropilamina, *N*-(1-isopropil-4-nitro-2-oxo-3-pirrolin-3-il)amina, sales de amonio cuaternario, *N*-bencilamina, *N*-di(4-metoxifenilmetilamino), *N*-5-dibenzosuberilamina, *N*-trifenilmetilamina (Tr), *N*-[4-metoxifenil]difenilmetilamino (MMTr), *N*-9-fenilfluorenilamina (PhF), *N*-2,7-dicloro-9-fluorenilmetilenoamina, *N*-ferrocenilmetilamino (Fcm), *N'*-óxido de *N*-2-picolilamino, *N*-1,1-dimetiltiometilenoamina, *N*-bencilidenoamina, *N*-*p*-bencilidenoamina, *N*-difenilmetilenoamina, *N*-[(2-piridil)mesitil]metilenoamina, *N*-(*N'*,*N'*-dimetilaminometileno)amina, *N*,*N'*-isopropilidenodiamina, *N*-*p*-nitrobencilidenoamina, *N*-salicolidenamina, *N*-5-

- clorosalicilidenamina, *N*-(5-cloro-2-hidroxifenil)fenilmetilenoamina, *N*-ciclohexilidenoamina, *N*-(5,5-dimetil-3-oxo-1-ciclohexenil)amina, derivado de *N*-borano, derivado de ácido *N*-difenilborónico, *N*-[fenil(pentacarbonilcromo- o tungsteno)carbonil]amina, quelato de *N*-cobre, quelato de *N*-cinc, *N*-nitroamina, *N*-nitrosoamina, *N*-óxido de amina, difenilfosfinamida (Dpp), dimetiltiofosfinamida (Mpt), difeniltiofosfinamida (Ppt), fosforamidatos de dialquilo, fosforamidato de dibencilo, fosforamidato de difenilo, bencenosulfonamida, *o*-nitrobencenosulfenomida (Nps), 2,4-dinitrobencenosulfenomida, pentaclorobencenosulfenomida, 2-nitro-4-metoxibencenosulfenomida, trifenilmetilsulfenomida, 3-nitropiridinasulfenomida (Npys), *p*-toluenosulfonamida (Ts), bencenosulfonamida, 2,3,6-trimetil-4-metoxibencenosulfonamida (Mtr), 2,4,6-trimetoxibencenosulfonamida (Mtb), 2,6-dimetil-4-metoxibencenosulfonamida (Pme), 2,3,5,6-tetrametil-4-metoxibencenosulfonamida (Mte), 4-metoxibencenosulfonamida (Mbs), 2,4,6-trimetilbencenosulfonamida (Mts), 2,6-dimetoxi-4-metilbencenosulfonamida (iMds), 2,2,5,7,8-pentametilcroman-6-sulfonamida (Pmc), metanosulfonamida (Ms), β -trimetilsililetanosulfonamida (SES), 9-antracenosulfonamida, 4-(4',8'-dimetoxinaftilmetil)bencenosulfonamida (DNMBS), bencilsulfonamida, trifluorometilsulfonamida, y fenacilsulfonamida.
- A menos que se indique otra cosa, los ácidos carboxílicos adecuadamente protegidos incluyen además, pero sin limitación, los ácidos carboxílicos protegidos con sililo, alquilo, alquenoilo, arilo, y arilalquilo. Los ejemplos de grupos sililo adecuados incluyen trimetilsililo, trietilsililo, *t*-butildimetilsililo, *t*-butildifenilsililo, triisopropilsililo, y similares. Los ejemplos de grupos alquilo adecuados incluyen metilo, bencilo, *p*-metoxibencilo, 3,4-dimetoxibencilo, tritilo, *t*-butilo, tetrahidropiran-2-ilo. Los ejemplos de grupos alquenoilo adecuados incluyen alilo. Los ejemplos de grupos arilo adecuados incluyen fenilo opcionalmente sustituido, bifenilo, o naftilo. Los ejemplos de grupos arilalquilo adecuados incluyen bencilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, *p*-metoxibencilo (MPM), 3,4-dimetoxibencilo, *O*-nitrobencilo, *p*-nitrobencilo, *p*-halobencilo, 2,6-diclorobencilo, *p*-cianobencilo), y 2- y 4-picolilo.
- A menos que se indique otra cosa, los grupos protectores hidroxilo adecuados incluyen metilo, metoximetilo (MOM), metiltiommetilo (MTM), *t*-butiltiommetilo, (fenildimetilsilil)metoximetilo (SMOM), benciloximetilo (BOM), *p*-metoxibenciloximetilo (PMBM), (4-metoxifenoxi)metilo (*p*-AOM), guaiacolmetilo (GUM), *t*-butoximetilo, 4-penteniloximetilo (POM), siloximetilo, 2-metoxietoximetilo (MEM), 2,2,2-tricloroetoximetilo, bis(2-cloroetoxi)metilo, 2-(trimetilsilil)etoximetilo (SEMOR), tetrahidropiranilo (THP), 3-bromotetrahidropiranilo, tetrahidrotiopiranilo, 1-metoxiciclohexilo, 4-metoxitetrahidropiranilo (MTHP), 4-metoxitetrahidrotiopiranilo, *S,S*-dióxido de 4-metoxitetrahidrotiopiranilo, 1-[(2-cloro-4-metil)fenil]-4-metoxi piperidin-4-ilo (CTMP), 1,4-dioxan-2-ilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotio furanilo, 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahidro-7,8,8-trimetil-4,7-metanobenzofuran-2-ilo, 1-etoxietilo, 1-(2-cloroetoxi)etilo, 1-metil-1-metoxietilo, 1-metil-1-benciloxietilo, 1-metil-1-benciloxi-2-fluoroetilo, 2,2,2-tricloroetilo, 2-trimetilsililetilo, 2-(fenilselenil)etilo, *t*-butilo, alilo, *p*-clorofenilo, *p*-metoxifenilo, 2,4-dinitrofenilo, bencilo, *p*-metoxibencilo, 3,4-dimetoxibencilo, *o*-nitrobencilo, *p*-nitrobencilo, *p*-halobencilo, 2,6-diclorobencilo, *p*-cianobencilo, *p*-fenilbencilo, 2-picolilo, 4-picolilo, *N*-óxido de 3-metil-2-picolilo, difenilmetilo, *p,p'*-dinitrobenzidrido, 5-dibenzosuberilo, trifenilmetilo, α -naftildifenilmetilo, *p*-metoxifenildifenilmetilo, di(*p*-metoxifenil)fenilmetilo, tri(*p*-metoxifenil)metilo, 4-(4'-bromofenaciloxifenil)difenilmetilo, 4,4',4"-tris(4,5-dicloroftalimidofenil)metilo, 4,4',4"-tris(levuliniloiloxifenil)metilo, 4,4',4"-tris(benzoiloxifenil)metilo, 3-(imidazol-1-il)bis(4,4"-dimetoxifenil)metilo, 1,1-bis(4-metoxifenil)-1'-pirenilmetilo, 9-antrilo, 9-(9-fenil)xantenilo, 9-(9-fenil-10-oxo)antrilo, 1,3-benzoditiolan-2-ilo, *S,S*-dióxido de benzoisotiazolilo, trimetilsililo (TMS), trietilsililo (TES), triisopropilsililo (TIPS), dimetilisopropilsililo (IPDMS), dietilisopropilsililo (DEIPS), dimetilhexilsililo, *t*-butildimetilsililo (TBDMS), *t*-butildifenilsililo (TBDPS), tribencilsililo, tri-*p*-xililsililo, trifenilsililo, difenilmetilsililo (DPMS), *t*-butilmetoxifenilsililo (TBMPS), formiato, formiato de benzoilo, acetato, cloroacetato, dicloroacetato, tricloroacetato, trifluoroacetato, metoxiacetato, trifenilmetoxiacetato, fenoxiacetato, *p*-clorofenoxiacetato, 3-fenilpropionato, 4-oxopentanoato (levulinato), 4,4-(etilenditio)pentanoato (levulinoditioacetato), pivaloato, adamantanoato, crotonato, 4-metoxicrotonato, benzoato, *p*-fenilbenzoato, 2,4,6-trimetilbenzoato (mesitoato), alquilcarbonato de metilo, carbonato de 9-fluorenilmetilo (Fmoc), alquilcarbonato de etilo, alquilcarbonato de 2,2,2-tricloroetilo (Troc), carbonato de 2-(trimetilsilil)etilo (TMSEC), etilcarbonato de 2-(fenilsulfonilo) (Psec), etilcarbonato de 2-(trifenilfosfonio) (Peoc), alquilcarbonato de isobutilo, vinil carbonato de alquilo, alquil carbonato de alquilo, *p*-nitrofenil carbonato de alquilo, bencil carbonato de alquilo, *p*-metoxibencilo carbonato de alquilo, 3,4-dimetoxibencilcarbonato de alquilo, *o*-nitrobencil carbonato de alquilo, *p*-nitrobencil carbonato de alquilo, *S*-bencil tiocarbonato de alquilo, carbonato de 4-etoxi-1-naftilo, ditiocarbonato de metilo, 2-yodobenzoato, 4-azidobutirato, 4-nitro-4-metilpentanoato, *o*-(dibromometil)benzoato, 2-formilbencenosulfonato, 2-(metiltiommetoxi)etilo, 4-(metiltiommetoxi)butirato, 2-(metiltiommetoximetil)benzoato, 2,6-dicloro-4-metilfenoxiacetato, 2,6-dicloro-4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenoxiacetato, 2,4-bis(1,1-dimetilpropil)fenoxiacetato, clorodifenilacetato, isobutirato, monosuccinato, (*E*)-metil-2-butenato, *o*-(metoxicarbonil)benzoato, α -naftoato, nitrato, *N,N,N',N'*-tetrametilfosforodiamidato de alquilo, *N*-fenilcarbamato de alquilo, borato, dimetilfosfinotioilo, 2,4-dinitrofenilsulfenato de alquilo, sulfato, metanosulfonato (mesilato), sulfonato de bencilo, y tosilato (Ts). Para proteger los 1,2- o 1,3-dioles, los grupos protectores incluyen metileno acetal, etilideno acetal, 1-*t*-butiletilideno cetal, 1-feniletilideno cetal, (4-metoxifenil)etilideno acetal, 2,2,2-tricloroetilideno acetal, acetónido, ciclopentilideno cetal, ciclohexilideno cetal, cicloheptilideno cetal, bencilideno acetal, *p*-metoxibencilideno acetal, 2,4-dimetoxibencilideno cetal, 3,4-dimetoxibencilideno acetal, 2-nitrobencilideno acetal, metoximetileno acetal, etoximetileno acetal, dimetoximetileno orto éster, 1-metoxietilideno orto éster, 1-etoxietilideno orto éster, 1,2-dimetoxietilideno orto éster, α -metoxibencilideno orto éster, derivado de 1-(*N,N*-dimetilamino)etilideno, derivado de α -(*N,N'*-dimetilamino)bencilideno, 2-oxaciclopentilideno orto éster, grupo di-*t*-butilsilileno (DTBS), derivado de 1,3-(1,1,3,3-tetraisopropildisiloxanilideno) (TIPDS), derivado de tetra-*t*-butoxidisiloxan-1,3-diilideno (TBDS), cíclicos carbonatos, boronatos cíclicos, boronato de etilo, y boronato de fenilo.

Proteína: Como se usa en el presente documento, el término "proteína" se refiere a un polipéptido (es decir, una cadena de al menos dos aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos). En algunas realizaciones, las proteínas incluyen solamente aminoácidos de origen natural. En algunas realizaciones, las proteínas incluyen uno o más aminoácidos de origen no natural (por ejemplo, restos que forman uno o más enlaces peptídicos con aminoácidos adyacentes). En algunas realizaciones, uno o más residuos en una cadena de proteínas contiene un resto no aminoacídico (por ejemplo, un glicano, etc.). En algunas realizaciones, una proteína incluye más de una cadena peptídica, por ejemplo, unida por uno o más enlaces disulfuro o asociada por otros medios. En algunas realizaciones, las proteínas contienen L-aminoácidos, D-aminoácidos, o ambos; en algunas realizaciones, las proteínas contienen una o más modificaciones de aminoácidos o análogos conocidos en la técnica. Las modificaciones útiles incluyen, *por ejemplo*, acetilación terminal, amidación, metilación, etc. El término "péptido" se usa generalmente para referirse a un polipéptido que tiene una longitud de menos de aproximadamente 100 aminoácidos, menos de aproximadamente 50 aminoácidos, menos de 20 aminoácidos, o menos de 10 aminoácidos. En algunas realizaciones, las proteínas son anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, porciones biológicamente activas de los mismos, y/o porciones características de los mismos.

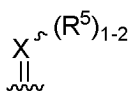
Compuesto proporcionado: El término "compuesto proporcionado", como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto de fórmula I:



I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:
p es 1-2;

== designa un enlace sencillo o doble enlace, en la que un = es un enlace sencillo y un == es un doble enlace; cada R^1 es independientemente -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -N(R)₂, -CN, -NO₂-NRC(O)R, -NRC(O)(CO)R, -NRC(O)N(R)₂, -NRC(O)OR, -N(R)S(O)R, -N(R)SO₂R, -N(R)SO₂OR, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, o un anillo opcionalmente sustituido saturado de 3-8 miembros, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre; o



dos grupos R^1 se toman juntos para formar , en la que:

X es N o C;

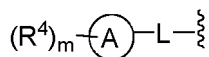
cada R^5 es independientemente -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -N(R)₂, -CN, -NO₂-NRC(O)R, -NRC(O)(CO)R, -NRC(O)N(R)₂, -NRC(O)OR, -N(R)S(O)R, -N(R)SO₂R, -N(R)SO₂OR, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, o un anillo de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre, en donde R^5 está opcionalmente sustituido con 1-5 grupos R;

cada R es, de forma independiente, hidrógeno, halógeno, alifático C₁₋₂₀ opcionalmente sustituido, heteroalifático C₁₋₂₀ opcionalmente sustituido, fenilo opcionalmente sustituido, arilalquilo opcionalmente sustituido, o dos R en el mismo nitrógeno se toman juntos para formar un anillo de 5-6 miembros saturado, parcialmente saturado, o de arilo que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, y azufre, o dos R en el mismo carbono o en carbonos adyacentes se toman opcionalmente juntos para formar un anillo de 3-6 miembros saturado cicloalquilo o condensado monocíclico que contiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre;

n es 0-1;

cada R^2 y R^3 es independientemente -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, un grupo protector amino adecuado, o un anillo opcionalmente sustituido de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre;

R^0 es R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, N(R)₂, -NRC(O)R, -NRC(O)(CO)R, -NRC(O)N(R)₂, -NRC(O)OR, -N(R)S(O)R, -N(R)SO₂R, -N(R)SO₂OR, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, o



, en donde:

5 L es un enlace de valencia o una cadena hidrocarburo bivalente saturado o parcialmente insaturado C₁₋₁₀, en donde 1-4 unidades de metileno de L se reemplazan opcional e independientemente por -O-, -S-, -C(O)-, -OC(O)-, -C(O)O-, -OC(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -OSO₂O-, -N(R)C(O)-, -C(O)NR-, -N(R)C(O)O-, -OC(O)NR-, -N(R)C(O)NR-, -N(R⁶)- o -Cy-, y en donde L está opcionalmente sustituido con 1-4 grupos R; en donde:

10 cada -Cy- es independientemente un anillo bivalente opcionalmente sustituido saturado, parcialmente insaturado, o aromático monocíclico o bicíclico seleccionado de un arileno de 6-10 miembros, un heteroarileno de 5-10 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, nitrógeno o azufre, un carbociclileno de 3-8 miembros, o un heterociclileno de 3-10 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, nitrógeno, o azufre;

15 R⁶ es -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, un grupo protector amino adecuado, o un anillo opcionalmente sustituido de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre;

20 el Anillo A es un anillo de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que contiene opcionalmente 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo bicíclico que contiene opcionalmente 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, y en donde el Anillo A está opcionalmente sustituido con m apariciones de R⁴;

m es 0-5; y

30 cada R⁴ es independientemente -R, -OR, -SR, -CN, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -N(R)₂, -NO₂, -NRC(O)R, -NRC(O)(CO)R, -NRC(O)N(R)₂, -NRC(O)OR, -N(R)S(O)R, -N(R)SO₂R, -N(R)SO₂OR, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, o un anillo de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que contiene opcionalmente 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

35 En algunas realizaciones, el "compuesto proporcionado" puede existir como profármacos y/o ésteres de compuestos de fórmula I. Como se analiza en el presente documento, los compuestos proporcionados pueden proporcionarse en forma de sal. En particular, en algunas realizaciones, se proporciona un compuesto proporcionado como una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula I.

40 Los compuestos proporcionados pueden existir en formas geométricas o estereoisoméricas particulares. La presente invención contempla todos estos compuestos, incluyendo isómeros *cis* y *trans*, enantiómeros R y S, diastereómeros, (D)-isómeros, (L)-isómeros, las mezclas racémicas de los mismos, y otras mezclas de los mismos, que se encuentran dentro del alcance de la invención. Pueden estar presentes átomos de carbono asimétricos adicionales en un sustituyente tal como un grupo alquilo. Todos estos isómeros, así como mezclas racémicas de los mismos, pretenden incluirse en esta invención. Es decir, en algunas realizaciones, la presente invención proporciona isómeros individuales aislados. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona mezclas de dos o más isómeros. En ciertas realizaciones, la presente invención se refiere a un compuesto proporcionado representado por cualquiera de las estructuras descritas en el presente documento, en donde el compuesto se proporciona como un único estereoisómero.

50 Los términos sal de adición de ácidos o bases comprenden también los hidratos y las formas de adición de disolvente que los compuestos son capaces de formar. Los ejemplos de dichas formas son, *por ejemplo*, hidratos, alcoholatos y similares.

55 Los equivalentes contemplados de los compuestos descritos anteriormente incluyen compuestos que de otro modo corresponderían a los mismos, y que tienen las mismas propiedades generales de los mismos, en los que se realizan una o más variaciones simples de sustituyentes que no afectan adversamente a la eficacia del compuesto. En general, los compuestos de la presente invención pueden prepararse por los métodos ilustrados en los esquemas de reacción generales como, por ejemplo, descritos a continuación, o mediante modificaciones de los mismos, usando materiales de partida fácilmente disponibles, reactivos y procedimientos de síntesis convencionales. En estas reacciones, también es posible hacer uso de variantes, que son en sí mismas conocidas, pero que no se mencionan aquí.

Formas estereoquímicamente isoméricas: La expresión "formas estereoquímicamente isómeras", como se usa en el presente documento, se refiere a diferentes compuestos formados por los mismos átomos unidos por la misma

secuencia de enlaces pero que tienen diferentes estructuras tridimensionales que no son intercambiables. En algunas realizaciones de la presente invención, las composiciones químicas pueden proporcionarse como preparaciones puras de formas estereoquímicamente isoméricas individuales de un compuesto; en algunas realizaciones, se pueden proporcionar composiciones químicas que son o incluyen mezclas de dos o más formas estereoquímicamente isoméricas del compuesto. En ciertas realizaciones, dichas mezclas contienen cantidades iguales de diferentes formas estereoquímicamente isoméricas; en determinadas realizaciones, dichas mezclas contienen diferentes cantidades de al menos dos formas estereoquímicamente isómeras diferentes. En algunas realizaciones, una composición química puede contener todos los diastereómeros y/o enantiómeros del compuesto. En algunas realizaciones, una composición química puede contener menos de todos los diastereómeros y/o enantiómeros de un compuesto. A menos que se indique otra cosa, la presente invención abarca todas las formas estereoquímicamente isoméricas de compuestos relevantes, ya sea en forma pura o en mezcla entre sí. Si se desea un enantiómero particular de un compuesto de la presente invención, se puede preparar, por ejemplo, mediante síntesis asimétrica, o mediante derivación con un auxiliar quiral, donde la mezcla diastereomérica resultante se separa y el grupo auxiliar se escinde para proporcionar los enantiómeros deseados puros. Como alternativa, cuando la molécula contiene un grupo funcional básico, tal como amino, las sales diastereoméricas se forman con un ácido ópticamente activo apropiado, y se resuelven, por ejemplo, por ejemplo, mediante cristalización fraccionada.

Sustancialmente: Como se usa en el presente documento, El término "sustancialmente" se refiere a la condición cualitativa de exhibir la extensión o el grado total o casi total de una característica o propiedad de interés. Un experto en las técnicas biológicas entenderá que los fenómenos biológicos y químicos rara vez, o nunca, llegan a completarse y/o avanzan hasta su finalización o logran o evitan un resultado absoluto. Por lo tanto, el término "sustancialmente" se usa en el presente documento para capturar la posible falta de integridad inherente a muchos fenómenos biológicos y/o químicos.

Que padece: Un individuo que "padece" una enfermedad, trastorno y/o afección ha sido diagnosticado y/o muestra uno o más síntomas de una enfermedad, trastorno y/o afección.

Susceptible a: Un individuo que es "susceptible a" una enfermedad, trastorno y/o afección es aquella que tiene un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad, trastorno y/o afección que un miembro del público en general. En algunas realizaciones, un individuo que es susceptible a una enfermedad, trastorno y/o afección puede no haber sido diagnosticado con la enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas realizaciones, un individuo que es susceptible a una enfermedad, trastorno y/o afección puede presentar síntomas de la enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas realizaciones, un individuo que es susceptible a una enfermedad, trastorno y/o afección puede no presentar síntomas de la enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas realizaciones, un individuo que es susceptible a una enfermedad, trastorno y/o afección desarrollará la enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas realizaciones, un individuo que es susceptible a una enfermedad, trastorno y/o afección no desarrollará la enfermedad, trastorno y/o afección.

Formas tautoméricas: La expresión "formas tautoméricas", como se usa en el presente documento, se usa para describir diferentes formas isoméricas de compuestos orgánicos que son aptos para una interconversión fácil. Los tautómeros pueden caracterizarse por la migración formal de un átomo de hidrógeno o protón, acompañado por un cambio de un enlace sencillo y un doble enlace adyacente. En algunas realizaciones, los tautómeros pueden ser resultado de la tautomería prototrópica (es decir, la reubicación de un protón). En algunas realizaciones, los tautómeros pueden ser resultado de la tautomería de valencia (es decir, la reorganización rápida de los electrones de enlace). Todas estas formas tautoméricas están destinadas a incluirse dentro del alcance de la presente invención. En algunas realizaciones, las formas tautoméricas de un compuesto existen en equilibrio móvil entre sí, de manera que los intentos de preparar las sustancias separadas dan como resultado la formación de una mezcla. En algunas realizaciones, las formas tautoméricas de un compuesto son compuestos separables y aislables. En algunas realizaciones de la presente invención, se pueden proporcionar composiciones químicas que son o incluyen preparaciones puras de una sola forma tautomérica de un compuesto. En algunas realizaciones de la presente invención, las composiciones químicas pueden proporcionarse como mezclas de dos o más formas tautoméricas de un compuesto. En ciertas realizaciones, dichas mezclas contienen cantidades iguales de diferentes formas tautoméricas; en determinadas realizaciones, dichas mezclas contienen diferentes cantidades de al menos dos formas tautoméricas diferentes de un compuesto. En algunas realizaciones de la presente invención, las composiciones químicas pueden contener todas las formas tautoméricas de un compuesto. En algunas realizaciones de la presente invención, las composiciones químicas pueden contener menos que todas las formas tautoméricas de un compuesto. En algunas realizaciones de la presente invención, las composiciones químicas pueden contener una o más formas tautómeras de un compuesto en cantidades que varían con el tiempo como resultado de la interconversión. A menos que se indique otra cosa, la presente invención incluye todas las formas tautómeras de compuestos relevantes, ya sea en forma pura o en mezcla entre sí.

Agente terapéutico: Como se usa en el presente documento, la expresión "agente terapéutico" se refiere a cualquier agente que, cuando se administra a un sujeto, tiene un efecto terapéutico y/o provoca un efecto biológico y/o farmacológico deseado. En algunas realizaciones, un agente terapéutico es cualquier sustancia que puede usarse para aliviar, mejorar, mitigar, inhibir, prevenir, retrasar la aparición de, reducir la gravedad de y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o características de una enfermedad, trastorno y/o afección.

Cantidad terapéuticamente eficaz: Como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad de una sustancia (por ejemplo, un agente terapéutico, composición y/o formulación) que provoca una respuesta biológica deseada cuando se administra como parte de un régimen terapéutico. En algunas realizaciones, una cantidad terapéuticamente eficaz de una sustancia es una cantidad que es suficiente, cuando se administra a un sujeto que padece o es susceptible a una enfermedad, trastorno y/o afección, para tratar, diagnosticar, prevenir y/o retrasar la aparición de la enfermedad, trastorno y/o afección. Como apreciarán las personas normalmente expertas en la materia, la cantidad eficaz de una sustancia puede variar dependiendo de factores tales como el criterio de valoración biológico deseado, la sustancia a administrar, la célula o tejido diana, etc. Por ejemplo, la cantidad eficaz de compuesto en una formulación para tratar una enfermedad, trastorno y/o afección es la cantidad que alivia, mejora, mitiga, inhibe, previene, retrasa la aparición de, reduce la gravedad y/o reduce la incidencia de uno o más síntomas o características de la enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas realizaciones, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz en una sola dosis; en algunas realizaciones, se requieren dosis unitarias múltiples para administrar una cantidad terapéuticamente eficaz. En algunas realizaciones, se puede considerar que una composición incluye una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado cuando incluye una cantidad que es eficaz cuando se administra como parte de un régimen de dosificación, incluso si es una sola dosis (es decir, solo la cantidad en la composición) en solitario no se espera que sea eficaz.

Tratar: Como se usa en el presente documento, el término "tratar", "tratamiento", o "que trata" se refiere a cualquier compuesto para su uso para aliviar parcial o completamente, mejorar, mitigar, inhibir, retrasar la aparición de, reducir la gravedad de y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o características de una enfermedad, trastorno y/o afección; en algunas realizaciones, el tratamiento previene uno o más síntomas de características de la enfermedad, trastorno o afección. El tratamiento se puede administrar a un sujeto que no muestre signos de una enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas realizaciones, el tratamiento se puede administrar a un sujeto que presenta solamente signos tempranos de la enfermedad, trastorno y/o afección, por ejemplo, con el propósito de disminuir el riesgo de desarrollar una patología asociada con la enfermedad, trastorno y/o afección.

Sistémico: Las expresiones "administración sistémica", "administrada por vía sistémica", "administración periférica" y "administrado periféricamente" como se usan en el presente documento tienen su significado entendido en la técnica que se refiere a la administración de un compuesto o composición de tal forma que entra en el sistema del receptor.

Insaturado: El término "insaturado", como se usa en el presente documento, significa un resto que tiene una o más unidades de insaturación.

Para los fines de la presente invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la tabla periódica de los elementos, versión CAS, *Handbook of Chemistry and Physics*, 67ª Ed., 1986-87, cubierta interior.

Los métodos y estructuras descritos en el presente documento en relación con compuestos y composiciones de la invención también se aplican a las sales de adición de ácidos o bases farmacéuticamente aceptables y todas las formas estereoisoméricas de estos compuestos y composiciones.

Breve descripción del dibujo

Figura 1. La inhibición de proteasoma es selectivamente tóxica para células PC12 que expresan G93A SOD1 mutante. La supervivencia celular se determinó usando la tinción de viabilidad calceína-AM. Transcurridas 24 horas, el tratamiento con MG132 100 nM no muestra toxicidad contra ninguna de las líneas celulares, aunque se observan grandes cantidades de agregados en las líneas celulares G85R SOD1 (panel A). El tratamiento con MG132 100 nM es selectivamente tóxico para la línea celular G93A SOD1 después de 48 horas (panel B). El lavado de las células a las 24 horas para eliminar el compuesto no invierte la toxicidad a la línea celular G93A SOD1, lo que sugiere que un evento tóxico irreversible, potencialmente relacionado con la agregación de G93A SOD1, se ha desencadenado antes del lavado (panel C).

Figura 2. Radicol protege las células PC12 que expresan G93A SOD1 mutante de los efectos tóxicos del inhibidor de proteasoma MG132.

Figura 3. Agregados de SOD1 mutantes pero no de tipo salvaje en células tratadas con el inhibidor de proteasoma MG132. Micrografías de fluorescencia de células PC12 que expresan proteínas SOD1 de marcadas con YFP de tipo salvaje (WT), G93A mutantes (G93A), y G85R mutantes (G85R). Las micrografías muestran los efectos del tratamiento de las células con MG132 200 nM durante 24 horas (las células no tratadas se muestran en recuadros a la izquierda). Las células que expresan SOD1 de tipo salvaje no se ven afectadas, mientras que las células que expresan SOD1 mutante muestran grandes agregados perinucleares.

Figura 4. Radicol disminuye la agregación de SOD1 mutante inducida por el inhibidor de proteasoma MG132. Micrografías de fluorescencia de células PC12 que expresan proteínas marcadas con YFP G93A SOD1 (izquierda) o G85R SOD1 (derecha). Las células no se trataron, se trataron con MG132 200 nM para inducir la agregación de proteínas, o se trataron conjuntamente con MG132 y radicol durante 24 horas. Sin tratamiento con radicol, las

células muestran grandes agregados perinucleares. Los agregados se reducen en las células tratadas con radicicol. Si bien el comportamiento de las dos líneas celulares es generalmente similar, las células G85R SOD1 muestran agregados "más brillantes" y más contraste entre los agregados y el citoplasma.

- 5 *Figura 5.* Detección automatizada de agregados de SOD1 mutantes. Izquierda: Micrografías de fluorescencia de microscopio compuesto de las mismas células G85R SOD1 usando el filtro GFP configurado para obtener imágenes de los agregados SOD1-YFP (arriba) y el filtro TRITC configurado para formar imágenes de la membrana plasmática iT-WGA (abajo). Derecha: Detección de agregados de Cellomics Arrayscan 3.5 usando el software detector de puntos para obtener imágenes de células con Image-iT en el canal 1 y los agregados SOD1-YFP en el canal 2. Los
10 datos se expresan como recuento puntual (agregados) por objeto (celda).

- Figura 6.* Las arilsulfanil pirazolonas no inducen la respuesta al choque térmico en los ensayos del promotor Hsp 70. Las células HeLa hse-luc se trataron con arilsulfanil pirazolonas (1 μ M-100 μ M), celestrol (1 μ M-5 μ M) o CdC12 (10 μ M-100 μ M), durante 8 h, y la activación de la respuesta al choque térmico determinada por la actividad del promotor HSP70.
15

- Figura 7.* Las arilsulfanil pirazolonas evitan la acumulación de Ubi-YFP inducida por MG132. Las células HeLa se cotransfectaron con plásmidos Ubi-YFP y CMV-CFP, se trataron con MG132 1 μ M y arilsulfanil pirazolonas 25 μ M y la intensidad de fluorescencia de Ubi-YFP se normalizó a CFP.
20

Figura 8. Curva estándar del cerebro para CMB-087229.

Figura 9. Curva estándar de plasma para CMB-087229.

- 25 *Figura 10.* Curva estándar de plasma para CMB-087229.

Figura 11. Estructuras de compuestos usados en el estudio de estabilidad microsomal de hígado de rata de TC-I-16.

- Figura 12.* Estabilidad microsomal de hígado de rata dependiente de HADPH con minaprina durante 0-20 minutos.
30

Figura 13. Estabilidad microsomal de hígado de rata dependiente de HADPH con TC-I-165 durante 0-20 minutos.

- Figura 14.* Estructuras de los candidatos de metabolito TC-I-165 (metabolito candidato de sulfóxido TC-II-68 y metabolito candidato de sulfona TC-II-70).
35

Figura 15. Traza por HPLC de TC-I-165 [0 min NADPH (tubo 1)].

- Figura 16.* Traza por HPLC de TC-I-165 [5 min NADPH (tubo 2)] y un nuevo pico con un tiempo de retención de 5.900 minutos.
40

Figura 17. Traza por HPLC de TC-I-165 [60 min NADPH (tubo 1)] y un nuevo pico con un tiempo de retención de 5,917 minutos.

- Figura 18.* Traza por HPLC de TC-II-68 [solución estándar 10 μ M (tubo 1)] y un nuevo pico con un tiempo de retención de 5,933 minutos.
45

Figura 19. Traza por HPLC de TC-II-70 [solución estándar 10 μ M (tubo 2)] y un nuevo pico con un tiempo de retención de 11,000 minutos.

- 50 *Figura 20.* Estructuras de compuestos usados en el estudio de estabilidad microsomal de hígado de rata de TC-II-70.

Figura 21. Estudio de estabilidad microsomal de hígado de rata dependiente de NADPH de TC-II-70.

- Figura 22.* Estudio de estabilidad microsomal de hígado de rata dependiente de NADPH de minaprina.
55

Figura 23. Estudio de estabilidad microsomal de hígado de rata dependiente de NADPH de warfarina.

Figura 24. Arilsulfanil pirazolonas activas

- 60 *Figura 25.* SAR preliminar de arilsulfanilpirazolonas seleccionadas.

Figura 26. Síntesis de arilsulfanilpirazolonas (Esquema 1).

Figura 27. Síntesis de arilsulfanilpirazolonas (Esquema 2).
65

Figura 28. Curva de supervivencia de Kaplan-Meier para la respuesta a la dosis usando CMB-087229 en ratones

G93A SOD1 con ELA. Se observó una extensión del 13,4% en la supervivencia a la dosis más alta (20 mg/kg) con significación en $p < 0,05$.

Descripción detallada de ciertas realizaciones de la invención

Los desequilibrios en la homeostasis de proteínas a menudo se asocian con un mal plegamiento de proteínas y/o cambios conformacionales de proteínas que conducen a la agregación de proteínas y la formación de cuerpos de inclusión de proteínas. Muchas enfermedades neurodegenerativas, incluyendo las enfermedades de repetición de poliglutamina (polyQ), enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedades priónicas y ELA, se caracterizan por la aparición de proteínas dañadas y agregadas, incluyendo huntingtina, proteínas poliQ, fibrillas del prión amiloide A (PrP y Sup35), y SOD1 mutante (Taylor *et al.*, *Science* **2002**, 296(5575), 1991-1995; Ross, C.A., *Neuron*. **1997**, 19(6), 1147-1150; Perutz, M.F., *Brain Res. Bull.* **1999**, 50(5-6), 467; y Kopito *et al.*, *Nat. Cell Bio.* **2000**, 2(11), E207-E209). El hecho de que tales proteínas diversas formen agregados en pacientes con distintas enfermedades neurológicas sugiere que una etiología molecular común puede contribuir a la neuropatología en estas enfermedades y que, quizás, el mal plegamiento de proteínas y la posterior aparición de agregados de proteínas son eventos tempranos que desempeñan un papel en la toxicidad neuronal en múltiples enfermedades neurológicas humanas (Orr, H.T., *Genes. Dev.* **2001**, 15(8), 925-932; Ikeda *et al.*, *Nat. Genet.* **1996**, 13(2), 196-202; DiFiglia *et al.*, *Science* **1997**, 277(5334), 1990-1993; Davies *et al.*, *Cell* **1997**, 90(3), 537-548; y Koo *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **1999**, 96(18), 9989-9990).

Un modelo para la base molecular de estas enfermedades neurodegenerativas es que los agregados de proteínas insolubles se asocian e interfieren con la actividad de otras proteínas celulares solubles críticas, y que la pérdida de función de estas proteínas diversas tiene consecuencias negativas graves sobre la función celular. Las proteínas afectadas podrían incluir ubiquitina, componentes del proteasoma, componentes del citoesqueleto, factores de transcripción (TBP (es decir, proteína de unión a TATA), EYA (es decir, proteína Eyes Absent), CBP (es decir, proteína de unión a CREB), y chaperonas moleculares Hsc-70, Hsp-70, Hdj-1, y Hdj-2 (Davies *et al.*, *Cell* **1997**, 90(3), 537-548; Ross, C.A., *Neuron*. **2002**, 35(5), 819-822; Cummings *et al.*, *Nat. Genet.* **1998**, 19(2) 148-154; Perez *et al.*, *J. Cell Biol.* **1998**, 143(6), 1457-1470; Kazantsev *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **1999**, 96(20), 11404-11409; Jana *et al.*, *Hum. Mol. Genet.* **2001**, 10(10), 1049-1059; Nucifora *et al.*, *Science* **2001**, 291(5512) 2423-2428; y Suhr *et al.*, *J. Cell Biol.* **2001**, 153(2), 283-294). Estudios recientes demostraron que TBP y CBP están irreversiblemente secuestrados en agregados de polyQ/huntington, mientras que la chaperona Hsp70 se asocia transitoriamente con la superficie (Chai *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **2002**, 99(14), 9310-9315; Kim *et al.*, *Nat. Cell. Biol.* **2002**, 4(10), 826-31). El secuestro de CBP en agregados de poliglutamina está directamente relacionado con la pérdida de la función celular en células neuronales, y la sobreexpresión de CBP suprimió la toxicidad de poliQ (Nucifora *et al.*, *Science* **2001**, 291(5512) 2423-2428). Además, la expresión de proteínas de poliglutamina en *C. elegans* hace que otras proteínas metaestables pierdan su función. Por lo tanto, una única proteína propensa a la agregación puede ser capaz de desestabilizar la homeostasis de proteínas en células que de otro modo serían normales (Gidalevitz *et al.*, *Science* **2006**, 311(5766) 1471-1474). Estos estudios indican que el secuestro de proteínas celulares solubles esenciales en agregados de proteínas insolubles podría desempeñar un papel significativo en la neuropatología y neurotoxicidad en ELA y enfermedades relacionadas.

También es posible que el mecanismo o mecanismos celulares que eliminan proteínas mal plegadas o dañadas (Morimoto, R.I., *Cell* **2002**, 110(3), 281-284; Horwich *et al.*, *Cell* **1997**, 89(4), 499-510; y Nollen *et al.*, *J. Cell. Sci.* **2002**, 115(Pt 14) 2809-2816) se superen en enfermedades neurodegenerativas debido a la presencia de abundantes agregados proteicos. La actividad de las chaperonas moleculares es uno de los mecanismos más importantes para prevenir y/o rescatar el mal plegamiento y la agregación de proteínas. Las chaperonas moleculares son una familia de proteínas grande y diversa que incluye Hsp104, Hsp90, Hsp70, dnaJ (Hsp40), inmunofilinas (Cyp40, FKBP), Hsp60 (chaperoninas), las pequeñas proteínas de choque térmico, y los componentes del complejo del aporeceptor esteroideo (p23, Hip, Hop, Bagl) (Gething, M.J., *Nature* **1997**, 388(6640) 329-331; Bakau, B., *Amsterdam: Harwood Academic Publishers.* **1999**, 690). Aseguran un plegamiento de proteínas adecuado evitando que las superficies hidrófobas interactúen entre sí, mejorando el replegamiento de proteínas y, cuando sea necesario, estimulando la degradación de proteínas para eliminar las proteínas mal plegadas que tienden a agregarse (Horwich *et al.*, *Cell* **1997**, 89(4), 499-510; Bakau, B., *Amsterdam: Harwood Academic Publishers.* **1999**, 690; Schroder *et al.*, *Embo. J.* **1993**, 12(11), 4137-4144; Parsell *et al.*, *Nature* **1994**, 372(6505), 475-478; Hartl, F.U., *Nature* **1996**, 381(6583) 571-579; y Morimoto *et al.*, *Nat. Biotechnol.* **1998**, 16(9), 833-838). Por consiguiente, la sobreexpresión de chaperonas moleculares puede suprimir la toxicidad de la huntingtina, α -sinucleína y SOD1 mutantes (Sakahira *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **2002**, 99 Suppl 4, 6412-6418; Stenoien *et al.*, *Hum. Mol. Genet.* **1999**, 8(5), 731-741; Warrick *et al.*, *Nat. Genet.* **1999**, 23(4), 425-428; Carmichael *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **2000**, 97(17), 9701-9705; Takeuchi *et al.*, *Brain Res.* **2002**, 949(1-2), 11-22; Auluck *et al.*, *Science* **2002**, 295 (5556), 865-868; y Bailey *et al.*, *Hum. Mol. Genet.* **2002**, 11(5), 515-523). Recientemente, se identificaron proteínas que no son chaperonas que también suprimen la toxicidad asociada con la agregación de proteínas (Kazemi-Esfarjani *et al.*, *Science* **2000**, 287(5459), 1837-1840; y Kazemi-Esfarjani *et al.*, *Hum. Mol. Genet.* **2002**, 11(21), 2657-2672).

El sistema de chaperonas es una diana terapéutica muy atractivo, debido a que ya se han identificado múltiples moduladores de la actividad de chaperonas de pequeño peso molecular, dos de los cuales están activos en un modelo de ratón de ELA (Westerheide *et al.*, *J. Biol. Chem.* **2005**, 280(39), 33097-33100; Kieran *et al.*, *Nat. Med.*

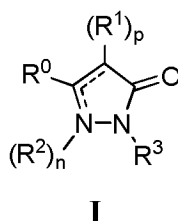
2004, 10(4), 402-405; y Traynor *et al.*, *Neurology* **2006**, 67(1), 20-27). Por consiguiente, análisis recientes identificaron el plegamiento/mal plegamiento de proteínas y la agregación de proteínas como una diana terapéutica relevante para enfermedades neurodegenerativas (Pasinelli *et al.*, *Nat. Rev. Neurosci.* **2006**, 7(9), 710-723; Lansbury *et al.*, *Nature* **2006**, 443(7113), 774-9; Rubinsztein *et al.*, *Nature* **2006**, 443(7113), 780-786).

5

Compuestos proporcionados

La presente invención proporciona compuestos para su uso en el tratamiento de pacientes con esclerosis lateral
 10 amiotrófica (ELA) u otras enfermedades neurodegenerativas caracterizadas por la presencia de agregados de
 proteínas aberrantes. Sin desear estar ligado a ninguna teoría particular o mecanismo de acción, los compuestos y
 métodos de la invención son útiles para inhibir o revertir la agregación de proteínas anormal o reducir la toxicidad de
 la agregación de proteínas (por ejemplo, SOD1). En ciertas realizaciones, los compuestos proporcionados son útiles
 para modular la función del proteosoma. La invención proporciona una cantidad terapéuticamente eficaz de un
 15 compuesto de la invención o una composición farmacéutica del mismo para su uso en el tratamiento de un sujeto
 con ELA u otra enfermedad neurodegenerativa. En ciertas realizaciones, el sujeto es un mamífero.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona compuestos de la fórmula:



20

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que:

p es 1-2;

— designa un enlace sencillo o doble enlace, en donde — es un enlace sencillo y = es un doble enlace;

25

cada R^1 es independientemente -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -N(R)₂, -CN, -NO₂-NRC(O)R, -
 NRC(O)(CO)R, -NRC(O)N(R)₂, -NRC(O)OR, -N(R)S(O)R, -N(R)SO₂R, -N(R)SO₂OR, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -
 OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, o un anillo opcionalmente sustituido de 3-8 miembros saturado, parcialmente
 insaturado, o de arilo monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno,
 oxígeno, o azufre, o un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de
 30 arilo bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre; o

30

dos grupos R^1 se toman juntos para formar , en la que:

X es N o C;

35

cada R^5 es independientemente -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -N(R)₂, -CN, -NO₂-NRC(O)R, -
 NRC(O)(CO)R, -NRC(O)N(R)₂, -NRC(O)OR, -N(R)S(O)R, -N(R)SO₂R, -N(R)SO₂OR, -C(O)R, -C(O)OR, -
 OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, o un anillo de 3-8 miembros saturado, parcialmente
 insaturado, o de arilo monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de
 nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo
 40 bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre, en
 donde R^5 está opcionalmente sustituido con 1-5 grupos R;

40

cada R es, de forma independiente, hidrógeno, halógeno, alifático C₁₀₋₂₀ opcionalmente sustituido, heteroalifático C<sub>10-
 20</sub> opcionalmente sustituido, fenilo opcionalmente sustituido, o arilalquilo opcionalmente sustituido, o dos R en el
 mismo nitrógeno se toman juntos para formar un anillo de 5-6 miembros saturado, parcialmente saturado, o de arilo
 45 que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, y azufre, o dos R en el mismo
 carbono o en carbonos adyacentes se toman opcionalmente juntos para formar un anillo de 3-6 miembros saturado
 cicloalquilo o monocíclico condensado que contiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de
 nitrógeno, oxígeno y azufre;

45

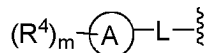
n es 0-1;

50

cada R^2 y R^3 es independientemente -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -
 OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, un grupo protector amino adecuado, o un anillo opcionalmente sustituido de 3-
 8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados
 independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros
 saturado, parcialmente insaturado, o de arilo bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados
 55 independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre;

55

R^0 es R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, N(R)₂, -NRC(O)R, -NRC(O)(CO)R, -NRC(O)N(R)₂, -NRC(O)OR, -N(R)S(O)R, -N(R)SO₂R, -N(R)SO₂OR, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, o



, en la que:

5 L es un enlace de valencia o una cadena hidrocarburo bivalente saturado o parcialmente insaturado C₁₋₁₀, en donde 1-4 unidades de metileno de L se reemplazan opcional e independientemente por -O-, -S-, -C(O)-, -OC(O)-, -C(O)O-, -OC(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -OSO₂O-, -N(R)C(O)-, -C(O)NR-, -N(R)C(O)O-, -OC(O)NR-, -N(R)C(O)NR-, -N(R⁶)- o -Cy-, y en donde L está opcionalmente sustituido con 1-4 grupos R; en donde:

10 cada -Cy- es independientemente un anillo bivalente opcionalmente sustituido saturado, parcialmente insaturado, o aromático monocíclico o bicíclico seleccionado de un arileno de 6-10 miembros, un heteroarileno de 5-10 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, nitrógeno o azufre, un carbociclileno de 3-8 miembros, o un heterociclileno de 3-10 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, nitrógeno, o azufre;

15 R⁶ es -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, un grupo protector amino adecuado, o un anillo opcionalmente sustituido de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre;

20 el Anillo A es un anillo de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que contiene opcionalmente 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo bicíclico que contiene opcionalmente 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, y en donde el Anillo A está opcionalmente sustituido con m apariciones de R⁴;

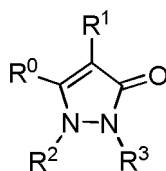
m es 0-5; y

30 cada R⁴ es independientemente -R, -OR, -SR, -CN, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -N(R)₂, -NO₂, -NRC(O)R, -NRC(O)(CO)R, -NRC(O)N(R)₂, -NRC(O)OR, -N(R)S(O)R, -N(R)SO₂R, -N(R)SO₂OR, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, o un anillo de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que contiene opcionalmente 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

En ciertas realizaciones, n es 0. En ciertas realizaciones, n es 1.

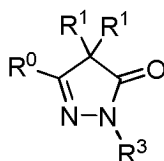
En ciertas realizaciones, p es 1. En ciertas realizaciones, p es 2.

Como se ha descrito anteriormente y en el presente documento, === designa un enlace sencillo o doble enlace. Se entenderá por un experto en la técnica que cuando un === designa un doble enlace entre dos carbonos para proporcionar un compuesto de fórmula **1a**:



1a

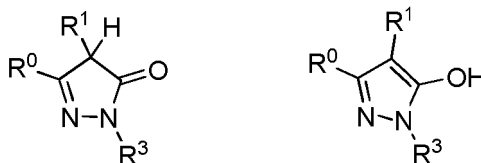
entonces n es 1 y p es 1. De forma similar, cuando === designa un doble enlace entre un carbono y un nitrógeno para proporcionar un compuesto de fórmula **1b**:



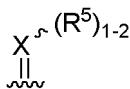
1b

entonces n es 0 y p es 1 o 2, dependiendo de la forma tautomérica de **1b**, por ejemplo, en compuestos de fórmula

1b en la que al menos un R^1 es hidrógeno, los compuestos proporcionados pueden existir en cualquier forma tautomérica disponible. Un par de tautómeros ejemplar de este tipo es como se muestra a continuación:



5 Como se ha definido en general anteriormente, cada R^1 es independientemente -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -N(R)₂, -CN, -NO₂, -NRC(O)R, -NRC(O)(CO)R, -NRC(O)N(R)₂, -NRC(O)OR, -N(R)S(O)R, -N(R)SO₂R, -N(R)SO₂OR, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, o un anillo opcionalmente sustituido de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre; o



dos grupos R^1 se toman juntos para formar

15 En algunas realizaciones, cada R^1 es independientemente -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, N(R)₂, -NRC(O)R, -NRC(O)(CO)R, -NRC(O)N(R)₂, -NRC(O)OR, -N(R)S(O)R, -N(R)SO₂R, -N(R)SO₂OR, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, o -OC(O)N(R)₂.

20 En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo opcionalmente sustituido de 3-8 miembros saturado monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo opcionalmente sustituido de 3-6 miembros saturado monocíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo opcionalmente sustituido de 5-6 miembros saturado monocíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

30 En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo opcionalmente sustituido de 3-8 miembros parcialmente insaturado monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo opcionalmente sustituido de 3-6 miembros parcialmente insaturado monocíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo opcionalmente sustituido de 5-6 miembros parcialmente insaturado monocíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

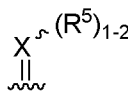
35 En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 5-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 5 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 6 miembros que tiene 1-3 nitrógenos. En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un fenilo opcionalmente sustituido. En ciertas realizaciones, al menos un R^1 es fenilo sin sustituir.

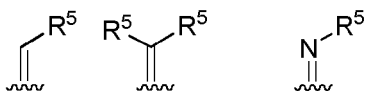
45 En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado bicíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un carbociclo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado bicíclico.

50 En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros parcialmente insaturado bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros parcialmente insaturado bicíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un carbociclo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros parcialmente insaturado.

55 En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 9-10 miembros que tiene

0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 9-10 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 9 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, al menos un R^1 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 10 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, al menos un R^1 es naftilo opcionalmente sustituido.

En algunas realizaciones, dos R^1 se toman juntos para formar , en donde X es N o C. En ciertas realizaciones, en las que X es N, está presente un grupo R^5 . En ciertas realizaciones, en las que X es C, uno o dos grupos R^5 pueden estar presentes. En ciertas realizaciones, dos R^1 se toman juntos para formar una cualquiera de las siguientes fórmulas:



En algunas realizaciones, cada R^5 es independientemente -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -N(R)₂, -CN, -NO₂, -NRC(O)R, -NRC(O)(CO)R, -NRC(O)N(R)₂, -NRC(O)OR, -N(R)S(O)R, -N(R)SO₂R, -N(R)SO₂OR, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂. En algunas realizaciones, al menos un R^5 es un anillo de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre, en donde R^5 está opcionalmente sustituido con 1-5 grupos R.

Como se ha definido en general anteriormente y en el presente documento, R^2 es independientemente -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, un grupo protector amino adecuado, o un anillo opcionalmente sustituido de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

En algunas realizaciones, R^2 es -R, -OR, -SR, -N(R)₂, o un grupo protector amino adecuado. En ciertas realizaciones, R^2 es halógeno o R. En ciertas realizaciones, R^2 es hidrógeno, metilo, etilo, propilo, o butilo. En ciertas realizaciones, R^2 es hidrógeno. En ciertas realizaciones, R^2 es metilo.

En algunas realizaciones, R^2 es un anillo opcionalmente sustituido de 3-8 miembros saturado monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^2 es un anillo opcionalmente sustituido de 3-6 miembros saturado monocíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^2 es un anillo opcionalmente sustituido de 5-6 miembros saturado monocíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

En algunas realizaciones, R^2 es un anillo opcionalmente sustituido de 3-8 miembros parcialmente insaturado monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^2 es un anillo opcionalmente sustituido de 3-6 miembros parcialmente insaturado monocíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^2 es un anillo opcionalmente sustituido de 5-6 miembros parcialmente insaturado monocíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

En algunas realizaciones, R^2 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^2 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 5-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^2 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 5 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^2 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 6 miembros que tiene 1-3 nitrógenos. En algunas realizaciones, R^2 es un fenilo opcionalmente sustituido. En ciertas realizaciones, R^2 es fenilo sin sustituir.

En algunas realizaciones, R^2 es un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^2 es un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado bicíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados

independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^2 es un carbociclo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado bicíclico.

En algunas realizaciones, R^2 es un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros parcialmente insaturado bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^2 es un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros parcialmente insaturado bicíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^2 es un carbociclo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros parcialmente insaturado.

En algunas realizaciones, R^2 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 9-10 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^2 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 9-10 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^2 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 9 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^2 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 10 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^2 es naftilo opcionalmente sustituido.

Los grupos heteroarilo R^2 opcionalmente sustituidos incluyen tienilo, furanilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolizínilo, purínilo, naftiridinilo, pteridinilo, indolilo, isoindolilo, benzotienilo, benzofuranilo, dibenzofuranilo, indazolilo, benzoimidazolilo, benzotiazolilo, quinolilo, isoquinolilo, cinolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, 4H-quinolizínilo, carbazolilo, acridínilo, fenazinilo, fenotiazínilo, fenoxazinilo, tetrahidroquinolínilo, tetrahidroisoquinolínilo, pirido[2,3-b]-1,4-oxazin-3(4H)-ona, o cromanilo.

Como se ha definido en general anteriormente y en el presente documento, R^3 es independientemente -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, un grupo protector amino adecuado, o un anillo opcionalmente sustituido de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

En algunas realizaciones, R^3 es -R, -OR, -SR, -N(R)₂, o un grupo protector amino adecuado. En ciertas realizaciones, R^3 es halógeno o R. En ciertas realizaciones, R^3 es hidrógeno, metilo, etilo, propilo, o butilo. En ciertas realizaciones, R^3 es hidrógeno. En ciertas realizaciones, R^3 es metilo.

En algunas realizaciones, R^3 es un anillo opcionalmente sustituido de 3-8 miembros saturado monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^3 es un anillo opcionalmente sustituido de 3-6 miembros saturado monocíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^3 es un anillo opcionalmente sustituido de 5-6 miembros saturado monocíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

En algunas realizaciones, R^3 es un anillo opcionalmente sustituido de 3-8 miembros parcialmente insaturado monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^3 es un anillo opcionalmente sustituido de 3-6 miembros parcialmente insaturado monocíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^3 es un anillo opcionalmente sustituido de 5-6 miembros parcialmente insaturado monocíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

En algunas realizaciones, R^3 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^3 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 5-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^3 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 5 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^3 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 6 miembros que tiene 1-3 nitrógenos. En algunas realizaciones, R^3 es un fenilo opcionalmente sustituido. En ciertas realizaciones, R^3 es fenilo sin sustituir.

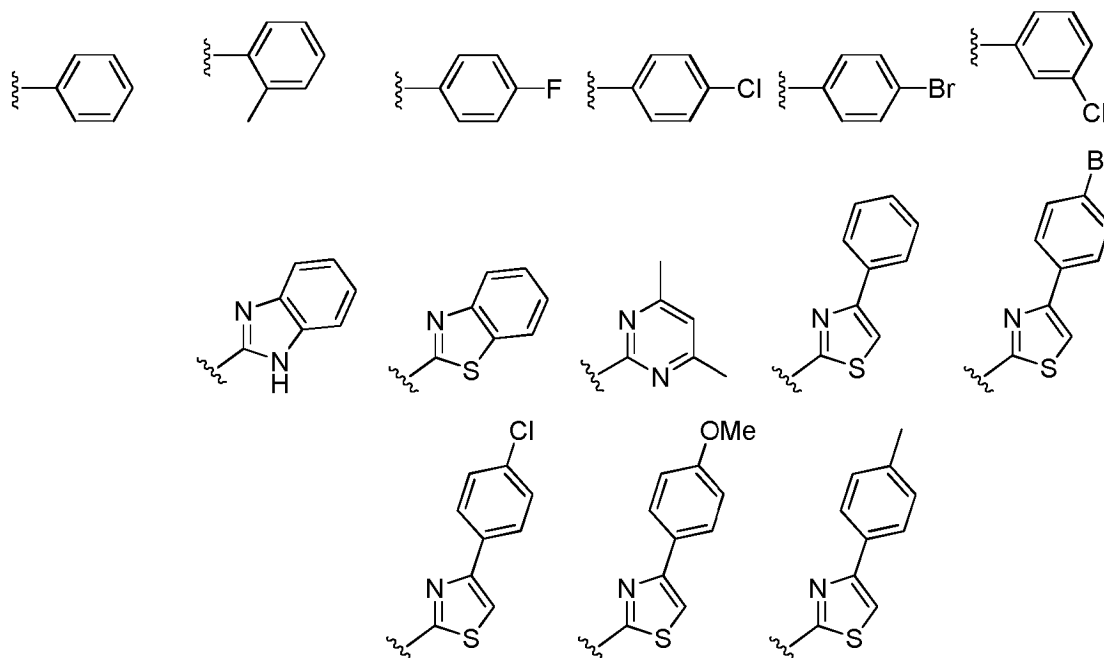
En algunas realizaciones, R^3 es un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^3 es un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado bicíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^3 es un carbociclo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado bicíclico.

En algunas realizaciones, R^3 es un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros parcialmente insaturado

bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^3 es un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros parcialmente insaturado bicíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^3 es un carbociclo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros parcialmente insaturado.

- 5 En algunas realizaciones, R^3 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 9-10 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^3 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 9-10 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^3 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 9 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^3 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 10 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^3 es naftilo opcionalmente sustituido.
- 10
- 15 Los grupos heteroarilo R^3 opcionalmente sustituidos incluyen tienilo, furanilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolizínilo, purínilo, naftiridinilo, pteridinilo, indolilo, isoindolilo, benzotienilo, benzofuranilo, dibenzofuranilo, indazolilo, benzoimidazolilo, benzotiazolilo, quinolilo, isoquinolilo, cinolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, 4H-quinolizínilo, carbazolilo, acridínilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxazinilo, tetrahydroquinolinilo, tetrahydroisoquinolinilo, pirido[2,3-b]-1,4-oxazin-3(4H)-ona, o cromanilo.
- 20

En ciertas realizaciones, R^3 es de una cualquiera de las siguientes fórmulas:



- 25 Como se ha descrito en general anteriormente y en el presente documento, R^0 es $-R$, $-OR$, $-SR$, $-S(O)R$, $-SO_2R$, $-OSO_2R$, $-N(R)_2$, $-NRC(O)R$, $-NRC(O)(CO)R$, $-NRC(O)N(R)_2$, $-NRC(O)OR$, $-N(R)S(O)R$, $-N(R)SO_2R$, $-N(R)SO_2OR$, $-C(O)R$, $-C(O)OR$, $-OC(O)R$, $-OC(O)OR$, $-C(O)N(R)_2$, $-OC(O)N(R)_2$, o $(R^4)_m-A-L$, en donde R^4 , m , y el Anillo A son como se han definido anteriormente y L es un enlace de valencia. En algunas realizaciones, R^0 es el Anillo A son como se han definido anteriormente y L no es un enlace de valencia.

- 30 En algunas realizaciones, R^0 es R, en donde R es hidrógeno, alifático C_{1-6} opcionalmente sustituido, heteroalifático C_{1-6} opcionalmente sustituido, o fenilo opcionalmente sustituido. En ciertas realizaciones, R^0 es metilo, etilo, propilo, o butilo.

En algunas realizaciones, R^0 es $(R^4)_m-A-L$, en donde R^4 , m , y el Anillo A son como se han definido anteriormente y L es un enlace de valencia. En algunas realizaciones, R^0 es el Anillo A son como se han definido anteriormente y L no es un enlace de valencia.

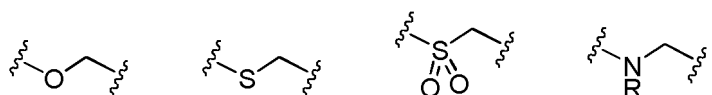
35

Como se ha definido en general anteriormente, L es un enlace de valencia o una cadena hidrocarburo bivalente saturado o parcialmente insaturado C_{1-10} , en donde 1-4 unidades de metileno de L se reemplazan opcional e independientemente por -O-, -S-, -C(O)-, -OC(O)-, -C(O)O-, -OC(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -OSO₂O-, -N(R)C(O)-, -C(O)NR-, -N(R)C(O)O-, -OC(O)NR-, -N(R)C(O)NR-, -N(R)⁶- o -Cy-, y en donde L está opcionalmente sustituido con 1-4 grupos R; en donde:

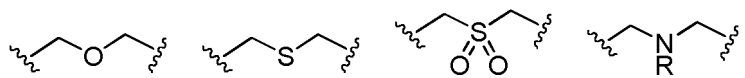
cada -Cy- es independientemente un anillo bivalente opcionalmente sustituido saturado, parcialmente insaturado, o aromático monocíclico o bicíclico seleccionado de un arileno de 6-10 miembros, un heteroarileno de 5-10 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, nitrógeno o azufre, un carbociclileno de 3-8 miembros, o un heterociclileno de 3-10 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, nitrógeno, o azufre; R⁶ es -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, un grupo protector amino adecuado, o un anillo opcionalmente sustituido saturado de 3-8 miembros, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

En algunas realizaciones, L es una cadena hidrocarburo bivalente saturado o parcialmente insaturado C_{1-10} , en donde 1-4 unidades de metileno de L se reemplazan opcional e independientemente por -O-, -N(R⁶)-, -S-, -C(O)-, -OC(O)-, -C(O)O-, -OC(O)O-, -S(O)-, -S(O)₂-, -OSO₂O-, -N(R)C(O)-, -C(O)NR-, -N(R)C(O)O-, -OC(O)NR-, -N(R)C(O)NR-, y en donde L está opcionalmente sustituido con 1-4 grupos R. En algunas realizaciones, L es una cadena hidrocarburo bivalente saturado o parcialmente insaturado C_{2-7} , en donde 1-3 unidades de metileno de L se reemplazan opcional e independientemente por -N(R⁶)-, -N(R)C(O)-, -C(O)N(R)-, -O-, -C(O)-, -OC(O)-, -C(O)O-, -S-, -S(O)- o -SO₂-, y en donde L está opcionalmente sustituido con 1-4 grupos R. En algunas realizaciones, L es una cadena hidrocarburo bivalente saturado C_{2-7} , en donde una o más unidades de metileno de L se reemplazan por -N(R⁶)-, -N(R)C(O)-, -C(O)N(R)-. En algunas realizaciones, L es una cadena hidrocarburo bivalente saturado C_{2-7} , en donde una o más unidades de metileno de L se reemplazan por -O-, -C(O)-, -OC(O)- o -C(O)O-. En algunas realizaciones, L es una cadena hidrocarburo bivalente saturado C_{2-7} , en donde una o más unidades de metileno de L se reemplazan por -S-, -S(O)- o -SO₂-.

En ciertas realizaciones, L es de cualquiera de las siguientes fórmulas:



En ciertas realizaciones, L es de cualquiera de las siguientes fórmulas:



En ciertas realizaciones, L es de cualquiera de las siguientes fórmulas:



En algunas realizaciones, L es una cadena hidrocarburo bivalente saturado C_{1-10} , en donde una o más unidades de metileno se reemplazan independientemente por -Cy-, y en donde uno o más -Cy- son independientemente un anillo monocíclico bivalente opcionalmente sustituido saturado. En algunas realizaciones, uno o más -Cy- son independientemente un anillo monocíclico bivalente opcionalmente sustituido parcialmente insaturado. En algunas realizaciones, uno o más -Cy- son independientemente un anillo monocíclico bivalente opcionalmente sustituido aromático. En ciertas realizaciones, -Cy- es fenileno opcionalmente sustituido.

En algunas realizaciones, uno o más -Cy- son independientemente un anillo bicíclico bivalente opcionalmente sustituido saturado. En algunas realizaciones, uno o más -Cy- son independientemente un anillo bicíclico bivalente opcionalmente sustituido parcialmente insaturado. En algunas realizaciones, uno o más -Cy- son independientemente un anillo bicíclico bivalente opcionalmente sustituido aromático. En ciertas realizaciones, -Cy- es naftileno opcionalmente sustituido.

En algunas realizaciones, uno o más -Cy- son independientemente un arileno opcionalmente sustituido de 6-10 miembros. En algunas realizaciones, uno o más -Cy- son independientemente un heteroarileno opcionalmente

sustituido de 5-10 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, nitrógeno, o azufre. En algunas realizaciones, uno o más -Cy- son independientemente un heteroarileno opcionalmente sustituido de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, nitrógeno, o azufre. En algunas realizaciones, uno o más -Cy- son independientemente un heteroarileno opcionalmente sustituido de 5 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, nitrógeno, o azufre. En algunas realizaciones, uno o más -Cy- son independientemente un heteroarileno opcionalmente sustituido de 6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, nitrógeno, o azufre.

Los grupos heteroarileno -Cy- opcionalmente sustituido ejemplares incluyen tienileno, furanileno, pirrolileno, imidazolileno, pirazolileno, triazolileno, tetrazolileno, oxazolileno, isoxazolileno, oxadiazolileno, tiazolileno, isotiazolileno, tiadiazolileno, piridileno, piridazinileno, pirimidinileno, pirazinileno, indolizileno, purinileno, naftiridinileno, pteridinileno, indolileno, isoindolileno, benzotienileno, benzofuranileno, dibenzofuranileno, indazolileno, benzoimidazolileno, benzotiazolileno, quinolileno, isoquinolileno, cinnolinileno, ftalazinileno, quinazolinileno, quinoxalinileno, 4*H*-quinolizileno, carbazolileno, acridinileno, fenazinileno, fenotiazinileno, fenoxazinileno, tetrahydroquinolinileno, tetrahydroisoquinolinileno, pirido[2,3-*b*]-1,4-oxazin-3(4*H*)-onileno, y cromanileno.

En ciertas realizaciones, -Cy- se selecciona del grupo que consiste en tetrahidropiranileno, tetrahydrofuranoileno, morfolinileno, tiomorfolinileno, piperidinileno, piperazinileno, pirrolidinileno, tetrahidrotiofenileno, y tetrahidrotiopiranileno, en donde cada anillo está opcionalmente sustituido.

En algunas realizaciones, uno o más -Cy- es independientemente un carbocicileno opcionalmente sustituido 3-8 miembros. En algunas realizaciones, uno o más -Cy- es independientemente un carbocicileno opcionalmente sustituido 3-6 miembros. En algunas realizaciones, uno o más -Cy- es independientemente un ciclopropileno opcionalmente sustituido, ciclopentileno, o ciclohexileno.

En algunas realizaciones, uno o más -Cy- es independientemente un heterocicileno opcionalmente sustituido de 3-10 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, nitrógeno, o azufre. En algunas realizaciones, uno o más -Cy- es independientemente un heterocicileno opcionalmente sustituido de 5-7 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, nitrógeno, o azufre. En algunas realizaciones, uno o más -Cy- es independientemente un heterocicileno opcionalmente sustituido de 3 miembros que tiene 1 heteroátomo seleccionado independientemente de oxígeno, nitrógeno, o azufre. En algunas realizaciones, uno o más -Cy- es independientemente un heterocicileno opcionalmente sustituido de 5 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, nitrógeno, o azufre. En algunas realizaciones, uno o más -Cy- es independientemente un heterocicileno opcionalmente sustituido de 6 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, nitrógeno, o azufre.

Los heterociclenos ejemplares de -Cy- saturados de 3-8 miembros opcionalmente sustituidos incluyen oxiranileno, oxetanileno, tetrahydrofuranoileno, tetrahidropiranileno, oxepanoileno, aziridinileno, azetidileno, pirrolidinileno, piperidinileno, azepanileno, tiiranileno, tietanileno, tetrahidrotiofenileno, tetrahidrotiopiranileno, tiepanileno, dioxolanileno, oxatiolanileno, oxazolidinileno, imidazolidinileno, tiazolidinileno, ditiolanileno, dioxanileno, morfolinileno, oxatianileno, piperazinileno, tiomorfolinileno, ditianileno, dioxepanileno, oxazepanileno, oxatiepanileno, ditiepanileno, diazepanileno, dihydrofuranonileno, tetrahidropiranonileno, oxepanonileno, pirolidinonileno, piperidinonileno, azepanonileno, dihydrotiefenonileno, tetrahidrotiopiranonileno, tiepanonileno, oxazolidinonileno, oxazinanonileno, oxazepanonileno, dioxolanonileno, dioxanonileno, dioxepanonileno, oxatolinonileno, oxatianonileno, oxatiepanonileno, tiazolidinonileno, tiazinanonileno, tiazepanonileno, imidazolidinonileno, tetrahidropirimidinonileno, diazepanonileno, imidazolidinadionileno, oxazolidinadionileno, tiazolidinadionileno, dioxolanodionileno, oxatiolanedionileno, piperazinadionileno, morfolinadionileno, y tiomorfolinadionileno.

En algunas realizaciones, R^6 es -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, o -OC(O)N(R)₂. En algunas realizaciones, R^6 es un grupo protector amino adecuado. En ciertas realizaciones, R^6 es -SO₂R. En algunas realizaciones, R^6 es R. En algunas realizaciones, R^6 es arilalquilo opcionalmente sustituido.

En algunas realizaciones, R^6 es un anillo opcionalmente sustituido de 3-8 miembros saturado monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^6 es un anillo opcionalmente sustituido de 3-6 miembros saturado monocíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^6 es un anillo opcionalmente sustituido de 5-6 miembros saturado monocíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

En algunas realizaciones, R^6 es un anillo opcionalmente sustituido de 3-8 miembros parcialmente insaturado monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^6 es un anillo opcionalmente sustituido de 3-6 miembros parcialmente insaturado monocíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^6 es un anillo opcionalmente sustituido de 5-6 miembros parcialmente insaturado monocíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

En algunas realizaciones, R^6 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^6 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 5-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^6 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 5 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^6 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 6 miembros que tiene 1-3 nitrógenos. En algunas realizaciones, R^6 es un fenilo opcionalmente sustituido. En ciertas realizaciones, R^6 es fenilo sin sustituir.

En algunas realizaciones, R^6 es un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^6 es un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado bicíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^6 es un carbociclo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros saturado bicíclico.

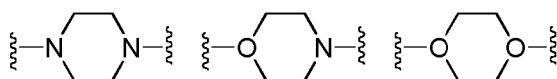
En algunas realizaciones, R^6 es un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros parcialmente insaturado bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^6 es un anillo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros parcialmente insaturado bicíclico que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^6 es un carbociclo opcionalmente sustituido de 8-10 miembros parcialmente insaturado.

En algunas realizaciones, R^6 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 9-10 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^6 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 9-10 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^6 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 9 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^6 es un anillo de arilo opcionalmente sustituido de 10 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En algunas realizaciones, R^6 es naftilo opcionalmente sustituido.

Los grupos heteroarilo R^6 opcionalmente sustituidos incluyen tienilo, furanilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolizínilo, purínilo, naftiridinilo, pteridinilo, indolilo, isoindolilo, benzotienilo, benzofuranilo, dibenzofuranilo, indazolilo, benzoimidazolilo, benzotiazolilo, quinolilo, isoquinolilo, cinolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, 4H-quinolizínilo, carbazolilo, acridínilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxazinilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, pirido[2,3-b]-1,4-oxazin-3(4H)-ona, o cromanilo.

En ciertas realizaciones, L es una cadena hidrocarburo C_{2-7} bivalente saturada en la que dos unidades de metileno se reemplazan por $-N(R^6)-$, $-N(R^6)C(O)-$, $-C(O)N(R^6)-$, $-O-$, $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-S-$, $-S(O)-$ o $-SO_2-$. En ciertas realizaciones, L es una cadena hidrocarburo C_{2-7} bivalente saturada en la que dos unidades de metileno se reemplazan por $-O-$, $-S-$, $-S(O)-$ o $-SO_2-$. En ciertas realizaciones, L es una cadena hidrocarburo C_2 bivalente saturada en la que al menos una unidad de metileno se reemplaza por $-N(R^6)-$, $-N(R^6)C(O)-$, $-C(O)N(R^6)-$, $-g-$, $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-S-$, $-S(O)-$ o $-SO_2-$. En ciertas realizaciones, L es una cadena hidrocarburo C_2 bivalente saturada en la que al menos una unidad de metileno se reemplaza por $-N(R^6)-$, $-O-$, $-S-$, $-S(O)-$ o $-SO_2-$.

En ciertas realizaciones, L es de cualquiera de las siguientes fórmulas:



Como se ha descrito en general anteriormente y en el presente documento, el Anillo A es un anillo de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que contiene opcionalmente 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo bicíclico que contiene opcionalmente 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, y en donde el Anillo A está opcionalmente sustituido con m apariciones de R^4 , en donde m es 0-5. En algunas realizaciones, m es 0, 1, 2 o 3.

En ciertas realizaciones, el Anillo A es fenilo sustituido con 1-5 grupos R^4 . En ciertas realizaciones, el Anillo A es fenilo sin sustituir.

En ciertas realizaciones, el Anillo A es naftilo sustituido con 1-5 grupos R^4 . En ciertas realizaciones, el Anillo A es naftilo sin sustituir.

En algunas realizaciones, el Anillo A es un anillo heterocíclico de 5-6 miembros monocíclico saturado, parcialmente

insaturado o aromático que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, y opcionalmente sustituido con 1-5 grupos R^4 . En algunas realizaciones, el Anillo A es un anillo de heteroarilo de 5 miembros monocíclicos que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, y opcionalmente sustituido con 1-2 grupos R^4 . En otras realizaciones, el Anillo A es un anillo de heteroarilo de 6 miembros monocíclicos que tiene 1-2 nitrógenos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, y opcionalmente sustituido con 1-2 grupos R^4 .

En ciertas realizaciones, el Anillo A es un anillo bicíclico de 8-10 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, y opcionalmente sustituido con 1-5 grupos R^4 .

En algunas realizaciones, el Anillo A es un anillo bicíclico de 8 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, y opcionalmente sustituido con 1-3 grupos R^4 . En algunas realizaciones, el Anillo A es un anillo bicíclico de 9 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, y opcionalmente sustituido con 1-3 grupos R^4 . En algunas realizaciones, el Anillo A es un anillo bicíclico de 10 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, y opcionalmente sustituido con 1-3 grupos R^4 . En algunas realizaciones, el Anillo A es un anillo bicíclico de 8-10 miembros compuesto por 0-2 anillos aromáticos y opcionalmente sustituido con 1-5 grupos R^4 .

Los grupos heteroarilo del Anillo A ejemplares incluyen tienilo, furanilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolizínilo, purínilo, naftiridinilo, pteridinilo, indolilo, isoindolilo, benzotienilo, benzofuranilo, dibenzofuranilo, indazolilo, benzoimidazolilo, benzotiazolilo, quinolilo, isoquinolilo, cinolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, 4H-quinolizínilo, carbazolilo, acridínilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxazinilo, tetrahydroquinolinilo, tetrahydroisoquinolinilo, pirido[2,3-b]-1,4-oxazin-3(4H)-ona, o cromanilo, en donde el Anillo A está opcionalmente sustituido con 1-5 grupos R^4 .

Como se ha descrito en general anteriormente y en el presente documento, cada R^4 es independientemente -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -N(R)₂, -CN, -NO₂, -NRC(O)R, -NRC(O)(CO)R, -NRC(O)N(R)₂, -NRC(O)OR, -N(R)S(O)R, -N(R)SO₂R, -N(R)SO₂OR, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, o un anillo de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que contiene opcionalmente 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

En algunas realizaciones, al menos un R^4 es independientemente -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, N(R)₂, -NO₂, -NRC(O)R, -NRC(O)(CO)R, -NRC(O)N(R)₂, -NRC(O)OR, -N(R)S(O)R, -N(R)SO₂R, -N(R)SO₂OR, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, o -OC(O)N(R)₂. En ciertas realizaciones, m es 1 y R^4 es -OR. En ciertas realizaciones, m es 1 y R^4 es -OMe. En ciertas realizaciones, m es 1 y R^4 es -NO₂. En ciertas realizaciones, m es 1 y R^4 es -NR₂. En ciertas realizaciones, m es 1 y R^4 es -NMe₂.

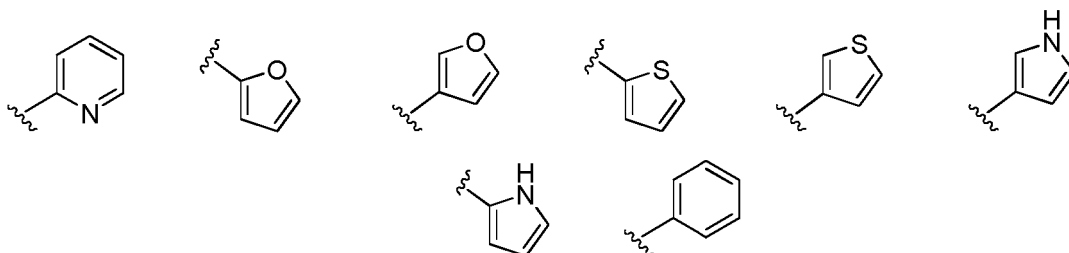
En algunas realizaciones, al menos un R^4 es independientemente un anillo de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que contiene opcionalmente 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

En algunas realizaciones, al menos un R^4 es independientemente un anillo saturado de 3-6 miembros monocíclico que contiene opcionalmente 0-1 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

En algunas realizaciones, al menos un R^4 es independientemente un anillo saturado de 3 miembros monocíclico que contiene opcionalmente 0-1 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. En ciertas realizaciones, al menos un R^4 es ciclopropilo. En ciertas realizaciones, dos R^4 son ciclopropilo.

En ciertas realizaciones, al menos un R^4 es fenilo opcionalmente sustituido. En ciertas realizaciones, al menos un R^4 es fenilo sin sustituir. En algunas realizaciones, al menos un R^4 es independientemente un anillo monocíclico de arilo de 5-6 miembros que contiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

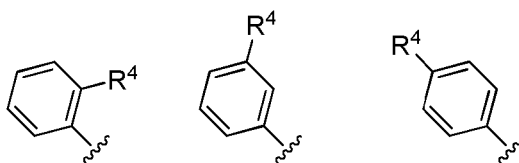
En ciertas realizaciones, R^4 es de cualquiera de las siguientes fórmulas:



En algunas realizaciones, cada R^4 es R, en donde R es hidrógeno, halógeno, o alifático C_{1-20} opcionalmente sustituido. En ciertas realizaciones, cada R^4 es independientemente alifático C_{1-6} . En ciertas realizaciones, cada R^4 se selecciona independientemente del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, o butilo. En ciertas realizaciones, m es 1 y R^4 es metilo, etilo, propilo, o butilo. En ciertas realizaciones, m es 1 y R^4 es alifático C_{14} . En algunas realizaciones, m es 2 y cada R^4 es metilo. En algunas realizaciones, m es 2 y cada R^4 es $-CF_3$.

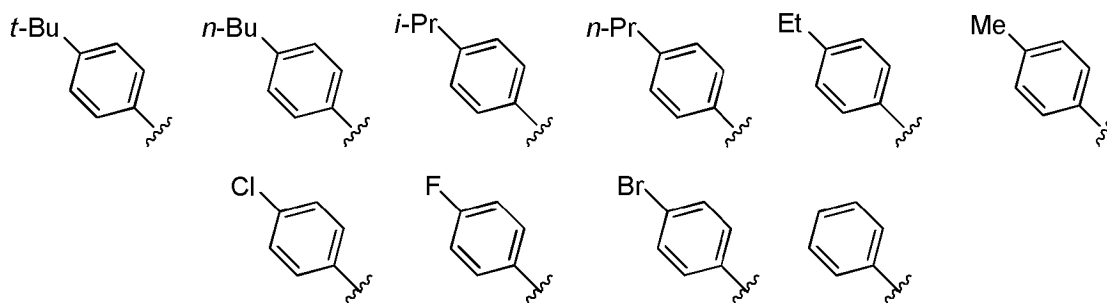
En ciertas realizaciones, cada R^4 se selecciona independientemente del grupo que consiste en flúor, cloro, bromo, y yodo. En ciertas realizaciones, m es 1 y R^4 es flúor. En ciertas realizaciones, m es 1 y R^4 es cloro. En ciertas realizaciones, m es 1 y R^4 es bromo. En ciertas realizaciones, m es 2 y cada R^4 es flúor. En ciertas realizaciones, m es 2 y cada R^4 es cloro. En ciertas realizaciones, m es 2 y cada R^4 es bromo. En ciertas realizaciones, m es 2, en donde un R^4 es flúor y un R^4 es cloro. En ciertas realizaciones, m es 3 y cada R^4 es independientemente metilo o cloro.

En ciertas realizaciones, el Anillo A es de una cualquiera de las fórmulas:

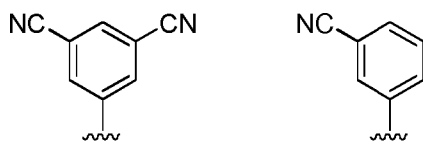


en donde R^4 es como se ha definido anteriormente y en el presente documento.

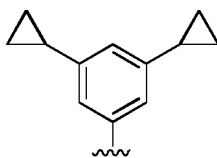
En ciertas realizaciones, el Anillo A es de una cualquiera de las fórmulas:



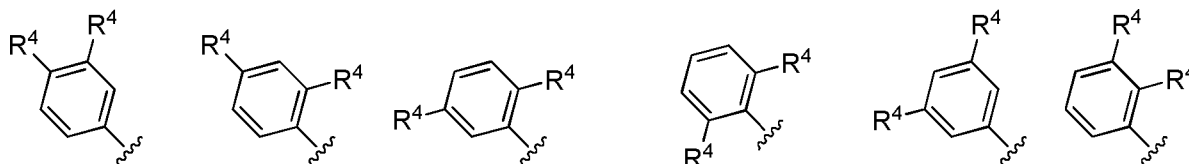
En ciertas realizaciones, el Anillo A es de una cualquiera de las fórmulas:



En ciertas realizaciones, el Anillo A es de la fórmula:

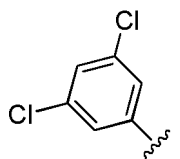


En ciertas realizaciones, el Anillo A es de una cualquiera de las fórmulas:



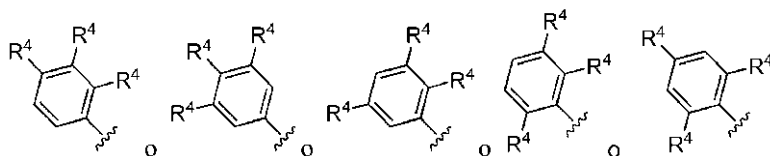
en donde R^4 es como se ha definido anteriormente y en el presente documento.

En ciertas realizaciones, el Anillo A es de la fórmula:



5

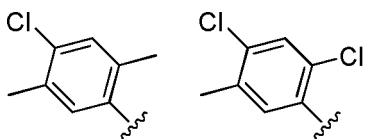
En ciertas realizaciones, el Anillo A es de una cualquiera de las fórmulas:



10

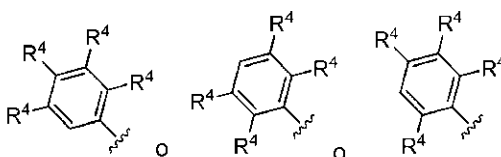
en donde R^4 es como se ha definido anteriormente y en el presente documento.

En ciertas realizaciones, el Anillo A es de cualquiera de las fórmulas:



15

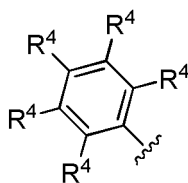
En ciertas realizaciones, el Anillo A es de una cualquiera de las fórmulas:



20

en donde R^4 es como se ha definido anteriormente y en el presente documento.

En ciertas realizaciones, el Anillo A de la fórmula:

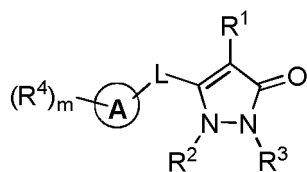


25

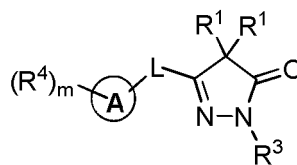
en donde R^4 es como se ha definido anteriormente y en el presente documento.

En algunas realizaciones de la divulgación, un compuesto proporcionado es de cualquiera de las fórmulas:

30



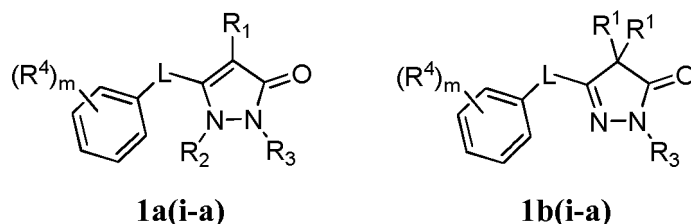
1a(i)



1b(i)

en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , L, m, y el Anillo A son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En algunas realizaciones de la divulgación, un compuesto proporcionado es de cualquiera de las fórmulas:

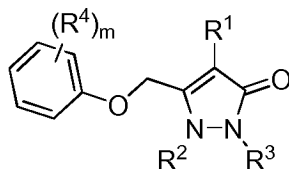


en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , L y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento. En ciertas realizaciones, en las que los compuestos son de fórmula **1a(i-a)** o **1b(i-a)**, m es 1, 2 o 3. En ciertas realizaciones, en las que los compuestos son de fórmula **1a(i-a)** o **1b(i-a)**, m es 1 y R^4 es meta para L. En ciertas realizaciones, en las que los compuestos son de fórmula **1a(i-a)** o **1b(i-a)**, m es 2 y cada R^4 es meta para L.

En ciertas realizaciones, en las que los compuestos son de fórmula **1a(i-a)** o **1b(i-a)**, L no es una cadena hidrocarburo C_2 bivalente saturada en la que una unidad de metileno se reemplaza con $-S(O)-$. En ciertas realizaciones, en las que los compuestos son de fórmula **1a(i-a)** o **1b(i-a)**, L es una cadena hidrocarburo C_2 bivalente saturada en la que una unidad de metileno se reemplaza con $-S-$, $-O-$ o $-SO_2-$.

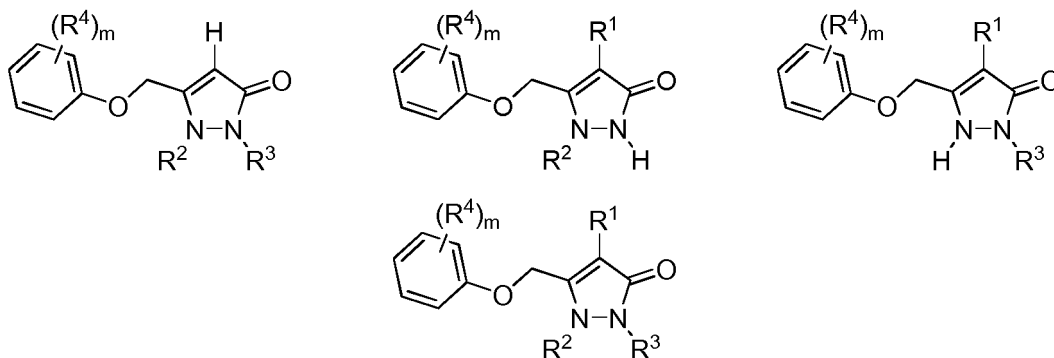
En ciertas realizaciones, en las que los compuestos son de fórmula **1a(i-a)** o **1b(i-a)**, al menos uno de R^1 , R^2 , o R^3 es hidrógeno. En ciertas realizaciones, en las que los compuestos son de fórmula **1a(i-a)** o **1b(i-a)**, al menos dos de R^1 , R^2 , y/o R^3 son hidrógeno. En ciertas realizaciones, en las que los compuestos son de fórmula **1a(i-a)** o **1b(i-a)**, R^1 , R^2 , y R^3 son todos hidrógeno.

Los siguientes compuestos son de acuerdo con la presente invención: En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



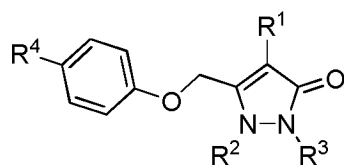
en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



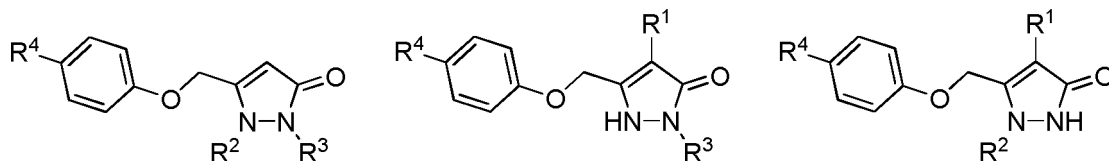
en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

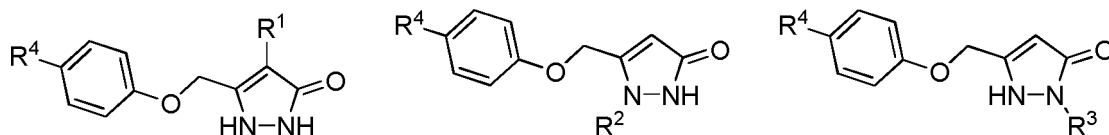
- 5 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

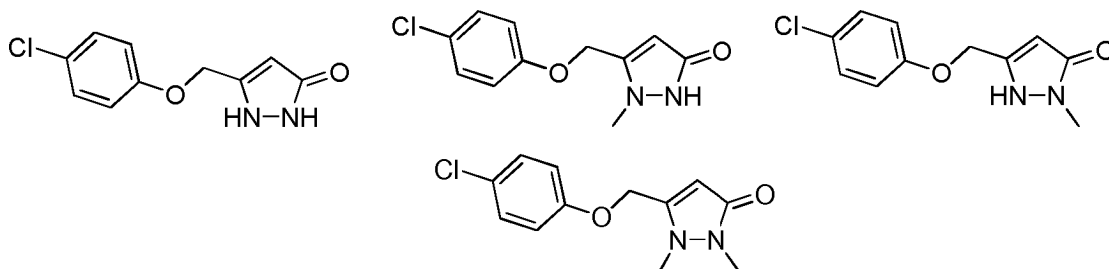
10

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



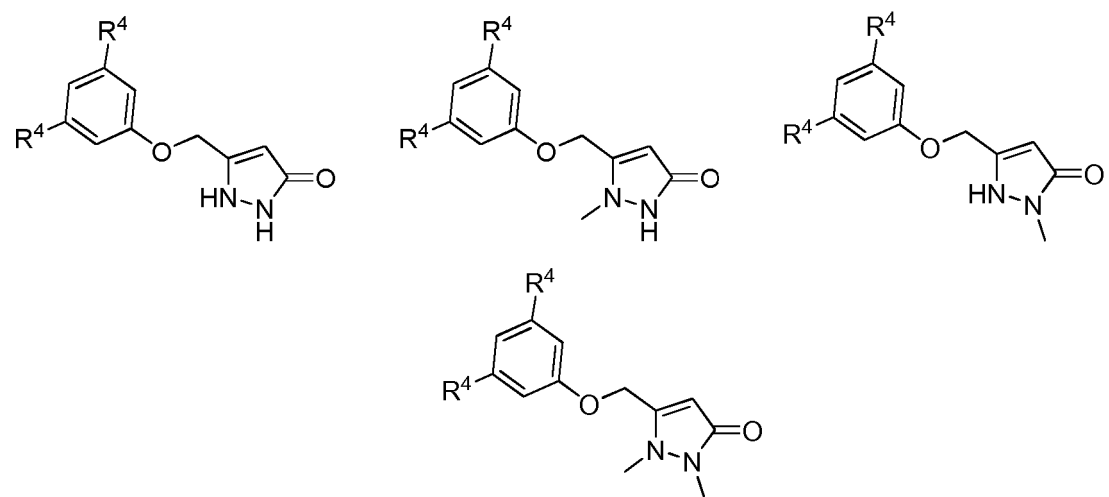
- 15 en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

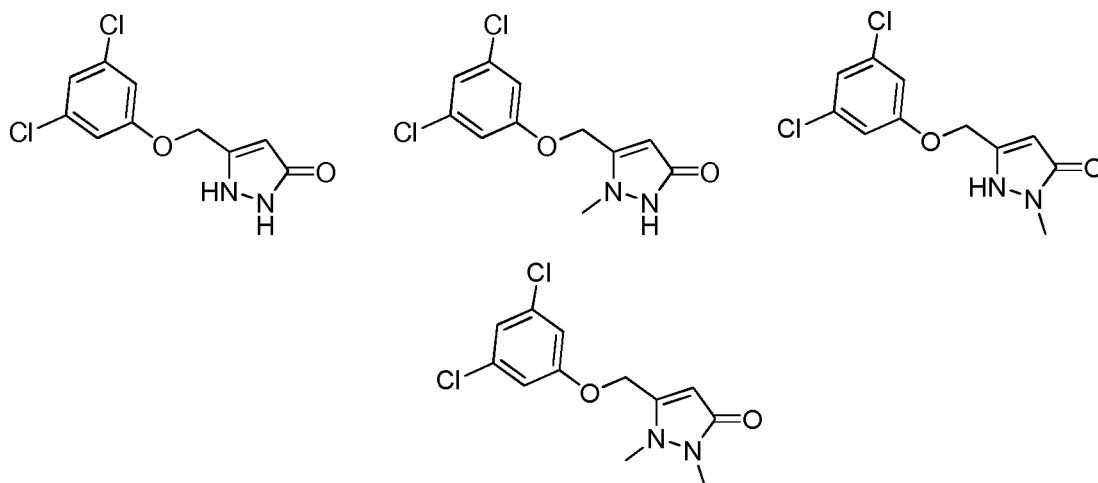


20

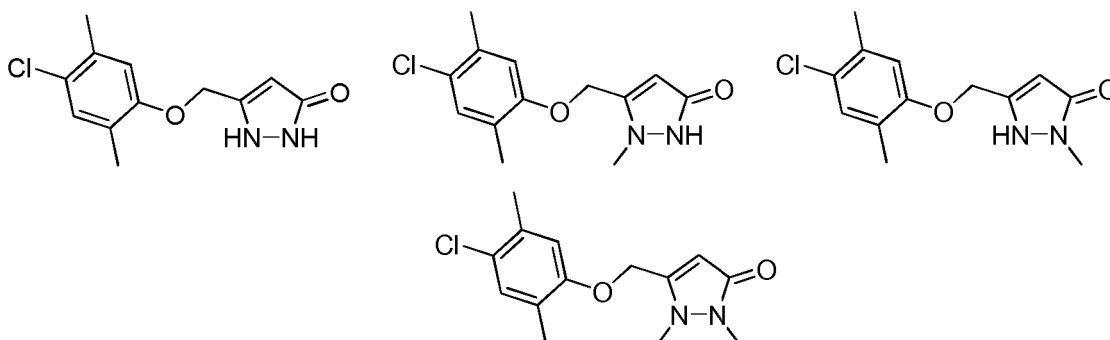
En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



- 25 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

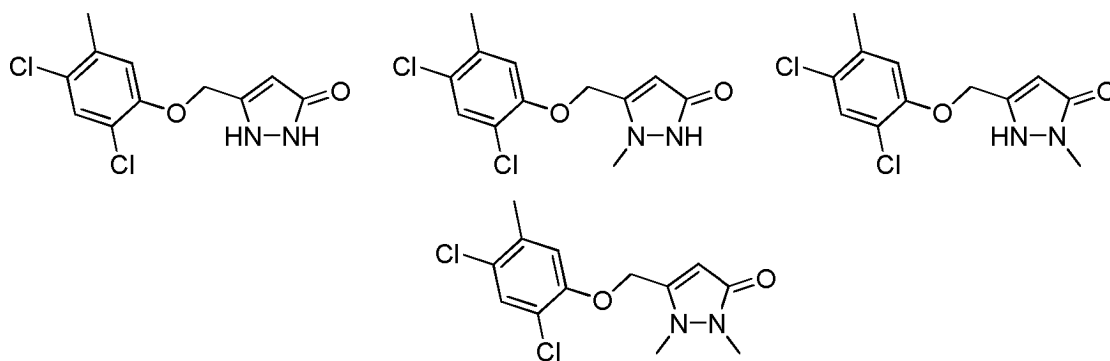


En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



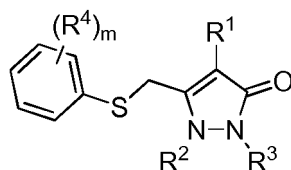
5

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



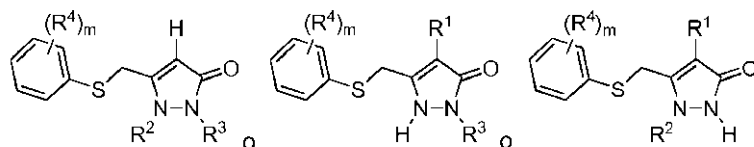
10

En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



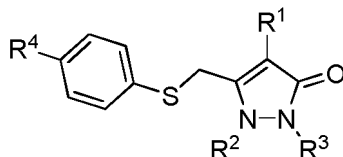
15 en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



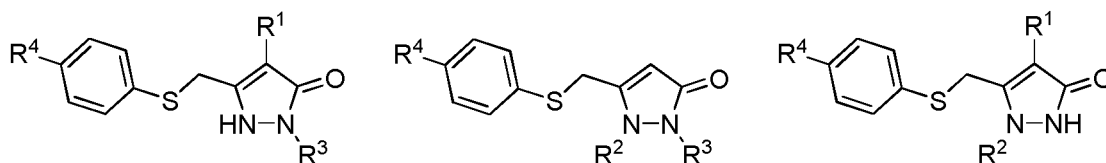
en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

5 En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



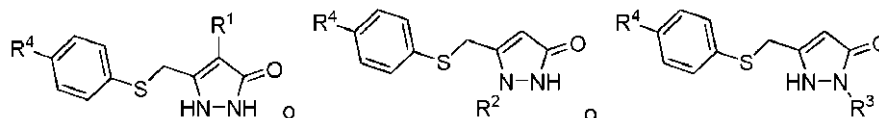
10 en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



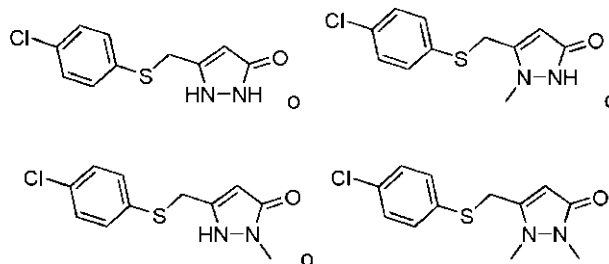
15 en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



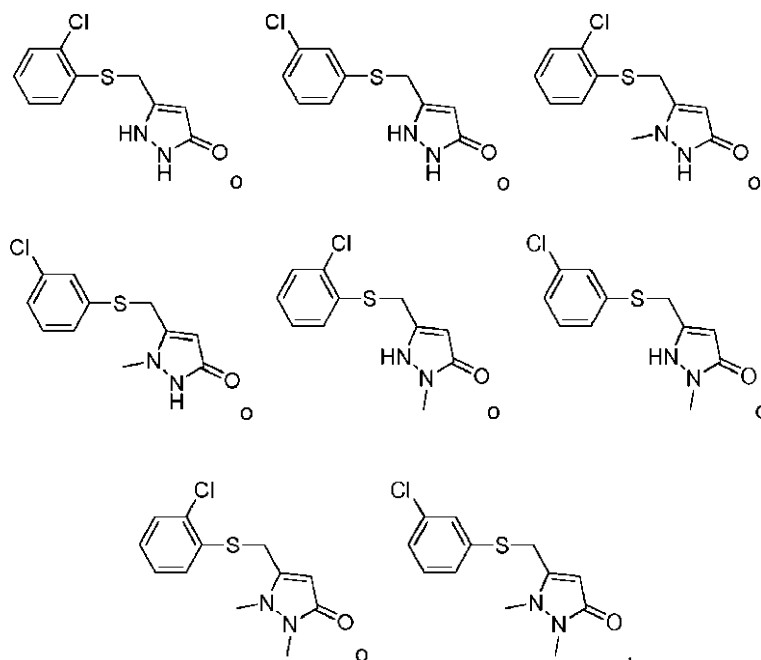
20 en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



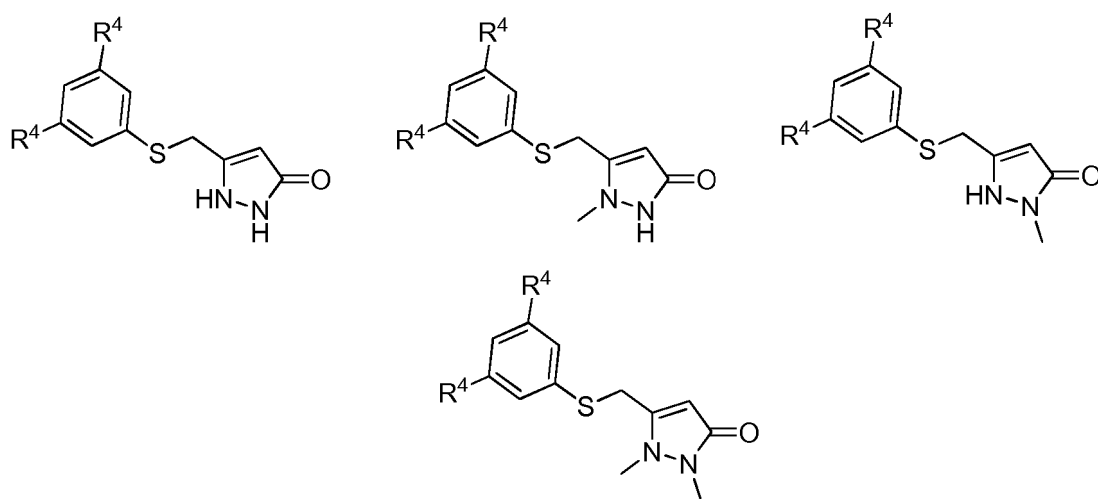
25 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

30



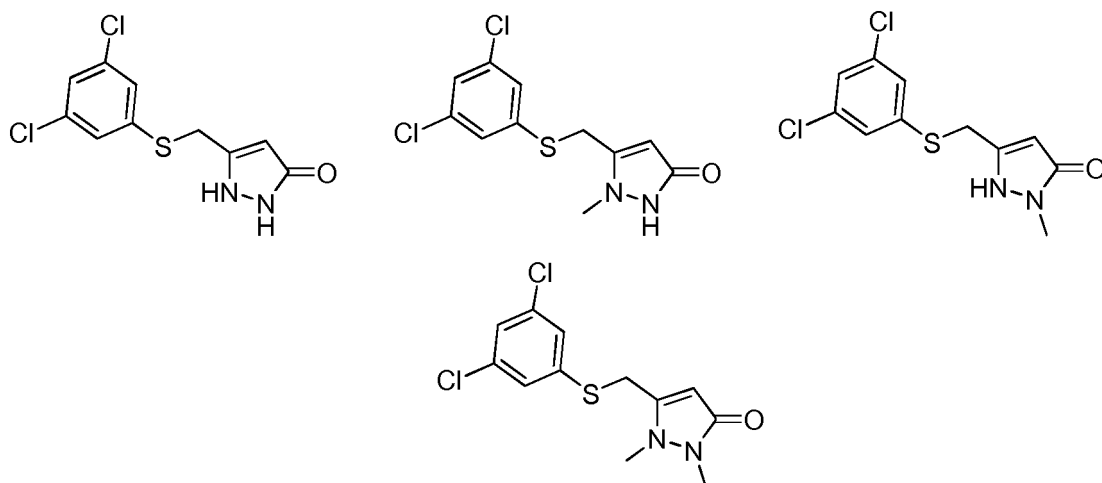
5

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

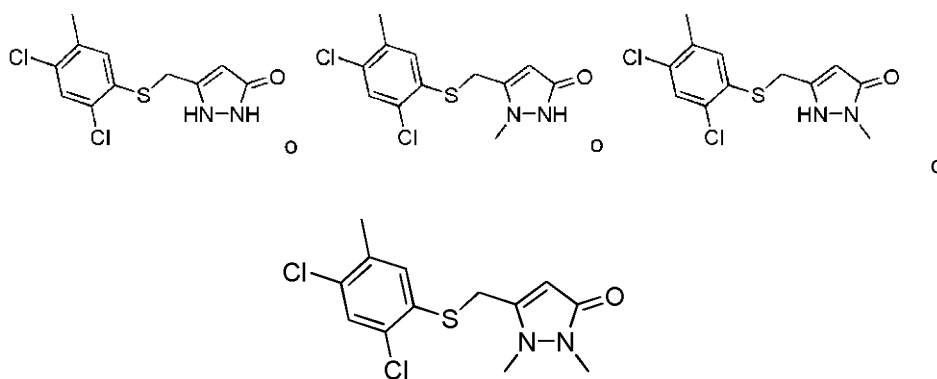


10

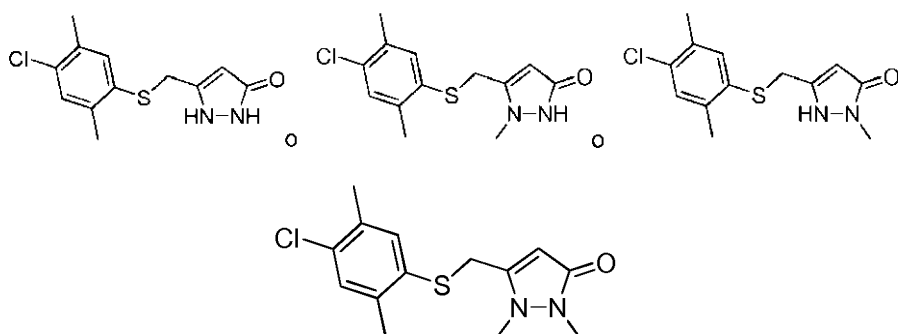
En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



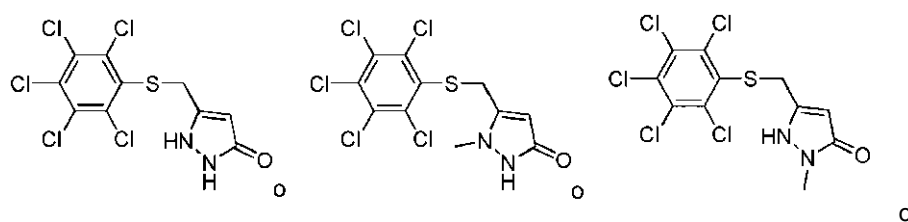
En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

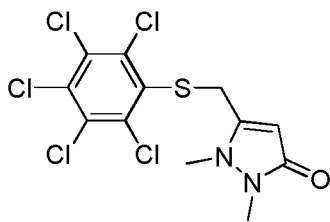


En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

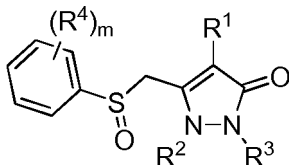


En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:





En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:

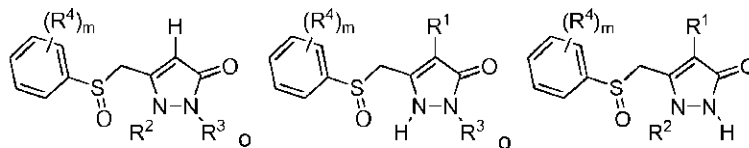


5

en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

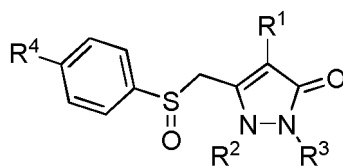
10



en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

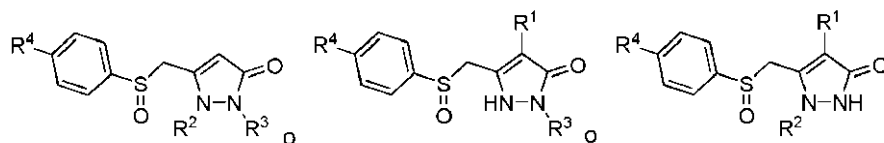
15

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



20 en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

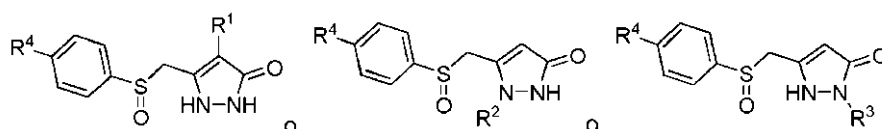
En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



25

en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

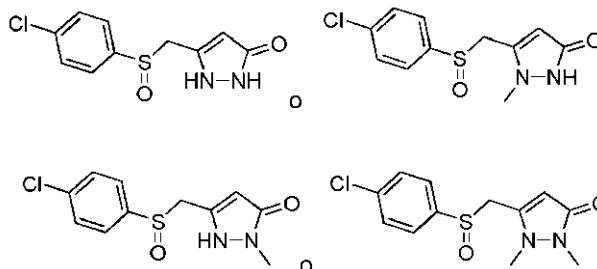
En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



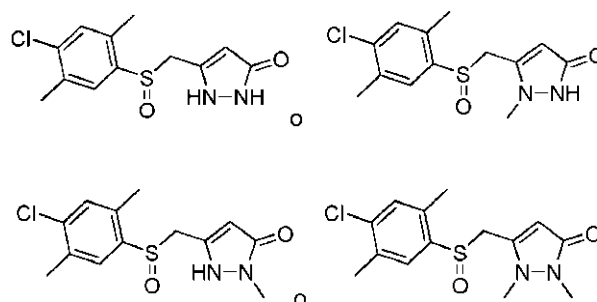
30

en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

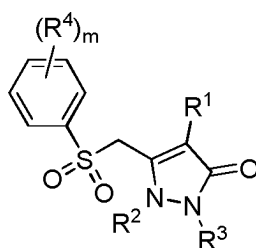
En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

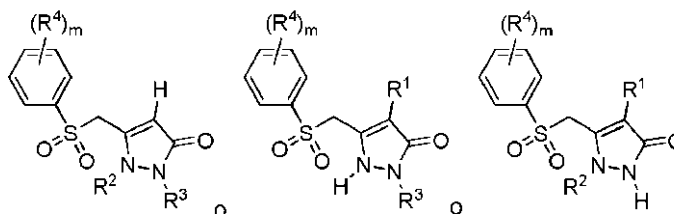


En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



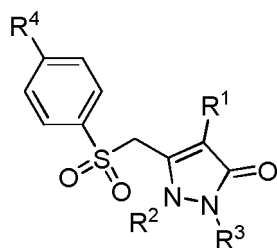
en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento. En ciertas realizaciones, R_4 es halógeno o alquilo C_1 - C_6 .

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



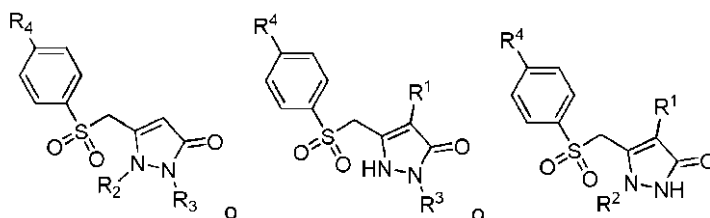
en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

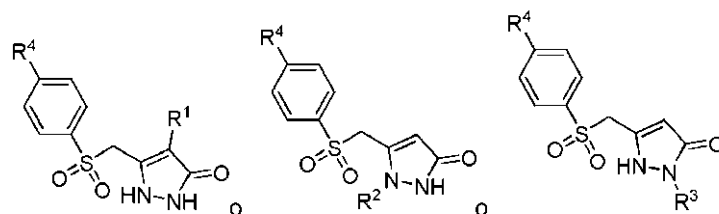
5 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

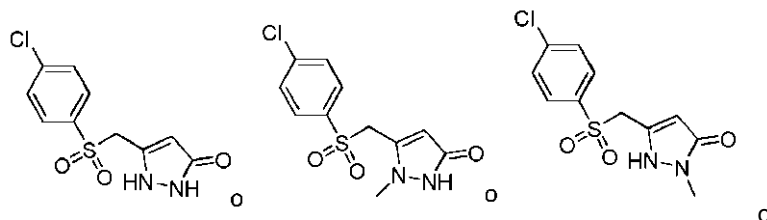
10

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

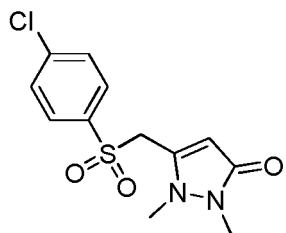


15 en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

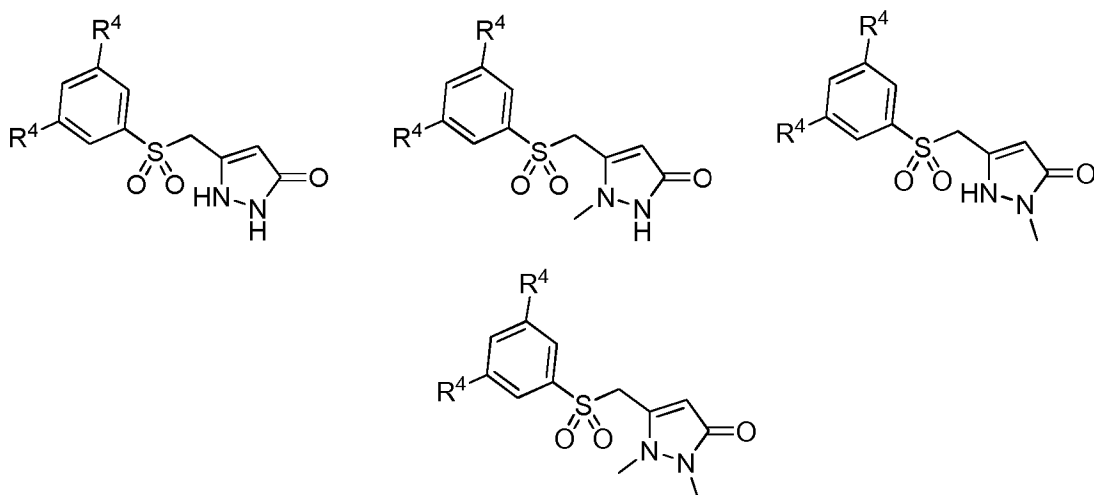
En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



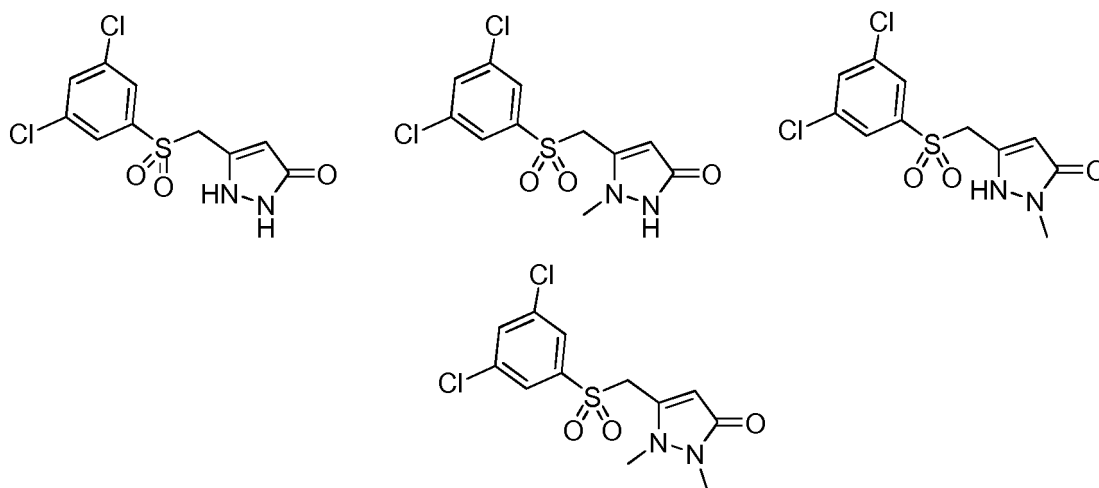
20



En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

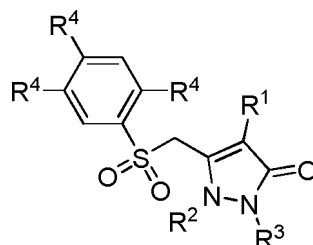


En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



5

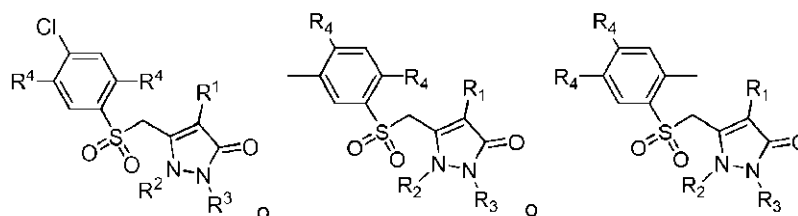
En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



10

en donde R¹, R², R³, y R⁴ son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

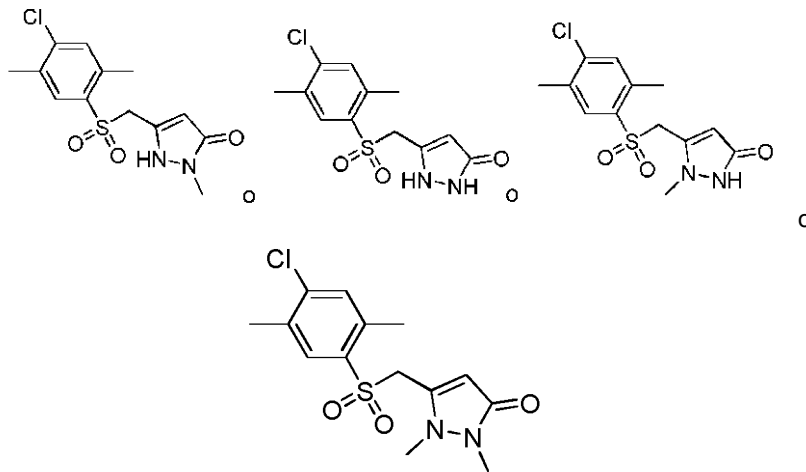
En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



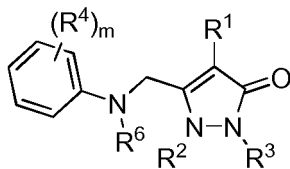
15

en donde R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

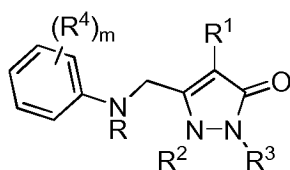


En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es la fórmula:



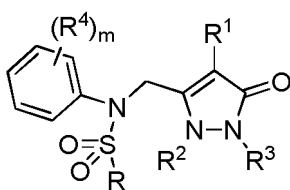
en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^6 y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es la fórmula:



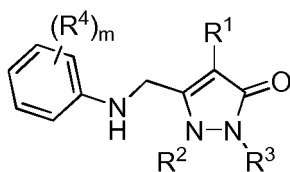
en la que R , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es la fórmula:



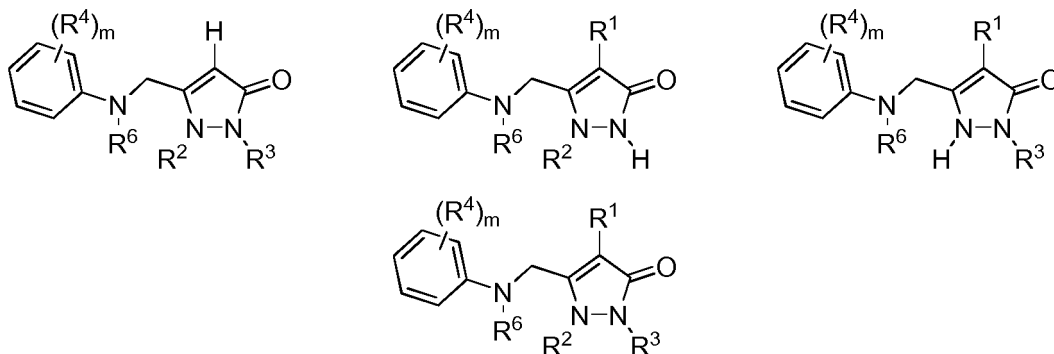
en la que R , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es la fórmula:



en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

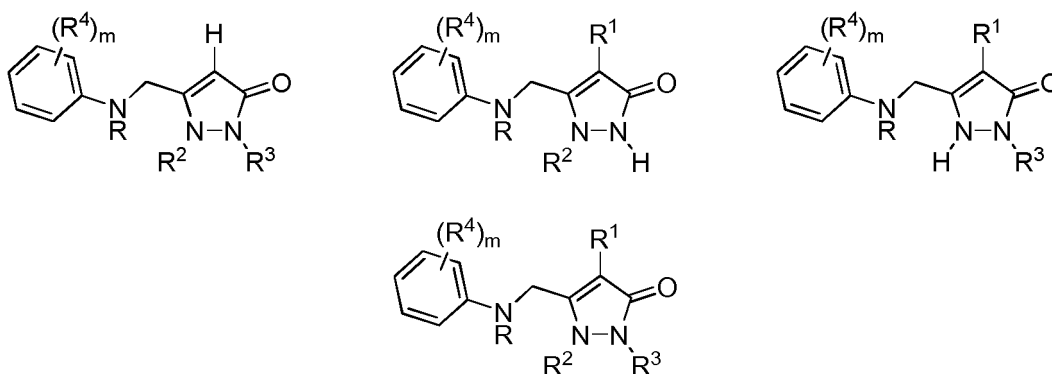


5

en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^6 y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

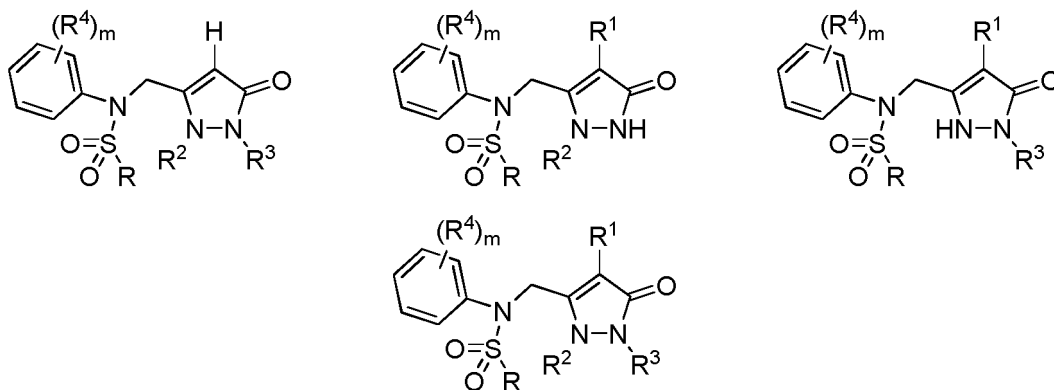
En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

10



15 en la que R , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

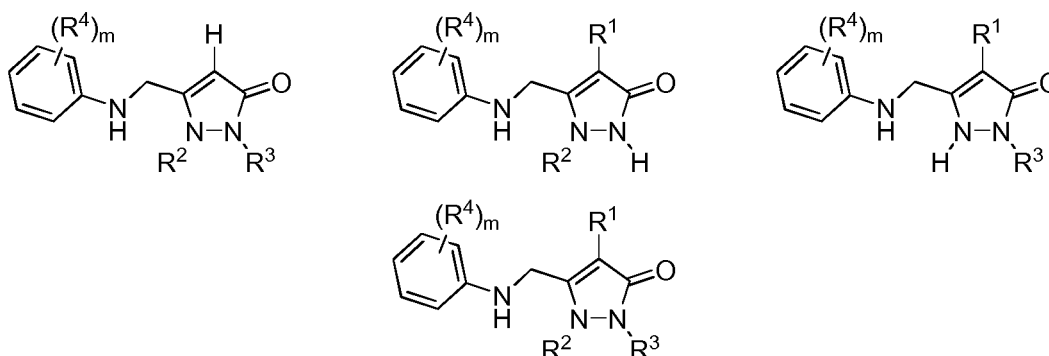
En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



20

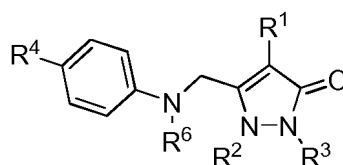
en la que R , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



en donde R¹, R², R³, R⁴, y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

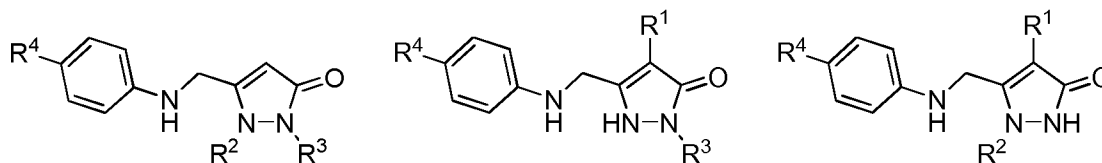
5 En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



en donde R¹, R², R³, R⁴ y R⁶ son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

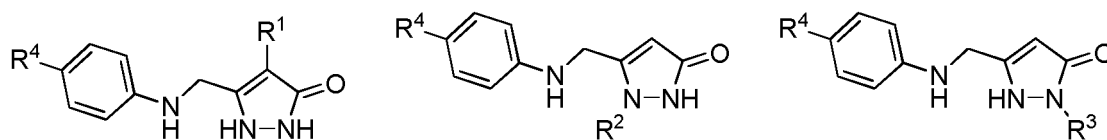
10

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



15 en donde R¹, R², R³, y R⁴ son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

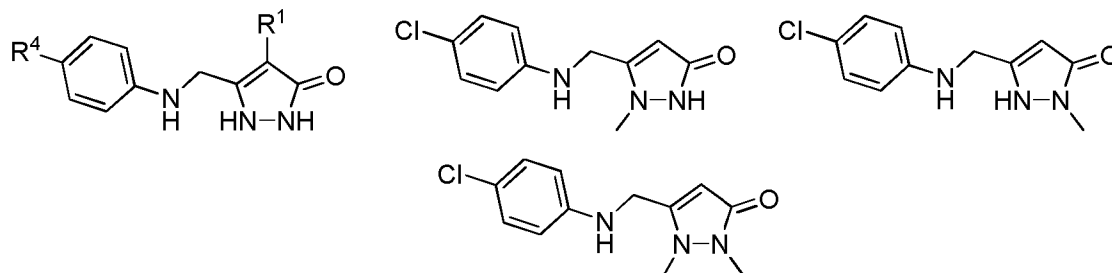
En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



20

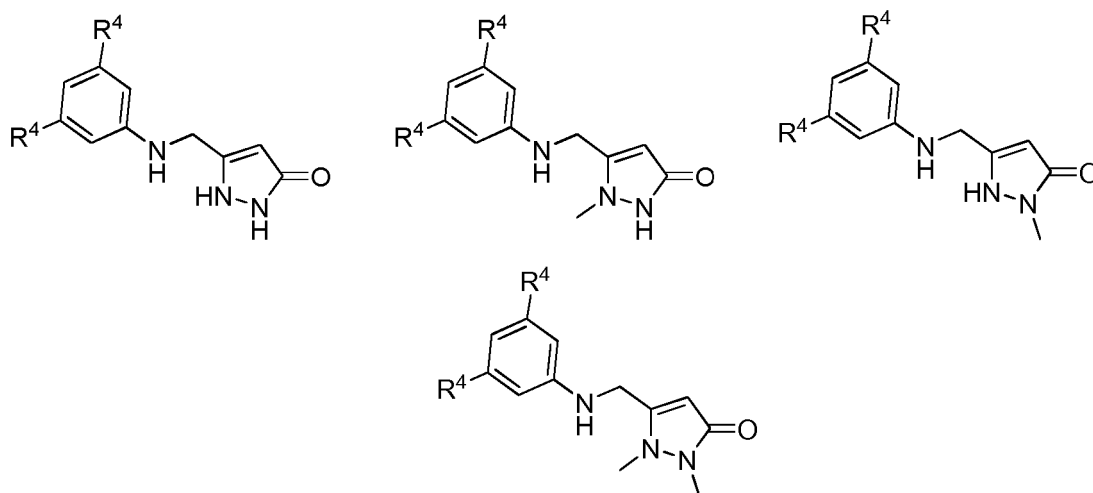
en donde R¹, R², R³, y R⁴ son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

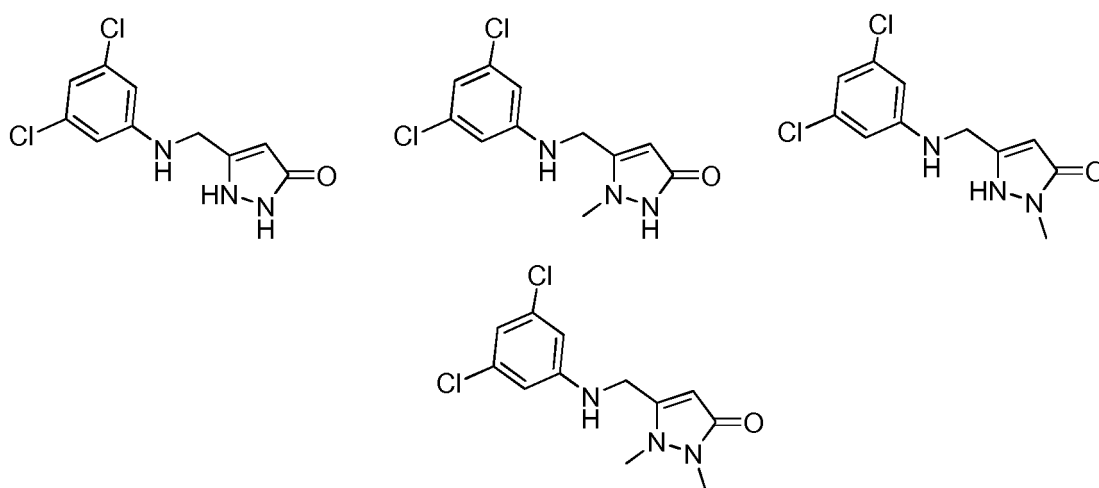


25

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

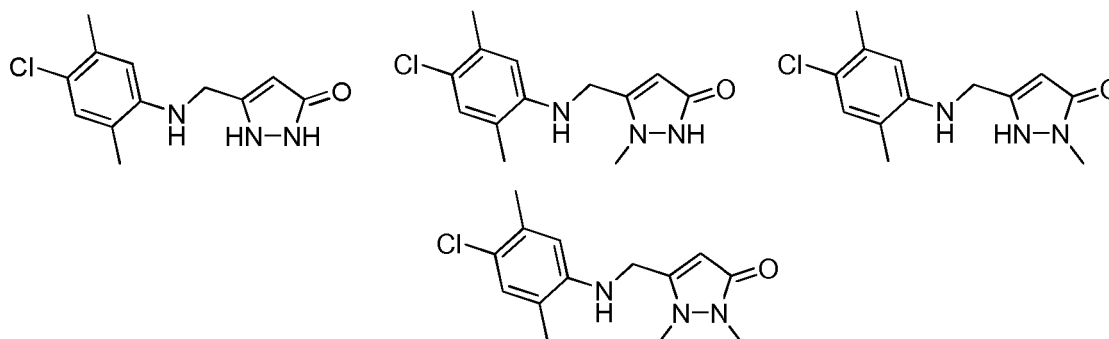


En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



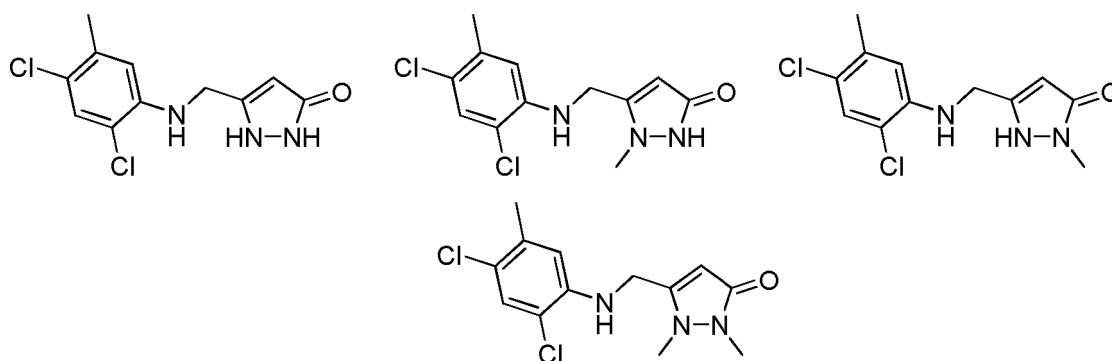
5

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

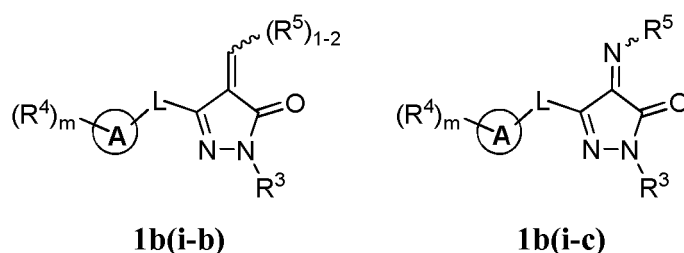


10

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de cualquiera de las fórmulas:



5

en donde R^3 , R^4 , R^5 , m , L , y el Anillo A son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

10 En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de fórmula **1b(i-b)** o **1b(i-c)** anterior, en donde cada R^5 es independientemente $-R$. En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de fórmula **1b(i-b)** o **1b(i-c)** anterior, en donde cada R^5 es independientemente $-OR$, $-SR$, $-S(O)R$, $-SO_2R$, $-OSO_2R$, $-N(R)_2$, $-CN$, $-NO_2$, $-NRC(O)R$, $-NRC(O)(CO)R$, $-NRC(O)N(R)_2$, $-NRC(O)OR$, $-N(R)S(O)R$, $-N(R)SO_2R$, $-N(R)SO_2OR$, $-C(O)R$, $-C(O)OR$, $-OC(O)R$, $-OC(O)OR$, $-C(O)N(R)_2$, o $-OC(O)N(R)_2$. En ciertas realizaciones, R^5 es $-NMe_2$.

15

En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de fórmula **1b(i-b)** o **1b(i-c)** anterior, en donde al menos un R^5 es un anillo de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de anillo monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre, en donde R^5 está opcionalmente sustituido con 1-5 grupos R . En ciertas realizaciones, al menos un R^5 es un anillo de anillo monocíclico de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre, en donde R^5 está opcionalmente sustituido con 1-5 grupos R . En ciertas realizaciones, al menos un R^5 es fenilo opcionalmente sustituido con 1-5 grupos R .

20

25 En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de fórmula **1b(i-b)** o **1b(i-c)** anterior, en donde al menos un R^5 es un anillo de heteroarilo monocíclico de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, y donde R^5 está opcionalmente sustituido con 1-5 grupos R .

25

En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de fórmula **1b(i-b)** o **1b(i-c)** anterior, en donde R^5 es un anillo de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de anillo bicíclico que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre, en donde R^5 está opcionalmente sustituido con 1-5 grupos R .

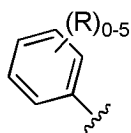
30

Los grupos heteroarilo R^5 incluyen tienilo, furanilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolizínilo, purínilo, naftiridinilo, pteridinilo, indolilo, isoindolilo, benzotienilo, benzofuranilo, indazolilo, benzoimidazolilo, benzotiazolilo, quinolilo, isoquinolilo, cinolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, 4H-quinolizínilo, carbazolilo, acridínilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxazinilo, tetrahydroquinolinilo, tetrahydroisoquinolinilo, pirido[2,3-b]-1,4-oxazin-3(4H)-ona, o cromanilo, en donde R^5 está opcionalmente sustituido con 1-5 grupos R .

35

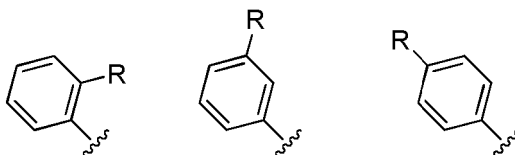
40 En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de fórmula **1b(i-b)** o **1b(i-c)** anterior, en donde R^5 es de la fórmula:

40



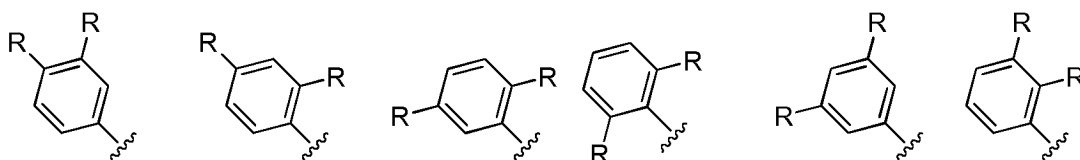
en donde R es como se ha definido y descrito anteriormente en el presente documento.

- 5 En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de fórmula **1b(i-b)** o **1b(i-c)** anterior, en donde R^5 es de cualquiera de las fórmulas:



- 10 en donde R es como se ha definido y descrito anteriormente en el presente documento.

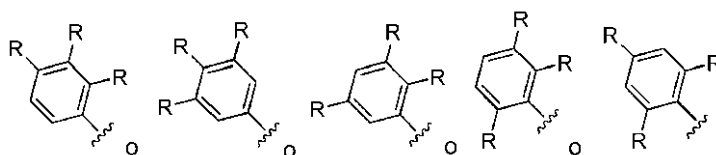
En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de fórmula **1b(i-b)** o **1b(i-c)** anterior, en donde R^5 es de cualquiera de las fórmulas:



15

en donde R es como se ha definido y descrito anteriormente en el presente documento.

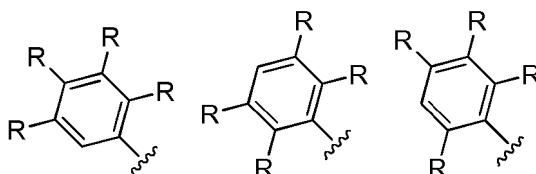
- 20 En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de fórmula **1b(i-b)** o **1b(i-c)** anterior, en donde R^5 es de cualquiera de las fórmulas:



25

en donde R es como se ha definido y descrito anteriormente en el presente documento.

En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de fórmula **1b(i-b)** o **1b(i-c)** anterior, en donde R^5 es de cualquiera de las fórmulas:

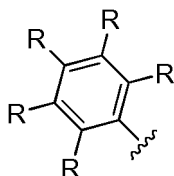


30

en donde R es como se ha definido y descrito anteriormente en el presente documento.

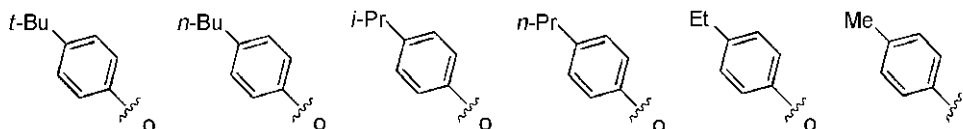
En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de fórmula **1b(i-b)** o **1b(i-c)** anterior, en donde R^5 de la fórmula:

35

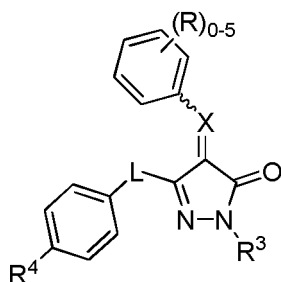


en donde R es como se ha definido y descrito anteriormente en el presente documento.

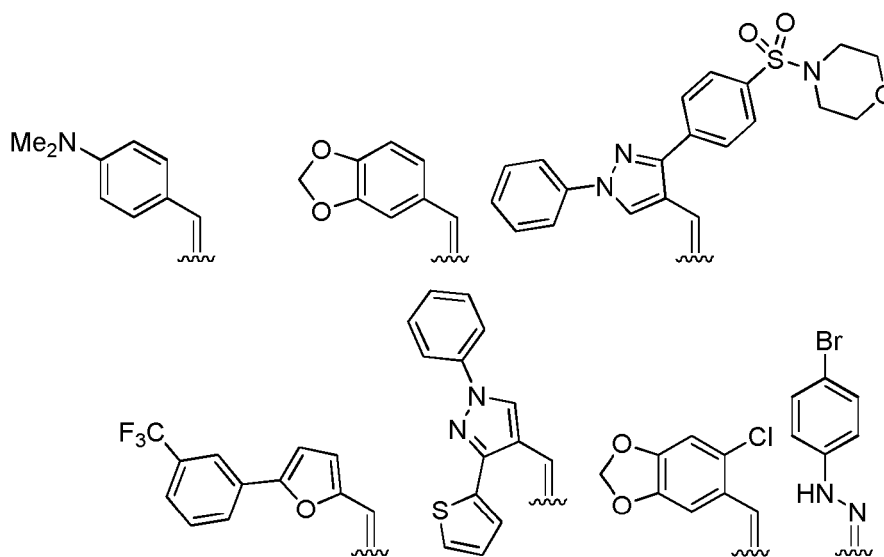
- 5 En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de fórmula **1b(i-b)** o **1b(i-c)** anterior, en donde R⁵ de cualquiera de las fórmulas:



- 10 En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:

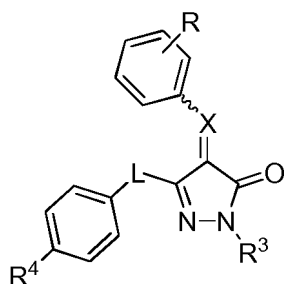


- 15 En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de fórmula **1b(i-b)** o **1b(i-c)** anterior, en donde R⁵ de cualquiera de las fórmulas:



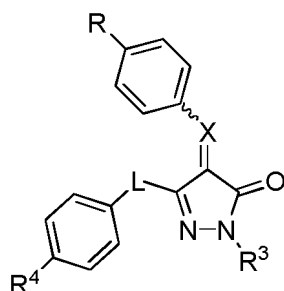
en la que R, R³, R⁴, L, y X son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

- 20 En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



en la que R, R³, R⁴, L, y X son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

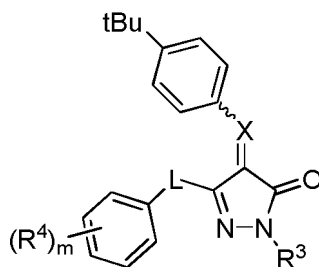
5 En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



en la que R, R³, R⁴, L, y X son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

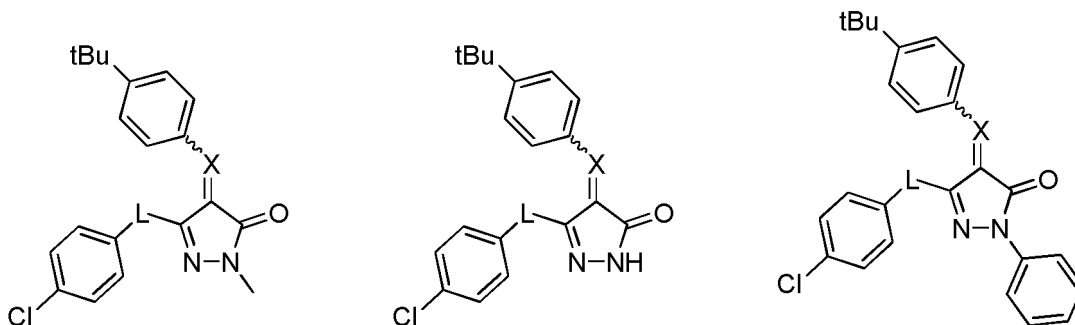
10

En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



15 en la que R, R³, R⁴, L, X, y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

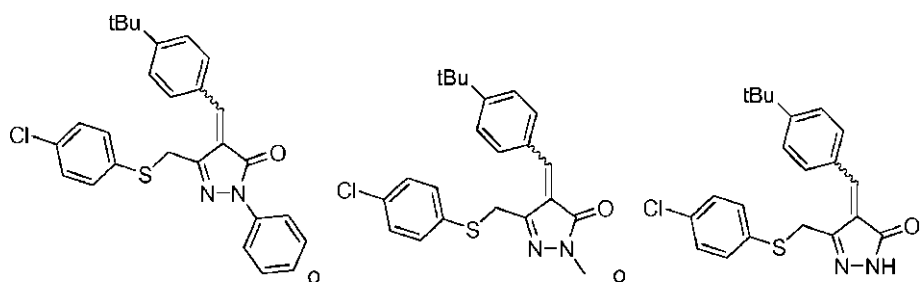
En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



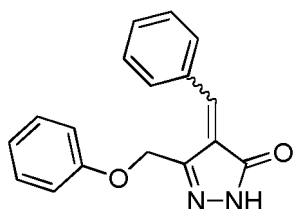
20

en las que L y X son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

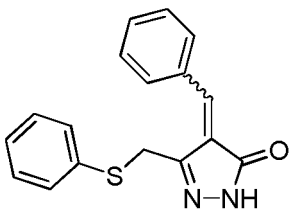


En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



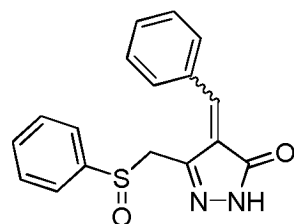
5

En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



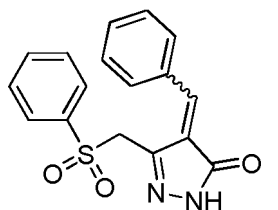
10

En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



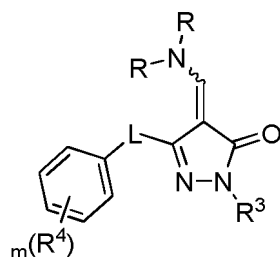
15

En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



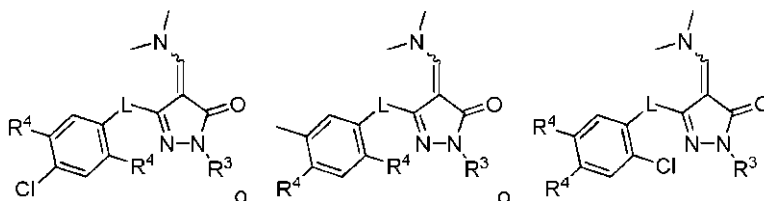
20

En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



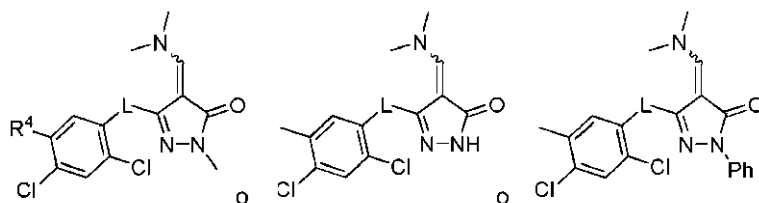
en la que R , R^3 , R^4 , L , y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento.

5 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:



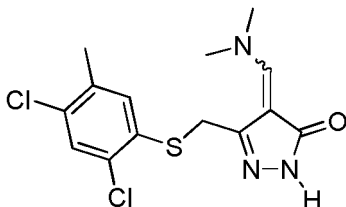
10 en las que R^3 y R^4 son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento, y en las que L se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2\text{O}-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2\text{S}(\text{O})-$ o $-\text{CH}_2\text{SO}_2-$.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de una cualquiera de las fórmulas:

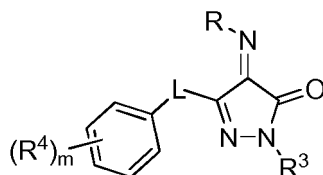


15 en las que L se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2\text{O}-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2\text{S}(\text{O})-$ o $-\text{CH}_2\text{SO}_2-$.

En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:



20 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado es de la fórmula:

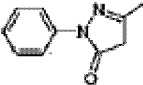
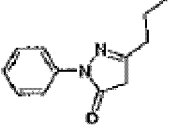
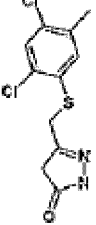
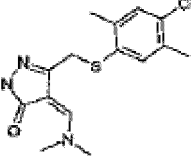
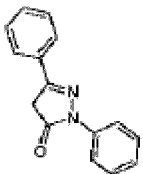
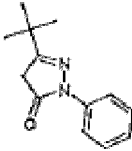
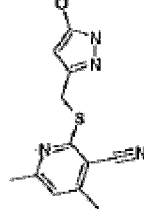
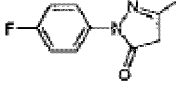
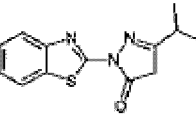
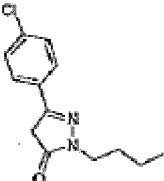
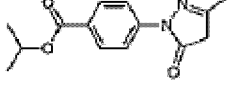
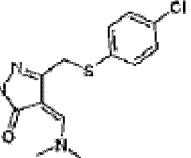
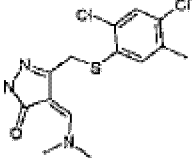


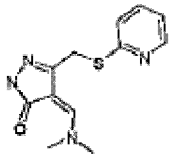
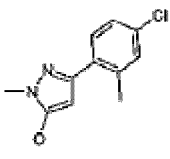
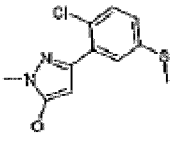
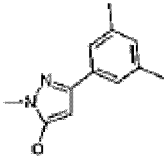
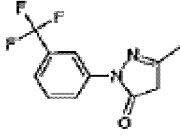
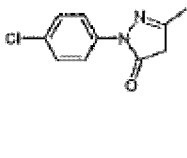
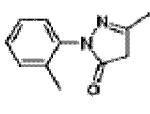
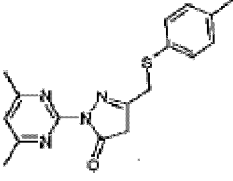
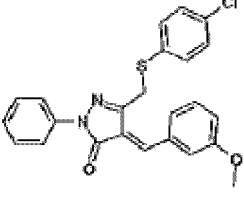
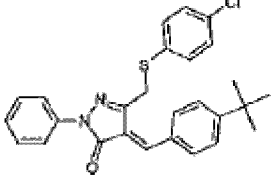
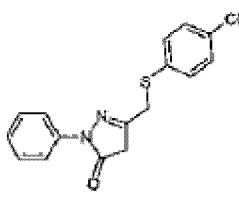
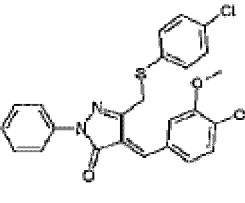
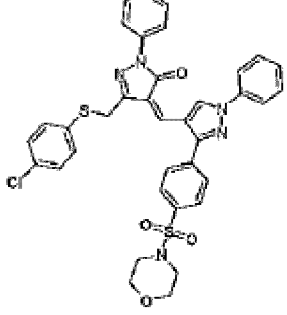
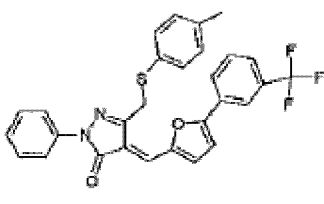
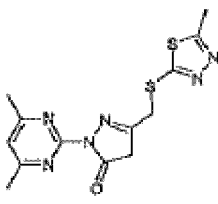
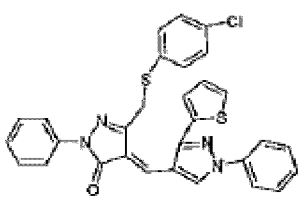
25 en la que R , R^3 , R^4 , y m son como se han definido y descrito anteriormente y en el presente documento, y en las que L se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2\text{O}-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2\text{S}(\text{O})-$ o $-\text{CH}_2\text{SO}_2-$.

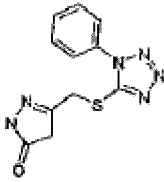
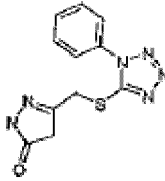
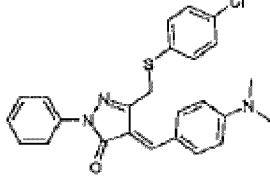
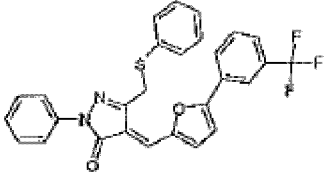
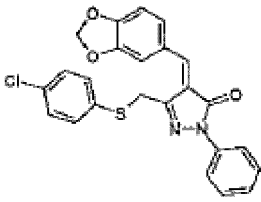
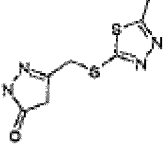
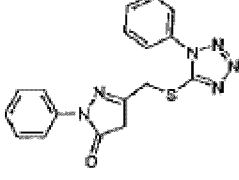
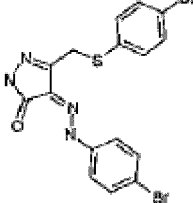
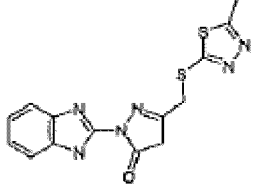
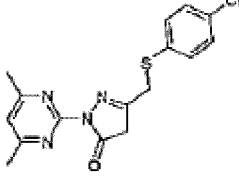
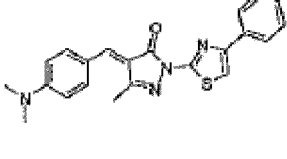
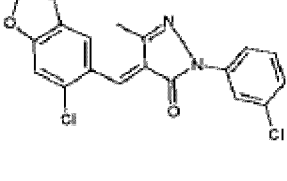
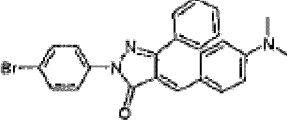
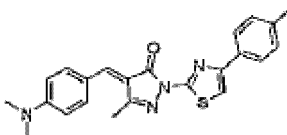
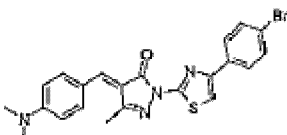
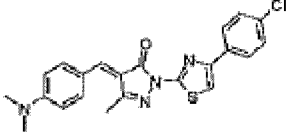
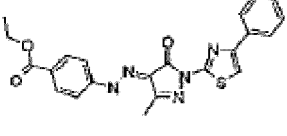
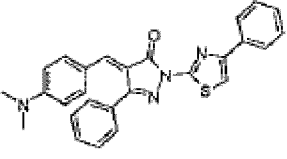
Los compuestos ejemplares de la presente invención que tienen una CE_{50} de $<20 \mu\text{M}$ en ensayos para la protección

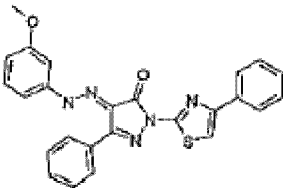
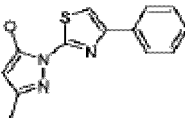
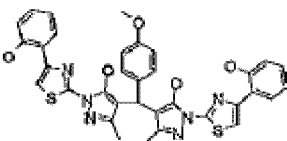
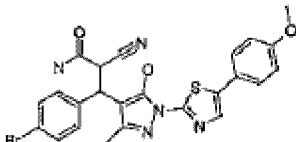
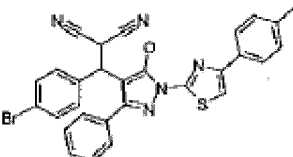
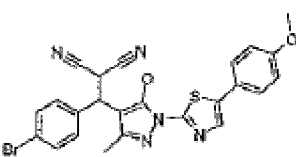
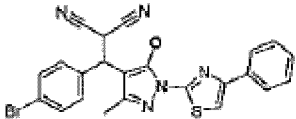
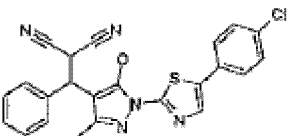
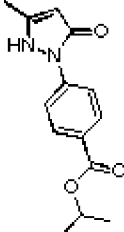
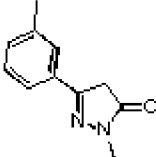
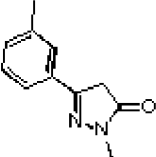
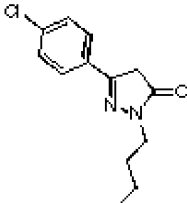
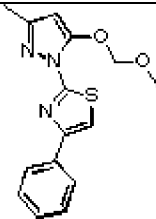
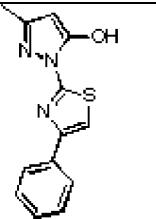
de la citotoxicidad inducida por SOD1 mutante son como se muestran a continuación en la Tabla 1:

Tabla 1

Uso de compuestos para tratar la esclerosis lateral amiotrófica (ELA)

- La presente invención proporciona una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado, o una composición farmacéutica del mismo para su uso en el tratamiento de ELA. La pirazolona de la invención puede administrarse a un sujeto que lo necesite usando cualquier método de administración conocido en la técnica médica. En ciertas realizaciones, el compuesto se puede administrar por vía oral o parenteral. En algunas realizaciones, el compuesto se administra una vez al día. En algunas realizaciones, el compuesto se administra dos, tres, cuatro o cinco veces al día. En algunas realizaciones, el compuesto se administra cada dos días. En algunas realizaciones, el compuesto se administra cada dos días. En algunas realizaciones, el compuesto se administra cada tres días. En algunas realizaciones, el compuesto se administra cada cuatro días. En algunas realizaciones, el compuesto se administra cada cinco días. En algunas realizaciones, el compuesto se administra cada seis días. En algunas realizaciones, el compuesto se administra una vez a la semana. En algunas realizaciones, el compuesto se administra a intervalos según las instrucciones de un médico durante la vida del paciente que se está tratando. En ciertas realizaciones, el tratamiento se administra tantas veces al día como sea necesario para proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado para tratar un sujeto con ELA. En algunas

realizaciones, el sujeto con ELA es un mamífero. En algunas realizaciones, el sujeto con ELA es un roedor, tal como una rata o un ratón, por ejemplo, un modelo de ratón de ELA. En ciertas realizaciones, el sujeto con ELA es un ser humano.

- 5 La eficacia del tratamiento de la invención puede evaluarse y seguirse usando cualquier método conocido en la técnica médica. El tratamiento de ELA se puede evaluar, por ejemplo, mediante examen físico, pruebas de laboratorio, estudios de imágenes, estudios electrofisiológicos, etc.

Compuesto para uso en la inhibición o reversión de la agregación anormal de proteínas

- 10 La presente invención proporciona un compuesto de la presente invención para su uso en la inhibición o reversión de la agregación anormal de proteínas que comprende poner en contacto, *in vitro* o *in vivo*, dicho compuesto con una célula, en una cantidad terapéuticamente eficaz, para inhibir o revertir la agregación anormal de proteínas. En ciertas realizaciones, la inhibición de la agregación anormal de proteínas se produce *in vivo* en un sujeto con ELA u
- 15 otra enfermedad neurodegenerativa caracterizada por agregación de proteínas aberrantes (por ejemplo, enfermedad de Huntington, enfermedad priónica o enfermedad de Alzheimer). En algunas realizaciones, el sujeto es un mamífero. En algunas realizaciones, el sujeto es un ratón o una rata. En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano.

- 20 En ciertas realizaciones, el contacto se produce *in vitro*, y la célula se deriva de una línea celular de mamífero. En ciertas realizaciones, el contacto se produce *in vitro*, y la célula se deriva de una línea celular PC12. En ciertas realizaciones, las células PC12 pueden contener adicionalmente un resto detectable para medir el grado de inhibición de la agregación. En ciertas realizaciones, un resto detectable está asociado con una proteína (por ejemplo, SOD1). En ciertas realizaciones, el resto detectable es un resto fluorescente (por ejemplo, un marcador
- 25 YFP). En algunas realizaciones, el resto detectable es un resto fosforescente, un radiomarcador, o cualquier otro resto detectable conocido en la técnica, y puede detectarse usando cualquiera de los métodos conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, el resto detectable puede detectarse usando un sistema de microscopía de alto contenido para permitir el cribado de alto rendimiento. En ciertas realizaciones, el resto detectable permite la medición de la viabilidad celular.

- 30 *Ensayos para la identificación de compuestos que protegen contra la citotoxicidad inducida por agregados de proteínas*

- 35 La presente divulgación también proporciona ensayos para la identificación de compuestos que protegen contra la citotoxicidad inducida por agregados de proteínas. En ciertas realizaciones, los ensayos son ensayos de protección celular que se usan para identificar compuestos que protegen las células de los efectos citotóxicos de la agregación de proteínas aberrantes. En algunas realizaciones, los ensayos son ensayos de inhibición de la agregación de proteínas que se usan para identificar compuestos que inhiben la agregación de proteínas en una célula o *in vitro*. En algunas realizaciones, el ensayo de la invención puede cribar al menos 1.000, 5.000, 10.000, 20.000, 30.000,
- 40 40.000 o 50.000 compuestos en paralelo.

Ensayos de protección contra la citotoxicidad

- 45 Los compuestos que protegen contra la citotoxicidad inducida por agregados de proteínas pueden identificarse usando métodos de acuerdo con la presente invención. En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona un método para identificar compuestos que protegen contra la citotoxicidad inducida por agregados de proteínas que comprende poner en contacto una célula que expresa SOD1 u otra proteína susceptible de agregación con un compuesto de ensayo, incubar la célula con el compuesto de ensayo en condiciones adecuadas durante una cantidad de tiempo suficiente para observar un efecto protector contra la citotoxicidad inducida por agregados de
- 50 proteínas, y luego medir la viabilidad en las células tratadas con el compuesto de ensayo. En algunas realizaciones, el grado de citotoxicidad inducida por agregación de proteínas se mide determinando el nivel de un resto detectable (por ejemplo, un resto fluorescente) en la célula.

- 55 En ciertas realizaciones, la proteína expresada es una proteína SOD1 mutante. En algunas realizaciones, la proteína expresada es una proteína SOD1 asociada con un resto detectable. En ciertas realizaciones, la proteína expresada es una proteína SOD1 mutante marcada por fluorescencia, y el resto fluorescente es un marcador YFP. En algunas realizaciones, el resto detectable es un resto fosforescente, epítipo o radiomarcador. En algunas realizaciones, el resto detectable es cualquier resto detectable adecuado conocido por los expertos en la técnica y puede detectarse usando cualquier método conocido en la técnica. En algunas realizaciones, el resto detectable es una etiqueta
- 60 fluorescente (por ejemplo, una etiqueta YFP) que se puede detectar con un sistema de microscopía de alto contenido. En algunas realizaciones, el sistema de microscopía de alto contenido detecta la viabilidad celular y facilita el cribado de alto rendimiento de una pluralidad de compuestos.

- 65 Las células pueden pretratarse con un agente que modula la expresión de una proteína de interés (por ejemplo, SOD1) en el ensayo. El agente, por ejemplo, puede inducir la expresión de un gen responsable de la proteína de interés (por ejemplo, promotor inducible por doxiciclina). En algunas realizaciones, las células también se

pueden tratar con un agente que modula la actividad del proteosoma. En ciertas realizaciones, el agente puede ser un inhibidor de proteasoma (por ejemplo, MG132). En algunas realizaciones, la viabilidad celular de las células pretratadas con un agente descrito en el presente documento se mide usando los métodos descritos anteriormente.

- 5 En ciertas realizaciones, el tiempo de incubación de una célula con un compuesto de ensayo varía de aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 1 semana. En algunas realizaciones, el tiempo de incubación varía de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 1 semana. En algunas realizaciones, el tiempo de incubación varía de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 2 días. En algunas realizaciones, el tiempo de incubación varía de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 1 día. En algunas realizaciones, el tiempo de incubación varía de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 1 día. En algunas realizaciones, el tiempo de incubación varía de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 18 horas. En algunas realizaciones, el tiempo de incubación varía de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 12 horas. En algunas realizaciones, el tiempo de incubación varía de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 6 horas. En algunas realizaciones, el tiempo de incubación varía de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 3 horas. En algunas realizaciones, el tiempo de incubación es de aproximadamente 6 horas. En algunas realizaciones, el tiempo de incubación es de aproximadamente 12 horas. En algunas realizaciones, el tiempo de incubación es de aproximadamente 18 horas. En algunas realizaciones, el tiempo de incubación es de aproximadamente 24 horas.

- 20 En ciertas realizaciones, la temperatura durante la incubación de una célula con un compuesto de ensayo varía de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 45 °C. En ciertas realizaciones, la temperatura varía de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 40 °C. En ciertas realizaciones, la temperatura varía de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 40 °C. En ciertas realizaciones, la temperatura varía de aproximadamente 30 °C a aproximadamente 40 °C. En ciertas realizaciones, la temperatura es de aproximadamente 30 °C. En ciertas realizaciones, la temperatura es de aproximadamente 37 °C.

- 25 Los compuestos que son activos en el ensayo mencionado anteriormente podrían teóricamente proteger contra la citotoxicidad inducida por agregados de proteínas anormales a través de una serie de mecanismos biológicos. La presente invención proporciona adicionalmente métodos para cribar compuestos que protegen contra la citotoxicidad inducida por agregados de proteínas anormales en la que la agregación de proteínas se inhibe de una manera no específica.

- 30 Los compuestos que inhiben la agregación de proteínas aberrantes se pueden identificar usando métodos similares a los descritos anteriormente en el ensayo de citotoxicidad mencionado anteriormente. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para identificar compuestos que inhiben la agregación de proteínas aberrantes que comprende poner en contacto una célula que expresa SOD1 u otra proteína susceptible de agregación con un compuesto de ensayo, incubar la célula con el compuesto de ensayo en condiciones adecuadas, y después medir la extensión de la agregación de proteínas en las células tratadas con el compuesto de ensayo en comparación con un control. En ciertas realizaciones, el grado de inhibición de la agregación de proteínas se mide tiñendo los agregados de proteínas con una tinción detectable (por ejemplo, colorante de membrana plasmática Image-iT). En algunas realizaciones, la tinción detectable se detecta usando un dispositivo de exploración (por ejemplo, Cellomics Arrayscan). En ciertas realizaciones, los agregados de proteínas se detectan usando cualquier método de detección de agregados de proteínas conocidos en la técnica.

- 45 Los compuestos identificados usando los ensayos mencionados anteriormente pueden examinarse adicionalmente usando ensayos biológicos para guiar los análisis de relación estructura-actividad (SAR) de los compuestos identificados. Los expertos en la técnica conocen ensayos biológicos y análisis SAR.

Compuesto para su uso en la protección de células contra los efectos citotóxicos de SOD1 agregada

- 50 La presente invención proporciona un compuesto de la invención para su uso en la protección de células frente a los efectos citotóxicos de la proteína SOD1 agregada, comprendiendo dicho uso poner en contacto dicho compuesto in vitro o in vivo con una célula, en una cantidad terapéuticamente eficaz, para proteger la célula de los efectos de SOD1 agregada. En ciertas realizaciones, la protección de una célula se produce in vivo en un sujeto con ELA. En algunas realizaciones, el sujeto es un mamífero. En algunas realizaciones, el sujeto es un ratón o una rata. En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano.

- 60 En otros casos, la protección de una célula frente al efecto citotóxico de la SOD1 agregada se produce in vitro. En ciertas realizaciones, la protección se produce in vitro en un cultivo celular. En algunas realizaciones, los compuestos de la invención se ponen en contacto con una línea celular in vitro y la línea celular es una línea celular de mamífero. En ciertas realizaciones, la línea celular es la línea celular PC12. En algunas realizaciones, las células están asociadas con un resto detectable, tal como los descritos anteriormente. En algunas realizaciones, las células contienen una proteína marcada con un resto detectable. En ciertas realizaciones, la proteína marcada con un resto detectable es SOD1 y el resto detectable es un resto fluorescente. En ciertas realizaciones, el resto fluorescente (por ejemplo, una etiqueta YFP) que puede detectarse usando un sistema de microscopía de alto contenido para permitir un cribado de alto rendimiento. En algunas realizaciones, el resto detectable es un resto fosforescente, un epítopo, un radiomarcador, o cualquier otro resto detectable conocido en la técnica, y puede detectarse usando cualquiera de

los métodos conocidos en la técnica. En ciertas realizaciones, el resto detectable permite la medición de la viabilidad celular.

Compuesto para su uso en la medición de cambios en la actividad de la ubiquitina proteasoma

5 La presente divulgación proporciona un compuesto de la presente invención para su uso en la medición de cambios en la actividad de ubiquitina proteasoma, dicho uso comprende la puesta en contacto in vitro o in vivo con una célula, en una cantidad terapéuticamente eficaz, para efectuar un cambio en la actividad de ubiquitina proteasoma. En ciertas realizaciones, la modulación de la actividad del proteasoma con un compuesto de la invención se produce in vivo en un sujeto con ELA. En algunas realizaciones, el sujeto es un mamífero. En algunas realizaciones, el sujeto es un ratón o una rata. En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano.

15 En ciertas realizaciones, el contacto se produce in vitro poniendo en contacto un compuesto de ensayo con una célula, incubando el compuesto de ensayo con la célula usando los métodos descritos anteriormente, y midiendo el grado de inhibición de la agregación de proteínas en la célula. En ciertas realizaciones, la célula se deriva de una línea celular de mamífero. En algunas realizaciones, la célula se deriva de una línea celular PC12 o una línea celular HeLa. En ciertas realizaciones, las células contienen un resto detectable para medir el grado en que se inhibe la actividad del proteasoma. En algunas realizaciones, las células contienen una proteína marcada con un resto detectable. En ciertas realizaciones, la proteína es SOD1 y el resto detectable es un resto fluorescente. En ciertas realizaciones, el resto detectable es un resto fluorescente (por ejemplo, un marcador Ubi-YFP). En algunas realizaciones, el resto detectable es un marcador Ubi-YFP, que es detectable mediante microscopía de fluorescencia. En algunas realizaciones, el resto detectable es un resto fosforescente, un epítipo, un radiomarcador, o cualquier otro resto detectable conocido en la técnica, y puede detectarse usando cualquiera de los métodos conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, el resto detectable puede detectarse usando un sistema de microscopía de alto contenido para permitir el cribado de alto rendimiento. En ciertas realizaciones, el resto detectable permite la medición de la viabilidad celular.

Composiciones farmacéuticas

30 En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas, que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de un compuesto proporcionado, formuladas junto con uno o más vehículos (aditivos) y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento de ELA o cualquier otra enfermedad, trastorno o afección. Como se describe en detalle, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden formular especialmente para su administración en forma sólida o líquida, incluyendo aquellas adaptadas para las siguientes: administración oral, por ejemplo, soluciones orales (soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos, *por ejemplo*, aquellos dirigidos a absorción bucal, sublingual y sistémica, bolos, polvos, gránulos, pastas para aplicación a la lengua; administración parenteral, por ejemplo, por inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o epidural en forma de, por ejemplo, una solución o suspensión estéril, o formulación de liberación sostenida; aplicación tópica, por ejemplo, como una crema, ungüento, o un parche o aerosol de liberación controlada aplicado a la piel, los pulmones, o la cavidad oral; por vía intravaginal o intrarrectal, por ejemplo, como un pesario, crema o espuma; por vía sublingual; por vía ocular; por vía transdérmica; o por vía nasal, pulmonar y a otras superficies de la mucosa.

45 Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos proporcionados incluyen sales no tóxicas convencionales o sales de amonio cuaternario de un compuesto, *por ejemplo*, de ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos. Por ejemplo, dichas sales no tóxicas convencionales incluyen las obtenidas a partir de ácidos inorgánicos, tales como clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico, y similares; y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos, tales como acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, palmítico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutámico, benzoico, salicílico, sulfanílico, 2-acetoxibenzoico, fumárico, toluenosulfónico, metanosulfónico, etanodisulfónico, oxálico, isotiónico, y similares.

55 En otros casos, los compuestos proporcionados pueden contener uno o más grupos funcionales ácidos y, por lo tanto, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con bases farmacéuticamente aceptables. Estas sales también pueden prepararse in situ en el vehículo de administración o el proceso de fabricación de la forma de dosificación, o haciendo reaccionar por separado el compuesto purificado en su forma de ácido libre con una base adecuada, tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión de metal farmacéuticamente aceptable, con amoníaco, o con una amina primaria, secundaria o terciaria orgánica farmacéuticamente aceptable. Las sales alcalinas o alcalinotérreas representativas incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio, y aluminio, y similares. Las aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de bases incluyen etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, y similares. Véase, por ejemplo, Berge *et al.*, anteriormente.

65 Los agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes, saporíferos y perfumantes, conservantes y antioxidantes pueden estar también presentes en las composiciones.

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

Las formulaciones de la presente invención incluyen aquellas adecuadas para administración oral, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), rectal, vaginal y/o parenteral. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosis unitaria y pueden prepararse mediante cualquier método bien conocido en la técnica de farmacia. La cantidad de principio activo que se puede combinar con un material de vehículo para producir una única forma de dosificación variará dependiendo del huésped que se esté tratando y del modo particular de administración. La cantidad de principio activo que puede combinarse con un material transportador para producir una forma de dosis unitaria será generalmente aquella cantidad del compuesto que produce un efecto terapéutico. En general, esta cantidad variará de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 99% de principio activo, preferiblemente de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 70%, mucho más preferiblemente de aproximadamente el 10% a aproximadamente el 30%.

En ciertas realizaciones, una formulación de la presente invención comprende un excipiente seleccionado del grupo que consiste en ciclodextrinas, liposomas, agentes formadores de micelas, *por ejemplo*, ácidos biliares y vehículos poliméricos, *por ejemplo*, poliésteres y polianhídridos; y un compuesto de la presente invención. En ciertas realizaciones, una formulación mencionada anteriormente hace que un compuesto de la presente invención esté biodisponible por vía oral.

Los métodos para preparar formulaciones o composiciones que comprenden compuestos proporcionados incluyen una etapa de poner en asociación un compuesto de la presente invención con el vehículo y, opcionalmente, uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando de forma uniforme e íntima un compuesto de la presente invención con vehículos líquidos, o vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y luego, si fuera necesario, dando forma al producto.

Las formulaciones de la invención adecuadas para administración oral pueden estar en forma de cápsulas, sellos, píldoras, comprimidos, pastillas (que usan una base aromatizada, generalmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto), polvos, gránulos, o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida de aceite en agua o agua en aceite, o como elixir o jarabe, o como pastillas (usando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga) y/o como enjuagues bucales y similares, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada de un compuesto de la presente invención como principio activo. Un compuesto de la presente invención también se puede administrar como un bolo, electuario o pasta.

En formas de dosificación sólida de la invención para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos, y similares), el principio activo se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato sódico o fosfato dicálcico, y/o cualquiera de los siguientes: cargas o extensores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; aglutinantes, tales como, *por ejemplo*, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinil pirrolidona, sacarosa y/o goma arábiga; humectantes, tal como glicerol; agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido alginico, ciertos silicatos y carbonato sódico; agentes retardantes de la solución, tal como parafina; acelerantes de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; agentes humectantes, tales como, *por ejemplo*, alcohol cetílico, glicerol monoestearato, y tensioactivos no iónicos; absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio y mezclas de los mismos; y agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes tamponantes. También se pueden emplear composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina de cubierta blanda y dura utilizando excipientes como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Los comprimidos pueden prepararse por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos pueden prepararse usando un aglutinante (*por ejemplo*, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (*por ejemplo*, almidón glicolato sódico o carboximetil celulosa sódica reticulada), agente tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeados pueden prepararse en una máquina adecuada en la que se humedece una mezcla del compuesto en polvo con un diluyente líquido inerte.

Los comprimidos, y otras formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas de la presente invención, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden ranurarse o prepararse opcionalmente con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos ya conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. También pueden formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada del principio activo en el mismo usando, *por ejemplo*, hidroxipropilmetil celulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices de polímeros, liposomas y/o microesferas. Se pueden formular para liberación rápida, *por ejemplo*, liofilizados. Se pueden esterilizar, *por ejemplo*, mediante filtración a

través de un filtro de retención de bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes del uso. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden ser de una composición en la que liberan el ingrediente o ingredientes activos solamente, o preferiblemente, en una cierta porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones inclusoras que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. El principio activo también puede estar en forma microencapsulada, si es adecuado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

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

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

Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilensorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

Las formulaciones de composiciones farmacéuticas de la invención para administración rectal o vaginal se pueden presentar como un supositorio, que se puede preparar mezclando uno o más compuestos de la invención con uno o más excipientes o vehículos no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera de supositorio o un salicilato, y que es sólida a temperatura ambiente, pero líquida a temperatura corporal y, por lo tanto, se fundirá en el recto o en la cavidad vaginal y liberará el compuesto activo.

Las formas farmacéuticas para administración tópica y/o transdérmica de un compuesto de la presente invención pueden incluir polvos, pulverizadores, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhaladores. El compuesto activo se puede mezclar en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y con cualquier conservante, tampón o propulsor que pueda requerirse.

Los ungüentos, pastas, cremas y geles pueden contener, además de un compuesto activo de esta invención, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de cinc, o mezclas de los mismos.

Los polvos y pulverizadores pueden contener, además de un compuesto de esta invención, excipientes, tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Las pulverizaciones pueden contener además propulsores habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

Los parches transdérmicos tienen la ventaja adicional de proporcionar la administración controlada de un compuesto de la presente invención al cuerpo. Disolver o dispersar el compuesto en el medio apropiado puede hacer tales formas de dosificación. También se pueden usar potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. Proporcionar una membrana de control de la velocidad o dispersar el compuesto en una matriz polimérica o gel puede controlar la velocidad de dicho flujo.

Las formulaciones oftalmológicas, pomadas oculares, polvos, soluciones, y similares. también se contemplan dentro del alcance de esta invención.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención adecuadas para administración parenteral comprenden uno o más compuestos de la invención junto con una o más soluciones acuosas o no acuosas isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables, dispersiones, suspensiones o emulsiones, o polvos estériles que pueden reconstituirse en soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes del uso, que pueden contener azúcares, alcoholes, antioxidantes, taponeros, bacteriostáticos, solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor deseado o agentes de suspensión o espesantes.

Los ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados, que se pueden emplear en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares) y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula necesario en caso de dispersiones, y mediante el uso de tensioactivos.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de los microorganismos sobre los compuestos objeto se puede asegurar mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol de ácido sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro sódico y similares en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma inyectable del fármaco se puede llevar a cabo mediante la inclusión de agentes que retrasen la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

En algunos casos, para prolongar el efecto de un fármaco, es deseable ralentizar la absorción del fármaco mediante inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede lograrse mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo que tiene poca solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende por tanto de su velocidad de disolución, que a su vez, puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. Como alternativa, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada parenteralmente se logra disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso.

Las formas de depósito inyectable se preparan formando matrices microencapsuladas de los compuestos objeto en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la proporción de fármaco con respecto a polímero, y de la naturaleza del polímero concreto empleado, puede controlarse la tasa de liberación del fármaco. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones, que son compatibles con el tejido corporal.

En ciertas realizaciones, un compuesto o preparación farmacéutica se administra por vía oral. En otras realizaciones, el compuesto o preparación farmacéutica se administra por vía intravenosa. Las rutas de administración alternativas incluyen administración sublingual, intramuscular y transdérmica.

Cuando los compuestos de la presente invención se administran como productos farmacéuticos, a seres humanos y animales, se les puede dar per se o como una composición farmacéutica que contiene, por ejemplo, del 0,1% al 99,5% (más preferiblemente, del 0,5% al 90%) de principio activo junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Las preparaciones de la presente invención se pueden administrar por vía oral, parenteral, tópica o rectal. Por supuesto, se dan en formas adecuadas para cada ruta de administración. Por ejemplo, se administran en forma de comprimidos o cápsulas, por inyección, inhalación, loción ocular, ungüento, supositorio, etc., por inyección, infusión o inhalación; tópica por loción o ungüento; y rectal por supositorios. Se prefieren las administraciones orales.

Estos compuestos se pueden administrar a seres humanos y otros animales para terapia mediante cualquier ruta de administración adecuada, incluyendo por vía oral, por vía nasal, como mediante, por ejemplo, una pulverización, por vía rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal y tópica, como polvos, ungüentos o gotas, incluyendo bucal y sublingual.

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

Los niveles de dosificación reales de los principios activos en las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden variarse para obtener una cantidad del principio activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente particular, la composición y el modo de administración, sin ser tóxicas para el paciente.

El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una diversidad de factores, incluyendo la actividad del compuesto particular de la presente invención empleada, o el éster, la sal o la amida del mismo, la vía de administración, el tiempo de administración, la tasa de excreción o metabolismo del compuesto particular que se emplea, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales usados junto con el compuesto particular empleado, la edad, el sexo, el peso, la condición, el estado de salud general y los antecedentes médicos del paciente que se está tratando, y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

Un médico o veterinario que tenga experiencia en la materia puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad eficaz de la composición farmacéutica requerida. Por ejemplo, el médico o veterinario podría iniciar dosis de los compuestos de la invención empleados en la composición farmacéutica a niveles inferiores a los requeridos para lograr el efecto terapéutico deseado y luego aumentar gradualmente la dosificación hasta que se logre el efecto deseado.

En algunas realizaciones, uno o más compuestos proporcionados, o composiciones farmacéuticas de los mismos, se proporcionan a un sujeto sinucleinopático crónicamente. Los tratamientos crónicos incluyen cualquier forma de administración repetida durante un período de tiempo prolongado, tal como administraciones repetidas durante uno o

- más meses, entre un mes y un año, uno o más años, o más. En muchas realizaciones, el tratamiento crónico implica administrar uno o más compuestos proporcionados, o composiciones farmacéuticas de los mismos, repetidamente a lo largo de la vida del sujeto. Los tratamientos crónicos preferidos implican administraciones regulares, por ejemplo, una o más veces al día, una o más veces a la semana, o una o más veces al mes. En general, una dosis adecuada, tal como una dosis diaria de uno o más compuestos proporcionados, o composiciones farmacéuticas de los mismos, será aquella cantidad del uno o más compuestos proporcionados que sea la dosis más baja eficaz para producir un efecto terapéutico. Dicha dosis eficaz dependerá generalmente de los factores descritos anteriormente. Generalmente, las dosis de los compuestos de esta invención para un paciente, cuando se usan para los efectos indicados, variarán de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal por día. Preferiblemente, la dosis diaria variará de 0,001 a 50 mg de compuesto por kg de peso corporal, e incluso más preferiblemente de 0,01 a 10 mg de compuesto por kg de peso corporal. Sin embargo, se pueden usar dosis más bajas o más altas. En algunas realizaciones, la dosis administrada a un sujeto puede modificarse a medida que la fisiología del sujeto cambia debido a la edad, progresión de la enfermedad, peso u otros factores.
- Si se desea, la dosis diaria eficaz de uno o más compuestos proporcionados se puede administrar como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más subdosis administradas por separado a intervalos apropiados a lo largo del día, opcionalmente, en formas de dosificación unitarias.
- Si bien es posible que un compuesto proporcionado se administre solo, es preferible administrar un compuesto proporcionado como una formulación (composición) farmacéutica como se ha descrito anteriormente.
- Se pueden formular compuestos proporcionados para su administración de cualquier forma conveniente para su uso en medicina humana o veterinaria, por analogía con otros productos farmacéuticos.
- De acuerdo con la invención, los compuestos proporcionados para tratar afecciones o enfermedades neurológicas se pueden formular o administrar usando métodos que ayudan a los compuestos a cruzar la barrera hematoencefálica (BBB). El cerebro vertebrado (y el SNC) tiene un sistema capilar único, diferente al de cualquier otro órgano en el cuerpo. El sistema capilar único tiene características morfológicas que conforman la barrera hematoencefálica (BBB). La barrera hematoencefálica actúa como una membrana celular de todo el sistema que separa el espacio intersticial del cerebro de la sangre.
- Las características morfológicas únicas de los capilares cerebrales que constituyen la BBB son: (a) uniones estrechas de alta resistencia de tipo epitelial que cementan literalmente todos los endotelios de los capilares cerebrales juntos, y (b) escasas pinocitosis o canales transendoteliales, que son abundante en endotelios de órganos periféricos. Debido a las características únicas de la barrera hematoencefálica, los fármacos hidrófilos y los péptidos que obtienen fácilmente acceso a otros tejidos en el cuerpo no pueden ingresar al cerebro o sus tasas de entrada y/o acumulación en el cerebro son muy bajas.
- En un aspecto de la invención, los compuestos proporcionados que cruzan la BBB son particularmente útiles para tratar sinucleinopatías. En una realización, los compuestos proporcionados que cruzan la BBB son particularmente útiles para tratar la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). Por lo tanto, un experto en la materia apreciará que algunos de los compuestos de la invención pueden cruzar fácilmente el BBB. Como alternativa, los compuestos de la invención pueden modificarse, por ejemplo, mediante la adición de varios sustituyentes que los harán menos hidrófilos y les permitirán cruzar más fácilmente la BBB.
- Se han desarrollado diversas estrategias para introducir estos fármacos en el cerebro que, de otro modo, no cruzarían la barrera hematoencefálica. Las estrategias ampliamente utilizadas implican procedimientos invasivos donde el fármaco se administra directamente en el cerebro. Uno de estos procedimientos es la implantación de un catéter en el sistema ventricular para eludir la barrera hematoencefálica y administrar el fármaco directamente al cerebro. Estos procedimientos se han usado en el tratamiento de enfermedades cerebrales que tienen una predilección por las meninges, *por ejemplo*, la implicación leucémica del cerebro (documento US 4.902.505, incorporado en el presente documento en su totalidad por referencia).
- Aunque los procedimientos invasivos para la administración directa de fármacos a los ventrículos cerebrales han tenido cierto éxito, están limitados en el sentido de que solo pueden distribuir el fármaco a áreas superficiales de los tejidos cerebrales, y no a las estructuras profundas del cerebro. Además, los procedimientos invasivos son potencialmente dañinos para el paciente.
- Otros enfoques para eludir la barrera hematoencefálica utilizan procedimientos farmacológicos que implican la latencia del fármaco o la conversión de fármacos hidrófilos en fármacos solubles en lípidos. La mayoría de los enfoques de latencia implican bloquear los grupos hidroxilo, carboxilo y de amina primaria en el fármaco para hacerlo más soluble en lípidos y, por lo tanto, más fácilmente capaz de cruzar la barrera hematoencefálica.
- Otro enfoque para aumentar la permeabilidad de la BBB a los fármacos implica la infusión intraarterial de sustancias hipertónicas que abren transitoriamente la barrera hematoencefálica para permitir el paso de fármacos hidrófilos. Sin embargo, las sustancias hipertónicas son potencialmente tóxicas y pueden dañar la barrera hematoencefálica.

Los anticuerpos son otro método para la administración de composiciones de la invención. Por ejemplo, un anticuerpo que es reactivo con un receptor de transferrina presente en una célula endotelial capilar del cerebro, se puede conjugar con un agente neurofarmacéutico para producir un conjugado anticuerpo-agente neurofarmacéutico (documento US 5.004.697). El método se realiza en condiciones en las que el anticuerpo se une al receptor de transferrina en la célula endotelial capilar del cerebro y el agente neurofarmacéutico se transfiere a través de la barrera hematoencefálica en una forma farmacéuticamente activa. La captación o transporte de anticuerpos al cerebro también puede aumentarse en gran medida cationizando los anticuerpos para formar anticuerpos cationizados que tienen un punto isoeléctrico de entre aproximadamente 8,0 y 11,0 (documento US 5.527.527).

Una proteína de fusión de ligando-agente neurofarmacéutico es otro método útil para la administración de composiciones a un huésped (documento US 5.977.307). El ligando es reactivo con un receptor de células endoteliales capilares del cerebro. El método se realiza en condiciones en las que el ligando se une al receptor en una célula endotelial capilar del cerebro y el agente neurofarmacéutico se transfiere a través de la barrera hematoencefálica en una forma farmacéuticamente activa. En algunas realizaciones, una proteína de fusión de ligando-agente neurofarmacéutico, que tiene tanto la unión al ligando como las características neurofarmacéuticas, se puede producir como una proteína contigua mediante el uso de técnicas de ingeniería genética. Las construcciones génicas se pueden preparar comprendiendo ADN que codifica el ligando fusionado al ADN que codifica la proteína, polipéptido o péptido que se administrará a través de la barrera hematoencefálica. La secuencia de codificación del ligando y la secuencia de codificación del agente se insertan en los vectores de expresión de una manera adecuada para la expresión apropiada de la proteína de fusión deseada. La fusión génica se expresa como una molécula de proteína contigua que contiene tanto una porción de ligando como una porción de agente neurofarmacéutico.

La permeabilidad de la barrera hematoencefálica puede aumentarse administrando un agonista de barrera hematoencefálica, por ejemplo bradiquinina (documento US 5.112.596), o polipéptidos denominados permeabilizadores mediados por receptor (RMP) (documento US 5.268.164). Las moléculas exógenas pueden administrarse al torrente sanguíneo del huésped por vía parenteral por inyección subcutánea, intravenosa o intramuscular o por absorción a través de un tejido corporal, tal como el tracto digestivo, el sistema respiratorio o la piel. La forma en que se administra la molécula (por ejemplo, cápsula, comprimidos, solución, emulsión) depende, al menos en parte, de la ruta por la que se administra. La administración de la molécula exógena al torrente sanguíneo del huésped y la inyección intravenosa del agonista de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica pueden producirse simultánea o secuencialmente en el tiempo. Por ejemplo, un fármaco terapéutico puede administrarse por vía oral en forma de comprimido, mientras que la administración intravenosa de un agonista de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica se administra más tarde (por ejemplo, entre 30 minutos más tarde y varias horas después). Esto permite que el fármaco sea absorbido en el tracto gastrointestinal y sea absorbido por el torrente sanguíneo antes de administrar el agonista para aumentar la permeabilidad de la barrera hematoencefálica al fármaco. Por otro lado, se puede administrar un agonista de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (por ejemplo, bradiquinina) antes o al mismo tiempo que una inyección intravenosa de un fármaco. Por lo tanto, el término "coadministración" se usa en el presente documento para indicar que el agonista de la barrera hematoencefálica y la molécula exógena se administrarán en momentos que alcanzarán concentraciones significativas en la sangre para producir los efectos simultáneos de aumentar la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y permitir el máximo paso de la molécula exógena de la sangre a las células del sistema nervioso central.

En otras realizaciones, un compuesto proporcionado puede formularse como un profármaco con un vehículo de ácido graso (y opcionalmente con otro fármaco neuroactivo). El profármaco es estable en el entorno tanto del estómago como del torrente sanguíneo y puede administrarse por ingestión. El profármaco pasa fácilmente a través de la barrera hematoencefálica. El profármaco tiene preferiblemente un índice de penetración cerebral de al menos dos veces el índice de penetración del cerebro del fármaco en solitario. Una vez en el sistema nervioso central, el profármaco, que preferiblemente está inactivo, se hidroliza en el vehículo de ácido graso y un compuesto o análogo proporcionado del mismo (y opcionalmente otro fármaco). El vehículo es preferiblemente un componente normal del sistema nervioso central y está inactivo y es inofensivo. El compuesto y/o fármaco, una vez liberado del vehículo de ácido graso, está activo. Preferiblemente, el vehículo de ácido graso es una molécula de cadena lineal parcialmente saturada que tiene entre aproximadamente 16 y 26 átomos de carbono, y más preferiblemente 20 y 24 átomos de carbono. Se proporcionan ejemplos de vehículos de ácidos grasos en las patentes de Estados Unidos 4.939.174; 4.933.324; 5.994.932; 6.107.499; 6.258.836; y 6.407.137.

La administración de agentes de la presente invención puede ser para propósitos profilácticos o terapéuticos. Cuando se proporciona de manera profiláctica, el agente se proporciona antes de los síntomas de la enfermedad. La administración profiláctica del agente sirve para prevenir o reducir la tasa de aparición de los síntomas de ELA. Cuando se proporciona de manera terapéutica, el agente se proporciona en (o poco después de) el inicio de la aparición de los síntomas de la enfermedad real. En algunas realizaciones, la administración terapéutica del agente sirve para reducir la gravedad y la duración de la enfermedad.

La función y ventaja de estas y otras realizaciones de la presente invención se entenderán más completamente a partir de los ejemplos descritos a continuación. Los siguientes ejemplos están destinados a ilustrar los beneficios de

la presente invención, pero no ilustran el alcance total de la invención.

Ejemplos

5 **Ejemplo 1.**

Ensayos de alto rendimiento para la protección contra la citotoxicidad inducida por SOD1 mutante.

10 Las células cultivadas se utilizan para realizar ensayos de alto rendimiento para compuestos que protegen contra la citotoxicidad inducida por SOD1 mutante. Se usan dos ensayos: en primer lugar, en el ensayo de protección contra la citotoxicidad, los compuestos se criban en cuanto a su capacidad para proteger las células de los efectos citotóxicos de SOD1 mutante agregada, independientemente del mecanismo de acción del fármaco. En segundo lugar, en el ensayo de agregación de proteínas, los compuestos se criban por su capacidad para reducir la agregación de SOD1 mutante. El ensayo de protección contra la citotoxicidad de alto rendimiento es el cribado primario, y los compuestos activos en el cribado primario (y sus análogos) avanzan hacia el cribado secundario para la agregación de proteínas.

Ensayo para la protección contra la citotoxicidad inducida por SOD1 mutante.

20 El ensayo de protección contra la citotoxicidad de alto rendimiento se llevó a cabo en células PC12 que expresan G93A SOD1 mutante como una proteína de fusión YFP a partir de un promotor inducible por doxíciclina. Varias líneas de evidencia sugieren que la citotoxicidad de los agregados de proteínas en ELA se debe, al menos en parte, a la inhibición del proteasoma (Bruijin *et al. Annu. Rev. Neurosci.* **2004**, 27, 723-729; Cleveland *et al. Nat. Rev. Neurosci.* **2001**, 2(11), 806). Esta idea se probó al examinar la sensibilidad de las células PC12 a los agregados de SOD1 en presencia y ausencia del inhibidor del proteasoma MG132. Las células PC12 que no expresan SOD1, SOD1 de tipo salvaje, G85R SOD1 o G93A SOD1 se cultivaron con o sin MG132 (Figura 1). Las células que no expresaban SOD1, SOD1 de tipo salvaje y G85R SOD1 eran relativamente insensibles a MG132, con una CI_{50} de aproximadamente 400 nM. Por el contrario, las células que expresaban G93A SOD1 eran aproximadamente 5 veces más sensibles a MG132 (CI_{50} ~75 nM). En estas células, la agregación de proteínas se detectó después de 24 h y la pérdida de viabilidad celular se detectó aproximadamente a las 48 h. Se obtuvieron resultados cualitativamente similares con el inhibidor del proteasoma estructuralmente distinto bortezomib (Velcade®), lo que sugiere que las células PC12 son realmente susceptibles a la inhibición del proteasoma y no a ningún otro efecto de MG132. La capacidad de los agregados proteicos para inducir la muerte celular se examinó tratando las células que expresaban G93A SOD1 con MG132 durante 24 h, eliminando el MG132 mediante lavado y evaluando la viabilidad celular después de otras 24 h. Debido a que la pérdida de viabilidad celular fue similar después de la eliminación de MG132 (Figura 1, parte C), es probable que los agregados de SOD1 mutante contribuyan directamente a la citotoxicidad en las células PC12. Sin embargo, este efecto es específico para G93A SOD1, lo que sugiere que este mutante puede producir niveles más altos de una forma agregada tóxica de SOD1.

40 Basándose en estos resultados, se desarrolló un cribado de alto rendimiento para compuestos que protegen contra la citotoxicidad de los agregados de proteína G93A SOD1 usando geldanamicina o radicicol como control positivo. Las células PC12 que expresaban G93A SOD1 se trataron con MG132 100 nM con o sin cotratamiento con geldanamicina o radicicol. Los últimos compuestos inhiben la chaperona HSP90 e inducen la expresión de otras chaperonas. Como se anticipó, el radicicol redujo la formación de agregados proteicos y aumentó la viabilidad celular de una manera dependiente de la dosis (Figura 2). El análisis estadístico de los datos produjo un valor de Z' de 0,55, que predecía un buen rendimiento como un control positivo en un cribado de alto rendimiento (Zhang *et al., J. Biomol. Screen* **1999**, 4(2), 67-73).

Ensayo de agregación de proteínas directa de SOD1 mutante.

50 Los compuestos que son activos en el ensayo anterior teóricamente podrían proteger contra la citotoxicidad inducida por SOD1 mutante a través de una serie de mecanismos, incluyendo los siguientes: 1) los compuestos podrían bloquear o invertir no específicamente la agregación de proteínas a través de la inducción de chaperonas, como se ha observado para radicicol y geldanamicina; 2) los compuestos podrían bloquear o invertir la agregación de una forma de proteína agregada específica; 3) los compuestos podrían interferir con un evento aguas abajo de la agregación de proteínas que desempeña un papel crítico en la citotoxicidad inducida por SOD1 mutante (por ejemplo, función del proteosoma); y 4) los compuestos podrían actuar directamente sobre SOD1 de una manera que previene la agregación de SOD1 mutante. Estas posibilidades se ensayaron usando un ensayo que mide directamente la agregación de proteínas. Además, a diferencia del ensayo de protección contra la citotoxicidad de alto rendimiento, el ensayo de agregación de proteínas se basa en G85R SOD1; esto amplía el alcance de la estrategia de cribado, y debe eliminar compuestos con actividad altamente específica (es decir, G93A SOD1 limitada) frente a la agregación de proteínas.

65 En las células PC12 que expresaban SOD1 de tipo salvaje, SOD1 se localizó difusamente en toda la célula (Matsumoto *et al., J. Cell. Biol.* **2005**, 171(1), 75-85). Por el contrario, G85R SOD1 mostró patrones de localización heterogéneos; en la mayoría de las células, G85R se localizó difusamente en toda la célula, pero en el ~5% de las

células, G85R SOD1 se localizó en grandes agregados peri-nucleares. En las células tratadas con MG132, hasta el 75% de las células que expresan G85R SOD1 contienen dichos agregados de proteínas (Figura 3), pero no se observó agregación en las células que expresaban SOD1 de tipo salvaje. Las células que expresaban G93A SOD1 mutante mostraron un nivel intermedio de agregación de proteínas: ninguna de las células desarrolló agregados de proteínas en ausencia de MG132, y ~75% de las células tenían agregados de proteínas después del tratamiento con MG132 (Figura 3). Se observaron efectos similares en células tratadas con bortezomib (Velcade®). Por lo tanto, es probable que estos efectos se deban a la inhibición del proteosoma inducida por MG132 y no a un efecto fuera de la diana de MG132.

La sensibilidad de este ensayo se optimizó mediante la selección de las condiciones que maximizan la diferencia entre las muestras activas e inactivas. La identificación de un control positivo es una etapa crucial en el desarrollo del ensayo. Por lo tanto, las células PC12 que expresaban G85R o G93A SOD1 mutante se trataron con MG132 para inducir la agregación de proteínas, y luego se trataron conjuntamente con los supresores químicos candidatos de la agregación de proteínas. En estos experimentos se identificaron dos compuestos con actividad similar: geldanamicina y radicicol. Ambos compuestos inducen el factor de transcripción de choque térmico NSF-1, que a su vez induce la respuesta al choque térmico (Figura 4). El tratamiento con radicicol redujo la proporción de células con agregados del 75% al 25%, una diferencia suficiente para permitir la puntuación visual de compuestos con una eficacia igual o superior a radicicol.

Para permitir que este ensayo se use con alto rendimiento, se usó un sistema de microscopía de alto contenido de Cellomics Arrayscan® para el cribado y la cuantificación. Los experimentos iniciales indicaron que los agregados de G85R SOD1 fueron más fácilmente reconocidos por el sistema de microscopía de alto contenido y su algoritmo informático. Debido a que los ensayos de alto contenido más robustos miden los eventos en una base por célula, fue necesario seleccionar una tinción fluorescente que marque células enteras a usar con una tinción compatible que marque las estructuras intracelulares. Sobre la base de experimentos piloto con varios colorantes vitales, se seleccionó un colorante de aglutinina de germen de trigo conjugado Image-iT (WGA) de Molecular Probes y se desarrolló un algoritmo informático para detectar WGA. Como se muestra en la Figura 5, WGA proporcionó un marcador celular excelente que no interfirió con la detección de SOD1 marcada con YFP.

Los experimentos iniciales usaron geldanamicina y radicicol como controles positivos, ambos de los cuales son reproduciblemente activos, pero no mostraron un alto rendimiento estadísticamente fiable cuando se usó el sistema de microscopía de alto contenido. Por lo tanto, las pirazonas CMB-3350 y CMB-3319 se ensayaron como controles positivos alternativos. CMB-3350 y CMB-3319 se seleccionaron debido a su destacada actividad en el ensayo de protección contra la citotoxicidad de SOD1.

Ejemplo 2. Procedimientos y protocolos para el cribado de alto rendimiento

Ensayo de protección contra la citotoxicidad inducida por SOD1 mutante: protocolo automatizado de cribado de alto rendimiento.

Se mantuvieron las células PC12 en medio Eagle modificado de Dulbecco (Invitrogen), complementado con suero de caballo al 10%, 0,1 µ/ml de NGF (Sigma) y 0,1 µ/ml de doxiciclina (Sigma). Las células se incubaron a 37 °C en una atmósfera humidificada con el 5% de CO₂. La expresión de la proteína SOD1 se indujo por la extracción de doxiciclina de los medios. Para el cribado en formato de micropocillo, las células se sembraron a 15.000 células/pocillo en placas de 96 pocillos (Falcon-BD) usando un Multidrop 384 (Thermo Lab Systems) y se incubaron 24 h antes de la adición del compuesto. Los compuestos (control y ensayo) se añadieron a los pocillos usando un Zymark Sciclone. Se añadió MG132 24 h más tarde usando el Multidrop 384. La viabilidad celular se midió después de 48 h utilizando la sonda de viabilidad fluorescente calceína-AM (Molecular Probes). La intensidad de fluorescencia se midió usando un lector de placas de fluorescencia POLARstar (BMG). Todos los experimentos incluyeron pocillos de control positivo tratados con radicicol a 700 nM y pocillos de control negativo tratados con DMSO. Los datos de fluorescencia se combinaron con datos estructurales de compuestos, luego se almacenaron y se analizaron utilizando el paquete de software Cambridgesoft Chemoffice Enterprise Ultra.

Ensayo de agregación de SOD1 mutante: protocolo automatizado de cribado de alto contenido.

Se mantuvieron las células PC12 en medio Eagle modificado de Dulbecco (Invitrogen) complementado con suero de caballo al 10%, más 0,1 µ/ml de NGF (Sigma) y 0,1 µg/ml de doxiciclina (Sigma). Las células se incubaron a 37 °C en una atmósfera humidificada con el 5% de CO₂ y se subcultivaron de forma rutinaria usando una solución al 0,05% de tripsina-EDTA. La expresión de la proteína SOD1 se indujo por la extracción de doxiciclina de los medios. Para el cribado en formato de micropocillo, las células se sembraron a 5.000 células/pocillo en placas de 96 pocillos (Falcon-BD) usando un Thermo Labsystems Multidrop 384. Los compuestos (control y ensayo) se añadieron a los pocillos usando un Zymark Sciclone. Los compuestos de ensayo se incubaron con las células durante 24 h antes de la adición de MG132. Se usó CMB-3350 como control positivo a 5 µM, DMSO como control negativo y se aplicaron compuestos de ensayo a 512M. Después, se añadió MG132 a una concentración final de 1 µM y las células se cultivaron durante 24 horas más. Para ensayar la agregación de proteínas, el medio de cultivo celular se eliminó entonces y las células se lavaron una vez con HBSS y luego se incubaron en HBSS que contenía 5 µg/ml del

colorante de membrana plasmática WGA Image-iT (Molecular Probes) durante 15 min a 37 °C. Después, las células se lavaron con PBS y se obtuvieron imágenes usando Cellomics Arrayscan®.

Automatización del ensayo.

Las imágenes Arrayscan se registraron usando un objetivo 20x y el filtro XF93-TRITC se ajustó en el canal 1 para el colorante de membrana plasmática WGA Image-iT o el filtro XF93-FITC ajustado para SOD1-YFP y se analizaron usando el software detector de manchas Cellomics. Los parámetros del software se ajustaron para diferenciar al máximo las células del fondo y maximizar el reconocimiento de los agregados de SOD1 sin reconocer la tinción citoplasmática de fondo como una mancha. Los datos se registraron como recuento puntual (agregado)/objeto (celda).

Se cribó una biblioteca usando el ensayo de protección de citotoxicidad como el cribado primario y el ensayo de agregación de proteínas como el cribado secundario. El cribado general produjo un factor Z' promedio de 0,5 y un factor Z promedio de 0,6. Utilizando un 60% de viabilidad como límite de actividad, se recuperaron 195 activos primarios (0,38% de índice de aciertos primario). Todos los activos primarios se volvieron a analizar en las curvas de respuesta a la dosis produciendo 68 activos confirmados (0,13% de tasa de aciertos confirmada). Estos activos se ensayaron después para determinar la autofluorescencia e inhibición de la síntesis de proteínas, causas potenciales de artefactos positivos. Los activos confirmados se ensayaron en el cribado de agregación de proteínas de alto contenido y se agruparon en compuestos que fueron positivos o negativos en el cribado secundario. El análisis quimioinformático de estos compuestos identificó 17 quimiotipos de compuestos activos e inactivos relacionados estructuralmente más 15 aciertos únicos. Los compuestos más activos también estaban activos en el ensayo secundario de alto contenido, dos de los activos primarios confirmados no lo estaban. El análisis biológico inicial se centró en la serie principal de arilsulfanil pirazolona. La colección de compuestos incluye riluzol, con negativo ensayado, lo que indica que los activos analizados aquí difieren del único fármaco clínicamente aprobado para la ELA.

Cribados inversos.

Todos los compuestos activos se ensayaron para determinar la autofluorescencia, un artefacto potencial en cualquier ensayo de fluorescencia. Este ensayo identificó solamente un compuesto con autofluorescencia significativa. Esta baja tasa de autofluorescencia podría deberse al uso de calceína-AM para medir la viabilidad celular. La calceína-AM es un reactivo de alto rendimiento cuántico y, por lo tanto, solo los compuestos altamente fluorescentes producen una señal comparable. Todos los compuestos activos se ensayaron para determinar su capacidad para inhibir la síntesis de proteínas, ya que esto podría reducir artificialmente la agregación de proteínas. La reducción específica en la concentración celular de SOD1 se estimó usando una modificación del ensayo de alto contenido, en el que se midió la fluorescencia YFP con un lector de placas antes de contar el número de células por pocillo con ArrayScan. Esto produjo un valor para la fluorescencia YFP por celda, que es equivalente al contenido de SOD1 por celda. No se ensayaron compuestos activos en este ensayo. Por último, todos los compuestos activos se ensayaron para determinar la citotoxicidad inespecífica en células PC12 no transfectadas. La gran mayoría de los compuestos activos carecían o tenían una citotoxicidad inespecífica extremadamente baja. Una posible explicación para el bajo nivel de citotoxicidad asociada con los compuestos activos es que el cribado de protección primario se seleccionó específicamente contra dichos compuestos.

Descubrimiento y SAR preliminar de la serie química principal.

Los resultados muestran que ciertos compuestos proporcionados y análogos de los mismos eran activos ($ED_{50} \leq 20 \mu M$) en el ensayo de protección contra la citotoxicidad. Los compuestos que se ensayaron en el ensayo de agregación de proteínas SOD1 también están indicados.

Identificación química y selección análoga.

Todos los compuestos activos se reordenaron y volvieron a ensayar a partir de polvo seco para confirmar la actividad. Los compuestos activos confirmados se caracterizaron por un proceso iterativo diseñado para establecer SAR preliminar. Este proceso incluyó el re-análisis de los archivos de cribado para identificar compuestos estructuralmente relacionados pero débilmente activos o inactivos y el ensayo de compuestos estructuralmente relacionados adquiridos en proveedores comerciales. Se adquirieron más de 300 compuestos químicos a partir de una búsqueda exhaustiva de más de 2 millones de compuestos comerciales únicos disponibles sobre la base de una subestructura y un análisis de similitud de Tanimoto realizado usando un sistema interno de base de datos de almacenes de productos químicos de proveedores. Todos los compuestos fueron $\geq 90\%$ puros (por LC/MS y/o 1H RMN).

Ensayos biológicos para guiar el análisis SAR.

El ensayo de protección contra la citotoxicidad de alto rendimiento y el ensayo de agregación de proteínas de alto contenido solo puntúan los compuestos como activos o inactivos. Por lo tanto, se desarrollaron dos medidas

cuantitativas para evaluar la actividad del compuesto para el desarrollo SAR: potencia (ED_{50}), que es la concentración que produce la mitad de la viabilidad celular máxima, y la eficacia, que se define como la viabilidad máxima producida por un compuesto en su dosificación óptima. La citotoxicidad se mide determinando la concentración que reduce la viabilidad de las células PC12 en un 50% y se indica como la CI_{50} de citotoxicidad (Figura 2). Los compuestos también se ensayaron para determinar la inhibición inespecífica de la síntesis de proteínas, la inhibición de la agregación de proteínas (es decir, la fusión SOD1-YFP) y la autofluorescencia (para garantizar que el método de detección no detectara falsos positivos).

Resumen de efectos biológicos.

La mayoría de los compuestos activos mostró un 100% de eficacia en comparación con el control positivo, radicicol, que mostró solo el 80% de eficacia a la dosis más eficaz. Los compuestos más potentes producen valores de ED_{50} entre 100 nM y 2 μ M en el ensayo de protección contra la citotoxicidad. Los compuestos que estaban activos en el ensayo de protección contra la citotoxicidad estaban activos en el ensayo de agregación de proteínas con una potencia comparable (Tabla 2). Por lo tanto, es razonable suponer que estos compuestos reducen la citotoxicidad al reducir la agregación de SOD1 mutante. Estos compuestos generalmente no son citotóxicos o solo muy débilmente citotóxicos. Los estudios de relación estructura-actividad de los compuestos proporcionados se realizaron comparando la actividad de los compuestos con sustituciones en N-2, C-4 y C-5 alrededor del anillo de pirazol. Los compuestos sin sustitución en N-2 (R1) o N-2 (R1) y C-4 (R3) que contienen un resto arilsulfanilo en C-5 (R2) fueron más potentes, con valores de ED_{50} entre 0,374 y 5 μ M. Los compuestos sustituidos con alqueno en C-4, tales como dimetilamina y diversos grupos aromáticos y heterocíclicos sustituidos, con un grupo arilsulfanilo C-5 son igualmente potentes, con valores de ED_{50} entre 0,6 y 5 μ M. Todos los alquenos sustituidos se ensayaron como isómeros mixtos (E y Z). La Tabla 3 enumera los compuestos seleccionados en esta serie con una $ED_{50} < \mu$ M en el ensayo de protección contra la citotoxicidad. Los compuestos activos más potentes (CMB-3319 y CMB-3350) son los pirazoles sustituidos en C-5 que contienen un grupo arilsulfanilo. CMB-3299 es similar a CMB-3319, pero tiene una sustitución metilo en C2 en lugar de un grupo de cloro en el sistema de anillo de arilsulfanilo.

Estudios mecanísticos sobre arilsulfanil pirazonas.

Se han iniciado estudios de mecanismos de acción para los compuestos proporcionados, los compuestos proporcionados activos en el ensayo de protección contra la citotoxicidad se ensayaron inicialmente para determinar la capacidad de evitar la agregación de SOD1 usando métodos manuales de bajo rendimiento. Los resultados fueron consistentes con los resultados de cribado automático, lo que indica que todos los compuestos proporcionados redujeron la agregación de G93A SOD1 en células PC12 con eficacia y potencia similares. La capacidad de los compuestos proporcionados para inducir la expresión de chaperonas moleculares también se ensayó usando células HeLa transfectadas de manera estable (HeLa hse-luc) que expresaban un gen indicador de luciferasa bajo el control del promotor HSP70 humano. Este sistema indicador HeLa hse-luc se usó previamente para identificar activadores de molécula pequeña de la respuesta al choque térmico (Westerheide *et al. J. Biol. Chem.* **2004**, 279(53), 56053-56060). Los resultados mostraron que los cinco compuestos más potentes proporcionados, hasta 100 μ M, no indujeron la actividad luciferasa en el sistema HeLa hse-luc, mientras que los compuestos de control positivo celastrol y $CdCl_2$ indujeron fuertemente la actividad luciferasa (Figura 6). Los compuestos proporcionados tampoco lograron inducir la expresión de múltiples genes Hsp70, Hsp40 y Hsp90 como se determinó mediante RT-PCR. Estos resultados sugieren que, si bien es probable que los compuestos proporcionados protejan las células PC12 de G93A SOD1 al reducir su agregación, no es probable que este efecto esté mediado por el aumento de la expresión de chaperonas moleculares.

Dado que la citotoxicidad de CMB-003299 de los agregados de proteína SOD1 puede implicar la inhibición de la actividad del proteasoma, los compuestos que estimulan la actividad del proteasoma podrían revertir o prevenir la citotoxicidad inducida por SOD1 mutante. Por lo tanto, los compuestos activos se ensayaron para determinar la capacidad para estimular la actividad del proteosoma usando una línea celular que expresaba YFP conjugada con ubiquitina [Ubi-YFP 74]. En estas células, el aumento de la actividad del proteasoma causa una mayor degradación de Ubi-YFP y una disminución de la fluorescencia YFP. Por el contrario, los compuestos que inhiben la actividad del proteasoma aumentan la acumulación de Ubi-YFP y la fluorescencia YFP aumentada. Como se esperaba, MG132 aumenta la intensidad de fluorescencia YFP ~3 veces en comparación con los controles no tratados (Figura 7). Los compuestos proporcionados (CMB-3299 o CMB-3319) inhiben fuertemente la fluorescencia Ubi-YFP inducida por MG132, lo que sugiere que estos compuestos estimulan la actividad del proteosoma. Para demostrar que estos compuestos no están simplemente bloqueando la acción de MG132, se ensayó un grupo de compuestos proporcionados en una cepa de *C. elegans* que expresa SOD1 mutante en células musculares. Los agregados de proteínas están presentes en ausencia de MG132 y la agregación se suprime después del tratamiento con un compuesto proporcionado. Estos resultados sugieren que el mecanismo mediante el cual los compuestos proporcionados protegen las células contra la citotoxicidad inducida por SOD1 mutante es mediante la estimulación del proteasoma.

Ejemplo 3. Procedimientos y protocolos para la caracterización de compuestos

Activación de la respuesta al choque térmico celular.

Las células HeLa, transfectadas de forma estable con un plásmido indicador de luciferasa bajo el control del promotor HSP70, se pusieron en una placa de 96 pocillos a una densidad de 7500 células/100 µl. Después de una incubación de 16 h a 37 °C/5% de CO₂, se añadieron los compuestos y las células se incubaron durante 8 h más. Las células se lisaron mediante la adición de 100 µl de reactivo BrightGlo (Promega) de acuerdo con las instrucciones del fabricante y se midió la actividad luciferasa cuantificando la señal de luminiscencia. Las células se trataron con compuestos de ensayo a concentraciones que variaban de 10 - 100 µM de celastrol o CdCl₂ que sirven como controles positivos mientras que DMSO es un control negativo.

Ensayo de actividad proteasómica.

Las células HeLa (20.000/cámara) se pusieron en placas en un cubreobjetos Tissue-tek de 8 cámaras pretratado con 1 mg/ml de poli-D-lisina y se dejaron adherir durante 18 h a 37 °C/5% de CO₂. Las células se transfectaron con 0,2 µg de plásmidos CMV-CFP y Ubi-YFP usando Lipofectamine 2000 de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las células se les permitió expresar CFP y Ubi-YFP durante 18 h seguido de una incubación de 6 h con compuestos de ensayo (25 µM). Se añadió MG132 (1 µM) para una incubación final de 18 h y se evaluó la degradación de Ubi-YFP mediante microscopía de fluorescencia. La intensidad de fluorescencia de CFP e YFP se calculó en una base celda por célula a partir de imágenes capturadas usando el software AxioVision (Zeiss). La fluorescencia YFP se normalizó a fluorescencia CFP.

Ensayo de citotoxicidad.

Se determinó la citotoxicidad inespecífica usando PC12 y otras líneas celulares en ensayos de respuesta a la dosis convencionales empleando fluorescencia de calceína-AM como el indicador de la viabilidad celular. Además, los compuestos podrían marcar un falso positivo reduciendo selectivamente la síntesis de proteínas agregadas (es decir, fusión SOD1-YFP). La reducción en la concentración de proteína SOD1 se determinó usando una modificación del ensayo de alto contenido en el que se mide la fluorescencia YFP en un lector de placas antes de determinar el número de células por pocillo con el Arrayscan. A continuación, se calculó la actividad específica de YFP, que es equivalente al contenido de SOD1 por celda.

Ensayos ampliados para el espectro de proteínas agregadas.

Los compuestos proporcionados se ensayaron para determinar la eficacia en líneas celulares que expresan agregados de proteína huntingtina en lugar de SOD1 (Kim *et al.*, *Nat. Cell. Biol.* **2002**, 4(10), 826-831; Matsumoto *et al.*, *J. Biol. Chem.* **2005**). También se ensayan otras series de compuestos activos en estas células. Si se desea una caracterización más amplia, se construyen líneas celulares análogas que expresan tau, amiloide Aβ y proteína priónica, y se realizan experimentos similares. Además, se construye una línea celular que expresa TDP-43 y produce agregados de TDP-43. TDP-43 es una proteína agregada que se acumula en células neuronales en pacientes con ELA esporádica (Neumann *et al. Science*, **2006**, 314(5796), 130-133; Arai *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2006**, 351(3), 602-611). Los compuestos activos se ensayan para determinar capacidad de prevenir la agregación de TDP-43 y/o reducir su citotoxicidad asociada. Se espera que los compuestos que previenen la citotoxicidad y/o la agregación asociadas a TDP-43 tengan un mayor potencial para la eficacia en pacientes con ELA esporádica.

Identificación de uno o más productos químicos principales cuyas propiedades farmacológicas predichas son adecuadas para el ensayo en ratones.

El enfoque más común y más riguroso para determinar la toxicidad y las propiedades farmacológicas de los compuestos farmacológicos candidatos se basa en las pruebas in vivo en animales de laboratorio. Debido a que las pruebas con animales son costosas y lentas, muchas organizaciones de descubrimiento de fármacos han recurrido a métodos in vitro para analizar las propiedades farmacológicas de los compuestos durante la optimización estructural. Este enfoque se basa en ensayos predictivos in vitro miniaturizados de ADMET que son susceptibles de implementación de alto a medio rendimiento. Estos métodos han logrado una mayor popularidad, tanto porque los modelos animales tienen una capacidad limitada para predecir la eficacia y toxicidad en seres humanos, como porque las agencias reguladoras han comenzado a exigir pruebas in vitro humanas, tales como ensayos de inhibición de CYP450 en hígado humano, antes de los ensayos clínicos en seres humanos. La necesidad de métodos de este tipo también ha sido motivada por el cambio de modelos de enfermedades animales a métodos in vitro basados en la diana para el descubrimiento principal (Kerns *et al. Curr. Top Med. Chem.* **2002**, 2(1), 87-98; Di *et al.*, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2003**, 7(3) 402-408; Kassel *et al.*, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2004**, 8(3), 339-345). El enfoque ADMET in vitro se basa en el uso de un conjunto de pruebas químicas (integridad del compuesto, solubilidad del compuesto, agregación del compuesto, lipofilia, pKa) y ensayos biológicos (ensayos de Caco-2 y/o PAMPA, metabolismo e inhibición del citocromo P450, riesgo cardíaco, y citotoxicidad) que evalúan la absorción, distribución, metabolismo, excreción y efectos tóxicos de los compuestos de ensayo. El resultado de los ensayos de ADMET se usa para identificar y seleccionar compuestos con baja toxicidad pronosticada y propiedades farmacológicas pronosticadas deseables durante la optimización basada en SAR. Los compuestos optimizados por este enfoque se seleccionan para el análisis en el modelo de ratón de ELA. Se realiza el siguiente conjunto de ensayos:

Citotoxicidad: La citotoxicidad se determina en células cultivadas.

Pureza del compuesto: Cada compuesto se somete a un análisis químico para confirmar el peso molecular y determinar la pureza. Solo los compuestos con >95% de pureza se usan para pruebas adicionales. Los compuestos <80% puros se vuelven a purificar y se vuelven a ensayar.

Agregación del compuesto: La agregación de aciertos de cribado se mide usando dispersión de luz dinámica.

Solubilidad: Debido a que los compuestos se almacenan en DMSO, es necesario determinar la solubilidad acuosa de los compuestos de acierto iniciales y sus análogos. La alta solubilidad en solución acuosa es necesaria para una alta absorción GI, biodisponibilidad, y para formulación química. Los compuestos deben ser solubles en una solución acuosa a >10 µg/ml. Se prefiere una solubilidad de >50 µg/ml.

Permeabilidad general: Se requiere una elevada permeabilidad de la membrana para una absorción GI eficaz y una biodisponibilidad óptima. La permeabilidad pasiva se evalúa típicamente en el ensayo de membrana artificial PAMPA (Kansy *et al.*, *J. Med. Chem.* **2002**, 45(8), 1712-1722). Las determinaciones de la permeabilidad basadas en células que usan el ensayo de células Caco-2 requieren más recursos, pero son más predictivas de transporte activo o eflujo in vivo (Artursson *et al.*, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2001**, 46(1-3), 27-43). Los ensayos de Caco-2 se realizan según sea necesario durante el desarrollo de SAR.

Barrera hematoencefálica: Los agentes terapéuticos del SNC deben penetrar en la barrera hematoencefálica (BBB) para lograr eficacia in vivo (Basak *et al.*, *Pharm Res.* **1996**, 13(5), 775-778). Se desarrolló un modelo QSAR para predecir la división de la BBB in vivo utilizando el logaritmo de la relación de concentración hematoencefálica como un indicador de diagnóstico. Se construyó un conjunto de datos de 189 compuestos a partir de datos en la bibliografía (Rose *et al.*, *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* **2002**, 42(3), 651-656; Pan *et al.*, *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* **2004**, 44(6), 2083-2098) y los compuestos en el conjunto de datos se introdujeron como dibujos estructurales bidimensionales con ISIS/Draw y se guardaron como archivos mol y convirtieron en estructuras tridimensionales usando el software Corina antes de calcular los descriptores moleculares usando Dragon. Se utilizó un algoritmo de regresión lineal de máquina de vectores de soporte (SVM) para generar y validar el modelo. La precisión de predicción (Q) para el modelo de entrenamiento de regresión lineal SVM (n = 166) y el conjunto de validación (n = 24) fue del 86,75 y del 86,96%, respectivamente, confirmando la validez del modelo. Usando este modelo predictivo de BBB, el potencial de los compuestos activos para cruzar la BBB se valora temprano durante el desarrollo. Se usan otros modelos predictivos de BBB, incluyendo una variante del ensayo PAMPA desarrollado específicamente para este fin (Di *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, 38(3), 223-232), según sea necesario. Los resultados de estos experimentos guían la síntesis de compuestos con propiedades apropiadas de ADME para su uso como agentes terapéuticos del SNC.

Lipofilia y pKa: Se determina la lipofilia a través de una partición octanol-agua a pH 7,4 (Hitzel *et al.*, *Pharm. Res.* **2000**, 17(11), 1389-1395) y pKa se determina por electroforesis capilar y detección de matriz de fotodiodos (Ishihama *et al.*, *J. Pharm. Sci.* **2002**, 91(4), 933-942).

Metabolismo (microsoma, fracción S9, CYP450): Las enzimas hepáticas del citocromo P450 (CYP450) son la ruta principal para el metabolismo xenobiótico y la estabilidad microsomal y de los hepatocitos es el mejor predictor de la semivida farmacocinética. Las comparaciones entre especies del metabolismo en los microsomas hepáticos pueden predecir posibles problemas con la toxicidad hepática en seres humanos. Los compuestos activos seleccionados se ensayan en microsomas hepáticos a partir de especies de eficacia (ratón), especies de toxicidad (rata, perro, mono), y seres humanos para la estabilidad metabólica.

Interacción fármaco-fármaco y potencial de riesgo cardiaco: Los algoritmos de extracción de datos y los datos compilados a partir de la bibliografía se utilizan para predecir si es probable que los compuestos activos interactúen con y/o inhiban los principales citocromo P450 (1A2, 2C9, 2 C19, 3A4, 2D6) (Kerns *et al.*, *Curr. Top. Med. Chem.* **2002**, 2(1), 87-98). Los compuestos sintetizados también se ensayan directamente para determinar la capacidad de unirse e inhibir el CYP humano P450. Si los problemas potenciales son indicados por estos enfoques, la síntesis analógica se dirige hacia el desarrollo de compuestos alternativos. Este enfoque permite la evaluación de la seguridad cardiaca, dado que la inhibición de hERG se evalúa simultáneamente en los mismos compuestos. El ensayo hERG se realiza con la metodología de parches rápidos. La inhibición del canal iónico hERG está implicada en más del 90% de los casos notificados de toxicidad cardiaca, y es una causa frecuente de fallos y retiradas posteriores de los fármacos en el mercado. La información sobre la inhibición de hERG, así como la inhibición de cinco CYP450 humanos principales (1A2, 2C9, 2 C19, 3A4, 2D6) permite una predicción precisa del posible riesgo cardiaco asociado con el fármaco.

Estabilidad en plasma: La estabilidad en plasma de los compuestos activos se evalúa en especies de eficacia (ratón), especies de toxicidad (rata, perro, mono), y células humanas.

Unión a proteína plasmática: La unión a proteína plasmática se examina en especies de eficacia (ratón), especies de toxicidad (rata, perro, mono), y células humanas usando metodología de ultrafiltración.

Los compuestos identificados se evaluaron en el modelo de ratón transgénico G93A de ELA. Los datos de ADME se usaron para determinar la ruta óptima de administración. Se determinó la LD₅₀ y la dosis máxima tolerada, y esa información se usó para diseñar y ejecutar estudios farmacocinéticos para evaluar la biodisponibilidad cerebral, y para guiar la elección del régimen de dosificación (es decir, frecuencia, dosis, ruta). Se realizaron estudios de

5 eficacia básica de tres dosis en compuestos que demuestran una tolerabilidad y biodisponibilidad aceptables. Para los compuestos que demuestran eficacia, se realiza un estudio preclínico más completo y se comparan las eficacias del compuesto de ensayo y los agentes neuroprotectores previamente caracterizados. Esto puede incluir optimización adicional de la dosis, evaluación del fenotipo, comparación con compuestos de eficacia establecida, y análisis de tejido cerebral en animales tratados.

10 **Procedimientos**

Sujetos. En el presente estudio, los ratones G93A SOD1 y los controles de camada se criaron en colonias existentes en el Bedford VA Medical Hospital. Los ratones G93A SOD1 machos se aparearon con hembras B6SJL y las crías

15 se genotipificaron mediante PCR usando ADN de la cola. El número de transgenes de SOD1 se evaluó periódicamente mediante PCR para garantizar que el número de copias transgénicas no aumentara ni disminuyera significativamente a lo largo del tiempo. Los ratones se alojaron en jaulas de microaisladores en instalaciones barrera completas. Se mantuvo un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y los animales tuvieron acceso libre a comida y agua. Se seleccionaron ratones de control y transgénicos de la misma edad ($\pm$ 2 días) y de la misma generación "f"

20 de múltiples camadas para formar cohortes experimentales (n = 20 por grupo). Los criterios estandarizados para la edad y el origen se usaron para poner ratones individuales en grupos/cohortes experimentales. Se usaron ratones de tipo salvaje para determinar la toxicidad inicial, tolerabilidad, y estudios farmacocinéticos, y se usaron ratones con ELA para estudios de tolerabilidad de un mes.

25 *Tolerabilidad, dosificación y farmacocinética.* El rango de dosis tolerable y la LD50 para cada compuesto de prueba se determinó en ratones de tipo salvaje aumentando la dosis b.i.d. una vez cada inyección. La vía de administración (p.o. por sonda o i.p.) y la dosis inicial se basaron en la solubilidad y otros resultados de los estudios ADME. Los estudios farmacocinéticos iniciales (pK) se realizaron administrando una única dosis a los animales, sacrificándolos después de 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, o 12 h, y diseccionando los cerebros y las médulas espinales y determinando

30 la concentración del fármaco en el tejido diana. Se determinaron los niveles de fármaco en estado estable en animales a los que se dio una dosis durante 1 semana antes del sacrificio. Estos datos se usan para optimizar el régimen de dosificación para estudios de eficacia. Las dosis del fármaco deben alcanzar una concentración de fármaco deseable en el cerebro y la médula espinal de los ratones tratados. Se prefieren dosis de trabajo al menos 10 veces más bajas que la dosis de tolerabilidad aguda.

35 *Estudios de eficacia.* La eficacia se mide utilizando criterios de valoración que indican la función neuroprotectora. Estos incluyen la reversión de las lesiones degenerativas en el cerebro y los tejidos neuronales, la función motora mejorada, el aumento del peso corporal, y la supervivencia prolongada. Algunas cohortes de ratones se sacrifican en un punto de tiempo predeterminado, mientras que otras se sacrifican cuando alcanzan los criterios para la eutanasia.

40 *Supervivencia.* Los ratones se observaron tres veces al día (mañana, tarde y tarde) durante todo el experimento. Los ratones se sacrificaron cuando la progresión de la enfermedad fue lo suficientemente grave como para no poder iniciar el movimiento y enderezarse después de un suave pinchazo durante 30 segundos.

45 *Pesos corporales.* Los ratones se pesan dos veces a la semana a la misma hora cada día. La pérdida de peso es una medida sensible de la progresión de la enfermedad en ratones transgénicos G93A SOD1 y de toxicidad en ratones transgénicos y de tipo salvaje.

50 *Conducta motora.* Se utilizan métodos cuantitativos para ensayar la función motora, incluyendo Rotarod y el análisis de la conducta de campo abierto. La disminución de la función motora es una medida sensible del inicio y la progresión de la enfermedad.

Neuropatología. Las cohortes seleccionadas (n = 10) de ratones G93A SOD1 tratados y no tratados se sacrifican a los 120 días para el aislamiento y el análisis del tejido de la médula espinal. Para este fin, los ratones son

55 profundamente anestesiados y perfundidos por vía transcardial con paraformaldehído tamponado al 4% en el momento deseado. Estos y otros estudios se realizan de forma ciega, para evitar sesgos en la interpretación de los resultados. Los cerebros se pesan, se seccionan en serie a 50 μ m y se tiñen para determinar una morfología cuantitativa (violeta de cresilo), para evaluar los agregados de proteínas, y para etiquetar las neuronas ventrales. Las muestras/secciones de tejido restantes se almacenan para uso futuro. La estereología se usa para cuantificar la

60 atrofia del asta ventral, la atrofia neuronal, la pérdida neuronal, y la carga de agregados de proteínas.

Análisis. Los conjuntos de datos se generan y se analizan para cada medida clínica y neuropatológica. Los efectos sobre la conducta y la neuropatología se comparan en los grupos de tratamiento y de control. Los efectos dependientes de la dosis se evalúan en cada grupo de tratamiento usando múltiples pruebas ANOVA bilaterales. Las

65 múltiples comparaciones en los mismos grupos de sujetos se tratan post hoc. El análisis de Kaplan-Meier se utilizó para determinar la supervivencia y la función conductual.

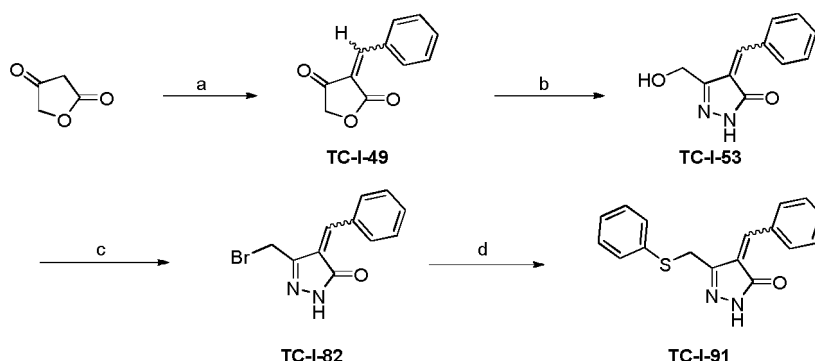
Cuantificación neuronal. Se usan secciones de tejido de la médula espinal lumbar seriadas ($n = 20$) de los segmentos de la médula espinal L3-L5 para las áreas gruesas de la médula espinal y el análisis neuronal. Las áreas gruesas de las secciones de la médula espinal se cuantifican a partir de cada cohorte experimental usando NIH Image. De las mismas secciones, el asta ventral está delineada por una línea desde el canal central lateralmente y circunscribe el vientre de la sustancia gris. Los recuentos neuronales absolutos de neuronas Nissl-positivas se realizan en las astas ventrales en la médula espinal lumbar. Solo se cuentan las neuronas con núcleos. Todos los recuentos se realizan con el experimentador (JM) ciego con respecto a las condiciones de tratamiento. Los recuentos se realizan usando Image J (NIH) y se verifican manualmente, y los datos representan el número neuronal promedio de las secciones utilizadas.

Interpretación. La eficacia del compuesto se evalúa usando criterios de valoración conductuales y neuropatológicos. Los resultados para el compuesto de ensayo se comparan con los resultados de compuestos con eficacia establecida y acción neuroprotectora en el modelo de ratón G93A SOD1. Estos experimentos prueban directamente si los compuestos proporcionados proporcionan un beneficio terapéutico y, si es así, la magnitud del beneficio. En el camino, también se obtiene información útil sobre la solubilidad, la administración y la toxicidad.

Ejemplo 4. Rutas sintética

Los esquemas sintéticos de los análogos seleccionados del andamiaje de arilsulfanilpirazolona general se ilustran a continuación.

Esquema 1.



^aReactivos y condiciones: (a) benzaldehído, HCl, ta, 5 min; (b) NH_2NH_2 , EtOH, reflujo, 1 h; (c) PBr_3 , THF, ta, 6 h; (d) bencenotiol, K_2CO_3 , DMF, 70°C , 18 h.

3-Bencilidenfuran-2,4(3H,5H)-diona (TC-I-49): Se añadió ácido tetrónico (300 mg, 3 mmol) a benzaldehído (1,0 ml, 9 mmol), y la solución resultante se agitó. Se añadió gota a gota HCl (37,7%, 0,1 ml). La mezcla de reacción se agitó vigorosamente hasta que solidificó. El producto sólido se trituroó, se empapó en hexano y se lavó con hexano. El producto en bruto se purificó por recristalización (acetato de etilo/hexanos = 8/2) para dar el compuesto **TC-I-49** (0,27 g, 48%) en forma de un sólido de color amarillo.

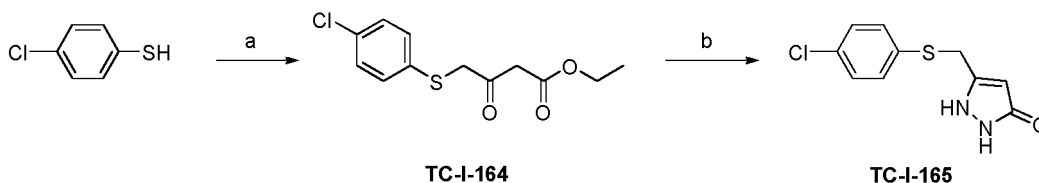
4-Benciliden-3-(hidroximetil)-1H-pirazol-5(4H)-ona (TC-I-53): A una suspensión de etanol (2 ml) y **TC-I-49** (367 mg, 2 mmol) se le añadió una solución etanólica de hidrazina (2 N, 1 ml). La suspensión resultante se calentó a reflujo durante 1 h, tiempo durante el cual cada uno de **TC-I-49** se disolvió y se formó un nuevo precipitado. La mezcla resultante se enfrió en un baño de hielo durante 20 min. El precipitado de color blanco se filtró y se lavó con etanol frío para dar **TC-I-53** (77 mg, 28%).

4-Benciliden-3-(bromometil)-1H-pirazol-5(4H)-ona (TC-I-82): Se añadió PBr_3 (30 μl , 0,38 mmol) a una suspensión de **TC-I-53** (0,23 g, 1,1 mmol) en THF (5 ml) a 0°C en una atmósfera de N_2 . La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente después de 5 min. Se añadió más cantidad de PBr_3 (30 μl , 0,38 mmol) después de 1 h. La suspensión resultante gradualmente se convirtió en una solución y se agitó durante una noche. Después, la mezcla de reacción se inactivó con salmuera, y la capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 . La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , y se evaporó a sequedad. **TC-I-82** (0,125 g, 41%) se obtuvo por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos = 1/4) en forma de un sólido de color amarillo.

4-Benciliden-3-(feniltiometil)-1H-pirazol-5(4H)-ona (TC-I-91): Se añadió bencenotiol (61 μl , 0,60 mmol) a una suspensión de **TC-I-82** (0,13 g, 0,50 mmol) y carbonato potásico anhidro (0,42 g, 3,0 mmol) en DMF (2 ml) a temperatura ambiente. La temperatura de reacción se llevó suavemente a 70°C . Después de agitar la suspensión resultante durante 18 h, la mezcla de reacción se inactivó con HCl (0,25 N), y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , y se evaporó a sequedad. **TC-I-91** (40

mg, 27%) se obtuvo por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos = 1/2) en forma de un sólido de color blanco.

Esquema 2.

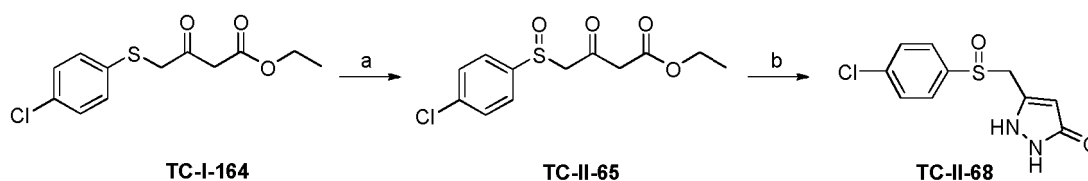


^aReactivos y condiciones: (a) 4-cloroacetoacetato de etilo, Et₃N, 0 °C, 30 min; (b) NH₂NH₂, EtOH, reflujo, durante una noche.

4-(4-Clorofeniltio)-3-oxobutanoato de etilo (TC-I-164): Se mezcló 4-clorotiofenol (1,1 g, 7,61 mmol) con 4-cloroacetoacetato de etilo (0,95 ml, 7,00 mmol) en CH₂Cl₂ (100 ml) a 0 °C. Después, se añadió gota a gota trietil amina (1,5 ml, 10,8 mmol). Después agitar la suspensión resultante a 0 °C durante 30 min más, la mezcla de reacción se vertió en agua, y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ saturado, HCl (0,25 N) y salmuera, se concentró al vacío, y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos = 1/9) para proporcionar **TC-I-164** (1,82 g, 96%) en forma de un aceite de color amarillo claro. La exposición a hidrazina en etanol a reflujo generó TC-II-165.

5-((4-Clorofeniltio)metil)-1H-pirazol-3(2H)-ona (TC-I-165): El compuesto **TC-I-164** (0,48 g, 1,76 mmol) se agitó en EtOH (5 ml), y se añadió una solución etanólica de NH₂NH₂ (2 N, 0,88 ml, 1,76 mmol). La solución resultante se calentó a reflujo durante una noche en una atmósfera de Ar, durante lo cual se formó un precipitado. Después, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. El precipitado se lavó con EtOH frío y se secó al vacío para proporcionar **TC-I-165** (0,31 g, 72%) en forma de un sólido de color blanco.

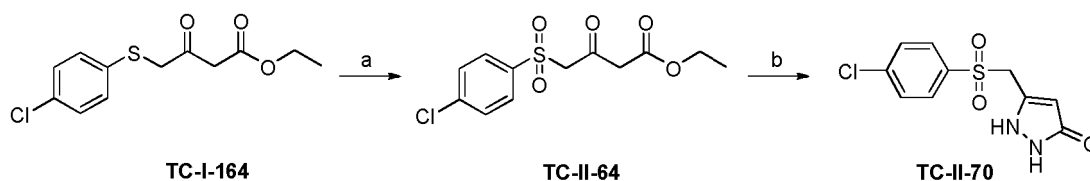
Esquema 3.



Reactivos y condiciones: (a) TBHP, acetilacetonato de vanadilo, CH₂Cl₂, temp. ambiente, durante una noche; (b) NH₂NH₂, EtOH, temp. ambiente, durante una noche.

4-(4-Clorofenilsulfonil)-3-oxobutanoato de etilo (TC-II-65): El compuesto TC-I-164 (1,27 g, 4,66 mmol) se mezcló con hidrogenoperoxido de *t*-butilo (70 % en peso en agua, 1,1 ml, 7,69 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) a temperatura ambiente, y se añadió lentamente acetilacetonato vanadilo (0,1% mol). Se añadió más cantidad de hidrogenoperoxido de *t*-butilo (0,5 ml, 3,50 mmol) a la mezcla de reacción después de 2 h. La suspensión resultante se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción se concentró al vacío y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos = 1/4) para proporcionar el compuesto **TC-II-65** (0,98 g, 73%) en forma de un aceite de color amarillo claro. La exposición a hidrazina en etanol a reflujo generó TC-II-68.

Esquema 4.

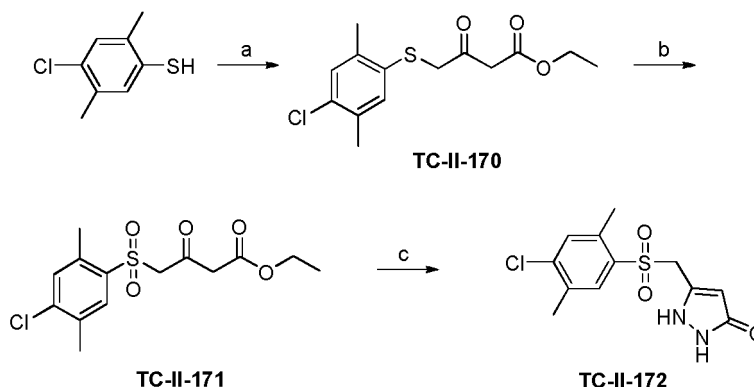


Reactivos y condiciones: (a) TBHP, acetilacetonato de vanadilo, CH₂Cl₂, temp. ambiente, durante una noche; (b) NH₂NH₂, EtOH, temp. ambiente, durante una noche.

4-(4-Clorofenilsulfonil)-3-oxobutanoato de etilo (TC-II-64): El compuesto **TC-I-164** (3,00 g, 11,0 mmol) se mezcló

con hidrogenoperoxido de *t*-butil (70 % en peso en agua, 1,5 ml, 10,50 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) a temperatura ambiente, y se añadió lentamente acetilacetato vanadilo (0,1% mol). Se añadió más cantidad de hidrogenoperoxido de *t*-butilo (6 ml, 41. 94 mmol) a la mezcla de reacción después de 2 h. La suspensión resultante se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción se concentró al vacío y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos = 1/4) para proporcionar el compuesto **TC-II-64** (1,61 g, 48%) en forma de un aceite de color amarillo claro. La exposición a hidrazina en etanol a reflujo generó TC-II-70.

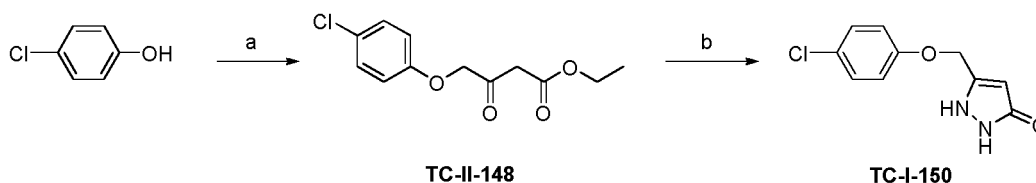
Esquema 5.



Reactivos y condiciones: (a) 4-cloroacetoacetato de etilo, Et₃N, 0 °C, 30 min; (b) H₂O₂, AcOH, EtOAc, temp. ambiente, durante una noche; (c) NH₂NH₂, EtOH, temp. ambiente, durante una noche.

4-(4-Cloro-2,5-dimetilfenilsulfonil)-3-oxobutanoato de etilo (TC-II-171): El compuesto **TC-II-170** (4,68 g, 14,1 mmol) se mezcló con AcOH (5 ml) en EtOAc (10 ml), y se añadió H₂O₂ (30% en agua, 10 ml, 84,6 mmol). La solución resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche después de añadir más cantidad de H₂O₂ (30% en agua, 5 ml, 42,3 mmol). Después, la mezcla de reacción se evaporó al vacío y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos = 1/3) para proporcionar **TC-II-171** (4,34 g, 85%) en forma de un aceite de color amarillo claro. La exposición a hidrazina en etanol a reflujo generó TC-II-172.

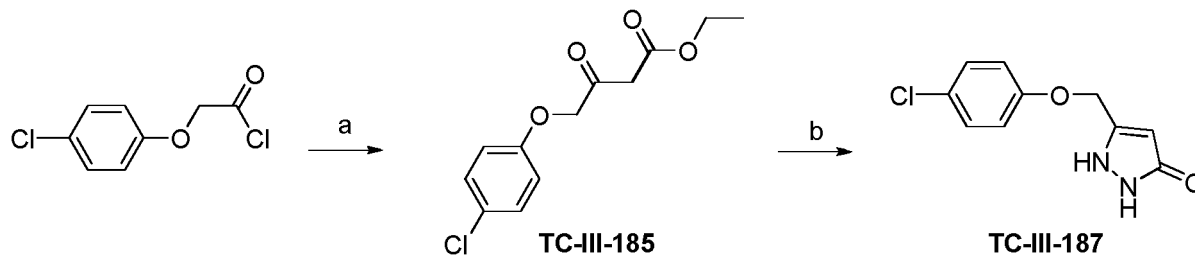
Esquema 6.



Reactivos y condiciones: (a) 4-cloroacetoacetato de etilo, NaH, THF seco, DMF seca, 70 °C, durante una noche; (b) NH₂NH₂, EtOH, temp. ambiente, durante una noche.

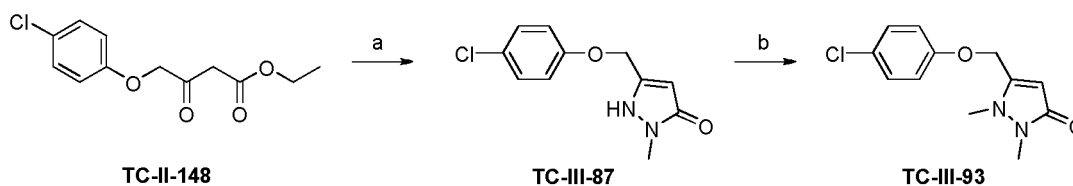
4-(4-Clorofenoxi)-3-oxobutanoato de etilo (TC-II-48): Una solución de 4-clorofenol (6,4 g, 50 mmol) en THF (25 ml) se trató con NaH (al 60% en aceite mineral, 2 g, 50 mmol) a 0 °C. En otro matraz, una solución de 4-cloroacetoacetato de etilo (10,21 ml, 75 mmol) en THF (25 ml) se trató con NaH (al 60% en aceite mineral, 3,5 g, 75 mmol) a -20 °C. La suspensión de color amarillento resultante se añadió lentamente a la solución de 4-clorofenóxido sódico, que se mantuvo a 0 °C. Después de la adición de DMF (10 ml), la temperatura de reacción se elevó lentamente a 70 °C. Después de mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante una noche, se enfrió y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos = 1/9) para proporcionar **TC-II-148** en forma de un aceite amarillento, que aún contenía parte de 4-cloroacetoacetato. No se aplicó purificación adicional en la siguiente etapa de síntesis. La exposición a hidrazina en etanol a reflujo generó TC-II-150.

Esquema 7.



- 5 Reactivos y condiciones: (a) EtOAc, LDA, THF, -78 °C a ta, durante una noche; (b) NH₂NH₂, EtOH, ta, durante una noche.

Esquema 8.



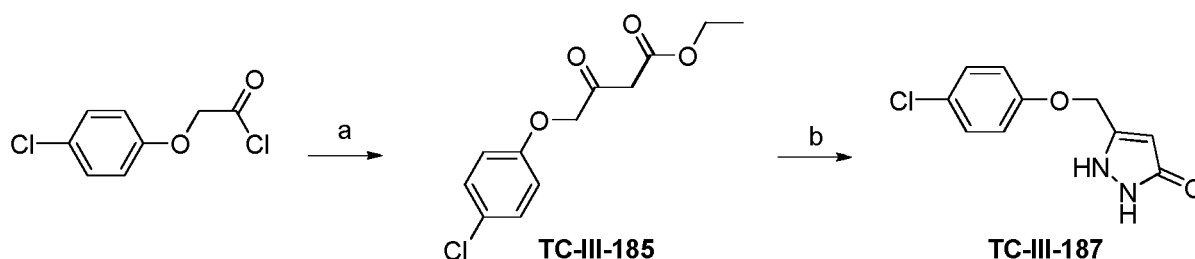
10

Reactivos y condiciones: (a) NH₂NHMe, EtOH, temp. ambiente, durante una noche; (b) Me₂SO₄, CaO, MeOH, temp. ambiente, durante una noche

- 15 **5-((4-Clorofenoxi)metil)-1,2-dimetil-1H-pirazol-3(2H)-ona (TC-III-93):** El compuesto TC-III-87 (0,145 g, 0,61 mmol) se mezcló con CaO (0,20 g, 3,57 mmol) y Me₂SO₄ (0,3 ml, 1,80 mmol) en MeOH (10 ml). La suspensión resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche. Después, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos = 2/1) para proporcionar TC-III-93 (28,5 mg, 19%) en forma de un sólido de color blanco.

20

Esquema 9.

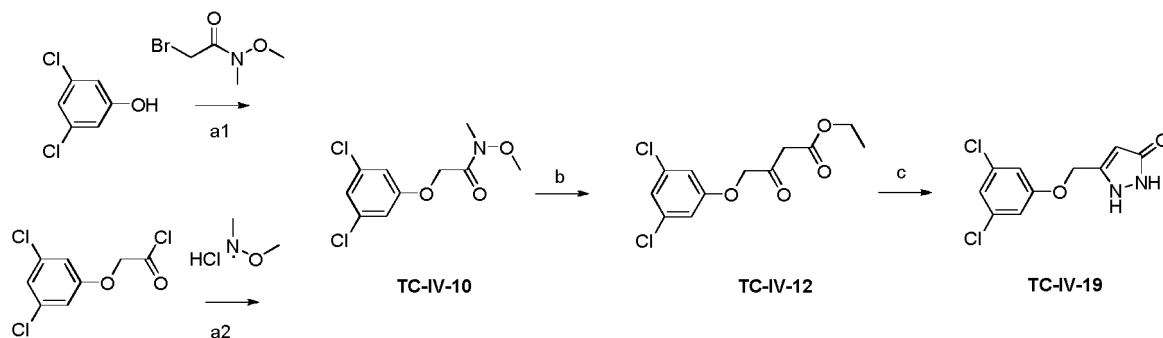


- 25 Reactivos y condiciones: (a) EtOAc, LDA, THF, -78 °C a ta, durante una noche; (b) NH₂NH₂, EtOH, ta, durante una noche.

- 30 **Etil malonato de 4-clorofenilo (TC-III-185):** Se añadieron EtOAc (0,63 ml, 6,44 mmol) a una solución de n-BuLi (1,6 M en hexanos, 9,2 ml, 14,72 mmol) y diisopropilamina (2,1 ml, 14,85 mmol) a 0 °C. Después de 60 min de agitación, se añadió una solución en THF del cloruro de acetilo (1,31 g, 6,41 mmol) a -78 °C. La mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 1 h, después a temperatura ambiente durante una noche. La solución de reacción resultante se inactivó con HCl diluido (0,25 M), y la capa acuosa se extrajo con Et₂O. La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos = 1/9) para dar TC-III-85 (0,41 g, 25%) en forma de un aceite amarillento.

35

Esquema 10.



5 ^aReactivos y condiciones: (a1) NaOEt, EtOH, 70 °C, durante una noche; (a2) DIEA, DCM, ta, 30 min; (b) EtOAc, LiHMDS, THF, -78 °C, 8 h; (c) NH₂NH₂, EtOH, ta, durante una noche.

10 **2-(3,5-Diclorofenoxi)-N-metoxi-N-metilacetamida (TC-IV-10)**, Método al: A una solución de fenol (5,27 g, 32,33 mmol) en EtOH (10 ml) se le añadió NaOEt (21 % en peso en EtOH, 12,1 ml, 32,41 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 10 min. Después, se añadió suavemente 2-bromo-N-metoxi-N-metilacetamida (5,87 g, 32,25 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitar la solución resultante a 70 °C durante una noche, la mezcla de reacción se enfrió, se vertió en HCl (0,25 M), y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. La capa orgánica combinada se concentró al vacío y se reconstituyó en CHCl₃. El precipitado se filtró y se lavó con CHCl₃. Se obtuvo una amida de Wienreb **TC-IV-10** (4,53 g, 53%) en forma de un sólido de color blanco.

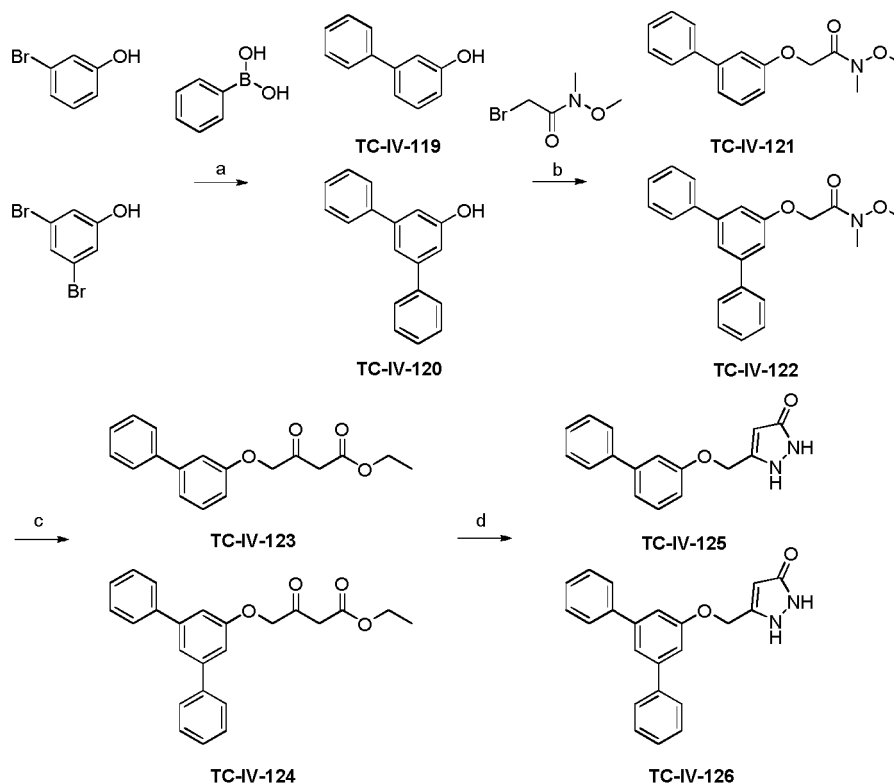
15 **2-(3,5-Diclorofenoxi)-N-metoxi-N-metilacetamida (TC-IV-10)**, método a2: A una solución de sal de HCl N,O-dimetilhidroxilamina (5,3 g, 54,33 mmol) en DCM (250 ml) se le añadió DIEA (24 ml, 137,8 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 5 min. Después, se añadió gota a gota cloruro de acetilo (13,0 g, 54,28 mmol) en DCM a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min más. La solución de reacción resultante se lavó con HCl (1 N) y se concentró al vacío. El producto sólido en bruto se lavó con Et₂O para dar la amida de Weinreb **TC-IV-10** (12 g, 84%) en forma de un sólido de color blanco.

25 **4-(3,5-Diclorofenoxi)-3-oxobutanoato de etilo (TC-IV-12)**: Se añadió EtOAc (0,9 ml, 9,19 mmol) a una solución de LiHMDS (1 N en THF, 21 ml, 21 mmol) a 0 °C y se agitó. Después de 60 min, se añadió una solución en THF de la amida de Wienreb **TC-IV-10** (2,4 g, 9,19 mmol) a -78 °C. Después de la solución resultante se agitó a -78 °C durante 8 h, la mezcla de reacción se inactivó con HCl diluido (0,25 N), y la capa acuosa se extrajo con Et₂O. La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos = 1/9) para dar **TC-IV-12** (1,03 g, 39%) en forma de un sólido de color blanco.

30 **5-((3,5-Diclorofenoxi)metil)-1H-pirazol-3(2H)-ona (TC-IV-19)**: Se añadió hidrazina etanólica (2 N, 2,5 ml, 5 mmol) a una solución de **TC-IV-12** (1,5 g, 5,15 mmol) en EtOH (25 ml). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después, la mezcla de reacción se evaporó al vacío, se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos = 1/2) y se recristalizó en acetato de etilo/hexanos para dar el producto final **TC-IV-19** (0,368 g, 28%) en forma de un cristal de color blanco.

35

Esquema 11.

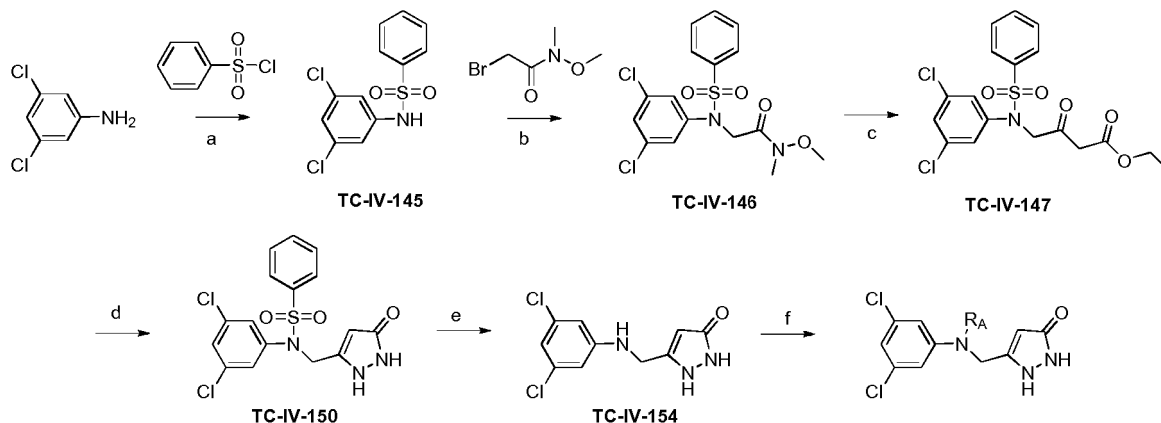


- 5 Reactivos y condiciones: (a) $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)$, K_2CO_3 , dioxano, H_2O , 100°C , 16 h; (b) NaOEt , EtOH , 70°C , durante una noche; (c) EtOAc , LiHMDS , THF -78°C , durante una noche; (d) NH_2NH_2 , EtOH , ta, durante una noche.

Bifenil-3-ol (TC-IV-119): Se añadieron 3-bromofenol (1,0 g, 5,78 mmol), ácido fenilborónico (1,4 g, 11,48 mmol), carbonato potásico (2,0 g, 14,47 mmol) y $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)$ (1/200 equiv.) a una solución de dioxano/ H_2O (20 ml/5 ml). La solución resultante se calentó a reflujo durante 16 h. Después, la mezcla de reacción se repartió entre Et_2O y agua, y la fase acuosa se extrajo con Et_2O . La capa orgánica combinada se evaporó a sequedad y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos = 1/9) para dar **TC-IV-119** (1,02 g, 100%) en forma de un aceite transparente.

- 10 **TC-IV-120:** Se añadieron 3,5-dibromofenol (1,0 g, 3,97 mmol), ácido fenilborónico (2 g, 16,4 mmol), carbonato potásico (2,7 g, 19,5 mmol) y $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)$ (1/200 equiv.) a una solución de dioxano/ H_2O (20 ml/ 5 ml). La solución resultante se calentó a reflujo durante 16 h. Después, la mezcla de reacción se repartió entre Et_2O y agua, y la fase acuosa se extrajo con Et_2O . La capa orgánica combinada se evaporó a sequedad y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos = 1/9) para dar **TC-IV-120** (0,83 g, 83%) en forma de un aceite transparente.
- 20

Esquema 12.



- 5 Reactivos y condiciones: (a) DIEA, DCM, ta, 48 h; (b) K_2CO_3 , acetona, 50 °C, durante una noche; (c) EtOAc, LiHMDS, THF -78 °C, 16 h; (d) NH_2NH_2 , EtOH, ta, durante una noche; (e) HBr, PhOH, H_2O , 100 °C, 8 h; (f) R_1CHO , $NaBH(OAc)_3$, DCM, ta, durante una noche.

10 **N-(3,5-Diclorofenil)bencenosulfonamida (TC-IV-145):** Se añadieron cloruro de bencenosulfonilo (1,74 ml, 13,57 mmol) y DIEA (0,34 ml, 2,49 mmol) a una solución de 3,5-dicloroanilina (2,0 g, 12,34 mmol) en DCM (50 ml). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 48 h, durante lo cual se formó un precipitado. Después, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos = 1/9) para dar **TC-IV-145** (1,90 g, 51%) en forma de un sólido de color amarillo.

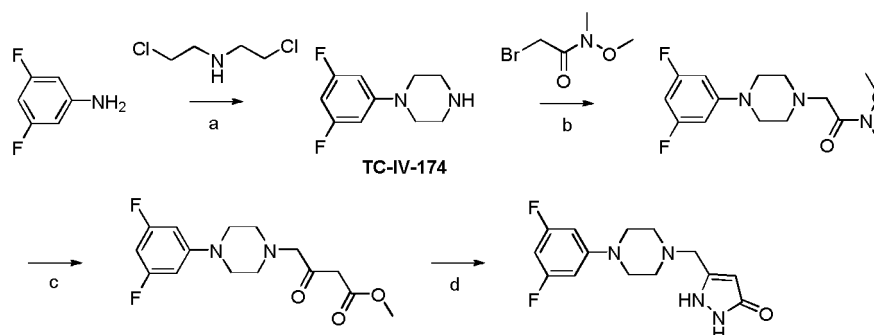
15 2-(N-(3,5-Diclorofenil)fenilsulfonamido)-N-metoxi-N-metilacetamida (TC-IV-146): A una solución de TC-IV-145 (1,90 g, 6,29 mmol) en acetona (30 ml) se le añadieron 2-bromo-N-metoxi-N-metilacetamida (1,14 g, 6,26 mmol) y carbonato potásico (0,86 g, 6,22 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitar la suspensión resultante a 50 °C durante una noche, la mezcla de reacción se concentró al vacío y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos = 1/4) para dar la amida de Wienreb TC-IV-146 (1,15 g, 44%) en forma de un sólido de color amarillo.

25 **4-(N-(3,5-Diclorofenil)fenilsulfonamido)-3-oxobutanoato de etilo (TC-IV-147):** Se añadió EtOAc (0,28 ml, 2,86 mmol) a una solución de LiHMDS (1 N en THF, 6,3 ml, 6,3 mmol) a -78 °C y se agitó. Después de 60 min, se añadió una solución en THF de la amida de Weinreb **TC-IV-146** (1,15 g, 2,86 mmol). Después de agitar la solución resultante a -78 °C durante una noche, la mezcla de reacción se inactivó con HCl diluido (0,25 N), y la capa acuosa se extrajo con Et_2O . La capa orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos = 1/2) para dar crude **TC-IV-147** (0,60 g, 48%) en forma de un aceite de color amarillo.

30 **N-(3,5-Diclorofenil)-N-((5-oxo-2,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)metil)bencenosulfonamida (TC-IV-150):** Se añadió hidrazina etanólica (2 N, 0,69 ml, 1,38 mmol) a una solución de TC-IV-147 (0,60 g, 1,39 mmol) en EtOH (10 ml). Después de agitar la solución resultante a temperatura ambiente durante una noche, la mezcla de reacción se evaporó al vacío y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos = 1/1) para dar TC-IV-150 (0,20 g, 32%) en forma de un sólido de color blanco.

35 **5-((3,5-Diclorofenilamino)metil)-1H-pirazol-3(2H)-ona (TC-IV-154):** Se añadieron **TC-IV-150** (30 mg, 0,068 mmol) y fenol (60 mg, 0,64 mmol) a una solución de HBr en agua (48%, 0,75 ml). Después de agitar la suspensión resultante a 100 °C durante 8 h, la mezcla de reacción se repartió entre agua y EtOAc, y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. La capa orgánica combinada se evaporó a sequedad y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo) para dar **TC-IV-154** (10 mg, 57%) en forma de un sólido de color blanco.

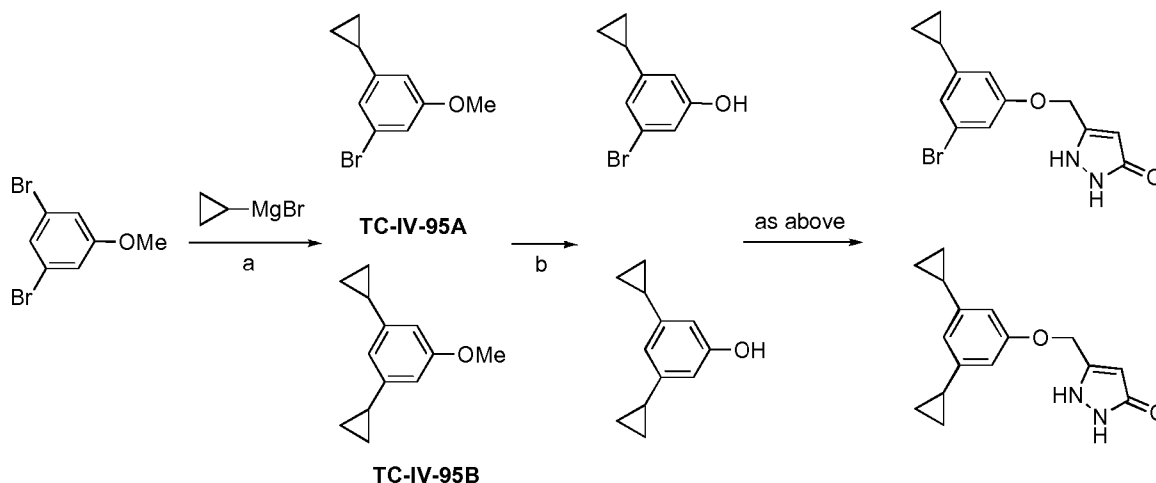
Esquema 13.



- 5 Reactivos y condiciones: (a) K_2CO_3 , *n*-BuOH, reflujo, 72 h; (b) K_2CO_3 , acetona, 50 °C, durante una noche; (c) EtOAc, LiHMDS, THF -78 °C, 16 h; (d) NH_2NH_2 , EtOH, ta, durante una noche.

10 **1-(3,5-Difluorofenil)piperazina (TC-IV-174):** Se añadió clorhidrato de bis(2-cloroetil)amina (2,07 g, 11,60 mmol) a una solución de 3,5-difluoroanilina (1,50 g, 11,62 mmol) en *n*-BuOH (20 ml). Después de calentar la solución resultante a reflujo durante 48 h, se añadió carbonato potásico anhidro (1,61 g, 11,62 mmol). Después de calentarse a reflujo durante 24 h más, la mezcla de reacción se enfrió, se repartió entre agua y $CHCl_3$, y la capa acuosa se extrajo con $CHCl_3$. La capa orgánica combinada se lavó con agua, se secó sobre Na_2SO_4 , y se evaporó a sequedad. Se añadieron Et_2O y HCl 1 N/EtOH al residuo, y el precipitado se filtró para dar **TC-IV-174** (1,17 g, 30%) en forma de un sólido de color blanco.

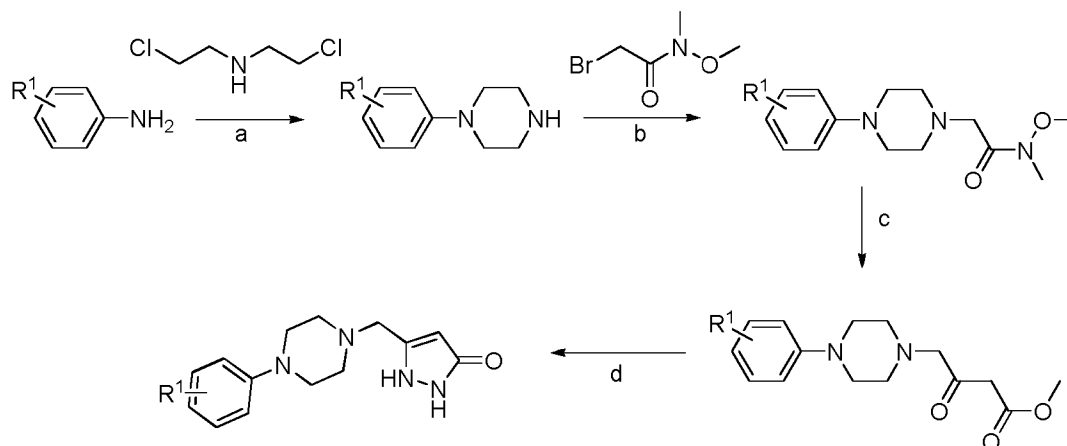
Esquema 14.



- 20 Reactivos y condiciones: (a) $NiCl_2(dppp)$, THF, 60 °C, 6 h; (b) (1) BBr_3 , DCM, -78 °C a ta, 1 h; (2) H_2O , -78 °C a ta, 1 h.

El Esquema 14 ilustra el uso de acoplamiento de Kumada para acceder a los sintones en el que R^4 es alifático cíclico.

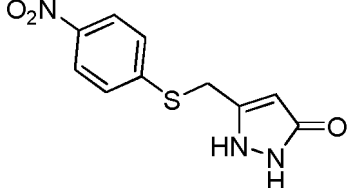
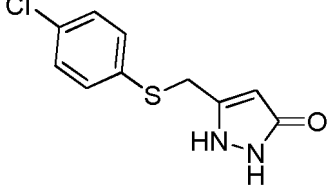
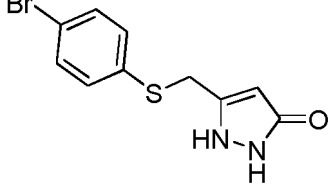
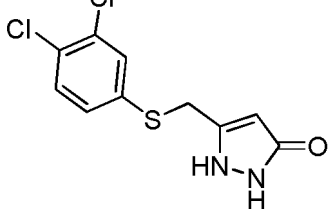
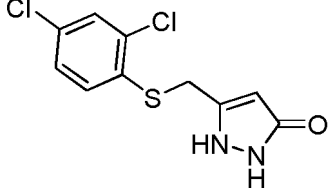
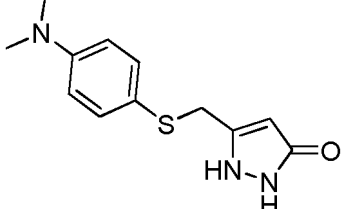
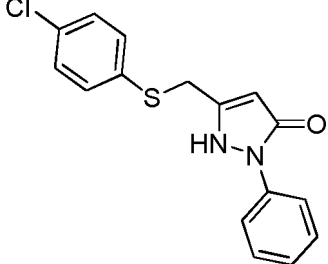
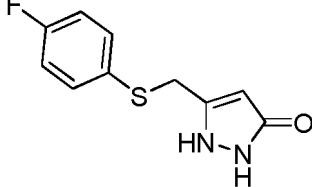
Esquema 15.

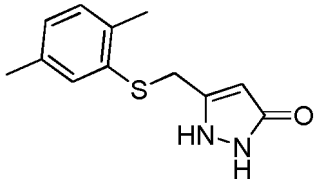
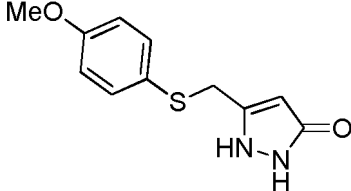
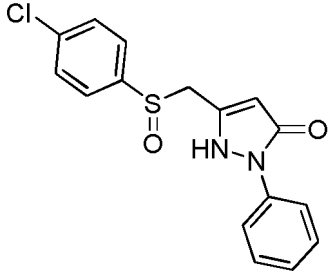
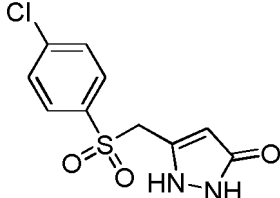
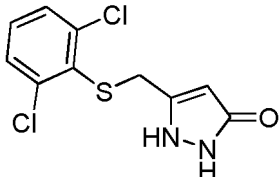
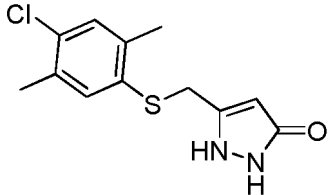
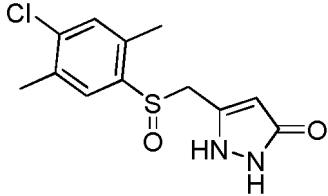
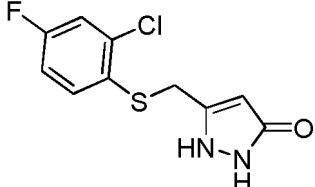


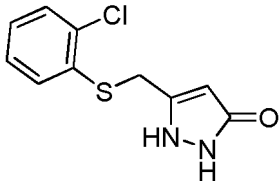
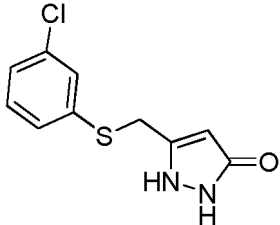
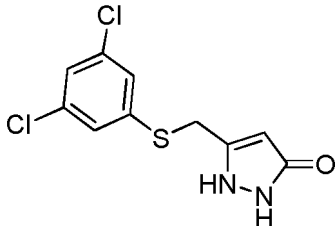
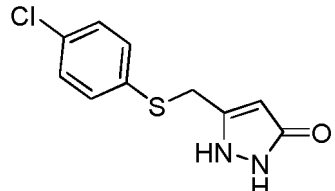
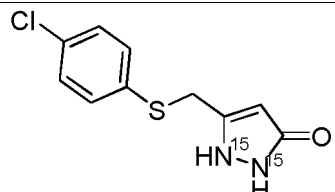
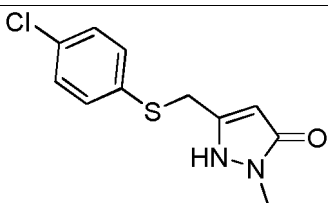
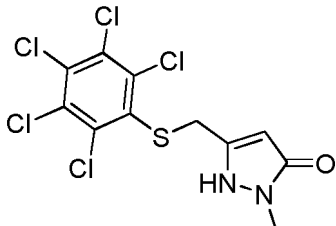
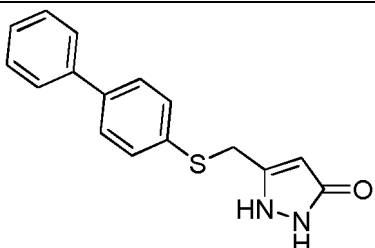
- 5 Reactivos y condiciones: (a) K_2CO_3 , *n*-BuOH, reflujo, 48 °C; (b) K_2CO_3 , , acetona, 50 °C, durante una noche; (c) EtOAc, LiHMDS, THF, -78 °C, 16 h; (d) NH_2NH_2 , EtOH, ta, durante una noche.

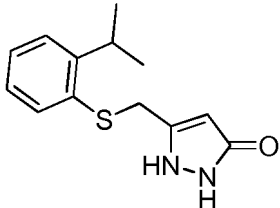
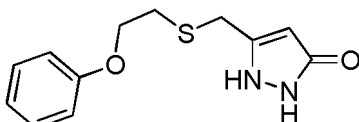
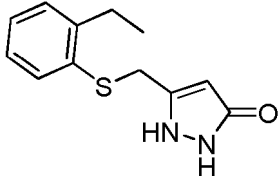
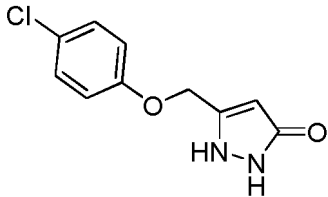
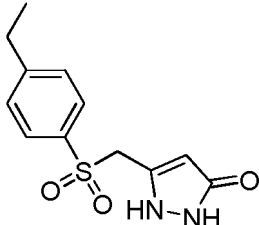
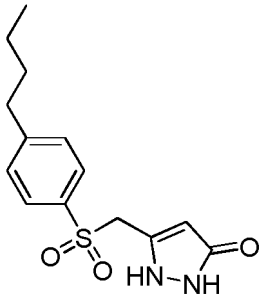
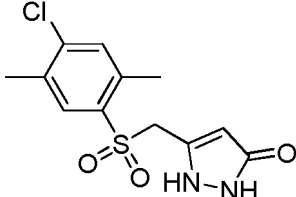
Tabla 2. Datos de 1H RMN para los compuestos seleccionados.

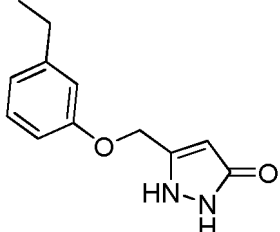
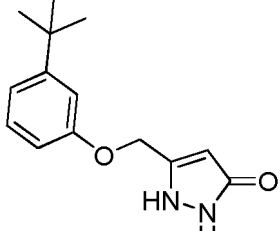
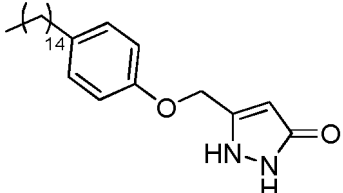
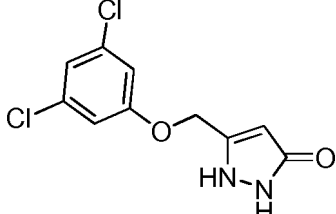
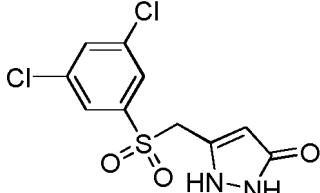
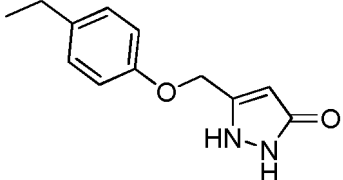
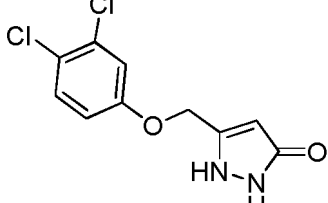
Estructura	1H RMN
	1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6 , δ): 11,62 (s a, 1H), 9,72 (s a, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 5,39 (s, 1H), 4,15 (s, 2H), 2,30 (s, 3H)
	1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6 , δ): 11,29 (s, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,68-7,18 (m, 10H), 5,19 (dd, J = 32,0, 16,5 Hz, 2H)
	1H RMN (500 MHz, acetona- d_6 , δ): 10,89 (s, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,73 (d, J = 6,50, 2H), 7,78-7,22 (m, 7H), 5,22 (dd, J = 16,0, 22,0 Hz)
	1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6 , δ): 11,54 (s a, 1H), 9,55 (s a, 1H), 7,34-7,29 (m, 4H), 7,19 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 5,31 (s, 1H), 4,07 (s, 2H)
	1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6 , δ): 11,22 (s a, 1H), 10,07 (s a, 1H), 7,33-7,26 (m, 4H), 5,34 (s, 1H), 4,04 (s, 2H), 1,25 (s, 9H)

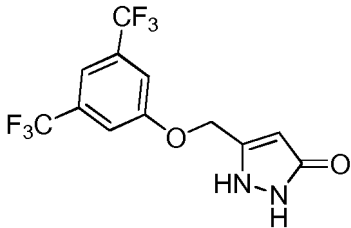
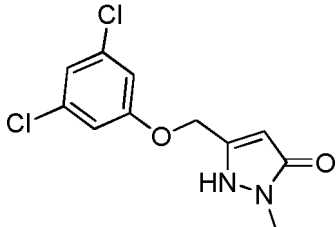
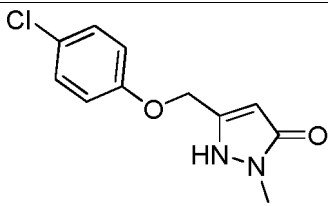
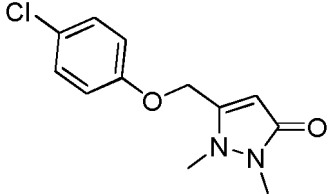
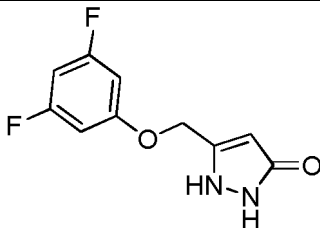
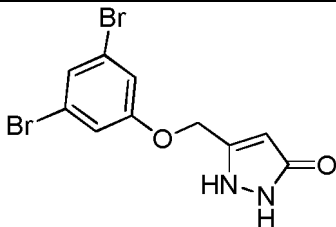
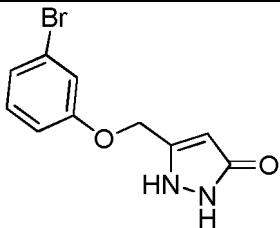
Estructura	¹ H RMN
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,64 (s a, 1H), 9,52 (s a, 1H), 8,13 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 2H), 7,55 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 2H), 5,41 (s, 1H), 4,26 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,55 (s a, 1H), 9,47 (s a, 1H), 7,36 (s, 4H), 5,31 (s, 1H), 4,08 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,45 (s a, 1H), 9,79 (s a, 1H), 7,48 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 2H), 7,28 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 2H), 5,32 (s, 1H), 4,08 (s, 2H)
	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 10,66 (s a, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,52 (d, <i>J</i> = 8,4 Hz, 1H), 7,30 (d, <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H), 5,34 (s, 1H), 4,14 (s, 2H)
	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 9,92 (s a, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,47-7,39 (m, 2H), 5,38 (s, 1H), 4,15 (s, 2H)
	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 7,20 (d, <i>J</i> = 8,8 Hz, 2H), 6,65 (d, <i>J</i> = 8,8 Hz, 2H), 5,20 (s, 1H), 3,83 (s, 2H), 2,88 (s, 6H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,67 (s a, 1H), 7,67 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 2H), 7,45-7,36 (m, 6H), 7,24 (t, <i>J</i> = 7,5 Hz, 1H), 5,46 (s, 1H), 4,11 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,52 (s a, 1H), 9,40 (s a, 1H), 7,40-7,37 (m, 2H), 7,17 (t, <i>J</i> = 8,8 Hz, 2H), 5,27 (s, 1H), 4,03 (s, 1H)

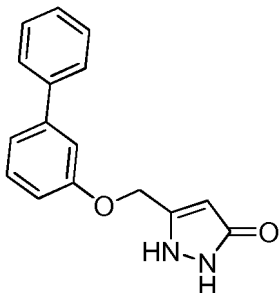
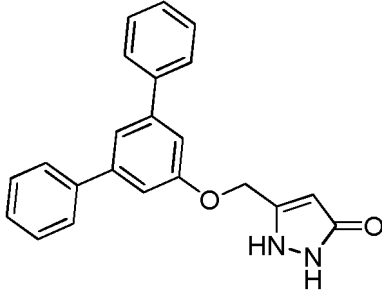
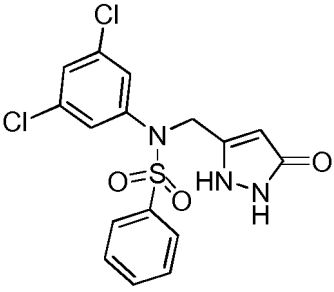
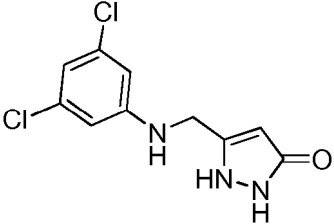
Estructura	¹ H RMN
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,55 (s a, 1H), 9,38 (s a, 1H), 7,16 (s, 1H), 7,06 (d, <i>J</i> = 7,5 Hz, 1H), 6,90 (d, <i>J</i> = 7,0 Hz, 1H), 5,33 (s, 1H), 4,03 (s, 2H), 2,25 (s, 3H), 2,19 (s, 3H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,45 (s a, 1H), 9,36 (s a, 1H), 7,29 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 2H), 6,89 (d, <i>J</i> = 9,0 Hz, 2H), 5,22 (s, 1H), 3,93 (s, 2H), 3,73 (s, 3H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,49 (s a, 1H), 9,75 (s a, 1H), 7,62 (d, <i>J</i> = 8,0 Hz, 2H), 7,54 (d, <i>J</i> = 9,0 Hz, 2H), 5,17 (s, 1H), 4,13-3,99 (m, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,24 (s a, 1H), 7,75 (d, <i>J</i> = 9,0 Hz, 2H), 7,67 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 2H), 5,21 (s, 1H), 4,56 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,45 (s a, 1H), 9,35 (s a, 1H), 7,55 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 2H), 7,38 (t, <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H), 5,12 (s, 1H), 4,01 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,56 (s a, 1H), 9,47 (s a, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,26 (s, 1H), 5,33 (s, 1H), 4,05 (s, 2H), 2,27 (s, 3H), 2,19 (s, 3H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,52 (s a, 1H), 9,50 (s a, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,37 (s, 1H), 5,22 (s, 1H), 4,03-3,93 (m, 2H), 2,35 (s, 3H), 2,15 (s, 3H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,57 (s a, 1H), 9,41 (s a, 1H), 7,50 (m, 2H), 7,25-7,21 (m, 1H), 5,35 (s, 1H), 4,12 (s, 2H)

Estructura	¹ H RMN
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,60 (s a, 1H), 9,54 (s a, 1H), 7,46-7,17 (m, 4H), 5,39 (s, 1H), 4,14 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,60 (s a, 1H), 9,54 (s a, 1H), 7,40-7,22 (m, 4H), 5,33 (s, 1H), 4,13 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,57 (s a, 1H), 9,44 (s a, 1H), 7,39 (s, 3H), 5,34 (s, 1H), 4,18 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,42 (s a, 1H), 9,58 (s a, 1H), 7,35 (dd, <i>J</i> = 28,0, 8,5 Hz, 4H), 5,35 (s, 1H), 3,70 (s, 2H), 3,49 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,48 (s a, 1H), 9,48 (s a, 1H), 7,36 (s, 4H), 5,30 (s, 1H), 4,08 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 10,88 (s a, 1H), 7,35 (s, 4H), 5,24 (s, 1H), 3,99 (s, 2H), 3,43 (s, 3H)
	¹ H RMN (500 MHz, CDCl ₃ , δ): 3,88 (s, 2H), 3,32 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,39 (s a, 1H), 9,52 (s a, 1H), 7,66-7,34 (m, 9H), 5,36 (s, 1H), 4,12 (s, 2H)

Estructura	¹ H RMN
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,53 (s a, 1H), 9,37 (s a, 1H), 7,37 (d, <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H), 7,27 (d, <i>J</i> = 7,5 Hz, 1H), 7,20-7,14 (m, 2H), 5,29 (s, 1H), 4,02 (s, 2H), 1,15 (d, <i>J</i> = 6,5 Hz, 6H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,50 (s a, 1H), 9,40 (s a, 1H), 7,28 (t, <i>J</i> = 7,8 Hz, 2H), 6,94-6,90 (m, 3H), 5,39 (s, 1H), 4,08 (t, <i>J</i> = 6,8 Hz, 2H), 3,69 (s, 2H), 2,82 (t, <i>J</i> = 6,5 Hz, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,54 (s a, 1H), 9,36 (s a, 1H), 7,36-7,14 (m, 4H), 5,31 (s, 1H), 4,04 (s, 2H), 2,63 (c, <i>J</i> = 7,4 Hz, 2H), 1,12 (t, <i>J</i> = 7,5 Hz, 3H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,79 (s a, 1H), 9,56 (s a, 1H), 7,33 (d, <i>J</i> = 9,0 Hz, 2H), 7,02 (d, <i>J</i> = 9,0 Hz, 2H), 5,52 (s, 1H), 4,92 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,37 (s a, 1H), 9,72 (s a, 1H), 7,61 (d, <i>J</i> = 8,0 Hz, 2H), 7,46 (d, <i>J</i> = 8,0 Hz, 2H), 4,48 (s, 2H), 3,29 (s, 1H), 2,71 (c, <i>J</i> = 7,5 Hz, 2H), 1,21 (t, <i>J</i> = 7,5 Hz, 3H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,56 (s a, 1H), 9,48 (s a, 1H), 7,64 (d, <i>J</i> = 7,5 Hz, 2H), 7,44 (m, 2H), 5,18 (s, 1H), 4,52 (s, 2H), 2,67 (t, <i>J</i> = 7,5 Hz, 2H), 1,60-1,54 (m, 2H), 1,33-1,26 (m, 2H), 0,89 (t, <i>J</i> = 7,3 Hz, 3H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,62 (s a, 1H), 9,59 (s a, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,54 (s, 1H), 5,24 (s, 1H), 4,49 (s, 2H), 2,47 (s, 3H), 2,33 (s, 3H)

Estructura	¹ H RMN
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,79 (s a, 1H), 9,55 (s a, 1H), 7,18 (t, <i>J</i> = 7,8 Hz, 1H), 6,83-6,79 (m, 3H), 5,52 (s, 1H), 4,89 (s, 2H), 2,56 (c, <i>J</i> = 7,5 Hz, 2H), 1,16 (t, <i>J</i> = 7,5 Hz, 3H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,72 (s a, 1H), 9,50 (s a, 1H), 7,20 (t, <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H), 6,97-6,80 (m, 3H), 5,52 (s, 1H), 4,91 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,75 (s a, 1H), 9,47 (s a, 1H), 7,17 (t, <i>J</i> = 7,5 Hz, 1H), 6,80-6,75 (m, 3H), 5,54 (s, 1H), 4,90 (s, 2H), 1,54 (m, 2H), 1,26-1,23 (m, 26H), 0,85 (t, <i>J</i> = 5,8 Hz, 3H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,82 (s a, 1H), 9,54 (s a, 1H), 7,16 (s, 1H), 7,12 (d, <i>J</i> = 1,5 Hz, 2H), 5,53 (s, 1H), 4,99 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,62 (s a, 1H), 9,55 (s a, 1H), 7,77-7,36 (m, 2H), 5,26 (s, 1H), 4,70 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,75 (s a, 1H), 9,50 (s a, 1H), 7,10 (d, <i>J</i> = 8,0 Hz, 2H), 6,89 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 2H), 5,50 (s, 1H), 4,87 (s, 2H), 2,54-2,51 (m, 2H), 1,13 (t, <i>J</i> = 7,5 Hz, 3H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,79 (s a, 1H), 9,51 (s a, 1H), 7,52 (d, <i>J</i> = 9,5 Hz, 1H), 7,32 (d, <i>J</i> = 2,5 Hz, 1H), 7,02 (dd, <i>J</i> = 9,0, 2,5 Hz, 1H), 5,56 (s, 1H), 4,98 (s, 2H)

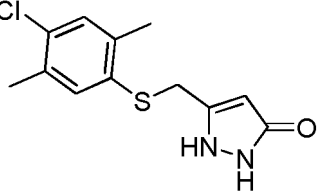
Estructura	¹ H RMN
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,62 (s a, 1H), 9,50 (s a, 1H), 7,99 (s, 2H), 7,86 (s, 1H), 5,35 (s, 1H), 4,31 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 10,95 (s, 1H), 7,13 (s, 1H), 7,10 (s, 2H), 5,41 (s, 1H), 4,88 (s, 2H), 3,49 (s, 3H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 10,98 (s a, 1H), 7,30 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 2H), 7,00 (d, <i>J</i> = 8,5 Hz, 2H), 5,40 (s, 1H), 4,82 (s, 2H), 3,48 (s, 3H)
	¹ H RMN (500 MHz, CDCl ₃ , δ): 7,22-7,19 (m, 2H), 6,93-6,90 (m, 2H), 5,60 (s, 1H), 4,91 (s, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,61 (s, 3H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,82 (s a, 1H), 9,53 (s a, 1H), 6,80-6,79 (m, 3H), 5,56 (s, 1H), 4,95 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,80 (s a, 1H), 9,52 (s a, 1H), 7,39 (s, 1H), 7,28 (m, 2H), 5,55 (s, 1H), 4,99 (s, 1H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,78 (s a, 1H), 9,50 (s a, 1H), 7,26-7,23 (m, 2H), 7,14-7,13 (m, 1H), 7,02-7,00 (m, 2H), 5,58 (s, 1H), 4,96 (s, 2H)

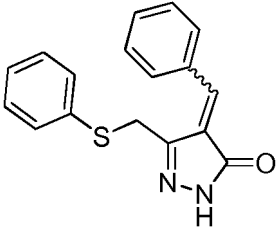
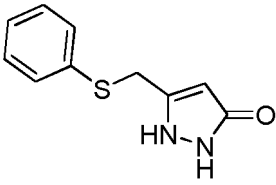
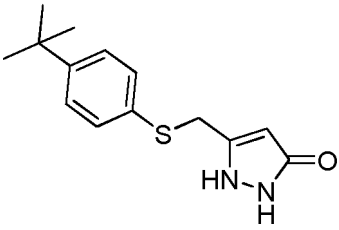
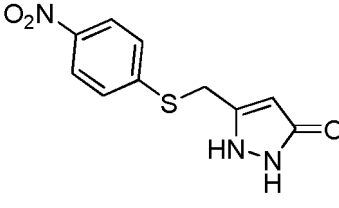
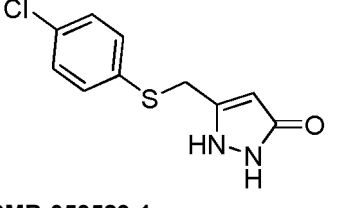
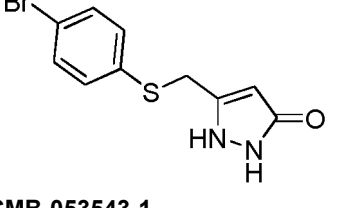
Estructura	¹ H RMN
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,80 (s a, 1H), 9,50 (s a, 1H), 7,67-6,99 (m, 9H), 5,55 (s, 1H), 5,02 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,82 (s a, 1H), 9,50 (s a, 1H), 7,76 (d, J = 8,0 Hz, 4H), 7,50-7,38 (m, 7H), 7,27 (s, 2H), 5,60 (s, 1H), 5,13 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,56 (s a, 1H), 9,39 (s a, 1H), 7,76-7,55 (m, 6H), 7,14 (s, 2H), 5,22 (s, 1H), 4,67 (s, 2H)
	¹ H RMN (500 MHz, DMSO-d ₆ , δ): 11,56 (s a, 1H), 9,52 (s a, 1H), 6,64-6,59 (m, 3H), 5,35 (s, 1H), 4,10 (d, J = 5,0 Hz, 2H)

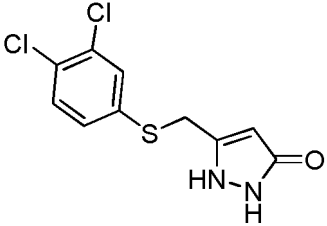
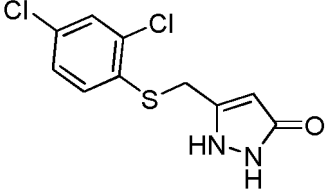
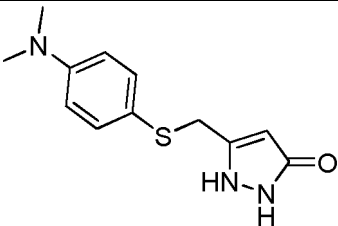
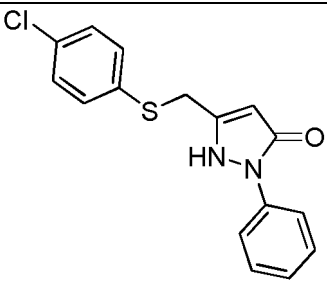
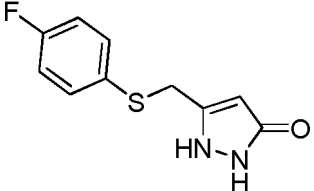
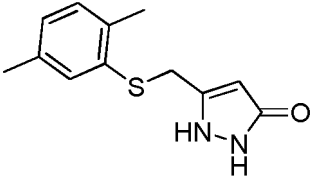
Ejemplo 6. Actividad biológica de análogos de arilsulfanilpirazolona sintetizados.

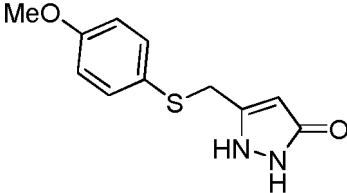
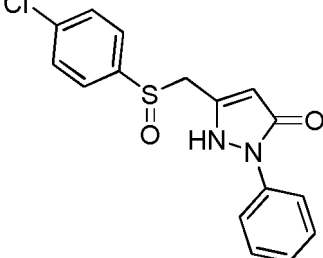
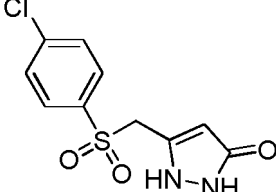
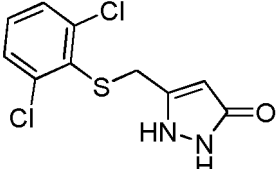
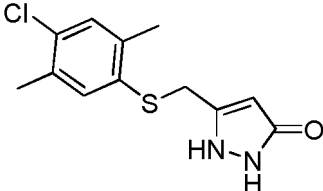
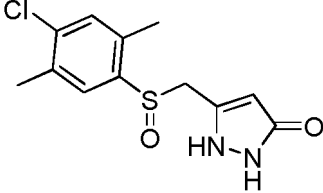
- 5 Los compuestos sintetizados anteriormente se sometieron a un cribado de protección de toxicidad inducida por agregación de proteína SOD1 mutante y un ensayo de alto contenido de agregación de proteínas directo. Los resultados difieren dentro de un rango razonable de semana a semana debido a la bio-variación, sin embargo, las potencias relativas de los análogos fueron reproducibles.

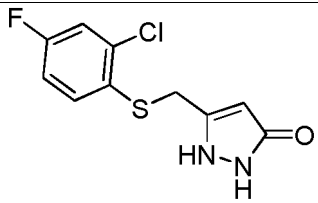
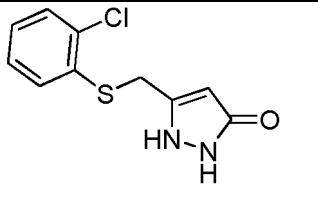
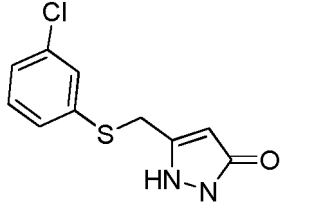
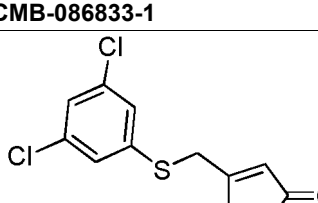
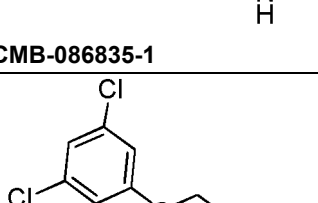
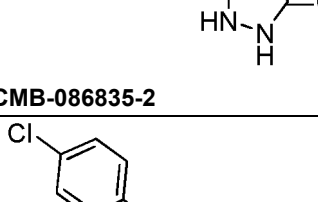
Tabla 3.

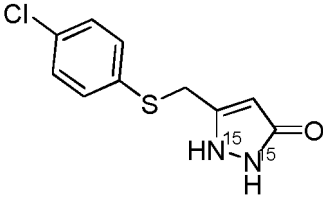
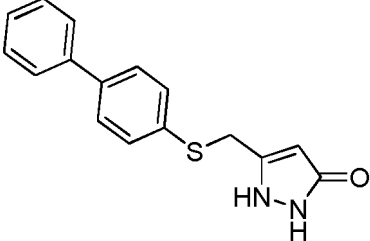
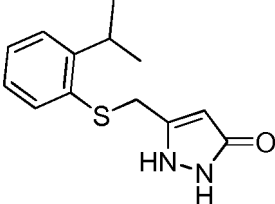
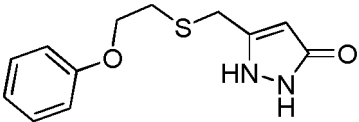
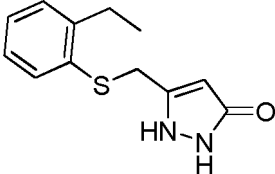
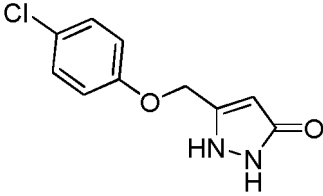
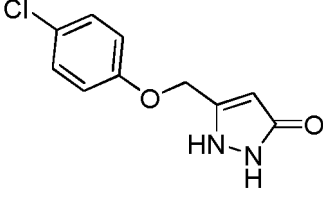
Registro	Estructura	Mejor CE50 (μM)	3299 CE50 correspondiente (μM)	% de viabilidad correspondiente	CE50 (μM) después de la normalización
1	 CMB-003299	0,4			

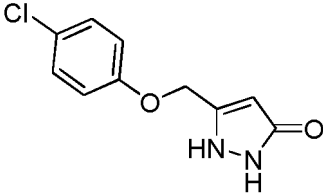
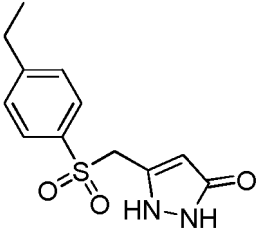
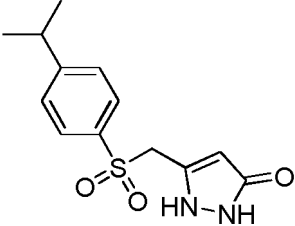
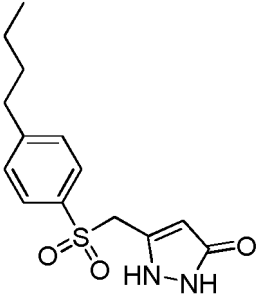
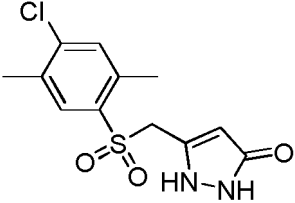
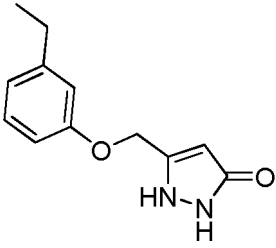
Registro	Estructura	Mejor CE50 (μM)	3299 CE50 correspondiente (μM)	% de viabilidad correspondiente	CE50 (μM) después de la normalización
2	 CMB-053530-1	>32			
3	 CMB-053526-1	6,85	0,27	77	10,1
4	 CMB-053527-1	5,38	0,93	150	2,31
5	 CMB-053528-1	5,59	0,93	136	2,4
6	 CMB-053529-1	4,49	0,93	93	1,93
7	 CMB-053543-1	4,24	0,93	94	1,8

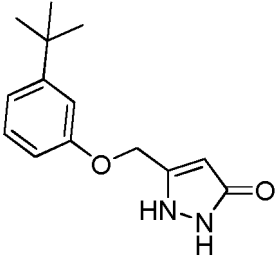
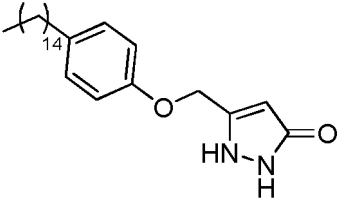
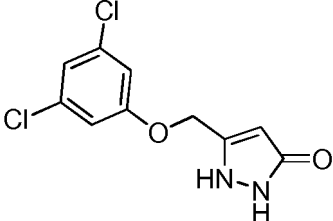
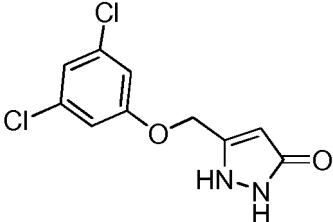
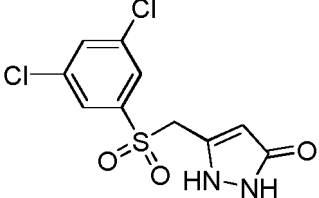
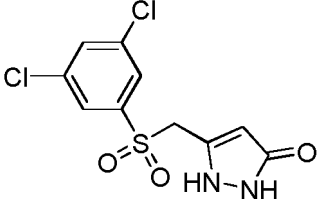
Registro	Estructura	Mejor CE50 (μM)	3299 CE50 correspondiente (μM)	% de viabilidad correspondiente	CE50 (μM) después de la normalización
8	 CMB-053544-1	2,6	0,55	113	1,89
9	 CMB-053545-1	1,58	0,55	124	1,15
10	 CMB-086476-1	1,65		77	
11	 CMB-086473-1	5,11	0,59	109	3,46
12	 CMB-086478-1	4,73	0,55	104	3,44
13	 CMB-086479-1	0,22		77	

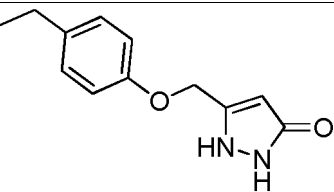
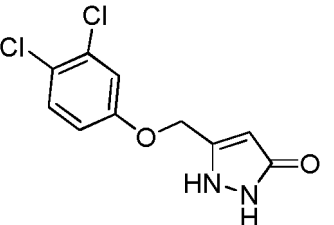
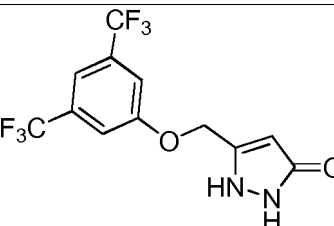
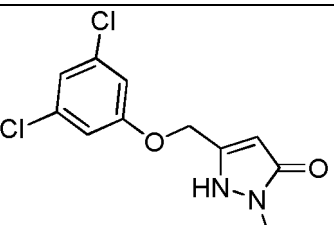
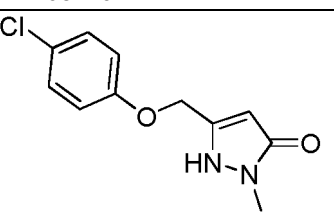
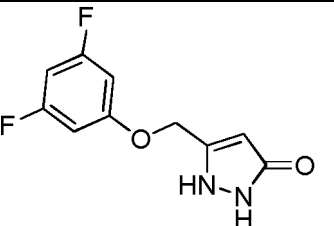
Registro	Estructura	Mejor CE50 (μM)	3299 CE50 correspondiente (μM)	% de viabilidad correspondiente	CE50 (μM) después de la normalización
14	 CMB-086477-1	4,21	0,93	102	1,81
15	 CMB-086474-1	>32			
16	 CMB-086475-1	6,92	0,59	110	4,7
17	 CMB-086480-1	0,26	0,11	142	0,95
18	 CMB-086481-1	0,43	0,44	140	0,39
19	 CMB-086482-1	4,47	0,62	123	2,88

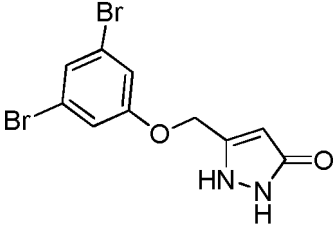
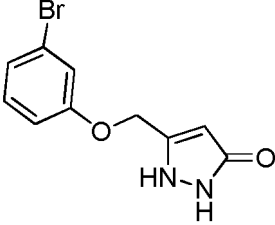
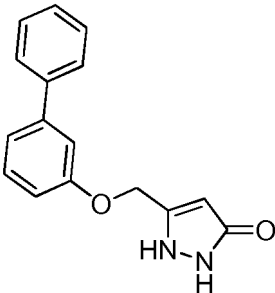
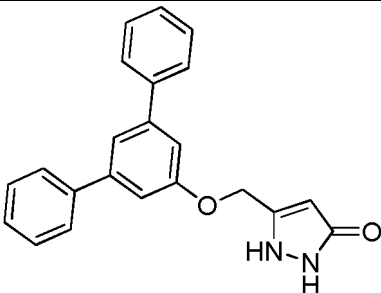
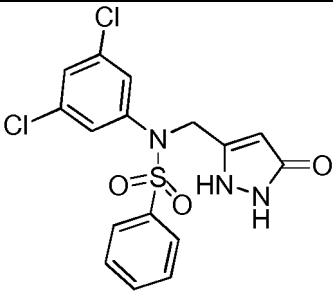
Registro	Estructura	Mejor CE50 (μM)	3299 CE50 correspondiente (μM)	% de viabilidad correspondiente	CE50 (μM) después de la normalización
20	 CMB-086832-1	1,61		68	
21	 CMB-086834-1	0,84	0,11	123	3,05
22	 CMB-086833-1	0,25	0,09	148	1,11
23	 CMB-086835-1	0,08	0,19	134	0,17
24	 CMB-086835-2	0,3	0,41	129	0,29
25	 CMB-086836-1	4,14		75	

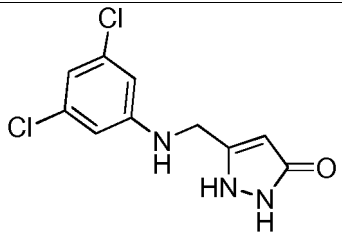
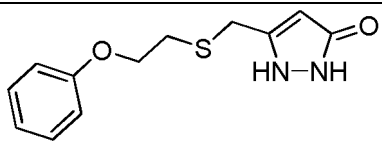
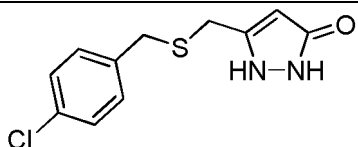
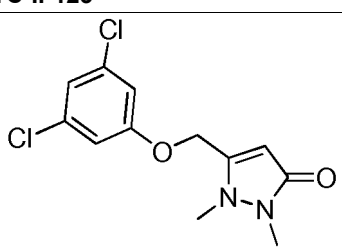
Registro	Estructura	Mejor CE50 (μM)	3299 CE50 correspondiente (μM)	% de viabilidad correspondiente	CE50 (μM) después de la normalización
26	 CMB-086882-1	7,97	0,59	121	5,4
27	 CMB-086883-1	9,44	0,93	115	4,06
28	 CMB-086899-1	0,4	0,33	106	0,48
29	 CMB-086900-1	6,21	0,33	97	7,52
30	 CMB-086901-1	2,06	0,33	106	2,5
31	 CMB-086902-1	0,57	0,35	131	0,65
32	 CMB-086902-2	0,69	0,35	117	0,79

Registro	Estructura	Mejor CE50 (μ M)	3299 CE50 correspondiente (μ M)	% de viabilidad correspondiente	CE50 (μ M) después de la normalización
33	 CMB-086902-3	3,43	1,79	120	0,77
34	 CMB-087210-1	0,99	0,44	101	0,9
35	 CMB-087211-1	0,75	0,44	103	0,68
36	 CMB-087212-1	0,99	0,44	93	0,9
37	 CMB-087213-1	2,28	0,62	116	1,47
38	 CMB-087214-1	1,12	0,62	125	0,72

Registro	Estructura	Mejor CE50 (μM)	3299 CE50 correspondiente (μM)	% de viabilidad correspondiente	CE50 (μM) después de la normalización
39	 CMB-087215-1	1,06	0,49	141	0,87
40	 CMB-087216-1	2,08	0,37	66	2,24
41	 CMB-087229-1	0,05	0,3	129	0,067
42	 CMB-087229-5	0,55	0,72	123	0,31
43	 CMB-087235-1	0,36	0,19	130	0,76
44	 CMB-087235-2	0,67	0,19	132	1,41

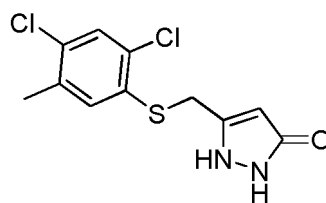
Registro	Estructura	Mejor CE50 (μM)	3299 CE50 correspondiente (μM)	% de viabilidad correspondiente	CE50 (μM) después de la normalización
45	 CMB-087241-1	3,29	0,67	88	1,96
46	 CMB-087242-1	0,13	0,09	136	0,58
47	 CMB-087260-1	0,13	0,09	120	0,58
48	 CMB-087264-1	6,67	0,52	109	5,13
49	 CMB-087362-1	7,6	0,52	107	5,85
50	 CMB-087627-1	3,21	1,2	125	1,07

Registro	Estructura	Mejor CE50 (μM)	3299 CE50 correspondiente (μM)	% de viabilidad correspondiente	CE50 (μM) después de la normalización
51	 CMB-087628-1	1,54	1,2	125	0,51
52	 CMB-087642-1	3,06	1,2	144	1,02
53	 CMB-087643-1	8,53	1,2	96	2,84
54	 CMB-087644-1	11,08	1,2	68	3,7
55	 CMB-087645-1	9,04	2,52	111	1,43

Registro	Estructura	Mejor CE50 (μM)	3299 CE50 correspondiente (μM)	% de viabilidad correspondiente	CE50 (μM) después de la normalización
56	 CMB-087650-1	2,11	2,52	128	0,33
57	 TC-II-140	6,2			
58	 TC-II-123	4,2			
59	 CMB-087363-1	>32			

Estudio ADME in vitro de CMB-003319. Se evaluó CMB-003319 para determinar sus propiedades ADME *in vitro*. El estudio mostró que CMB-003319 tiene un potencial metabólico medio, permeabilidad de CaCO-2 media, baja estabilidad en plasma, y solubilidad acuosa media.

5



CMB-003319

Estudio de la estabilidad microsomal de hígado de rata de TC-I-165. Se aplicó TC-I-165 para un estudio de estabilidad microsomal de hígado de rata dependiente de NADPH por HPLC. Los resultados preliminares mostraron que TC-I-165 tiene una mala estabilidad microsomal como CMB-003319. El ensayo (TC-I-165), control positivo (minaprina), y patrón interno (haloperidol) se muestran en la Figura 11.

10

Estudio de metabolito microsomal de TC-I-165. Se usó TC-I-165 en un estudio de metabolito microsomal de hígado de rata dependiente de NADPH por HPLC. Se propusieron TC-II-68 y TC-II-70 como posibles metabolitos y se prepararon antes del estudio. Los resultados mostraron que solamente TC-II-68 era un metabolito directo.

15

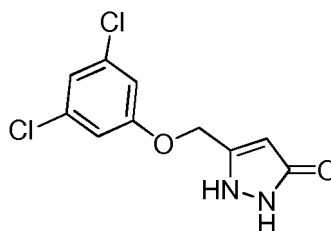
Estudio de metabolito microsomal de TC-I-165. Se preparó TC-II-125 como un TC-I-165 marcado con isótopo de ¹⁵N doble. TC-I-165, TC-II-125, y TC-II-68 se enviaron para determinar el metabolito microsomal de hígado de rata dependiente de NADPH. Los resultados mostraron que durante la primera hora el único metabolito directo de TC-I-165 era TC-II-68, sin pérdida de nitrógeno en el anillo de pirazolona.

20

Estabilidad microsomal de hígado de rata de TC-II-70. Se aplicó **TC-II-70** para un ensayo de estabilidad microsomal de hígado de rata dependiente de NADPH por HPLC. Los resultados mostraron que **TC-II-70** es mucho más estable en comparación con **TC-I-165** durante la primera hora de metabolismo microsomal.

- 5 **Propiedades ADME in vitro de los análogos.** Los compuestos se enviaron a pruebas ADME in vitro para evaluar sus propiedades ADME. Al sustituir el enlace tioéter con un enlace éter o un enlace de sulfona en el andamiaje de arilsulfanilpirazolona, la estabilidad microsomal y la solubilidad acuosa se mejoraron ampliamente.

- 10 **Estudio ADME in vitro de CMB-087229.** CMB-087229 se envió para una evaluación de sus propiedades ADME in vitro. El estudio mostró que CMB-087229 tiene una potencia (ED_{50}) de 74 nM, un potencial metabólico humano medio ($T_{1/2}$ = 93 minutos), potencial metabólico de ratón medio ($T_{1/2}$ = 36 minutos), alta permeabilidad $CaCO_2$ prevista ($A-B = 37 \times 10^{-6}$ cm/s), estabilidad en plasma media ($T_{1/2}$ = 17 minutos), y solubilidad acuosa de 250 μ M. CMB-087229 tiene una semivida metabólica en ratas de aproximadamente 2 horas.



CMB-087229

15

Espectros UV y cromatografía

- 20 Usando un espectrómetro UV/VIS (Perkin Elmer, Lambda 10), las muestras se escanearon de 200-500 nm para determinar la absorbancia UV máxima. Se encontró que una longitud de onda de 260 nm era óptima para la monitorización por HPLC. Las muestras se analizaron con una HPLC Beckman usando un detector UV 166 acoplado a una columna analítica C18 de fase inversa (Phenomenex, Luna 5 μ C18 (2), 250 * 4,60 mm). Después de la separación de las muestras en la columna C18 usando un programa de HPLC de acetonitrilo-agua, los picos se analizaron mediante el software 32 karat™, versión 5.1.

25

Estabilidad de estabilidad microsomal

- 30 Se incubaron agentes de ensayo (15 μ M) en tubos Eppendorf con microsomas de ratón (microsomas de hígado de rata macho agrupados (Sprague Dawley), BD Science) a 37 °C. Cada mezcla de reacción se realizó en PBS (pH 7,4), que contenía 1 mg/ml de proteína microsomal con $NADP^+$ 1,3 mM, glucosa-6-fosfato 3,3 mM, 0,4 U/ml de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, y cloruro de magnesio 3,3 mM. Se ejecutó un control usando minaprina para evaluar la actividad de la actividad microsomal. Después de 0 y 20 minutos de incubación, se añadieron 40 μ l de acetonitrilo para interrumpir las reacciones. La mezcla de reacción se agitó vorticialmente y se incubó en un baño de hielo durante 2 h. Se añadió haloperidol (100 μ l, 100 μ M) a cada tubo de ensayo como un patrón interno. Las muestras se diluyeron en agua y se centrifugaron para eliminar la proteína precipitada. Las soluciones de sobrenadante se cargaron para la extracción en fase sólida. Las fracciones de extracción se evaporaron y reconstituyeron para análisis de HPLC.

- 40 Se usó Excel para el procesamiento de datos. La relación de respuesta (RR) se calculó dividiendo el área del pico del analito por el área del pico del patrón interno. Los datos sugieren que **TC-I-165** tiene baja estabilidad microsomal de hígado de rata dependiente de NADPH.

Tabla 4. Procesamiento de datos de estabilidad microsomal

Nombre de muestra	RR media	% medio $\pm$ D.E.
Mina 0 min	22,88	100 $\pm$ 7,11
Mina 20 min	13,54	59,2 $\pm$ 14,9
TC-I-165 0 min	2,529	100 $\pm$ 26,4
TC-I-165 20min	0,314	12,4 $\pm$ 0,89

- 45 **Estudio de metabolitos microsomaes de hígado de rata de NADPH para TC-I-165**

Métodos de ensayo

- 50 Se usó **TC-I-165** para un estudio de metabolitos microsomaes de hígado de rata dependiente de NADPH, y el sulfóxido correspondiente, **TC-II-68**, y la sulfona, **TC-II-70**, también se prepararon (Figura 14).

Generalmente, los experimentos se realizaron de acuerdo con el procedimiento general del estudio de estabilidad microsomal de **TC-I-165**. Después de 0, 5, 10, 20, 40 y 60 minutos de incubación con microsoma de hígado de rata, se añadieron 50 µl de acetonitrilo para interrumpir las reacciones. La mezcla de reacción se agitó vorticialmente y se incubó en un baño de hielo durante 2 h. Las muestras se centrifugaron para eliminar la proteína precipitada. Las soluciones de sobrenadante se cargaron directamente para el análisis por HPLC.

Datos y resultados

TC-II-68 era un metabolito de **TC-I-165** después de 60 minutos de incubación de microsomas de hígado de rata dependiente de NADPH. **TC-II-70** no es un metabolito. Solo se observó un nuevo pico del residuo microsomal de **TC-I-165**. Usando el mismo programa de HPLC (25% de acetonitrilo, isocrática, 30 minutos), el tiempo de retención del nuevo pico fue aproximadamente idéntico al de **TC-II-68**. El tiempo de retención de **TC-II-70** se separó bien con respecto al del nuevo pico (véanse las Figuras 15-20).

Estudios de estabilidad microsomal de hígado de rata de TC-II-70

Métodos de ensayo

TC-II-70 se usó en un estudio de estabilidad microsomal de hígado de rata dependiente de NADPH. Los compuestos de ensayo (**TC-II-70**), control positivo (minaprina), control negativo (warfarina), y patrón interno (haloperidol) en este experimento se enumeran en la Figura 21. El experimento se realizó principalmente de acuerdo con el procedimiento general del estudio de estabilidad microsomal de **TC-I-165**. Después de 0, 20 y 40 minutos de incubación, se añadieron 100 µl de acetonitrilo para interrumpir las reacciones. La mezcla de reacción se agitó vorticialmente y se incubó en un baño de hielo durante 2 h. Se añadió haloperidol (50 µl, 100 µM) a cada tubo de ensayo como un patrón interno. Las muestras se centrifugaron para eliminar la proteína precipitada. Las soluciones de sobrenadante se cargaron directamente para el análisis por HPLC.

Resultados

TC-II-70 es más estable en un estudio de estabilidad microsomal de hígado de rata dependiente de NADPH en comparación con su sulfuro, **TC-I-165** (Figuras 22-25). La Tabla 5 muestra los resultados del procesamiento de datos de estabilidad microsomal.

Tabla 5.

Nombre de muestra	RR media	% medio $\pm$ D.E.
Mina 5 µM 0 min	0,711	100 $\pm$ 11,5
Mina 5 µM 40 min	0,321	45,2 $\pm$ 8,1
TC-II-70 15 µM 0 min	0,237	100 $\pm$ 12,6
TC-II-70 15 µM 20 min	0,261	109 $\pm$ 13,3
TC-II-70 15 µM 40 min	0,201	84,8 $\pm$ 21,8
War 15 µM 0 min	0,488	100 $\pm$ 7,75
War 15 µM 60 min	0,470	96,1 $\pm$ 7,66

Estudios sobre la barrera hematoencefálica

Experimento preliminar de penetración de la barrera hematoencefálica (BBB). Se realizó un experimento de penetración de la BBB in vivo para CMB-087229. Se usó CMB-003319 como patrón interno debido a su similitud estructural con CMB-003299. CMB-087229 se formuló en 100 µl de DMSO en 2 ml de solución salina tamponada con fosfato. La concentración en sangre de CMB-087229 (MTD de 75 mg/kd IP) 1 hora después de una única dosis IP de 1 mg fue de aproximadamente 10 nM. La concentración cerebral de CMB-087229 1 hora después de una única dosis IP de 1 mg fue de aproximadamente 120 nM. Después de cuatro horas, la concentración en el cerebro fue de 194 µM. Transcurridas 3 horas, la concentración plasmática fue de 342 µM. Transcurridas 6 horas, la concentración plasmática fue de 347 µM. Transcurridas 12 horas, la concentración plasmática fue de 248 µM. Transcurridas 24 horas, la concentración plasmática fue de 1,68 µM. CMB-087229 alcanza aproximadamente el 55% del nivel sanguíneo en el cerebro.

Procedimiento de captación cerebral

Datos de cerebro y plasma de ratones CMB-087229 Se administró CMB-087229 (1 mg/kg) a ratones (colonia Tg6799 con fondo B6/SJL) mediante inyección intraperitoneal en una solución de PBS al 60% y dimetilsulfóxido al 40%. A los 10 minutos después de la administración del compuesto, los ratones se sacrificaron. La sangre se recogió y el plasma se transfirió a congelación instantánea en nitrógeno líquido después de la centrifugación. Los ratones se perfundieron. El cerebro se homogeneizó en acetonitrilo al 100%. Se añadió CMB-003319 (0,5 µg, 1,73 nmol) como patrón interno. Los homogeneizados se centrifugaron a 12000 x g durante 12 minutos, y el sobrenadante se evaporó. El residuo se reconstituyó en acetonitrilo al 33,3%. La extracción en fase sólida seguida

de LCMS (sistema de cromatografía líquida-espectrometría de masas en tandem API 300, Applied Biosystems, Foster City, Calif; sistema HPLC Agilent 1100 series, Agilent Technologies, Wilmington, Del) se usó para cuantificar la cantidad de CMB-087229 en cerebro de ratón. Los cartuchos de extracción en fase sólida (Sep-Pak C18, Water Associates, Milford, MA) se lavaron con 1 ml de acetonitrilo y se equilibraron con 1 ml de agua. El sobrenadante reconstituido se cargó entonces, se lavó con 1 ml x 2 de acetonitrilo al 33,3%. Después, CMB-087229 se secó y se sometió a LCMS.

Resultados

- 10 Cabe señalar que los datos obtenidos en marzo no fueron idénticos a los datos obtenidos en julio. Sin embargo, la curva estándar del cerebro y las muestras cerebrales de los ratones mantienen desviaciones estándar y linealidad, y por lo tanto, los resultados de los estudios cerebrales aún se pueden cuantificar. A la luz de estos datos, parece que cierta cantidad de CMB-003329 penetra en la BBB (Figura 8-10).

15 **Tabla 6.** Curva estándar del cerebro CMB-087229

Concentración de extracto cerebral (µg/ml)	Relación en área del cerebro (Media ± D. E.)
0,05	0,148 ± 0,0007
0,10	0,268 ± 0,0087
0,50	1,11 ± 0,155
1,00	2,48 ± 0,084

Tabla 7. Curva estándar en plasma CMB-087229

Concentración en plasma (µg/ml)	Relación en área en plasma (Media ± D. E.)
0,01	0,068 ± 0,00042
0,05	0,304 ± 0,00436
0,10	0,637 ± 0,0337
0,50	1,58 ± 0,0604

Tabla 8. Curva estándar en plasma CMB-087229

Concentración en plasma (µg/ml)	Relación en área en plasma (Media ± D. E.)
0,01	1,210 ± 0,0374
0,025	2,068 ± 0,0316
0,05	3,554 ± 0,0775
0,10	6,429 ± 0,109
0,25	16,05 ± 0,684
0,50	30,22 ± 1,351
1,0	59,67 ± 3,379
2,5	149,2 ± 1,744
5,0	297,8 ± 7,539
10	591,9 ± 0,758

Tabla 9.

	Relación en área cerebral	Concentración de extracto cerebral (µg/ml)	Peso del cerebro (g)	Concentración del cerebro (µg/g)	Concentración en plasma (µg/ml) Julio	Relación cerebro/plasma Julio
n.º 2	0,292	0,121	0,470	0,257	0,0904	2,84
n.º 3	0,384	0,159	0,432	0,366	0,0892	4,10
n.º 4	0,453	0,187	0,399	0,467	0,149	3,13
n.º 5	0	0	0,415	0	0	0

Tabla 10. Datos del cerebro y plasma de ratones CMB-087229

	Concentración cerebral (Media $\pm$ D.E.) ($\mu\text{g/g}$)	Concentración en plasma (Media $\pm$ D.E.) ($\mu\text{g/ml}$)	Relación cerebro/plasma (Media $\pm$ D.E.)
10 min Julio	0,363 $\pm$ 0,105	0,110 $\pm$ 0,0342	3,36 $\pm$ 0,660

Habiéndose descrito algunas realizaciones de la invención, será evidente para los expertos en la técnica que lo anterior es meramente ilustrativo y no limitativo, habiéndose presentado a modo de ejemplo solamente. En particular, aunque muchos de los ejemplos presentados en el presente documento implican combinaciones específicas de actos de método o elementos de sistema, debe entenderse que esos actos y esos elementos pueden combinarse de otras maneras para lograr los mismos objetivos. Los actos, elementos y características analizadas solamente junto con una realización no están destinados a excluirse de un rol similar en otras realizaciones.

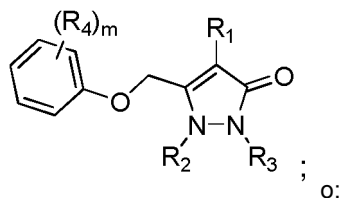
- 5 El uso de términos ordinales tales como "primero", "segundo", "tercero", *etc.*, en las reivindicaciones para modificar un elemento de una reivindicación no denota por sí mismo ninguna prioridad, precedencia, u orden de un elemento reivindicado respecto de otro, o un orden temporal para llevar a cabo los actos de un método, sino que se utilizan simplemente como etiquetas para distinguir un determinado elemento que tiene un determinado nombre de otro elemento que tiene el mismo nombre (salvo por el uso del término ordinal) para distinguir los elementos de la reivindicación. De forma similar, el uso de a), b), *etc.*, o i), ii), *etc.* no connota por sí mismo ninguna prioridad, precedencia, u orden de etapas en las reivindicaciones. De forma similar, el uso de estos términos en la memoria descriptiva no conlleva por sí mismo ninguna prioridad, precedencia, u orden requeridos.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto para su uso en el tratamiento de la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) o enfermedades neurodegenerativas caracterizadas por la presencia de agregados de proteínas aberrantes;

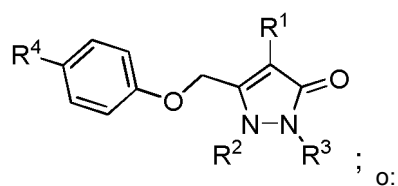
5 en el que el compuesto es de una fórmula seleccionada de

(i) la fórmula:

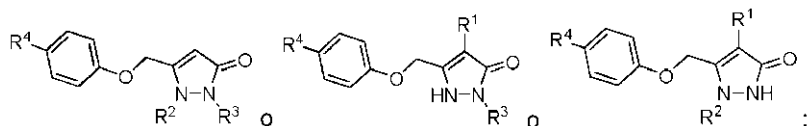


10

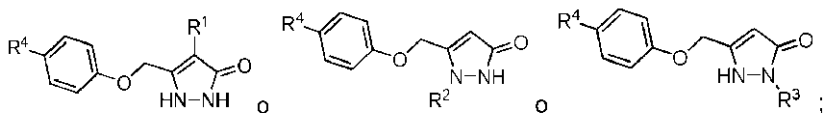
(ii) la fórmula:



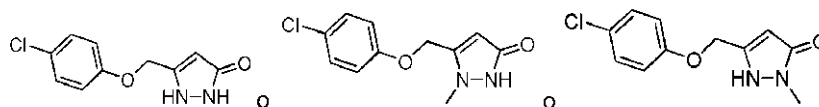
15 (iii) una cualquiera de las fórmulas:



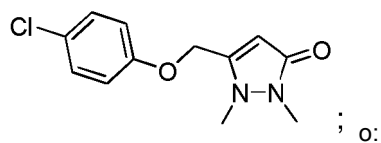
20 (iv) una cualquiera de las fórmulas:



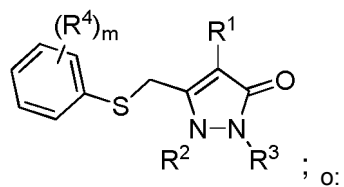
(v) una cualquiera de las fórmulas:



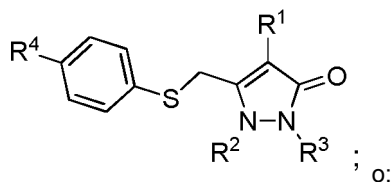
25



(vi) la fórmula:

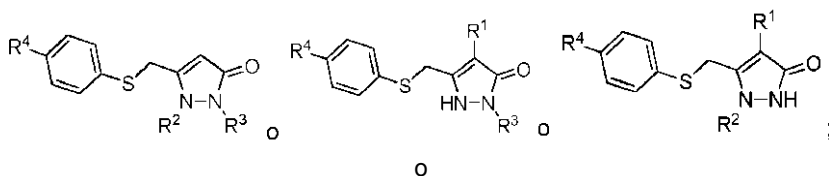


(vii) la fórmula:



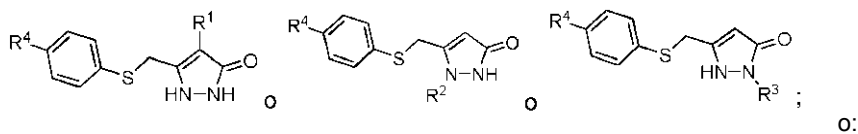
5

(viii) una cualquiera de las fórmulas:



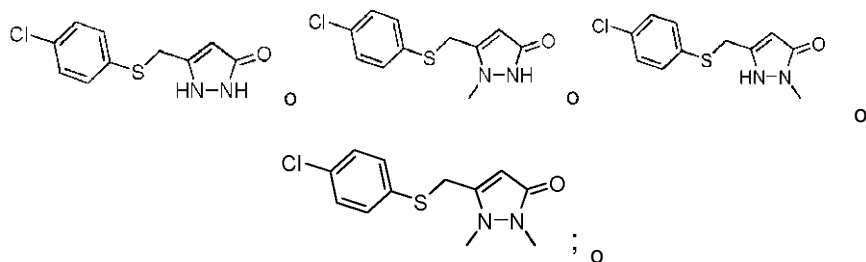
10

(ix) una cualquiera de las fórmulas:



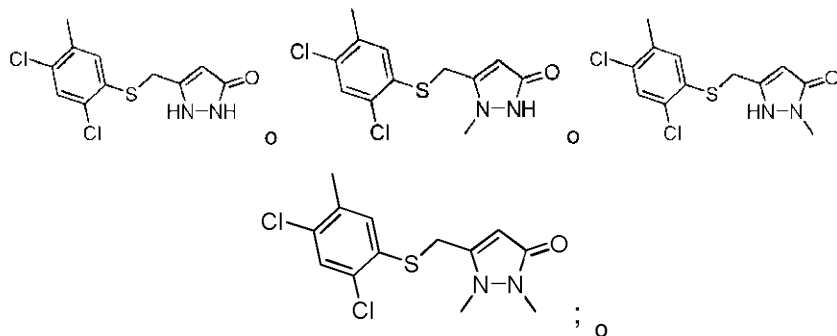
15

(x) una cualquiera de las fórmulas:



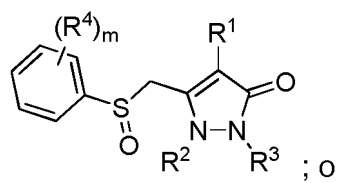
20

(xi) una cualquiera de las fórmulas:



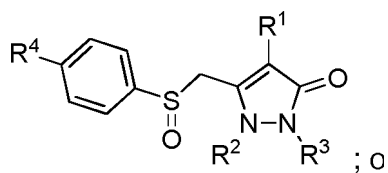
25

(xii) la fórmula:

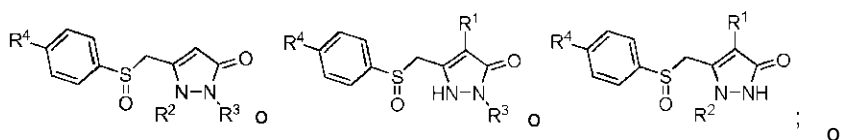


(xiii) la fórmula:

5

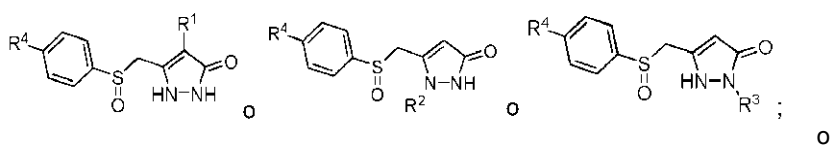


(xiv) una cualquiera de las fórmulas:



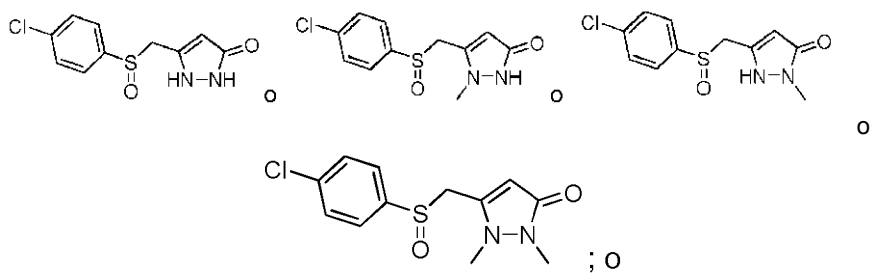
10

(xv) una cualquiera de las fórmulas:



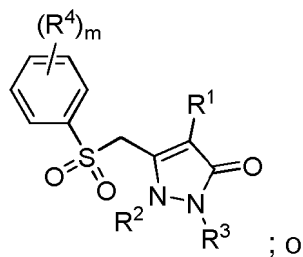
15

(xvi) una cualquiera de las fórmulas:



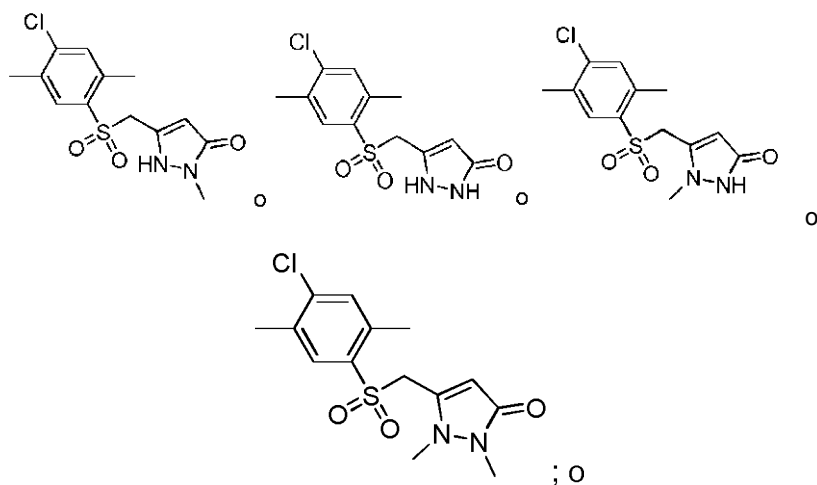
20

(xvii) la fórmula:



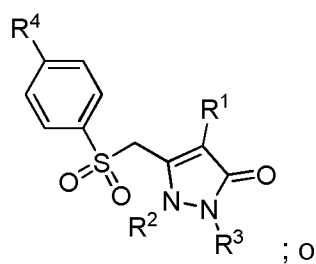
(xviii) cualquiera de las fórmulas:

25

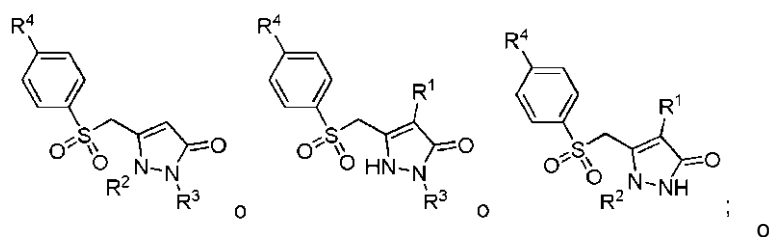


(xix) la fórmula:

5

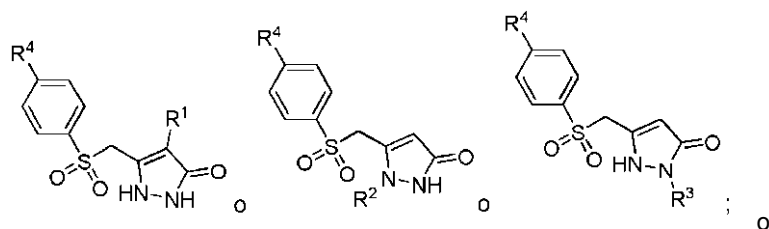


(xx) una cualquiera de las fórmulas:



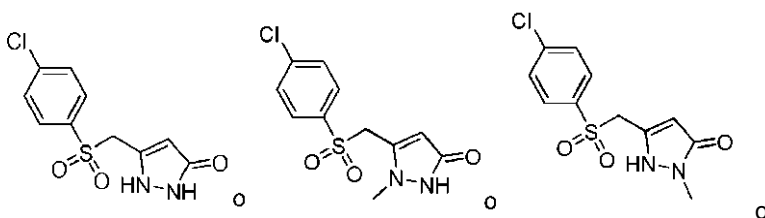
10

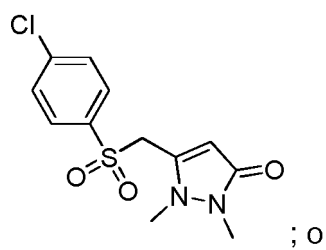
(xxi) una cualquiera de las fórmulas:



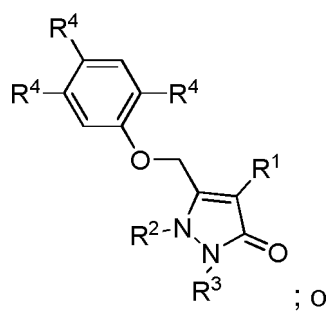
15

(xxii) una cualquiera de las fórmulas:



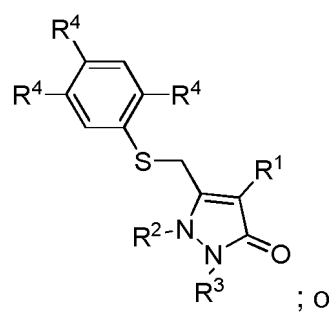


(xxiii) la fórmula:



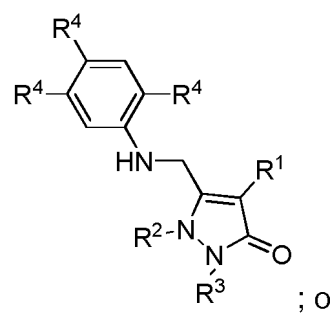
5

(xxiv) la fórmula:



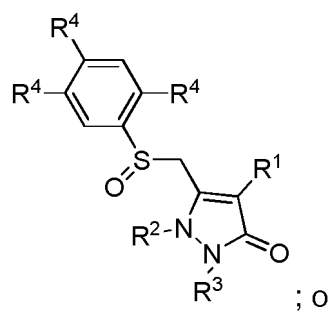
10

(xxv) la fórmula:

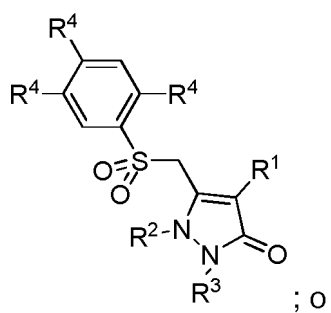


15

(xxvi) la fórmula:

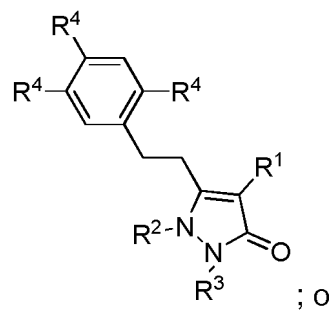


(xxvii) la fórmula:



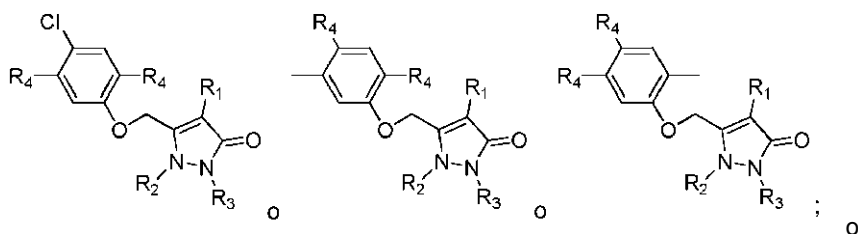
5

(xxviii) la fórmula:

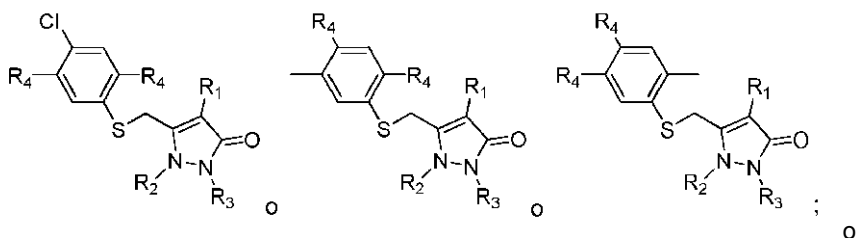


10

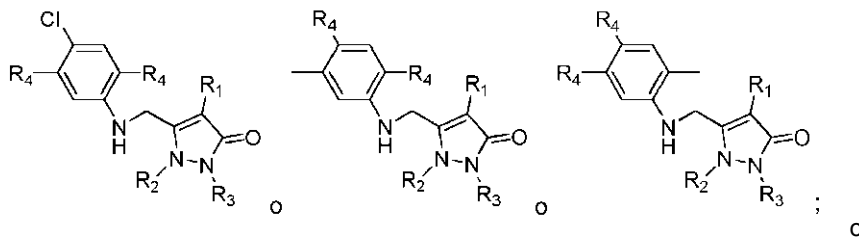
(xxix) una cualquiera de las fórmulas:



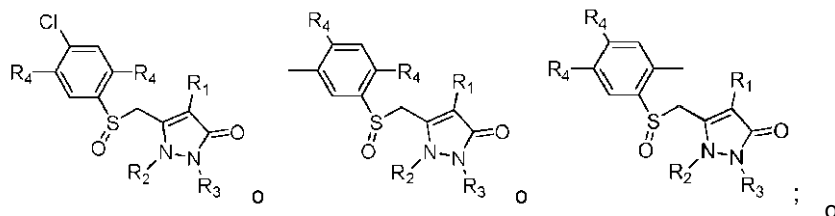
15 (xxx) una cualquiera de las fórmulas:



(xxxi) una cualquiera de las fórmulas:

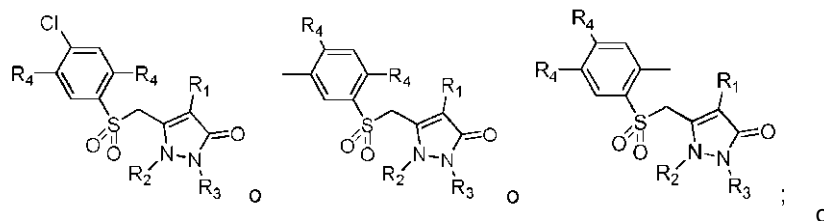


5 (xxii) una cualquiera de las fórmulas:



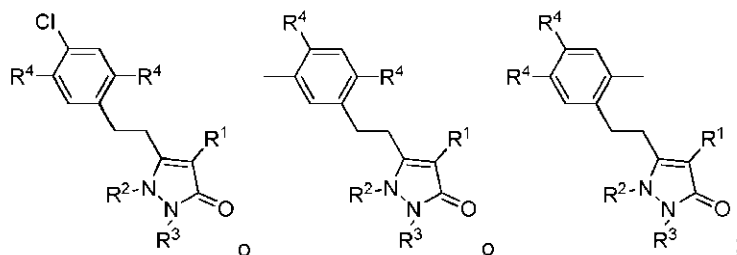
(xxxiii) una cualquiera de las fórmulas:

10



(xxxiv) una cualquiera de las fórmulas:

15



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en las que:

20

cada R^1 es independientemente -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -N(R)₂, -CN, -NO₂-NRC(O)R, -NRC(O)(CO)R, -NRC(O)N(R)₂, -NRC(O)OR, -N(R)S(O)R, -N(R)SO₂R, -N(R)SO₂OR, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, o un anillo de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre; o

25

dos grupos R^1 se toman juntos para formar $\text{X} \sim \text{C}(\text{R}^5)_{1-2}$, en donde

30

X es N o C;
cada R^5 es independientemente -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -N(R)₂, -CN, -NO₂-NRC(O)R, -NRC(O)(CO)R, -NRC(O)N(R)₂, -NRC(O)OR, -N(R)S(O)R, -N(R)SO₂R, -N(R)SO₂OR, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, o un anillo de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de

nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre, en donde R^5 está opcionalmente sustituido con 1-5 grupos R;

cada R es, de forma independiente, hidrógeno, halógeno, alifático C_{1-20} , heteroalifático C_{1-20} , fenilo, o arilalquilo, o dos R en el mismo nitrógeno se toman juntos para formar un anillo de 5-6 miembros saturado, parcialmente saturado, o de arilo que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, y azufre, o dos R en el mismo carbono o en carbonos adyacentes se toman opcionalmente juntos para formar un anillo de 3-6 miembros saturado cicloalquilo o condensado monocíclico que contiene 0-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre;

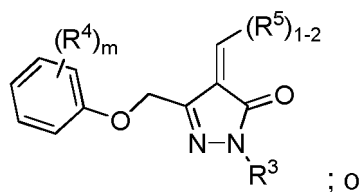
cada R^2 y R^3 es independientemente -R, -OR, -SR, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, un grupo protector amino adecuado, o un anillo de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo de 8-10 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo bicíclico que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre;

m es 0-5; y

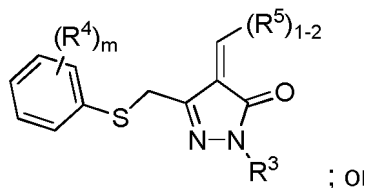
cada R^4 es independientemente -R, -OR, -SR, -CN, -S(O)R, -SO₂R, -OSO₂R, -N(R)₂, -NO₂, -NRC(O)R, -NRC(O)(CO)R, -NRC(O)N(R)₂, -NRC(O)OR, -N(R)S(O)R, -N(R)SO₂R, -N(R)SO₂OR, -C(O)R, -C(O)OR, -OC(O)R, -OC(O)OR, -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)₂, o un anillo de 3-8 miembros saturado, parcialmente insaturado, o de arilo monocíclico que contiene opcionalmente 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre.

2. El compuesto para su uso de la reivindicación 1

(i) de la fórmula:



(ii) de la fórmula:



(iii) en las que al menos uno de R^3 es hidrógeno; o

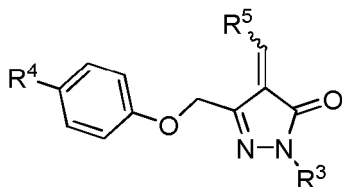
(iv) en las que al menos uno de R^3 es metilo; o

(v) en las que al menos una aparición de R^4 es independientemente halógeno; o

(vi) en la que al menos una aparición de R^4 es independientemente cloro; o

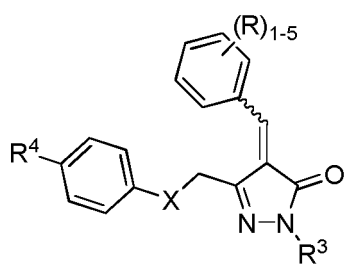
(vii) en las que m es 1 y R^4 es cloro; o

(viii) de la fórmula:



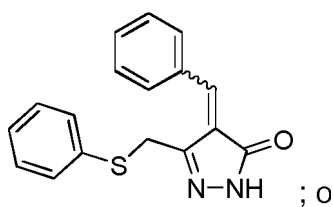
en las que R^4 es un halógeno, preferiblemente además, en las que R^4 es cloro; o:

(xi) de la fórmula:



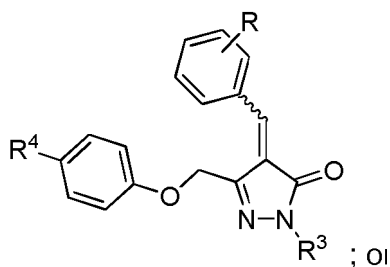
, en la que X es O, S, SO, SO₂, NH o CH₂, preferiblemente

de la fórmula:



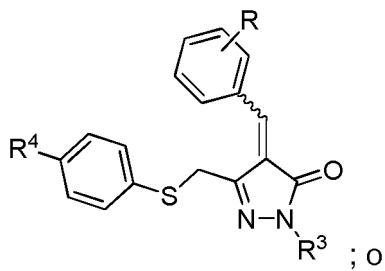
5

(x) de la fórmula:



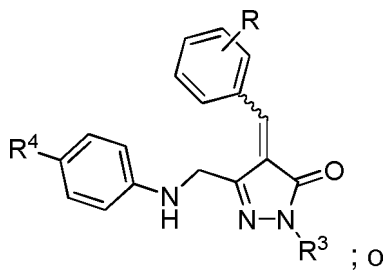
10

(xi) de la fórmula:



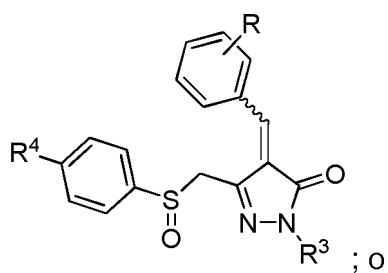
15

(xii) de la fórmula:

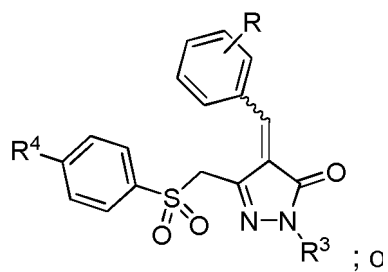


20

(xiii) de la fórmula:

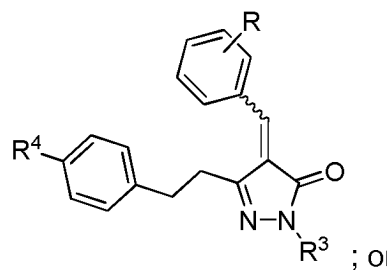


(xiv) de la fórmula:



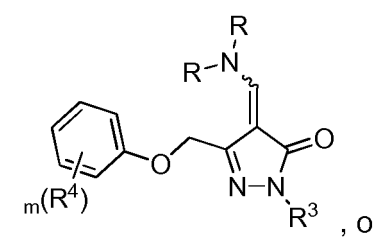
5

(xv) de la fórmula:



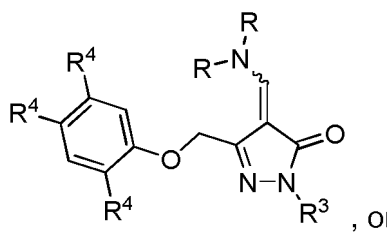
10

(xvi) de la fórmula:



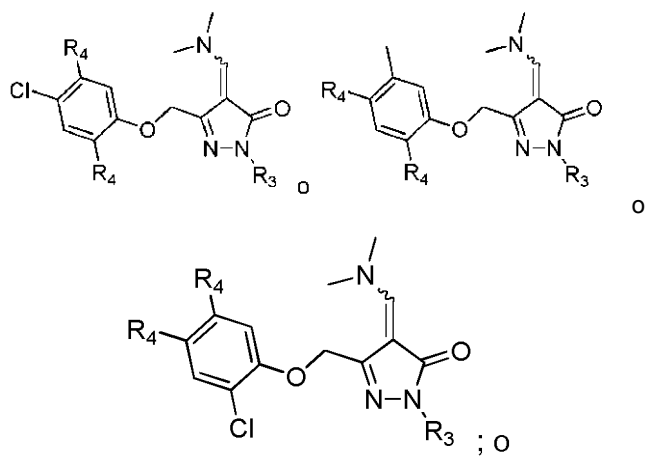
15

de la fórmula:



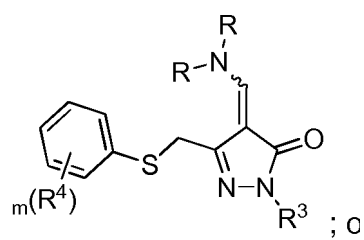
20

de una cualquiera de las fórmulas:



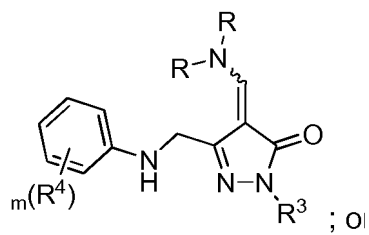
(xvii) de la fórmula:

5



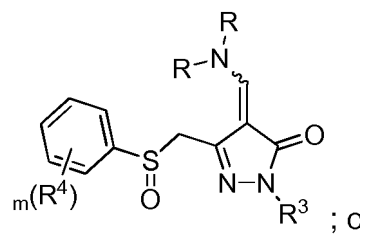
(xviii) de la fórmula:

10

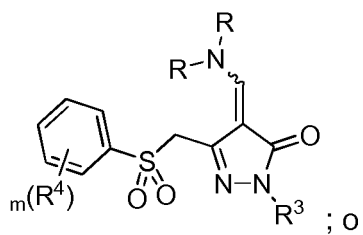


(xix) de la fórmula:

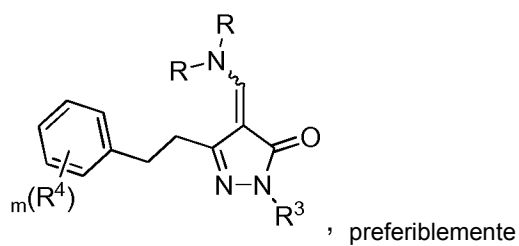
15



(xx) de la fórmula:

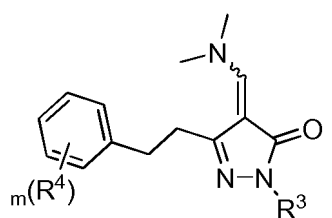


20 (xxi) de la fórmula:



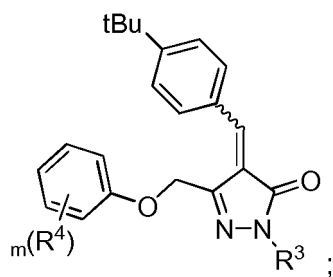
de la fórmula:

5



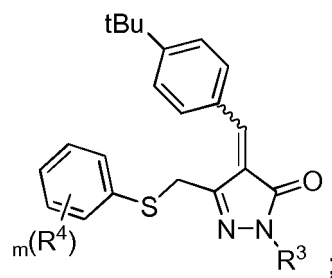
3. El compuesto para su uso de la reivindicación 1 de una fórmula seleccionada de

10 (i) la fórmula:

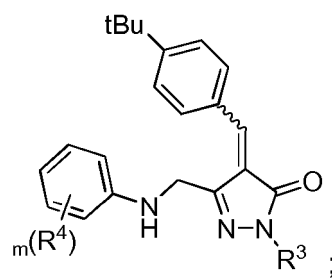


(ii) la fórmula:

15

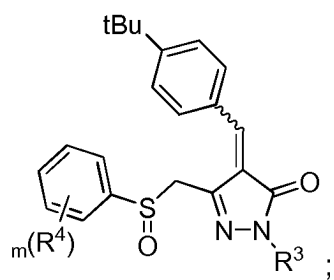


(iii) la fórmula:

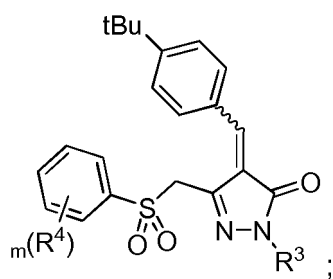


20

(iv) la fórmula:

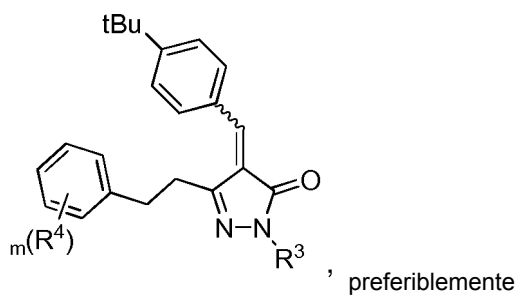


(v) la fórmula:



5

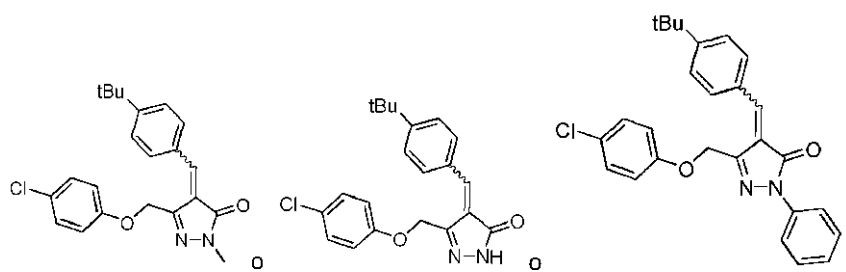
(vi) la fórmula:



10

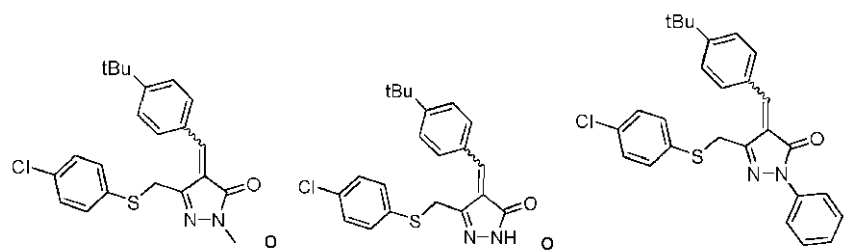
en las que m es 1 y R⁴ es halógeno, preferiblemente además, en las que m es 1 y R⁴ es cloro;

(vii) una cualquiera de las fórmulas:



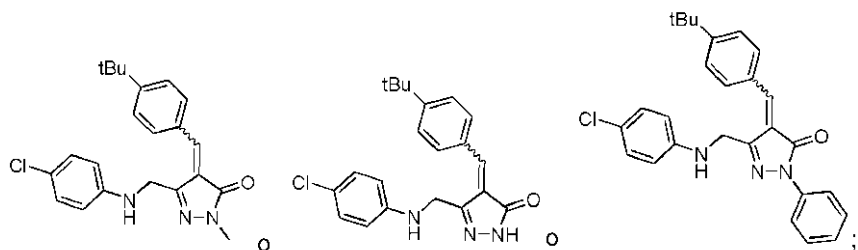
15

(viii) una cualquiera de las fórmulas:

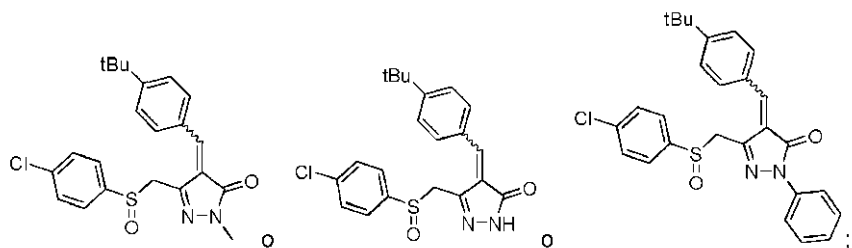


20

(ix) una cualquiera de las fórmulas:

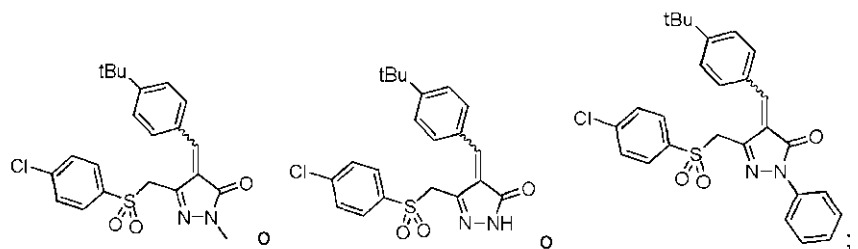


5 (x) una cualquiera de las fórmulas:

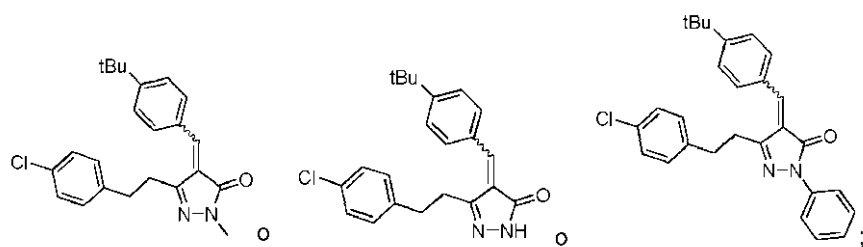


(xi) una cualquiera de las fórmulas:

10



(xii) una cualquiera de las fórmulas:

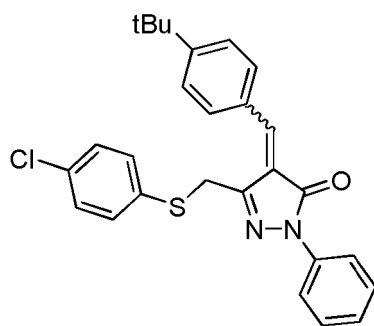


15

y

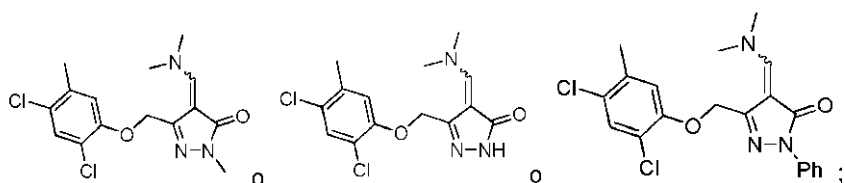
(xiii) la fórmula:

20



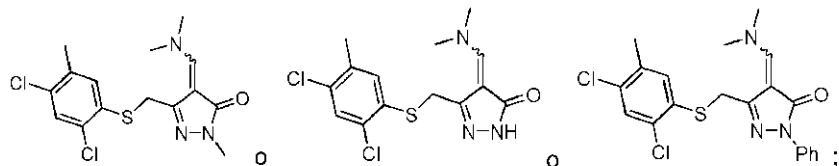
4. Un compuesto para su uso de la reivindicación 1 de una fórmula seleccionada de

5 (i) una cualquiera de las fórmulas:



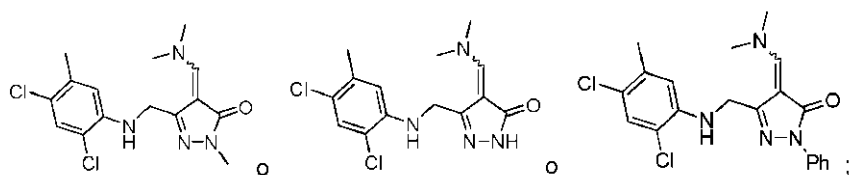
(ii) una cualquiera de las fórmulas:

10



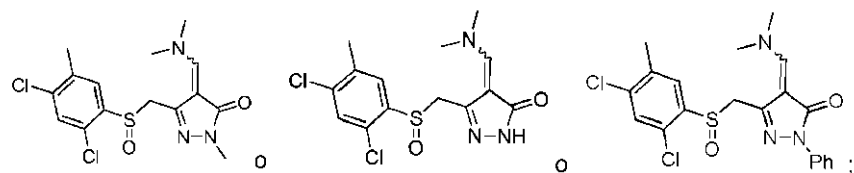
(iii) una cualquiera de las fórmulas:

15

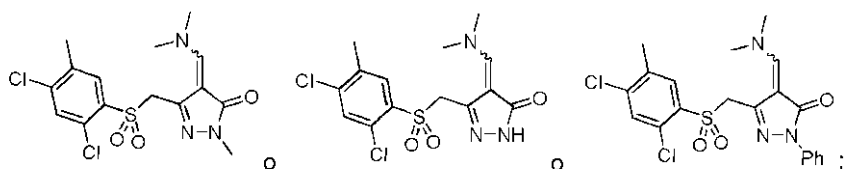


(iv) una cualquiera de las fórmulas:

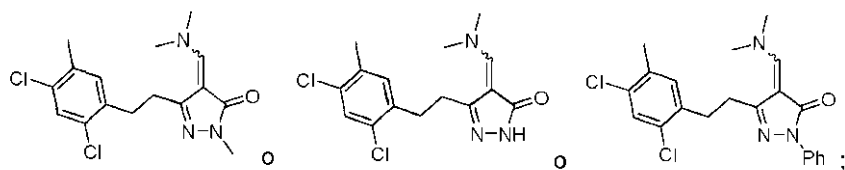
20



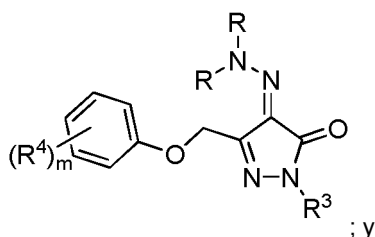
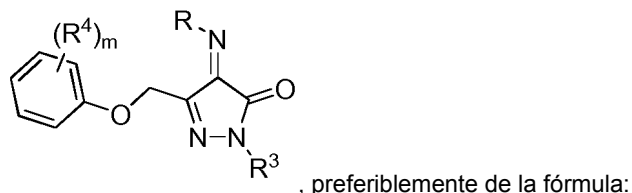
(v) una cualquiera de las fórmulas:



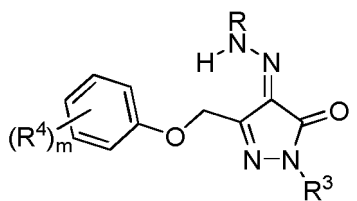
(vi) una cualquiera de las fórmulas:



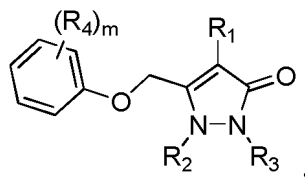
5 (vii) la fórmula:



10 (viii) la fórmula:

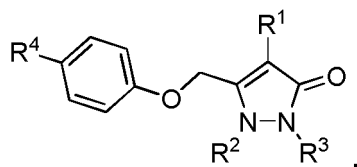


15 5. Un compuesto para su uso de la reivindicación 1 de la fórmula:



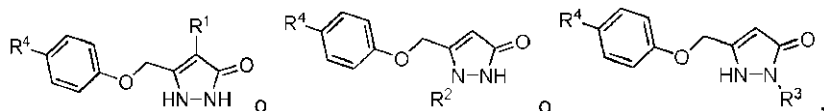
20 en la que cada aparición de R^1 , R^2 y R^3 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C_1-C_6 sustituido o sin sustituir, o
 en la que cada aparición de R^1 , R^2 y R^3 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en
 hidrógeno, metilo, etilo, propilo, y butilo, o
 en la que al menos uno de R^1 , R^2 , y R^3 es hidrógeno, o
 en la que al menos dos de R^1 , R^2 , y R^3 son hidrógeno, o
 25 en donde R^1 , R^2 , y R^3 son hidrógeno, o
 en la que al menos uno de R^1 , R^2 , y R^3 son alquilo C_1-C_6 , o
 en la que al menos uno de R^1 , R^2 , y R^3 es metilo, o
 en la que al menos dos de R^1 , R^2 , y R^3 son metilo, o
 en donde R^1 es hidrógeno y R^2 y R^3 son metilo, o
 30 en donde al menos una aparición de R^4 es independientemente halógeno, o
 en donde al menos una aparición de R^4 es independientemente cloro.

6. Un compuesto para su uso de la reivindicación 1 de la fórmula:



en la que R^4 es un halógeno, preferiblemente en la que R^4 es cloro.

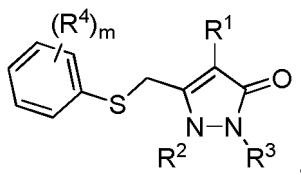
- 5 7. Un compuesto para su uso de la reivindicación 1 de una cualquiera de las fórmulas:



en las que R^4 es cloro;

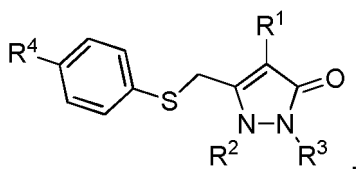
10

8. Un compuesto para su uso de la reivindicación 1 de la fórmula:



- 15 en la que cada aparición de R^1 , R^2 y R^3 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C_{1-6} sustituido o sin sustituir, o
 en la que cada aparición de R^1 , R^2 y R^3 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en
 hidrógeno, metilo, o fenilo, o
 en la que al menos uno de R^1 , R^2 , y R^3 es hidrógeno, o
 20 en la que al menos dos de R^1 , R^2 , y R^3 son hidrógeno, o
 en donde R^1 , R^2 , y R^3 son hidrógeno, o
 en la que al menos uno de R^1 , R^2 , y R^3 es metilo, o
 en la que al menos dos de R^1 , R^2 , y R^3 son metilo, o
 en donde R^1 es hidrógeno y R^2 y R^3 son metilo, o
 25 en donde R^3 es fenilo, o
 en donde al menos una aparición de R^4 es independientemente halógeno, o
 en donde al menos una aparición de R^4 es independientemente cloro, o
 en donde m es 1 y R^4 es cloro.

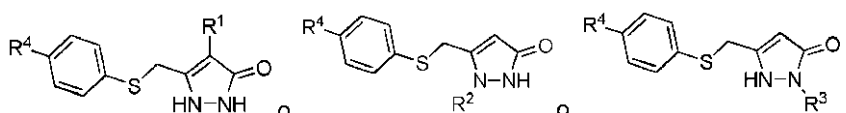
- 30 9. Un compuesto para su uso de la reivindicación 1 de la fórmula:



en la que R^4 es un halógeno, preferiblemente además en donde R^4 es cloro.

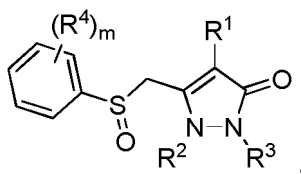
35

10. Un compuesto para su uso de la reivindicación 1 de una de las fórmulas:



en las que R^4 es cloro.

11. Un compuesto para su uso de la reivindicación 1 de la fórmula:



5

en la que cada aparición de R^1 , R^2 y R^3 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C_1C_6 sustituido o sin sustituir, o

en la que al menos uno de R^1 , R^2 , y R^3 es hidrógeno, o

10 en la que al menos dos de R^1 , R^2 , y R^3 son hidrógeno, o

en donde R^1 , R^2 , y R^3 son hidrógeno, o

en la que al menos uno de R^1 , R^2 , y R^3 es metilo, o

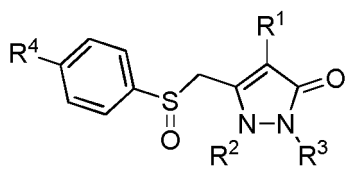
en la que al menos dos de R^1 , R^2 , y R^3 son metilo, o

en donde R^1 es hidrógeno y R^2 y R^3 son metilo, o

15 en donde al menos una aparición de R^4 es independientemente halógeno, o

en donde al menos una aparición de R^4 es independientemente cloro.

12. Un compuesto para su uso de la reivindicación 1 de la fórmula:

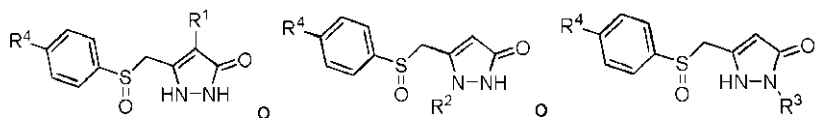


20

en la que R^4 es un halógeno, preferiblemente en la que R^4 es cloro.

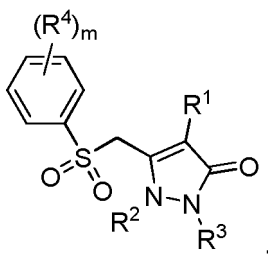
13. Un compuesto para su uso de la reivindicación 1 de una cualquiera de las fórmulas:

25



en las que R^4 es cloro.

30 14. Un compuesto para su uso de la reivindicación 1 de la fórmula:



35

en la que cada aparición de R^1 , R^2 y R^3 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C_1C_6 sustituido o sin sustituir, o

en la que al menos uno de R^1 , R^2 , y R^3 es hidrógeno, o

en la que al menos dos de R^1 , R^2 , y R^3 son hidrógeno, o

en donde R^1 , R^2 , y R^3 son hidrógeno, o

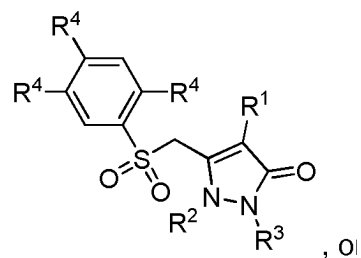
en la que al menos uno de R^1 , R^2 , y R^3 es metilo, o

40 en la que al menos dos de R^1 , R^2 , y R^3 son metilo, o

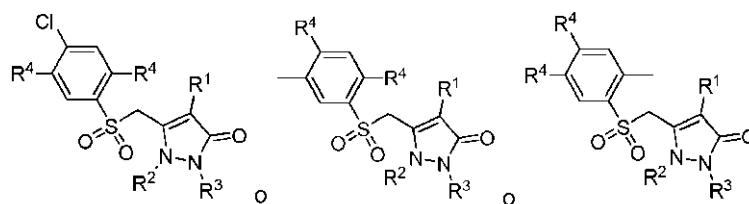
en donde R^1 es hidrógeno y R^2 y R^3 son metilo, o

en donde al menos una aparición de R^4 es independientemente halógeno, o
 en donde al menos una aparición de R^4 es independientemente metilo, o
 en donde al menos una aparición de R^4 es independientemente cloro; o
 en donde el compuesto es de la fórmula:

5

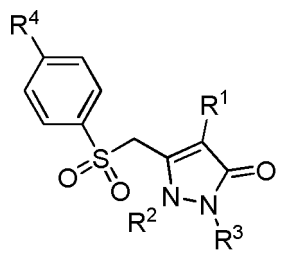


cualquiera de las fórmulas:



10

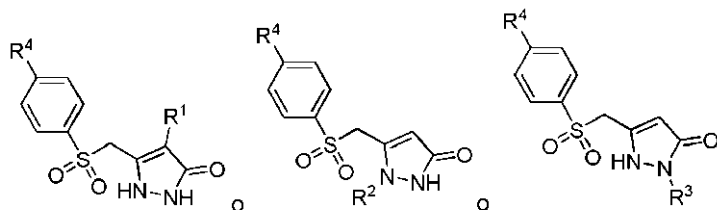
15. Un compuesto para su uso de la reivindicación 1 de la fórmula:



15

en la que R^4 es un halógeno, preferiblemente en la que R^4 es cloro.

16. Un compuesto para su uso de la reivindicación 1 de una cualquiera de las fórmulas:



20

en las que R^4 es cloro.

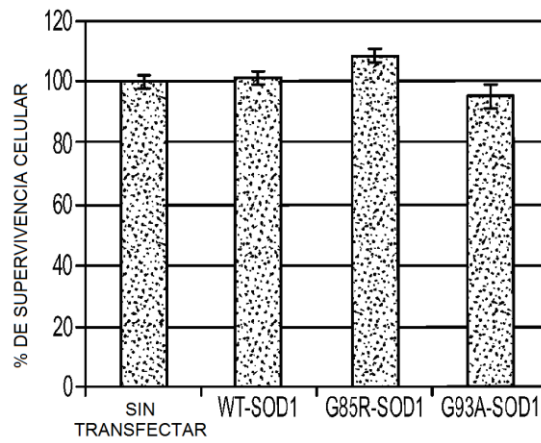


FIG. 1A

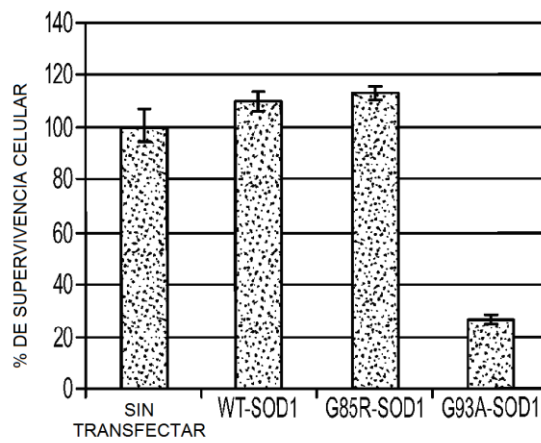


FIG. 1B

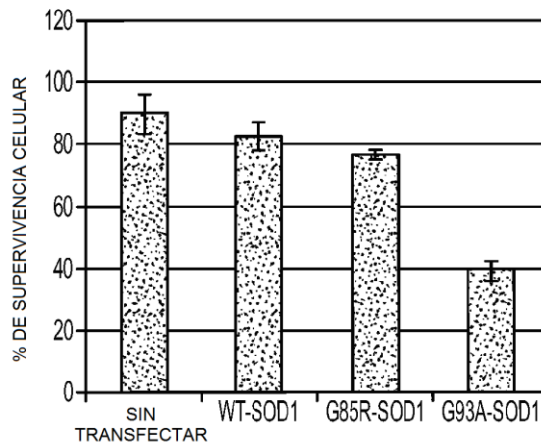


FIG. 1C

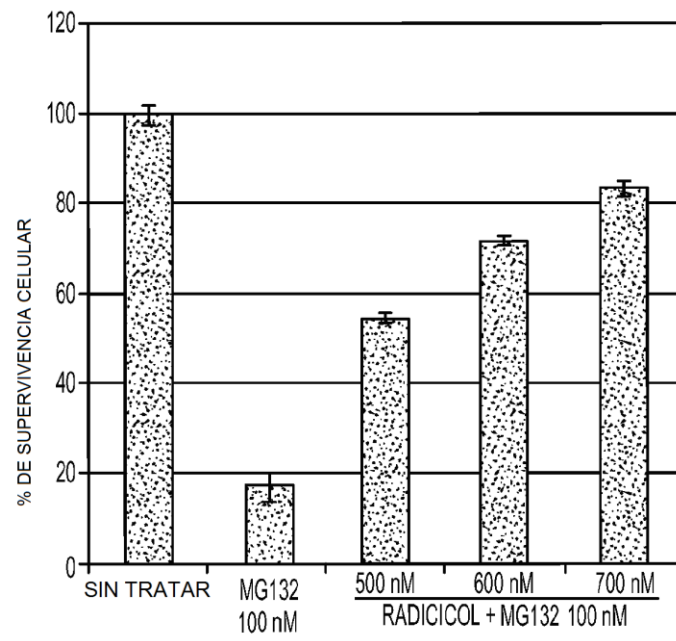
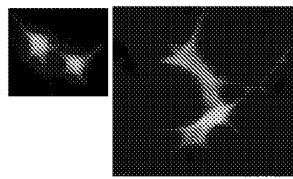
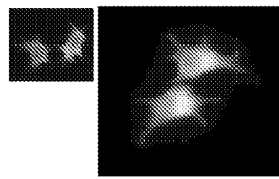


FIG. 2



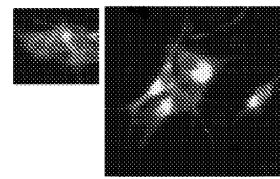
WT-SOD1 + MG132

FIG. 3A



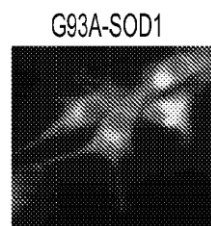
G93A-SOD1 + MG132

FIG. 3B



G85R-SOD1 + MG132

FIG. 3C



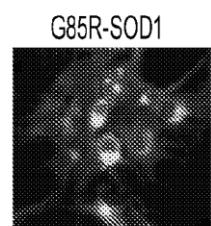
MG132 200 nM

FIG. 4A



MG132 200 nM +
RADICOL 1μM

FIG. 4B



MG132 200 nM

FIG. 4C



MG132 200 nM +
RADICOL 1μM

FIG. 4D

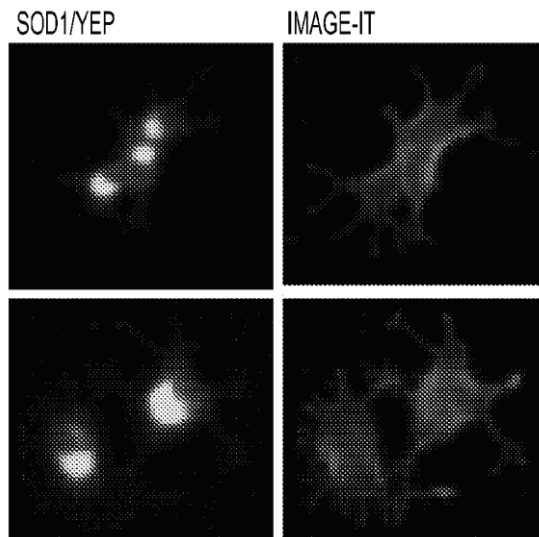


FIG. 5A

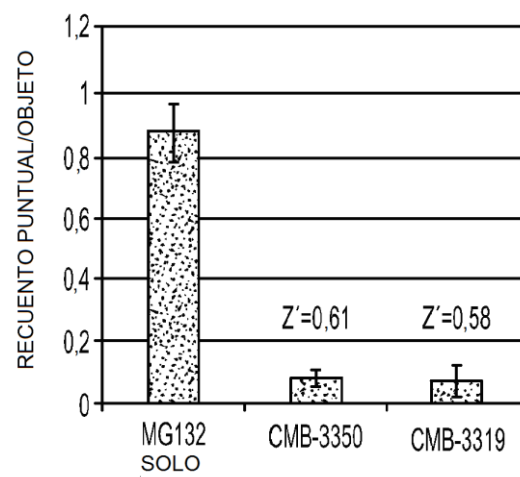


FIG. 5B

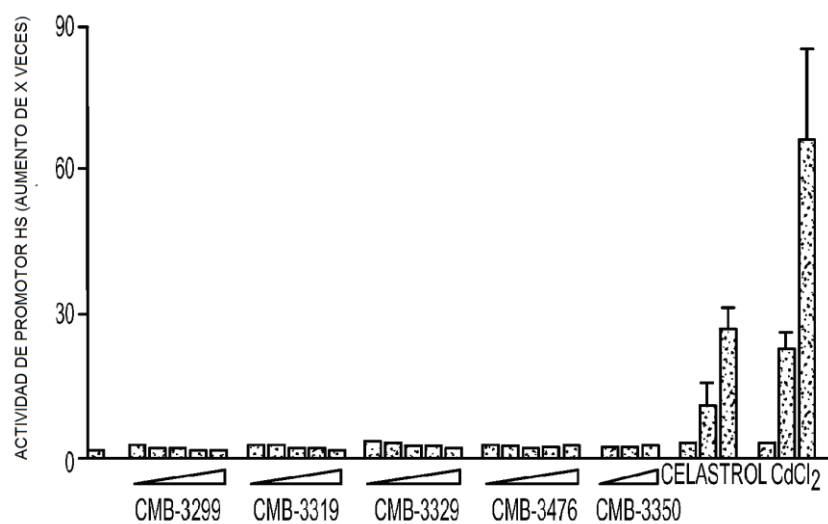


FIG. 6

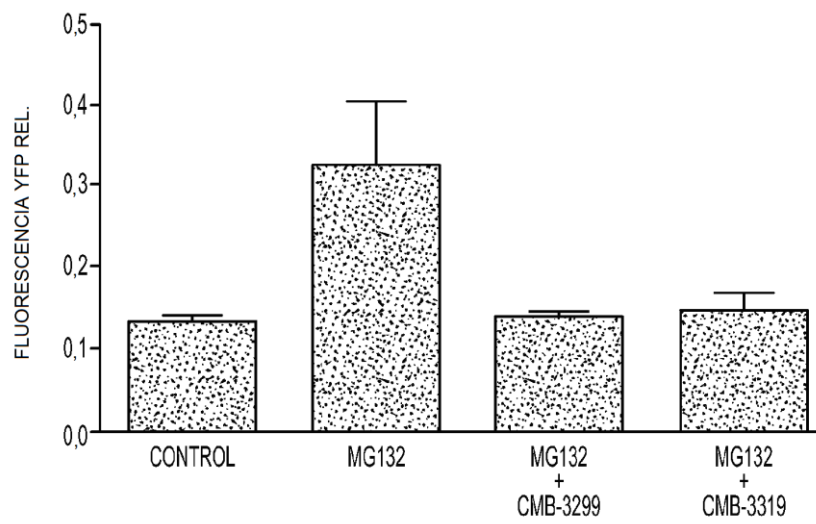


FIG. 7

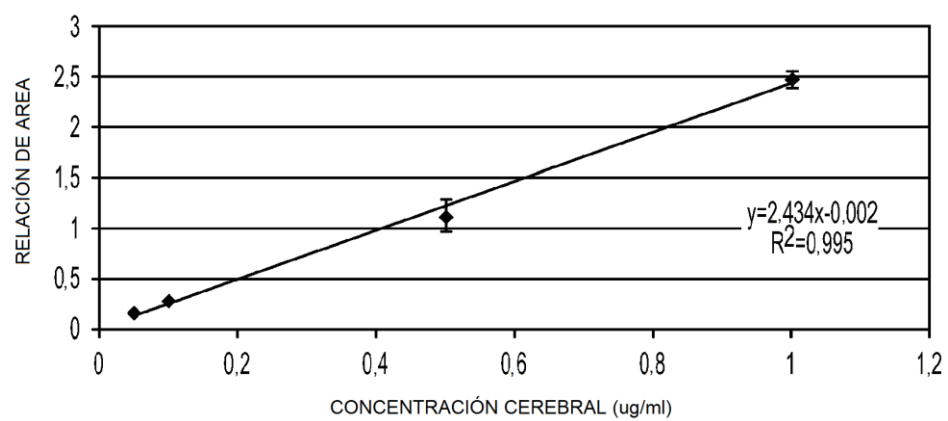


FIG. 8

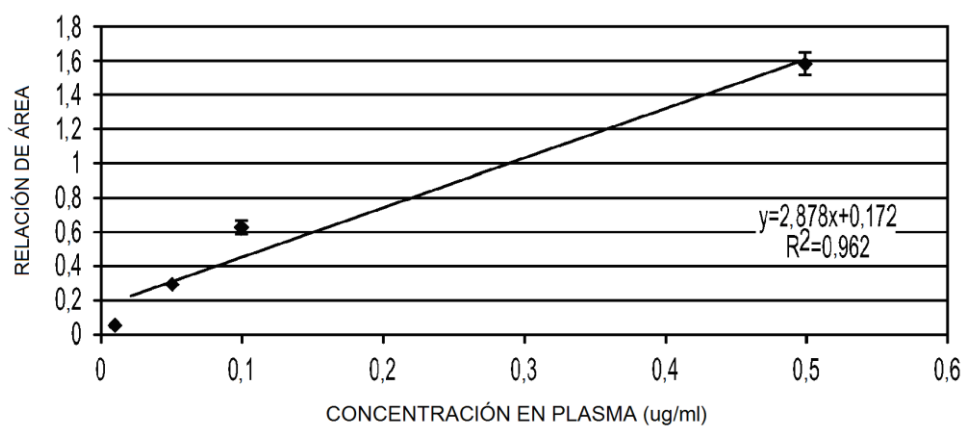


FIG. 9

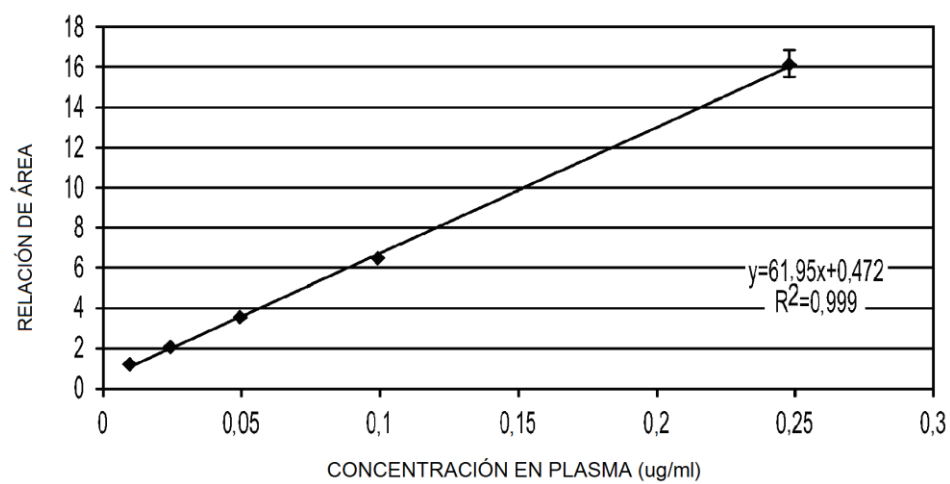


FIG. 10

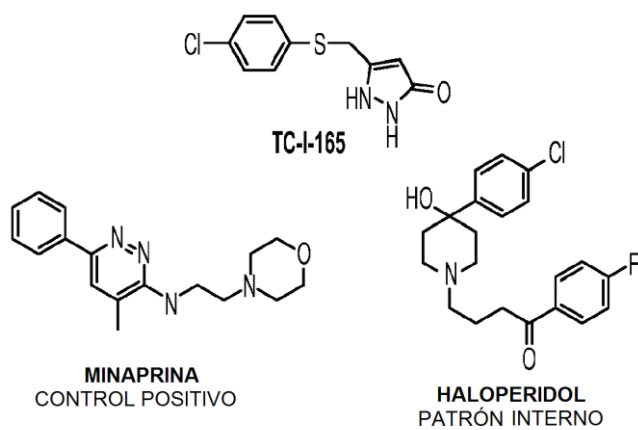


FIG. 11

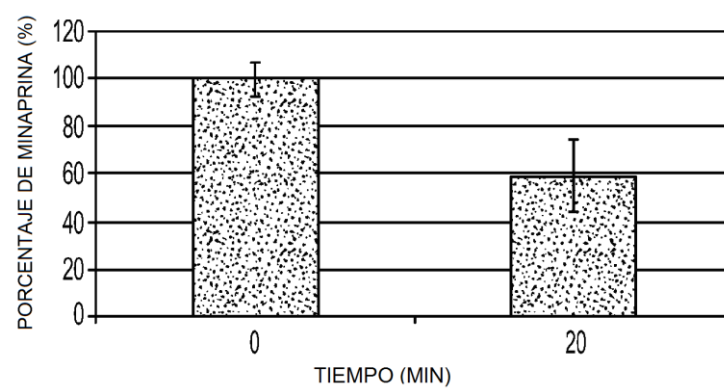


FIG. 12

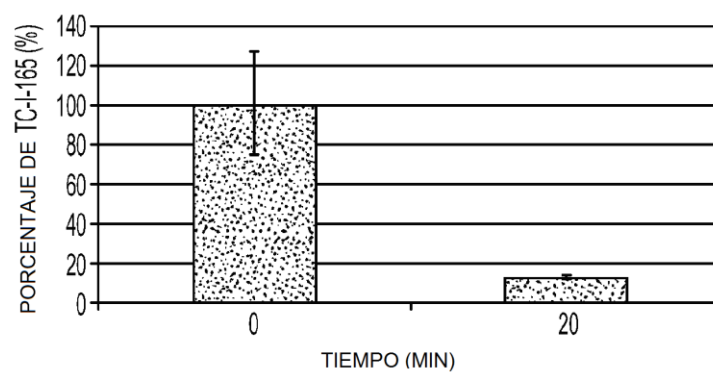


FIG. 13

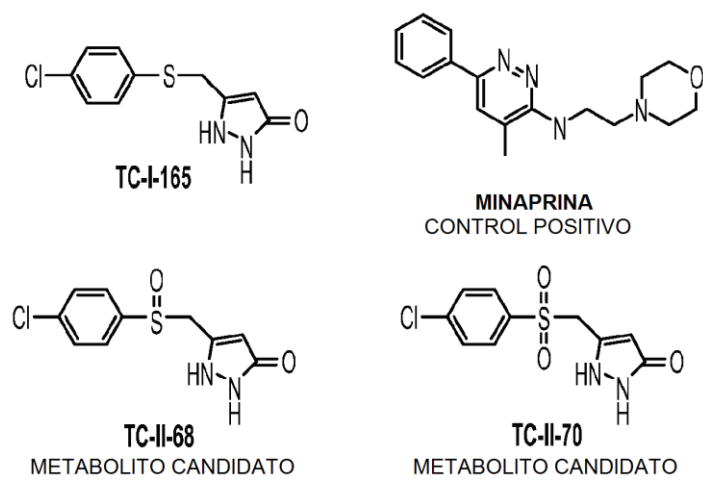


FIG. 14

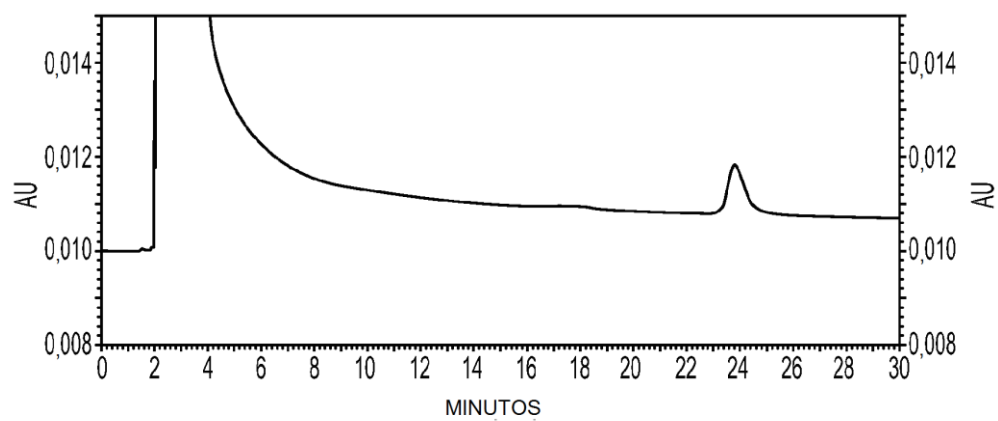


FIG. 15

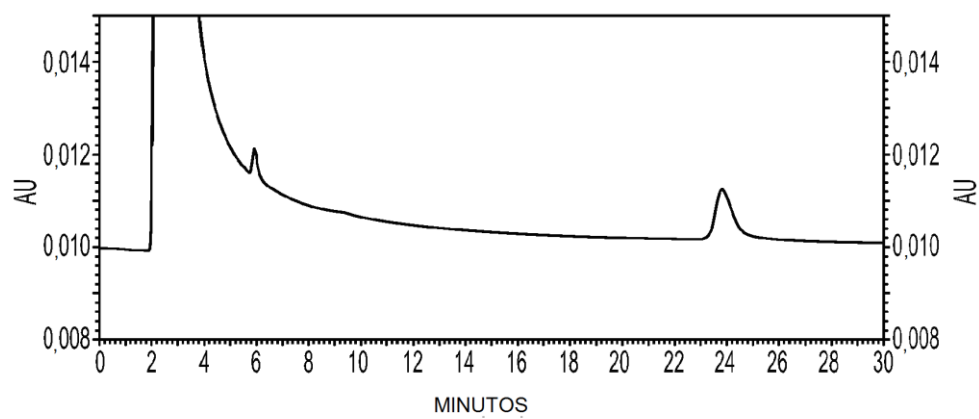


FIG. 16

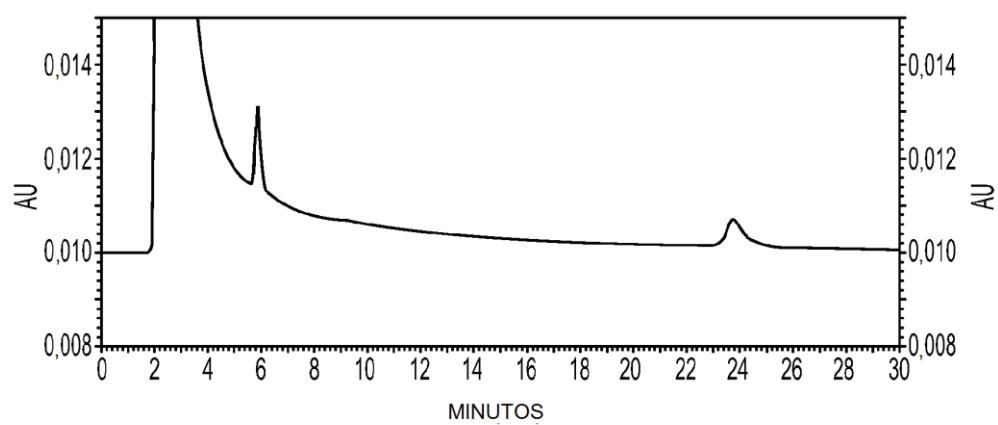


FIG. 17

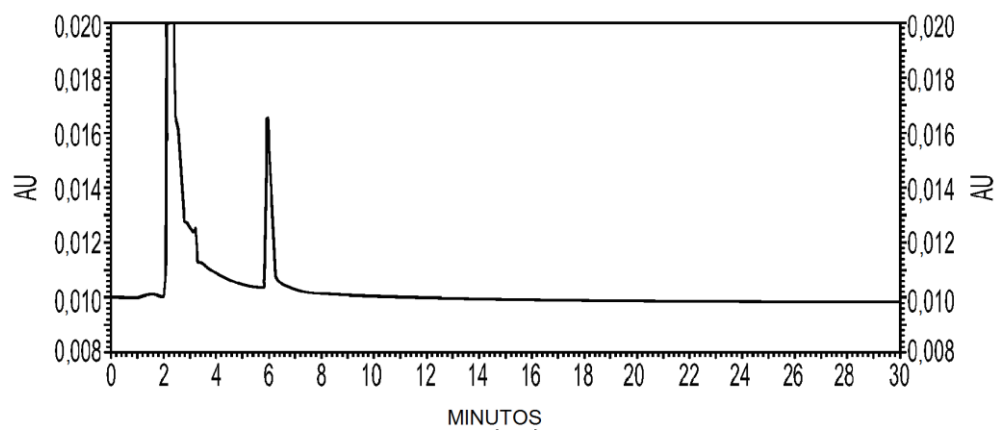


FIG. 18

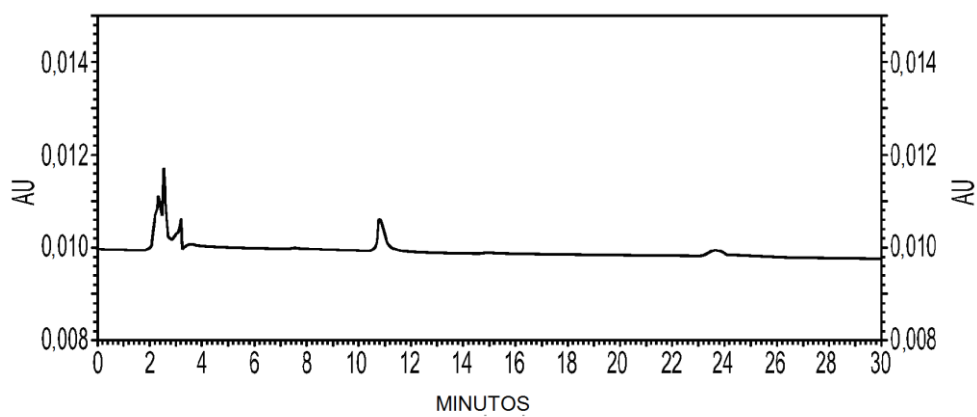


FIG. 19

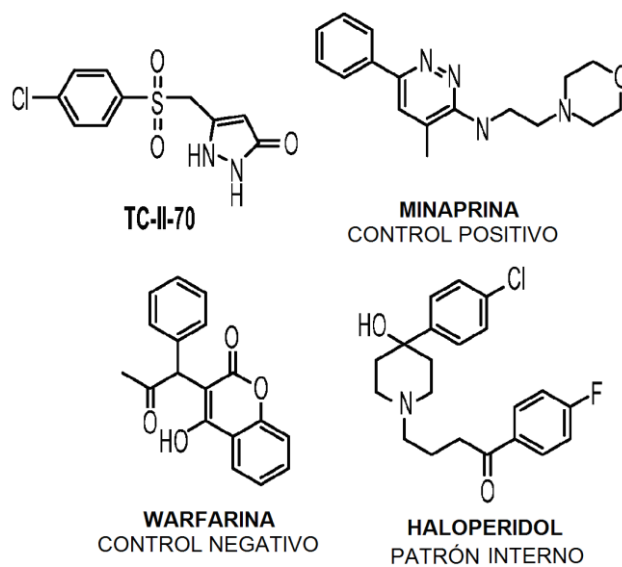


FIG. 20

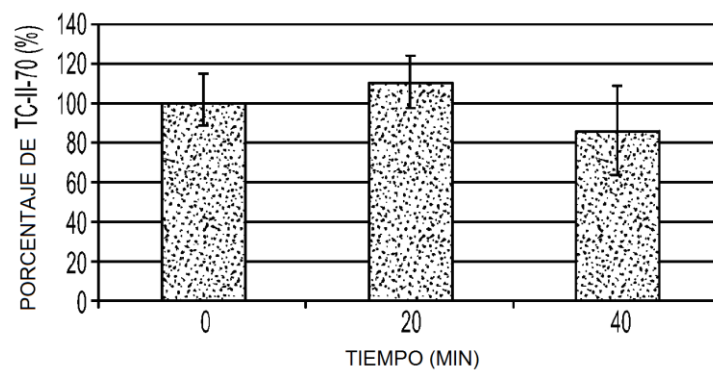


FIG. 21

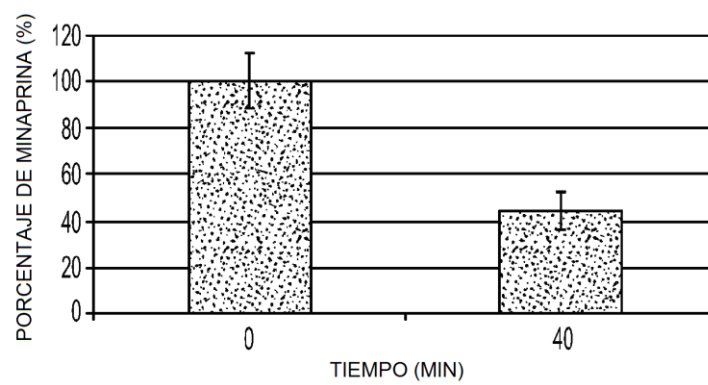


FIG. 22

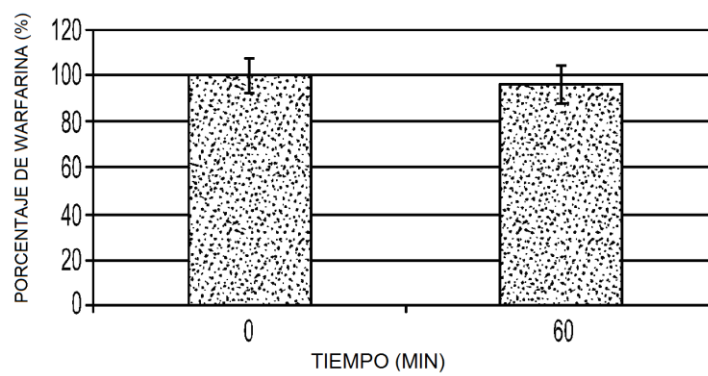


FIG. 23

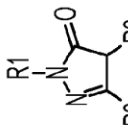
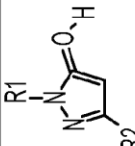
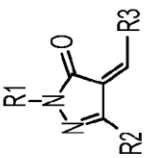
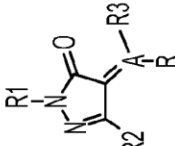
SERIE ¹	ESTRUCTURA DE MARKUSH	N.º DE COMPUESTOS ENSAYADOS	RANGO DE PM	SUSTITUCIONES DE POSICIÓN	N.º ACTIVOS/ INACTIVOS ²	N.º TÓXICOS EN SERIES ³	EFFECTO SOBRE LA AGREGACIÓN ⁴
ASP		20	174 280	R1 = AROMÁTICO O HETEROCICLO, ALQUILO O H R2 = AROMÁTICO O HETEROCICLO, AMINA O H R3 = H	16 / 4	0	FUERTE (9) MODERADO (1) INACTIVO (10)
		15	208 407	R1 = AROMÁTICO O HETEROCICLO, ALQUILO O H R2 = AROMÁTICO O HETEROCICLO, SULFANILO R3 = H	12 / 3	0	FUERTE (6) MODERADO (3) DÉBIL (1) INACTIVO (6)
ASP		6	160 260	R1 = AROMÁTICO O HETEROCICLO, ALQUILO O H R2 = AROMÁTICO O HETEROCICLO, SULFANILO R3 = H	6 / 0	0	FUERTE (3) INACTIVO (3)
ASP		6	266 364	R1 = H R2 = AROMÁTICO O HETEROCICLO SULFANILO R3 = DIMETILAMINA	4 / 2	1	FUERTE (3) INACTIVO (1)
ASP		49	400 700	R1 = AROMÁTICO O HETEROCICLO, ALQUILO O H R2 = AROMÁTICO O HETEROCICLO, SULFANILO R3 = HIDRAZINA, AMINA, AROMÁTICO, HETEROCICLO	11 / 38	1	FUERTE (8) INACTIVO (15)
		12	400 500	R1 = AROMÁTICO O HETEROCICLO, ALQUILO O H R2 = AROMÁTICO O HETEROCICLO, SULFANILO R3 = HIDRAZINA	0 / 12	1	NT

FIG. 24

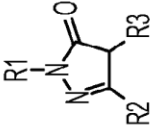
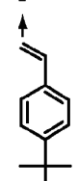
SERIE ¹	ESTRUCTURA DE MARKUSH	COMPUESTO ID	R1	R2	R3	PROTECCIÓN ²	TOXICIDAD ³	EFICACIA PROTECTORA ⁴	AGREGACIÓN ⁵
ASP		CMB-003319	H		H	ED50 ± SD (µM) 0.374 ± 0.005 (n=4)	IC50 (µM) >100 (n=2)	% DE VIABILIDAD MAX. A CONC. (µM) 108 @ 64	EFFECTO FUERTE
		CMB-003350	H			0.6 ± 0.1 (n=4)	>100 (n=2)	130 @ 14	MODERADO
		CMB-050231				1.3 ± 0.1 (n=2)	>100 (n=2)	98 @ 20	FUERTE

FIG. 25

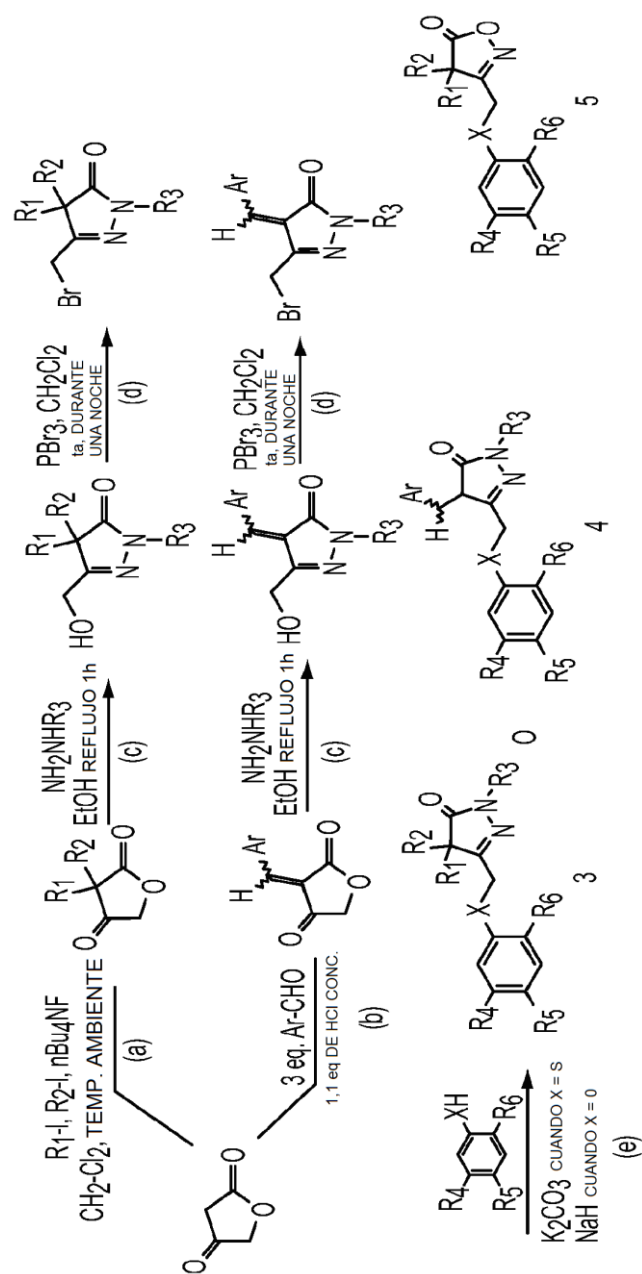


FIG. 26

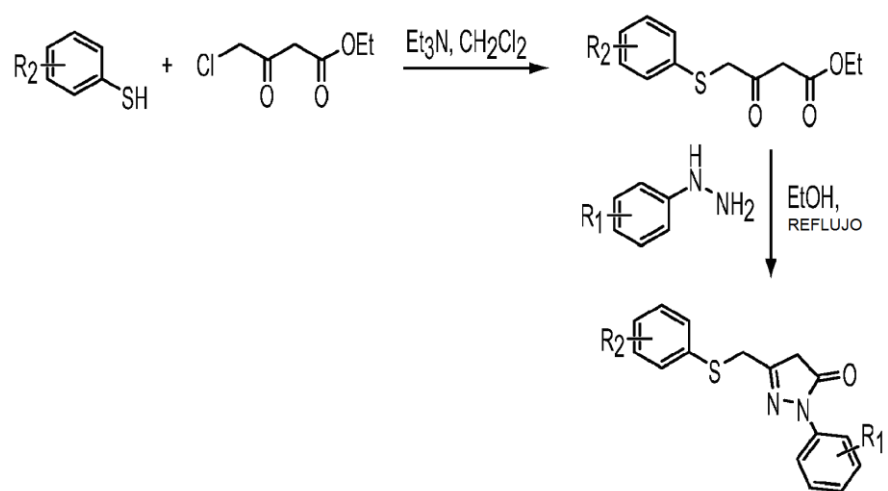


FIG. 27

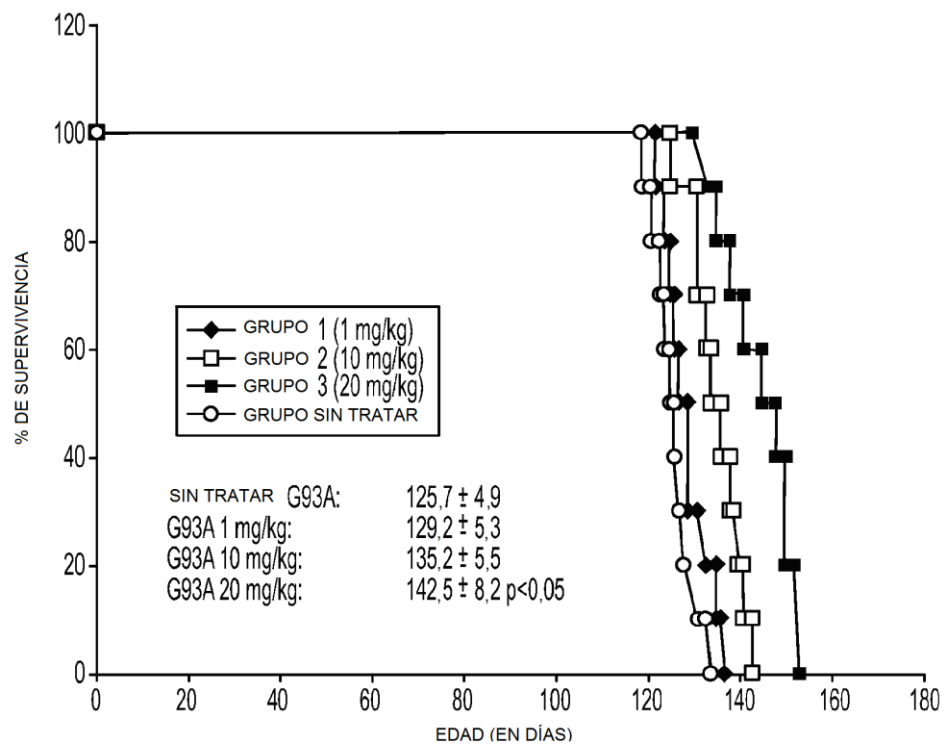


FIG. 28