

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 681 027**

51 Int. Cl.:

**C07D 277/46** (2006.01)

**A61K 31/426** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.02.2013 PCT/US2013/024490**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.08.2013 WO13116765**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.02.2013 E 13743552 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.07.2018 EP 2809662**

54 Título: **Inhibidores de la ribonucleótida reductasa y métodos de uso**

30 Prioridad:

**01.02.2012 US 201213364263**

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

**11.09.2018**

73 Titular/es:

**CITY OF HOPE (100.0%)  
1500 East Duarte Road  
Duarte, CA 91010-3000, US**

72 Inventor/es:

**HORNE, DAVID y  
LINCOLN, CHRISTOPHER**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

Observaciones :

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

ES 2 681 027 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Inhibidores de la ribonucleótida reductasa y métodos de uso

Interés del gobierno

5 Esta invención se realizó con ayuda del gobierno bajo el número de concesión CA127541 otorgado por los Institutos Nacionales de Salud. El gobierno tiene ciertos derechos en esta invención.

Antecedentes

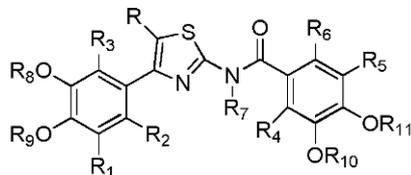
10 La ribonucleótido difosfato reductasa (RR) es una enzima altamente regulada en la ruta de síntesis de desoxirribonucleótidos que está omnipresente en humanos, bacterias, levaduras y otros organismos (Jordan, 1998). RR es responsable de la conversión *de novo* de ribonucleótido difosfato en 2'-desoxirribonucleótido difosfato, un proceso que es esencial para la síntesis y reparación del ADN (Thelander, 1986; Jordan, 1998; Liu 2006). RR está directamente involucrado en el crecimiento tumoral, la metástasis y la resistencia a los medicamentos (Yen 1994; Zhou 1995, Nocentini 1996, Fan 1998, Zhou 1998).

15 La proliferación de células cancerosas metastásicas requiere un exceso de dNTP para la síntesis de ADN. Por lo tanto, es necesario un aumento en la actividad de RR, ya que ayuda a proporcionar dNTP adicionales para la replicación del ADN en células cancerosas primarias y metastásicas. Debido a este papel crítico en la síntesis de ADN, RR representa un objetivo importante para la terapia contra el cáncer. Sin embargo, ha habido poco progreso en el desarrollo de inhibidores de RR para su uso en el tratamiento del cáncer. Los tres inhibidores de RR actualmente en uso clínico (hidroxiurea, 3-aminopiridina-2-carboxaldehído tiosemicarbazona (3-AP) y GTI2040) tienen cada uno inconvenientes significativos. Por lo tanto, existe una necesidad en la técnica de composiciones y métodos más eficaces para dirigir y tratar cánceres basados en RR.

20 El documento US 2009/258915 A1 se refiere a compuestos que inhiben la ribonucleótido reductasa (RR) uniéndose a RRM2 e interfiriendo con la actividad de la haloenzima RRM1/RRM2.

Resumen

En un primer aspecto de la invención, se proporciona un compuesto que tiene la fórmula:



Estructura VIA,

25

o una sal de la misma,

en la que,

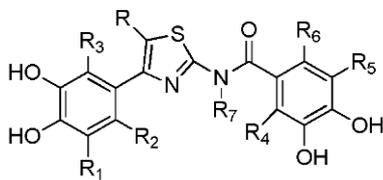
R es arilo sustituido o no sustituido,

30 R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> son independientemente hidrógeno, arilo sustituido o no sustituido, o un alquilo sustituido o no sustituido; y

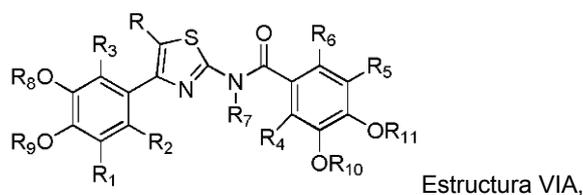
R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub> y R<sub>11</sub> son independientemente alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> no sustituido.

35 En un segundo aspecto de la invención, se proporciona una composición que comprende el compuesto de una de las reivindicaciones 1 a 4, o una sal del mismo, y un disolvente orgánico, por ejemplo, un disolvente no polar o un disolvente aprótico polar; preferiblemente, en el que el disolvente orgánico es tolueno, dimetilformamida o diclorometano.

En un tercer aspecto de la invención, se proporciona un método para sintetizar un compuesto que tiene la estructura:



comprendiendo dicho método poner en contacto un agente de desprotección de hidroxilo con un compuesto que tiene la fórmula:



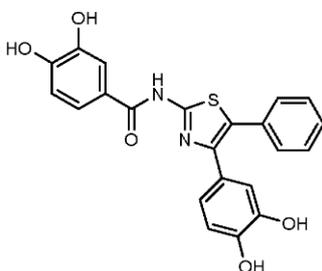
en la que,

R es arilo sustituido o no sustituido,

5 R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> son independientemente hidrógeno, arilo sustituido o no sustituido, o un alquilo sustituido o no sustituido; y

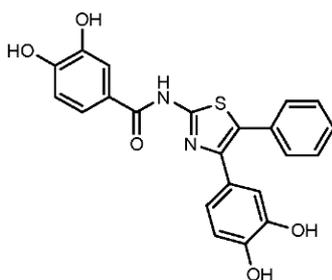
R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub> y R<sub>11</sub> son independientemente alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> no sustituido.

En un cuarto aspecto de la invención, se proporciona un método para sintetizar un compuesto que tiene la estructura:



que comprende las etapas:

- 10 (a) convertir veratrol en 1-(3,4-dimetoxifenil)-2-feniletanona;
- (b) convertir 1-(3,4-dimetoxifenil)-2-feniletanona en 4-(3,4-dimetoxifenil)-5-feniltiazol-2-amina;
- (c) convertir 4-(3,4-dimetoxifenil)-5-feniltiazol-2-amina en N-(4-(3,4-dimetoxifenil)-5-feniltiazol-2-il)-3,4-dimetoxibenzamida; y
- (d) convertir N-(4-(3,4-dimetoxifenil)-5-feniltiazol-2-il)-3,4-dimetoxibenzamida en



15

Se describe en la presente memoria, un nuevo conjunto de compuestos que incluyen COH4, COH20 y COH29, así como diversos derivados químicos de los mismos. También se proporcionan composiciones y formulaciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos.

20

Se describen en la presente memoria métodos para inhibir la actividad de RR en una célula poniendo en contacto la célula con uno o más de los compuestos proporcionados en este documento, que incluyen COH4, COH20 y/o COH29.

Se describen en la presente memoria métodos para inhibir el crecimiento o la proliferación de una célula que expresa RRM2 poniendo en contacto la célula con una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de los compuestos proporcionados en este documento, que incluyen COH4, COH20 y/o COH29.

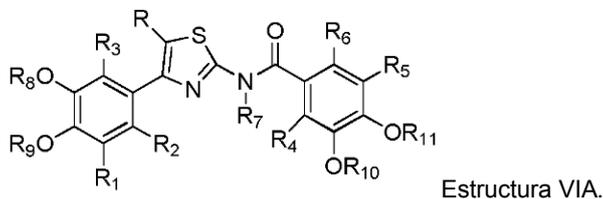
25

Se describen en la presente memoria métodos para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesita administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de los compuestos proporcionados en este documento, que incluyen COH4, COH20 y/o COH29. El cáncer se puede caracterizar por la sobreexpresión de RRM2 y el cáncer puede ser resistente al tratamiento con hidroxiurea.

Se describen en la presente memoria métodos para inhibir la proliferación de una célula madre que expresa RRM2

poniendo en contacto la célula madre con una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de los compuestos proporcionados en este documento, que incluyen COH4, COH20 y/o COH29.

Se describe en la presente memoria un compuesto que tiene la fórmula:

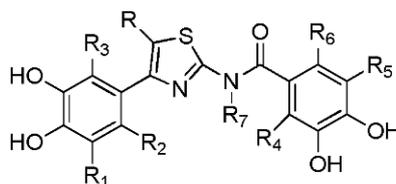


- 5 En la Estructura VIA, R es arilo sustituido o no sustituido. R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> son independientemente hidrógeno, -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, oxo, halógeno, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, o heteroarilo sustituido o no sustituido. R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub> y R<sub>11</sub> son independientemente un grupo protector de hidroxilo. R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se unen opcionalmente entre sí para formar un heterocicloalquilo sustituido o no sustituido. R<sub>10</sub> y R<sub>11</sub> se unen opcionalmente entre sí para formar un heterocicloalquilo sustituido o no sustituido.

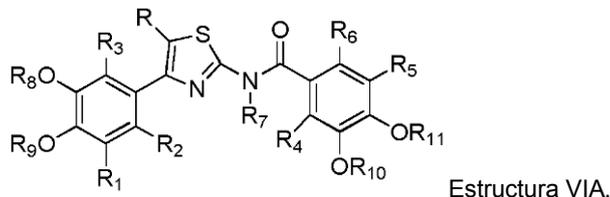
Se describe en el presente documento una composición que incluye el compuesto de Estructura VIA o sus realizaciones y un disolvente orgánico (por ejemplo, un disolvente no polar de un disolvente aprótico polar).

En ciertas realizaciones, se proporciona una composición que incluye el compuesto de Estructura VIA o sus realizaciones y un agente de desprotección de hidroxilo.

- 15 Se describe en el presente documento un método para sintetizar un compuesto que tiene la estructura:

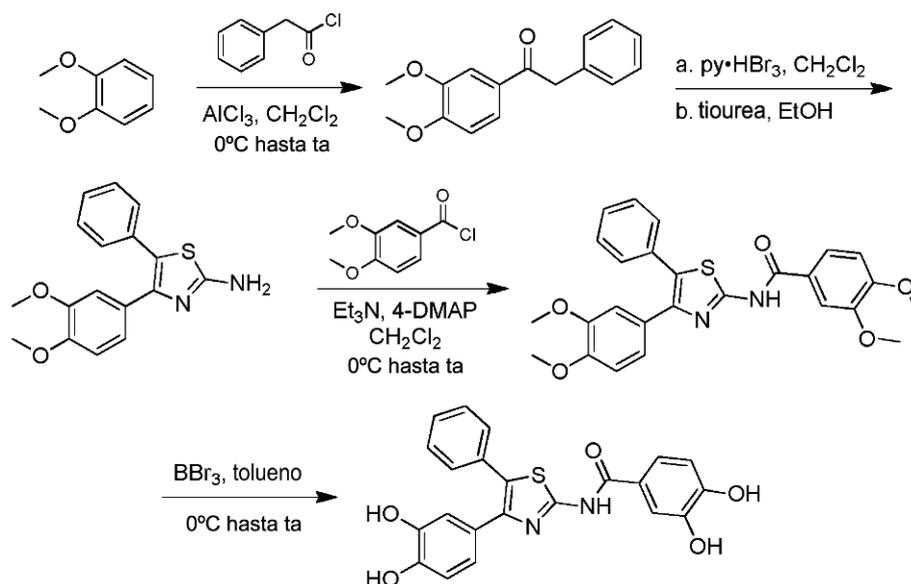


El método incluye poner en contacto un agente de protección de hidroxilo con un compuesto que tiene la fórmula:



- 20 De este modo, se eliminan los grupos de desprotección R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub> y R<sub>11</sub>. En la Estructura VIA, R es arilo sustituido o no sustituido. R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> son independientemente hidrógeno, -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, oxo, halógeno, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, o heteroarilo sustituido o no sustituido. R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub> y R<sub>11</sub> son independientemente un grupo protector de hidroxilo. R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se unen opcionalmente entre sí para formar un heterocicloalquilo sustituido o no sustituido. R<sub>10</sub> y R<sub>11</sub> se unen opcionalmente entre sí para formar un heterocicloalquilo sustituido o no sustituido.

- 25 Se describen en la presente memoria métodos para la síntesis y/o purificación de diversos compuestos divulgados en este documento, que incluyen COH4, COH20 y/o COH29. En ciertas realizaciones, se proporcionan métodos para sintetizar y/o purificar COH29 o diversos compuestos intermedios para la síntesis de COH29. Los métodos de síntesis proporcionados en este documento utilizan veratrol como material de partida, y en algunas de estas realizaciones, la síntesis de COH29 se realiza a través de los compuestos intermedios 1-(3,4-dimetoxifenil)-2-feniletanona, 4-(3,4-dimetoxifenil)-5-feniltiazol-2-amina y N-(4-(3,4-dimetoxifenil)-5-feniltiazol-2-il)-3,4-dimetoxibenzamida. En algunas de estas realizaciones, la síntesis de COH29 se realiza a través de la siguiente ruta de síntesis:



Breve descripción de los dibujos

- Figura 1: La supresión de RRM2 a través de ARNip en ratones implantados con células de cáncer de hígado HepG2 humanas disminuye el crecimiento tumoral.
- 5 Figura 2: Sobreexpresión de RRM2 en tejidos cancerosos y líneas celulares en comparación con tejido normal.
- Figura 3: El transfectante de RRM2 aumenta el potencial invasivo en líneas celulares de cáncer humano.
- Figura 4: Predicción del bolsillo de unión del ligando en forma de V en RRM2. Las agrupaciones de hierro se muestran en rojo.
- Figura 5: Estrategia de síntesis para análogos de NCI-3
- 10 Figura 6: Inhibición de la actividad de RR *in vitro* por HU, 3-AP, NCI-3, COH4 y COH20.
- Figura 7: Inhibición de la actividad de RR intracelular por COH20.
- Figura 8: Inhibición de grupos dNTP por COH20 en células KB.
- Figura 9: Citotoxicidad de 3-AP, HU, COH4 y COH20 en células de cáncer de próstata LNCaP humanas *in vitro*.
- Figura 10: Citotoxicidad de 3-AP, HU, COH4 y COH20 en células de cáncer KB humanas *in vitro*.
- 15 Figura 11: Citotoxicidad de 3-AP, HU, COH4 y COH20 en células de fibroblastos humanos normales (NHDF) *in vitro*.
- Figura 12: Citotoxicidad de 3-AP, HU, COH4 y COH20 en células de cáncer KBHUR humanas *in vitro*.
- Figura 13: Citotoxicidad de 3-AP, HU, COH4 y COH20 en células KBMDR humanas (resistentes a múltiples fármacos) *in vitro*.
- Figura 14: Inhibición de la proliferación de células KB y KBMDR humanas por COH20.
- 20 Figura 15: Panel superior: Citometría de flujo de células KB después del tratamiento con 3-AP o COH20. Panel inferior: Tinción con anexina de las células KB después del tratamiento con 3-AP o COH20.
- Figura 16: Farmacocinética de dosis única de COH20 en ratas.
- Figura 17: Determinación de la dosis máxima tolerada de COH20 en ratones normales.
- Figura 18: Análisis Biacore de la unión de RRM2 a COH20 y 3-AP.
- 25 Figura 19: Interferencia de la unión de RRM1 a RRM2 por COH20.
- Figura 20: Inhibición del crecimiento de células cancerosas mediante la administración de dosis únicas de COH29.
- Figura 21: Inhibición del crecimiento de células cancerosas mediante la administración de dosis múltiples de COH29.

Figura 22: Inhibición del crecimiento de células cancerosas mediante la administración de dosis múltiples de COH29. Los resultados se agrupan por tejido de línea celular de origen.

Figura 23: Inhibición del crecimiento de células cancerosas mediante la administración de dosis múltiples de COH29.

Figura 24: inhibición del crecimiento de células cancerosas mediante la administración de dosis múltiples de COH29.

5 Figura 25: Farmacocinética de COH29 en ratas.

Figura 26: Síntesis de COH29.

Descripción detallada

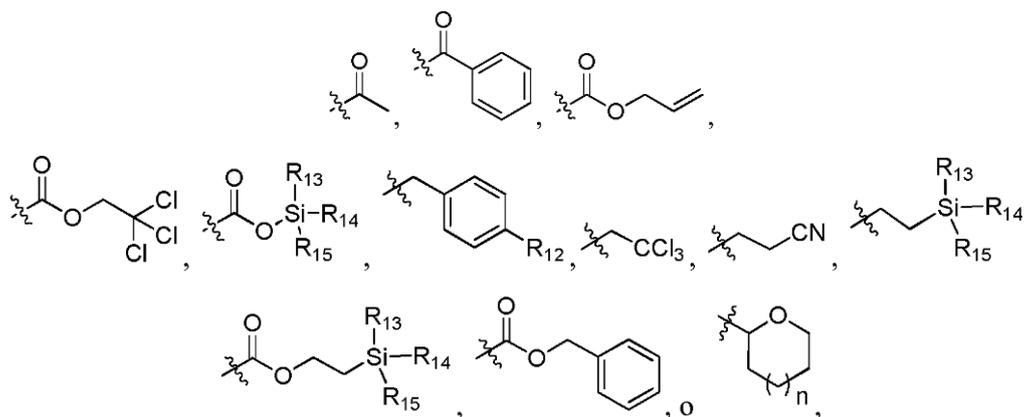
10 Las siguientes abreviaturas se usan en la presente memoria: 3-AP, 3-aminopiridina-2-carboxaldehído tiosemicarbazona; DCM, diclorometano; DMF, dimetilformamida; dNTP, desoxirribonucleótido trifosfato; HU, hidroxurea; RR, ribonucleótido reductasa; RRM1, subunidad grande de ribonucleótido reductasa; RRM2, subunidad pequeña ribonucleótido reductasa.

15 La frase "cantidad terapéuticamente efectiva" como se usa en el presente documento se refiere a una cantidad de un compuesto que produce un efecto terapéutico deseado. La cantidad terapéuticamente efectiva precisa es una cantidad de la composición que proporcionará los resultados más efectivos en términos de eficacia en un sujeto dado. Esta cantidad variará dependiendo de una variedad de factores, que incluyen pero no se limitan a las características del compuesto terapéutico (incluyendo actividad, farmacocinética, farmacodinamia y biodisponibilidad), la condición fisiológica del sujeto (incluyendo edad, sexo, tipo de enfermedad y estadio, estado físico general, capacidad de respuesta a una dosificación dada, y tipo de medicación), la naturaleza del vehículo o vehículos farmacéuticamente aceptables en la formulación y la vía de administración. Un experto en las técnicas clínicas y farmacológicas será capaz de determinar una cantidad terapéuticamente efectiva a través de la experimentación rutinaria, concretamente monitorizando la respuesta de un sujeto a la administración de un compuesto y ajustando la dosificación en consecuencia. Para una orientación adicional, véase Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro ed. 20ª edición, Williams & Wilkins PA, EE. UU.) (2000).

25 "Tratar" o "tratamiento" de una afección tal como se usa en el presente documento puede referirse a prevenir o aliviar una afección, ralentizar el inicio o la velocidad de desarrollo de una afección, reducir el riesgo de desarrollar una afección, prevenir o retrasar el desarrollo de síntomas asociados con una afección, reducción o terminación de los síntomas asociados con una afección, generación de una regresión completa o parcial de una afección, curación de una afección, o alguna combinación de los mismos. Con respecto al cáncer, "tratar" o "tratamiento" puede referirse a inhibir o ralentizar el crecimiento, proliferación y/o metástasis de células neoplásicas y/o malignas, prevenir o retrasar el desarrollo del crecimiento, proliferación y/o metástasis de células neoplásicas y/o malignas, o alguna combinación de los mismos. Con respecto a un tumor, "tratar" o "tratamiento" puede referirse a erradicar todo o parte de un tumor, inhibir o ralentizar el crecimiento tumoral y la metástasis, prevenir o retrasar el desarrollo de un tumor, o alguna combinación de los mismos.

35 Un cáncer "caracterizado por la sobreexpresión de RRM2" como se usa en el presente documento se refiere a cualquier tipo de cáncer que expresa RRM2 ya sea a nivel de ARNm o de proteína a un nivel mayor que el de una célula o tejido normal correspondiente. Por ejemplo, una línea celular de cáncer de próstata es un cáncer caracterizado por la sobreexpresión de RRM2 si expresa RRM2 ya sea a nivel de ARNm o de proteína a un nivel mayor que el observado en una célula de próstata normal correspondiente. Un cáncer caracterizado por la sobreexpresión de RRM2 como se usa en el presente documento también se refiere a cualquier tipo de cáncer en el que los inhibidores de RRM2 muestran efectos adicionales o selectivos en comparación con células o tejidos normales no transformados. Por ejemplo, un tipo de cáncer es un cáncer caracterizado por la sobreexpresión de RRM2 si tiene una mayor dependencia de la reunión de nucleótidos debido a una diferencia en los índices mitóticos con las células normales, haciéndolo más sensible a la inhibición de RRM2.

45 Como se usa en el presente documento, el término "grupo protector de hidroxilo" es una fracción química monovalente unida covalentemente a un átomo de oxígeno hidroxílico monovalente que funciona para evitar que la fracción hidroxilo reaccione con los reactivos usados en los métodos de síntesis química descritos en este documento (comúnmente mencionado como "protección" del grupo hidroxilo) y se puede eliminar en condiciones que no degradan la molécula de la que forma parte la fracción hidroxilo (comúnmente denominado "desprotección" del grupo hidroxilo) produciendo de este modo un hidroxilo libre. Un grupo protector de hidroxilo puede ser lábil a ácidos, lábil a bases o lábil en presencia de otros reactivos. Los grupos protectores de hidroxilo incluyen, pero sin limitación, un grupo protector de etileno activado, un grupo protector de bencil éter, un grupo protector de barbonato basado en silicio, un grupo protector de acetal o un grupo protector de acetal cíclico. Los grupos protectores de hidroxilo incluyen metil bencilo, p-metoxibencilo, alilo, trilito, p-metoxifenilo, tetrahidropiraniilo, metoximetilo, 1-etoxietilo, 2-metoxi-2-propilo, 2,2,2-tricloroetoximetilo, 2-metoxietoximetilo, 2-trimetilsililetoximetilo, metiltiometilo, trimetilsililo, trietilsililo, triisopropilsililo, trifenilsililo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo,



5 en las que n es 0 o 1;  $R_{12}$  es hidrógeno, -OH, -OR<sub>16</sub> o alquilo sustituido o no sustituido, en el que  $R_{16}$  es alquilo sustituido o no sustituido; y  $R_{13}$ ,  $R_{14}$  y  $R_{15}$  son alquilo sustituido o no sustituido.

10 Como se usa en el presente documento, la expresión "agente de desprotección de hidroxilo" es un compuesto o elemento químico que funciona para eliminar un grupo protector de hidroxilo, produciendo de este modo un hidroxilo libre. Los agentes de desprotección de hidroxilo útiles en los presentes métodos incluyen: bromuro de zinc, bromuro de magnesio, tetracloruro de titanio, bromuro de dimetilboro, yoduro de trimetilsililo, sales de plata ( $Ag^+$ ), sales de mercurio ( $Hg^+$ ), zinc, diyoduro de samario, amalgama de sodio, ácido trifluoroacético, ácido fluorhídrico, ácido clorhídrico, hidrogenación, fluoruro de tetra-n-butilamonio (TBAF), trifluoruro de boro, tetrafluoruro de silicio, tribromuro de boro, un aril metil éter, fluoruro de tetrabutilamonio, hidrógeno/Pd/C, Zn/ácido o amoniaco.

15 Las abreviaturas utilizadas en este documento tienen su significado convencional dentro de las artes químicas y biológicas. Las estructuras químicas y fórmulas expuestas en este documento se construyen de acuerdo con las reglas estándar de valencia química conocidas en las artes químicas.

Cuando los grupos sustituyentes se especifican por sus fórmulas químicas convencionales, escritas de izquierda a derecha, abarcan igualmente los sustituyentes químicamente idénticos que resultarían de escribir la estructura de derecha a izquierda, por ejemplo,  $-CH_2O-$  es equivalente a  $-OCH_2-$ .

20 El término "alquilo" por sí mismo o como parte de otro sustituyente significa, a menos que se indique lo contrario, una cadena (o carbono) de carbono lineal (es decir, no ramificada) o ramificada, o una combinación de las mismas, que puede estar completamente saturada, monoinsaturadas o poliinsaturadas y pueden incluir radicales divalentes y multivalentes, que tienen el número de átomos de carbono designado (es decir,  $C_1-C_{10}$  significa de uno a diez átomos de carbono). Los ejemplos de radicales hidrocarbonados saturados incluyen, pero sin limitación, grupos tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, sec-butilo, (ciclohexil)metilo, homólogos e isómeros, por ejemplo, de n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo y similares. Un grupo alquilo insaturado es uno que tiene uno o más dobles enlaces o triples enlaces. Los ejemplos de grupos alquilo insaturados incluyen, pero no se limitan a, vinilo, 2-propenilo, crotilo, 2-isopentenilo, 2-(butadienilo), 2,4-pentadienilo, 3-(1,4-pentadienilo), etinilo, 1-propinilo y 3-propinilo, 3-butinilo, y los homólogos e isómeros superiores. Un alcoxi es un alquilo unido al resto de la molécula a través de un enlazador de oxígeno (-O-).

30 El término "heteroalquilo", por sí mismo o en combinación con otro término, significa, a menos que se indique lo contrario, una cadena estable lineal o ramificada, o combinaciones de los mismos, incluyendo al menos un átomo de carbono y al menos un heteroátomo seleccionado del grupo que consiste en O, N, P, Si y S, y en donde los átomos de nitrógeno y azufre pueden oxidarse opcionalmente, y el heteroátomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado. El heteroátomo o heteroátomos O, N, P, S y Si pueden colocarse en cualquier posición interior del grupo heteroalquilo o en la posición en la que el grupo alquilo está unido al resto de la molécula. Los ejemplos incluyen, pero no están limitados a:  $-CH_2-CH_2-O-CH_3$ ,  $-CH_2-CH_2-NH-CH_3$ ,  $-CH_2-CH_2-N(CH_3)-CH_3$ ,  $-CH_2-S-CH_2-CH_3$ ,  $-CH_2-CH_2-S(O)-CH_3$ ,  $-CH_2-CH_2-S(O)_2-CH_3$ ,  $-CH=CH-O-CH_3$ ,  $-Si(CH_3)_3$ ,  $-CH_2-CH=N-OCH_3$ ,  $-CH=CH-N(CH_3)-CH_3$ ,  $-O-CH_3$ ,  $-O-CH_2-CH_3$  y  $-CN$ . Hasta dos o tres heteroátomos pueden ser consecutivos, como, por ejemplo,  $-CH_2-NH-OCH_3$  y  $-CH_2-O-Si(CH_3)_3$ . Cuando se menciona "heteroalquilo", seguido por la mención de grupos heteroalquilo específicos, tales como  $-NR'R''$  o similares, se entenderá que los términos heteroalquilo y  $-NR'R''$  no son redundantes o mutuamente excluyentes. Por el contrario, los grupos heteroalquilo específicos se mencionan para agregar claridad. Por lo tanto, el término "heteroalquilo" no se debe interpretar aquí como excluyente de grupos heteroalquilo específicos, tales como  $-NR'R''$  o similares.

45 Los términos "cicloalquilo" y "heterocicloalquilo", por sí mismos o en combinación con otros términos, significan, a menos que se indique lo contrario, versiones cíclicas de "alquilo" y "heteroalquilo", respectivamente. Además, para heterocicloalquilo, un heteroátomo puede ocupar la posición en la que el heterociclo está unido al resto de la molécula. Los ejemplos de cicloalquilo incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclohexilo, 1-ciclohexenilo, 3-ciclohexenilo, cicloheptilo y similares. Los ejemplos de heterocicloalquilo incluyen, aunque sin limitación,

1-(1,2,5,6-tetrahidropiridilo), 1-piperidinilo, 2-piperidinilo, 3-piperidinilo, 4-morfolinilo, 3-morfolinilo, tetrahidrofuran-2-ilo, tetrahidrofuran-3-ilo, tetrahidrotien-2-ilo, tetrahidrotien-3-ilo, 1-piperazinilo, 2-piperazinilo y similares. Un "cicloalquileno" y un "heterocicloalquileno", solo o como parte de otro sustituyente, significa un radical divalente derivado de un cicloalquilo y heterocicloalquilo, respectivamente.

5 El término "arilo" significa, a menos que se establezca lo contrario, un sustituyente hidrocarbonado aromático, poliinsaturado, que puede ser un anillo simple o múltiples anillos (preferiblemente de 1 a 3 anillos) que se fusionan entre sí (es decir, un anillo arilo condensado) o enlazado covalentemente. Un arilo de anillo fusionado se refiere a múltiples anillos condensados entre sí en donde al menos uno de los anillos fusionados es un anillo de arilo. El término "heteroarilo" se refiere a grupos arilo (o anillos) que contienen al menos un heteroátomo tal como N, O o S, en el que los átomos de nitrógeno y azufre están opcionalmente oxidados, y el átomo o los átomos de nitrógeno están opcionalmente cuaternizados. De este modo, el término "heteroarilo" incluye grupos heteroarilo de anillo condensado (es decir, anillos múltiples fusionados entre sí en donde al menos uno de los anillos condensados es un anillo heteroaromático). Un heteroarileno de anillo fusionado en 5,6 se refiere a dos anillos fusionados entre sí, en el que un anillo tiene 5 miembros y el otro anillo tiene 6 miembros, y en el que al menos un anillo es un anillo heteroarilo. Del mismo modo, un heteroarileno de anillo fusionado en 6,6 se refiere a dos anillos fusionados entre sí, en donde un anillo tiene 6 miembros y el otro anillo tiene 6 miembros, y en el que al menos un anillo es un anillo heteroarilo. Y un heteroarileno de anillo fusionado en 6,5 se refiere a dos anillos condensados juntos, en donde un anillo tiene 6 miembros y el otro anillo tiene 5 miembros, y en donde al menos un anillo es un anillo heteroarilo. Un grupo heteroarilo se puede unir al resto de la molécula a través de un carbono o heteroátomo. Los ejemplos no limitantes de grupos arilo y heteroarilo incluyen fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, 4-bifenilo, 1-pirrolilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 3-pirazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, pirazinilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 2-fenil-4-oxazolilo, 5-oxazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, 2-furilo, 3-furilo, 2-tienilo, 3-tienilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 2-pirimidilo, 4-pirimidilo, 5-benzotiazolilo, purinilo, 2-bencimidazolilo, 5-indolilo, 1-isoquinolilo, 5-isoquinolilo, 2-quinoxalinilo, 5-quinoxalinilo, 3-quinolilo y 6-quinolilo. Los sustituyentes para cada uno de los sistemas de anillo arilo y heteroarilo indicados anteriormente se seleccionan del grupo de sustituyentes aceptables que se describen a continuación. Los ejemplos no limitantes de grupos heteroarilo incluyen piridinilo, pirimidinilo, tiofenilo, furanilo, indolilo, benzoxadiazolilo, benzodioxolilo, benzodioxanilo, tianaftanilo, pirrolopiridinilo, indazolilo, quinolinilo, quinoxalinilo, piridopirazinilo, quinazolinonilo, benzoisoxazolilo, imidazopiridinilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, fenilo, naftilo, bifenilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, pirazinilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, furiltienilo, piridilo, pirimidilo, benzotiazolilo, purinilo, bencimidazolilo, isoquinolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, pirrolilo, diazolilo, triazolilo, tetrazolilo, benzotiadiazolilo, isotiazolilo, pirazolopirimidinilo, pirrolopirimidinilo, benzotriazolilo, benzoxazolilo o quinolilo. Los ejemplos anteriores pueden estar sustituidos o no sustituidos y los radicales divalentes de cada ejemplo de heteroarilo anterior son ejemplos no limitantes de heteroarileno.

35 Cada uno de los términos anteriores (por ejemplo, "alquilo", "heteroalquilo", "arilo" y "heteroarilo") incluye tanto formas sustituidas como no sustituidas (como se indica en este documento) del radical indicado. Los sustituyentes preferidos para cada tipo de radical se proporcionan a continuación.

Los sustituyentes para los radicales alquilo y heteroalquilo (que incluyen aquellos grupos denominados a menudo alquileno, alquenilo, heteroalquileno, heteroalquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, cicloalquenilo y heterocicloalquenilo) pueden ser uno o más de una variedad de grupos seleccionados de, pero no se limita a, -OR, =O, =NR', =N-OR', -NR'R'', -SR', -halógeno, -SiR'R''R''', -OC(O)R', -C(O)R', -CO<sub>2</sub>R', -CONR'R'', -OC(O)NR'R'', -NR'C(O)R', -NR'-C(O)NR'R''', -NR'C(O)<sub>2</sub>R', -NR-C(NR'R''R''')=NR''', -NR-C(NR'R'')=NR''', -S(O)R', -S(O)<sub>2</sub>R', -S(O)<sub>2</sub>NR'R'', -NRSO<sub>2</sub>R', -NR'NR'R''', -ONR'R'', -NR'C=O)NR'NR''R''', -CN, -NO<sub>2</sub>, en un número que va de cero a (2m' + 1), donde m' es el número total de átomos de carbono en dicho radical. R, R', R'', R''' y R'''' se refieren independientemente preferiblemente cada uno a hidrógeno, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, arilo sustituido con 1-3 halógenos), heteroarilo sustituido o no sustituido, grupos alquilo, alcoxi o tioalcoxi o grupos aril alquilo sustituidos o no sustituidos. Cuando un compuesto de la invención incluye más de un grupo R, por ejemplo, cada uno de los grupos R se selecciona independientemente como lo son cada grupo R', R'', R''' y R'''' cuando más de uno de estos grupos es presente. Cuando R' y R'' están unidos al mismo átomo de nitrógeno, se pueden combinar con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de 4, 5, 6 o 7 miembros. Por ejemplo, -NR'R'' incluye, pero no se limita a, 1-pirrolidinilo y 4-morfolinilo. A partir de la discusión anterior de sustituyentes, un experto en la técnica entenderá que el término "alquilo" pretende incluir grupos que incluyen átomos de carbono unidos a grupos distintos de grupos de hidrógeno, tales como haloalquilo (por ejemplo, -CF<sub>3</sub> y -CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>) y acilo (por ejemplo, -C(O)CH<sub>3</sub>, -C(O)CF<sub>3</sub>, -C(O)CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, y similares). De forma similar a los sustituyentes descritos para el radical alquilo, los sustituyentes para los grupos arilo y heteroarilo se varían y se seleccionan de, por ejemplo: -OR', -NR'R'', -SR', -halógeno, -SiR'R''R''', -OC(O)R', -C(O)R', -CO<sub>2</sub>R', -CONR'R'', -OC(O)NR'R'', -NR'C(O)R', -NR'-C(O)NR'R''', -NR'C(O)<sub>2</sub>R', -NR-C(NR'R''R''')=NR''', -NR-C(NR'R'')=NR''', -S(O)R', -S(O)<sub>2</sub>R', -S(O)<sub>2</sub>NR'R'', -NRSO<sub>2</sub>R', -NR'NR'R''', -ONR'R'', -NR'C=O)NR'NR''R''', -CN, -NO<sub>2</sub>, -R', -N<sub>3</sub>, -CH(Ph)<sub>2</sub>, fluoro alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) y fluoro alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), en una cantidad que va desde cero hasta el número total de valencias abiertas en el sistema de anillos aromáticos, y donde R', R'', R''' y R'''' se seleccionan preferiblemente independientemente de hidrógeno, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, y heteroarilo sustituido o no sustituido. Cuando un compuesto de la invención incluye más de un grupo R, por ejemplo, cada de los grupos R se

selecciona independientemente como lo son cada uno de los grupos R', R'', R''' y R'''' cuando hay más de uno de estos grupos presente.

5 Se pueden unir opcionalmente dos o más sustituyentes para formar grupos arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo. Dichos denominados sustituyentes formadores de anillo se encuentran típicamente, aunque no necesariamente, unidos a una estructura de base cíclica. En una realización, los sustituyentes formadores de anillo están unidos a miembros adyacentes de la estructura de base. Por ejemplo, dos sustituyentes formadores de anillo unidos a miembros adyacentes de una estructura de base cíclica crean una estructura de anillo condensado. En otra realización, los sustituyentes formadores de anillo están unidos a un único miembro de la estructura de base. Por ejemplo, dos sustituyentes formadores de anillo unidos a un único miembro de una estructura de base cíclica crean una estructura espirocíclica. En otra realización más, los sustituyentes formadores de anillo están unidos a miembros no adyacentes de la estructura de base.

10 Dos de los sustituyentes en los átomos adyacentes del anillo arilo o heteroarilo pueden formar opcionalmente un anillo de la fórmula  $-TC(O)-(CRR')_q-U-$ , en la que T y U son independientemente  $-NR-$ ,  $-O-$ ,  $-CRR'-$ , o un enlace sencillo, y q es un número entero de 0 a 3. Alternativamente, dos de los sustituyentes en los átomos adyacentes del anillo arilo o heteroarilo pueden opcionalmente reemplazarse con un sustituyente de la fórmula  $-A-(CH_2)_r-B-$ , donde A y B son independientemente  $-CRR'-$ ,  $-O-$ ,  $-NR-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-S(O)_2-$ ,  $-S(O)_2NR'-$ , o un enlace sencillo, y r es un número entero de 1 a 4. Uno de los enlaces sencillos del nuevo anillo así formado puede opcionalmente reemplazarse por un enlace doble. Alternativamente, dos de los sustituyentes en los átomos adyacentes del anillo de arilo o heteroarilo pueden reemplazarse opcionalmente con un sustituyente de la fórmula  $-(CRR')_s-X'(C''R''R''')_d-$ , donde s y d son independientemente enteros de 0 a 3, y X' es  $-O-$ ,  $-NR'-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-S(O)_2-$ , o  $-S(O)_2NR'-$ . Los sustituyentes R, R', R'' y R''' preferiblemente se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, y sustituido o no sustituido heteroarilo.

15 Como se usa en el presente documento, los términos "heteroátomo" o "heteroátomo del anillo" pretenden incluir oxígeno (O), nitrógeno (N), azufre (S), fósforo (P) y silicio (Si).

20 Un "grupo sustituyente", como se usa en el presente documento, significa un grupo seleccionado de las siguientes fracciones:

(A)  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-SH$ ,  $-CN$ ,  $-CF_3$ ,  $-NO_2$ , oxo, halógeno, alquilo no sustituido, heteroalquilo no sustituido, cicloalquilo no sustituido, heterocicloalquilo no sustituido, arilo no sustituido, heteroarilo no sustituido, y

25 (B) alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo y heteroarilo, sustituido con al menos un sustituyente seleccionado de:

(i) oxo,  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-SH$ ,  $-CN$ ,  $-CF_3$ ,  $-NO_2$ , halógeno, alquilo no sustituido, heteroalquilo no sustituido, cicloalquilo no sustituido, heterocicloalquilo no sustituido, arilo no sustituido, heteroarilo no sustituido, y

30 (ii) alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo y heteroarilo, sustituido con al menos un sustituyente seleccionado de:

(a) oxo,  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-SH$ ,  $-CN$ ,  $-CF_3$ ,  $-NO_2$ , halógeno, alquilo no sustituido, heteroalquilo no sustituido, cicloalquilo no sustituido, heterocicloalquilo no sustituido, arilo no sustituido, heteroarilo no sustituido, y

35 (b) alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo, sustituido con al menos un sustituyente seleccionado entre: oxo,  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-SH$ ,  $-CN$ ,  $-CF_3$ ,  $-NO_2$ , halógeno, alquilo no sustituido, heteroalquilo no sustituido, cicloalquilo no sustituido, heterocicloalquilo no sustituido, arilo no sustituido y heteroarilo no sustituido.

40 Un "sustituyente limitado por tamaño" o "grupo sustituyente limitado por tamaño", como se usa en la presente memoria, significa un grupo seleccionado de entre todos los sustituyentes descritos anteriormente para un "grupo sustituyente", en el que cada alquilo sustituido o no sustituido es un alquilo  $C_1-C_{20}$  sustituido o no sustituido, cada heteroalquilo sustituido o no sustituido es un heteroalquilo de 2 a 20 miembros sustituido o no sustituido, cada cicloalquilo sustituido o no sustituido es un cicloalquilo  $C_3-C_8$  sustituido o no sustituido, y cada heterocicloalquilo sustituido o no sustituido es un heterocicloalquilo de 3 u 8 miembros sustituido o no sustituido.

45 Un "sustituyente inferior" o "grupo sustituyente inferior", como se usa en la presente memoria, significa un grupo seleccionado de entre todos los sustituyentes descritos anteriormente para un "grupo sustituyente", en el que cada alquilo sustituido o no sustituido es un alquilo  $C_1-C_8$  sustituido o no sustituido, cada heteroalquilo sustituido o no sustituido es un heteroalquilo de 2 a 8 miembros sustituido o no sustituido, cada cicloalquilo sustituido o no sustituido es un cicloalquilo  $C_3-C_7$  sustituido o no sustituido, y cada heterocicloalquilo sustituido o no sustituido es un heterocicloalquilo de 3 a 7 miembros sustituido o no sustituido.

50 En algunas realizaciones, cada grupo sustituido descrito en los compuestos de la presente invención está sustituido con al menos un grupo sustituyente. Más específicamente, en algunas realizaciones, cada alquilo sustituido, heteroalquilo sustituido, cicloalquilo sustituido, heterocicloalquilo sustituido, arilo sustituido, heteroarilo sustituido, alquilenos sustituido,

heteroalquileo sustituido, cicloalquileo sustituido, heterocicloalquileo sustituido, arileno sustituido y/o heteroarileno sustituido descrito en los compuestos en la presente invención están sustituidos con al menos un grupo sustituyente. En otras realizaciones, al menos uno o todos estos grupos están sustituidos con al menos un grupo sustituyente de tamaño limitado. En otras realizaciones, al menos uno o todos estos grupos están sustituidos con al menos un grupo sustituyente inferior.

En otras realizaciones de los compuestos de la presente invención, cada alquilo sustituido o no sustituido puede ser un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> sustituido o no sustituido, cada heteroalquilo sustituido o no sustituido es un heteroalquilo de 2 a 20 miembros sustituido o no sustituido, cada cicloalquilo sustituido o no sustituido es un cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> sustituido o no sustituido, y/o cada heterocicloalquilo sustituido o no sustituido es un heterocicloalquilo de 3 a 8 miembros sustituido o no sustituido.

En algunas realizaciones, cada alquilo sustituido o no sustituido es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> sustituido o no sustituido, cada heteroalquilo sustituido o no sustituido es un heteroalquilo de 2 a 8 miembros sustituido o no sustituido, cada cicloalquilo sustituido o no sustituido es un cicloalquilo C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub> sustituido o no sustituido, y/o cada heterocicloalquilo sustituido o no sustituido es un heterocicloalquilo de 5 a 7 miembros sustituido o no sustituido.

El término "sales farmacéuticamente aceptables" pretende incluir sales de los compuestos activos que se preparan con ácidos o bases relativamente no tóxicos, dependiendo de los sustituyentes particulares encontrados en los compuestos descritos en este documento. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funciones relativamente ácidas, pueden obtenerse sales de adición de base poniendo en contacto la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente de la base deseada, pura o en un disolvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables incluyen sales de sodio, potasio, calcio, amonio, amino orgánico o magnesio, o una sal similar. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funciones relativamente básicas, se pueden obtener sales de adición de ácido poniendo en contacto la forma neutra de tales compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, puro o en un disolvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen los derivados de ácidos inorgánicos tales como ácidos clorhídrico, bromhídrico, nítrico, carbónico, monohidrogenocarbónico, fosfórico, monohidrogenofosfórico, dihidrogenofosfórico, sulfúrico, monohidrogenosulfúrico, hidriódico o fosforoso y similares, así como las sales derivadas de ácidos orgánicos relativamente no tóxicos tales como acético, propiónico, isobutírico, maleico, malónico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, láctico, mandélico, ftálico, bencenosulfónico, p-tolilsulfónico, cítrico, tartárico, oxálico, metanosulfónico y similares. También se incluyen sales de aminoácidos tales como arginato y similares, y sales de ácidos orgánicos tales como ácidos glucurónicos o galactunóricos y similares (véase, por ejemplo, Berge et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19). Ciertos compuestos específicos de la presente invención contienen funciones tanto básicas como ácidas que permiten que los compuestos se conviertan en sales de adición de base o de ácido.

Por lo tanto, los compuestos de la presente invención pueden existir como sales, tales como con ácidos farmacéuticamente aceptables. La presente invención incluye tales sales. Ejemplos de tales sales incluyen clorhidratos, bromhidratos, sulfatos, metanosulfonatos, nitratos, maleatos, acetatos, citratos, fumaratos, tartratos (por ejemplo, (+)-tartratos, (-)-tartratos, o mezclas de los mismos, incluyendo mezclas racémicas), succinatos, benzoatos y sales con aminoácidos como el ácido glutámico. Estas sales pueden prepararse por métodos conocidos por los expertos en la técnica.

Las formas neutras de los compuestos se regeneran preferiblemente poniendo en contacto la sal con una base o ácido y aislando el compuesto original de la manera convencional. La forma original del compuesto difiere de las diversas formas de sal en ciertas propiedades físicas, tales como la solubilidad en disolventes polares.

Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en formas no solvatadas, así como en formas solvatadas, que incluyen formas hidratadas. En general, las formas solvatadas son equivalentes a formas no solvatadas y están abarcadas dentro del alcance de la presente invención. Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en múltiples formas cristalinas o amorfas. En general, todas las formas físicas son equivalentes para los usos contemplados por la presente invención y están destinadas a estar dentro del alcance de la presente invención.

El símbolo  $\sim$  representa el punto de unión de un sustituyente al resto del compuesto.

Como se usa en el presente documento, el término "sal" se refiere a sales ácidas o básicas de los compuestos usados en los métodos de la presente invención. Ejemplos ilustrativos de sales aceptables son sales de ácido mineral (ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico y similares), sales de ácido orgánico (ácido acético, ácido propiónico, ácido glutámico, ácido cítrico y similares), sales de amonio cuaternario (yoduro de metilo, yoduro de etilo, y similares).

Ciertos compuestos de la presente invención poseen átomos de carbono asimétricos (centros ópticos o quirales) o dobles enlaces; los enantiómeros, racematos, diastereómeros, tautómeros, isómeros geométricos, formas estereoisoméricas que se pueden definir, en términos de estereoquímica absoluta, como (R) o (S) o, como (D) o (L) para aminoácidos, y los isómeros individuales están abarcados dentro del alcance de la presente invención. Los compuestos de la presente invención no incluyen aquellos que son conocidos en la técnica por ser demasiado inestables para sintetizar y/o aislar. La presente invención pretende incluir compuestos en formas racémicas y

ópticamente puras. Los isómeros ópticamente activos (R) y (S) o (D) y (L) pueden prepararse usando sintones quirales o reactivos quirales, o resolverse usando técnicas convencionales. Cuando los compuestos descritos en este documento contienen enlaces olefínicos u otros centros de asimetría geométrica, y a menos que se especifique lo contrario, se pretende que los compuestos incluyan tanto isómeros geométricos E como Z.

- 5 Como se usa en el presente documento, el término "isómeros" se refiere a compuestos que tienen el mismo número y tipo de átomos, y por lo tanto el mismo peso molecular, pero que difieren con respecto a la disposición estructural o configuración de los átomos.

El término "tautómero", como se usa en el presente documento, se refiere a uno de dos o más isómeros estructurales que existen en equilibrio y que se convierten fácilmente de una forma isomérica a otra.

- 10 Será evidente para un experto en la técnica que ciertos compuestos de esta invención pueden existir en formas tautómeras, estando todas dichas formas tautoméricas de los compuestos dentro del alcance de la invención.

- 15 A menos que se indique lo contrario, las estructuras representadas en este documento también incluyen todas las formas estereoquímicas de la estructura; es decir, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico. Por lo tanto, los isómeros estereoquímicos individuales, así como las mezclas enantioméricas y diastereoméricas de los presentes compuestos están dentro del alcance de la invención.

A menos que se indique lo contrario, las estructuras representadas en este documento también incluyen compuestos que difieren solo en presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, los compuestos que tienen las presentes estructuras, excepto el reemplazo de un hidrógeno por un deuterio o tritio, o el reemplazo de un carbono por carbono enriquecido en  $^{13}\text{C}$  o  $^{14}\text{C}$ , están dentro del alcance de esta invención.

- 20 Los compuestos de la presente invención también pueden contener proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más de los átomos que constituyen tales compuestos. Por ejemplo, los compuestos pueden estar marcados en forma radioactiva con isótopos radiactivos, tales como, por ejemplo, tritio ( $^3\text{H}$ ), yodo 125 ( $^{125}\text{I}$ ) o carbono 14 ( $^{14}\text{C}$ ). Todas las variaciones isotópicas de los compuestos de la presente invención, ya sean radiactivos o no, están abarcados dentro del alcance de la presente invención.

- 25 Los términos "un" o "uno, una", como se usan en este documento, significa uno o más. Además, la frase "sustituido con un [uno, una]", como se usa en el presente documento, significa que el grupo especificado puede estar sustituido con uno o más de cualquiera o todos los sustituyentes nombrados. Por ejemplo, cuando un grupo, tal como un grupo alquilo o heteroarilo, está "sustituido con un alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_{20}$  no sustituido, o heteroalquilo no sustituido de 2 a 20 miembros", el grupo puede contener uno o más alquilos  $\text{C}_1\text{-C}_{20}$  no sustituidos, y/o uno o más heteroalquilos de 2 a 20 miembros no sustituidos. Además, cuando una fracción está sustituida con un sustituyente R, el grupo puede denominarse "sustituido con R". Cuando una fracción está sustituida en R, la fracción está sustituida con al menos un sustituyente R y cada sustituyente R es opcionalmente diferente.

- 35 La descripción de los compuestos de la presente invención está limitada por principios de enlace químico conocidos por los expertos en la técnica. Por consiguiente, cuando un grupo puede estar sustituido con uno o más de un número de sustituyentes, tales sustituciones se seleccionan para cumplir con los principios de enlace químico y para producir compuestos que no son inherentemente inestables y/o serían conocidos por un experto en la técnica es probable que sea inestable en condiciones ambientales, tales como condiciones fisiológicas acuosas, neutras y varias otras conocidas. Por ejemplo, un heterocicloalquilo o heteroarilo está unido al resto de la molécula a través de un heteroátomo en el anillo de acuerdo con los principios de unión química conocidos por los expertos en la técnica, evitando así compuestos inherentemente inestables.

- 45 La producción de dNTP en eucariotas está estrictamente regulada por RR, que cataliza la etapa limitante de la velocidad en la síntesis de desoxirribonucleótidos (Jordan 1998). RR consta de una gran subunidad y una pequeña subunidad. En humanos, una gran subunidad (RRM1, también conocida como M1) y dos subunidades pequeñas (RRM2, también conocidas como M2 y p53R2) han sido identificadas (Tanaka 2000; Liu 2006). Las pequeñas subunidades RR forman dos centros de hierro dinuclear equivalentes que estabilizan el radical libre de tirosilo requerido para el inicio de la transformación de electrones durante la catálisis (Ochiai, 1990; Cooperman, 2003; Liu, 2006).

RRM1 es un sustrato que contiene un dímero de 170 Kd y sitios efectores alostéricos que controlan la actividad de la holoenzima RR y la especificidad del sustrato (Cory, 1983; Wright, 1990; Cooperman, 2003; Liu, 2006).

- 50 RRM2 es un dímero de 88 Kd que contiene un radical libre de tirosina y un hierro no hemo para actividad enzimática (Chang, 1979). p53R2 contiene un sitio de unión a p53 en el intrón 1 y codifica un péptido de 351 aminoácidos con sorprendente similitud con RRM2 (Tanaka, 2000). RRM2 y p53R2 tienen una similitud del 80% en la secuencia de aminoácidos (Tanaka, 2000).

- 55 Se ha identificado p53R2 como un objetivo transcripcional de p53 (Nakano, 2000; Tanaka, 2000; Yamaguchi, 2001), mientras que RRM2 está regulado transcripcionalmente por factores asociados al ciclo celular tales como NF-Y y E2F (Filatov, 1995; Currie, 1998; Chabes, 2004; Liu, 2004). Por lo tanto, la expresión de p53R2, pero no de RRM2, se induce mediante tratamiento con luz ultravioleta (UV), radiación gamma o doxorubicina (Dox) de una forma dependiente de

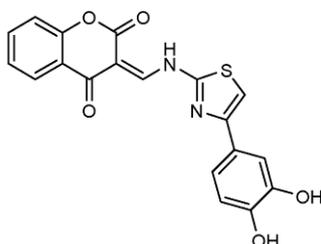
p53 (Lozano, 2000; Tanaka, 2000; Guittet, 2001). En las células mutantes o eliminadas de p53, RRM2 puede reemplazar a p53R2 en el proceso de reparación del ADN para las células expuestas a la radiación UV (Zhou, 2003; Liu, 2005). Se ha encontrado que p53R2 tiene una capacidad de reducción más fuerte que RRM2, lo que puede proporcionar un efecto chaperón en la estabilización de p21 (Xue, 2007).

5 Se ha observado que el supresor tumoral RB suprime las subunidades RR como un mecanismo para regular la progresión del ciclo celular (Elledge, 1990). La inactivación de RB, a menudo observada en tumores, conduce a niveles mayores de dNTP y una resistencia concomitante de células tumorales a fármacos tales como 5-fluorouracilo (5-Fu) y HU (Angus, 2002). Mientras que la sobreexpresión de la subunidad RRM2 promueve la transformación y el potencial tumorigénico mediante su cooperación con varios oncogenes activados (Fan, 1998), la sobreexpresión de la subunidad RRM1 suprime el potencial maligno *in vivo* (Fan, 1997). Se ha encontrado que la mayor expresión de RRM2 aumenta las propiedades de resistencia a los fármacos de las células cancerosas y aumenta el potencial invasivo, mientras que la supresión de RRM2 conduce a la reversión de la resistencia a los fármacos y disminuye la proliferación de células tumorales (Zhou, 1995; Huang, 1997; Zhou, 1998; Goan, 1999; Chen, 2000; Nakano, 2000; Kuschak, 2002). Las células normales expresan niveles muy bajos de RR en el estado no proliferativo, mientras que la mayoría de las células neoplásicas sobreexpresan RR, proporcionando así reservas de dNTP para la síntesis de ADN y la proliferación celular. Por lo tanto, es probable que la inhibición específica de RRM2 proporcione beneficios antineoplásicos.

Aunque RR representa un objetivo importante para la terapia del cáncer, solo hay tres inhibidores de RR en uso clínico: hidroxurea (HU), 3-aminopiridina-2-carboxaldehído tiosemicarbazona (3-AP, Triapine®) y GTI2040. HU, que bloquea la síntesis de ADN al reducir el radical libre de tirosilo, se ha comercializado como un medicamento contra el cáncer durante más de 30 años y es el único inhibidor de RR comercialmente disponible (Nocentini, 1996). Sin embargo, la resistencia al tratamiento con HU es un problema común (Lassmann, 1992; Nyholm, 1993; Le, 2002). 3-AP, un quelante de hierro de molécula pequeña que inactiva RR, se ha encontrado que causa hipoxia, dificultad respiratoria y metahemoglobinemia de glóbulos rojos. Además, 3-AP se dirige selectivamente a p53R2 en lugar de RRM2. GTI2040, una molécula antisentido, hasta ahora ha sido ineficaz en ensayos en humanos. Otros problemas relacionados con estos tres inhibidores de RR son el bloqueo incompleto de RR, la vida media corta y la regeneración de RR. Además, la mutación de p53R2 da como resultado el síndrome de agotamiento hereditario de mitocondrias, pero no el cáncer, y los ratones con desactivación de p53R2 demuestran un trastorno del túbulo renal pero no un crecimiento obvio del cáncer (Kimura, 2003). Estas observaciones sugieren que RRM2 es responsable de la proliferación tumoral y el potencial metastásico, mientras que p53R2 es inducido por las señales de daño del ADN para la reparación del ADN. Por lo tanto, un inhibidor ideal de RR para su uso en terapia contra el cáncer tendría mayor potencia que HU, menos capacidad de quelación de hierro que 3-AP, y direccionamiento específico de RRM2.

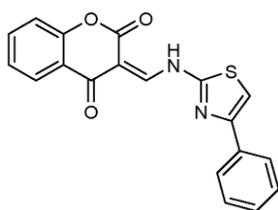
Como se divulga en este documento, RRM2 ha sido validado como un objetivo contra el cáncer. Se encontró que la supresión de RRM2 mediante ARNi disminuye el crecimiento tumoral en ratones implantados con células de cáncer de hígado humano HepG2. Se determinó que la expresión de RRM2 era significativamente más alta en las células cancerosas que en las células normales correspondientes. Además, las células humanas KB y PC3 transfectadas con RRM2 exhibieron un mayor potencial invasivo frente a sus contrapartes no transfectadas, lo que sugiere que RRM2 mejora el potencial invasivo de las células cancerosas.

Se seleccionó una biblioteca de compuestos diversos del Programa de Terapéuticas Experimentales (DTP) del NCI para identificar compuestos que inhiben RR. Tres de los cuatro compuestos identificados en esta selección que inhibieron la actividad de RRM1/RRM2 en un 80% o más, compartieron un andamio estructural similar, NCI-3. NCI-3 tiene la estructura:

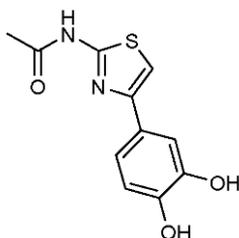


Los éxitos iniciales del proceso de selección se optimizaron sintéticamente y racionalmente para obtener los inhibidores de RR COH1, COH2, COH4, COH20 y COH29, cuyas estructuras se exponen a continuación.

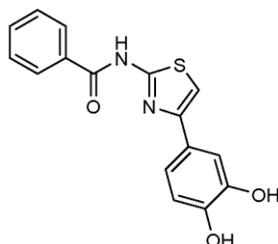
45 COH1:



COH2:

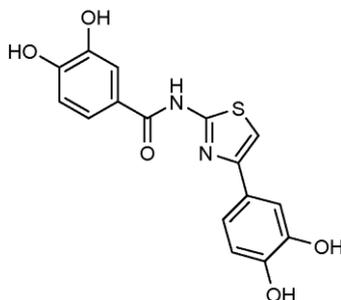


COH4:

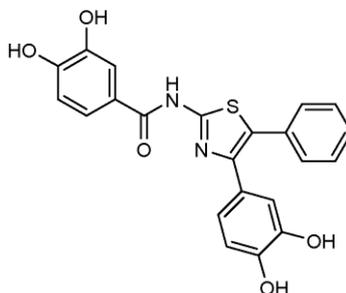


5

COH20:



COH29 (N-(4-(3,4-dihydroxifenil)-5-feniltiazol-2-il)-3,4-dihidroxibenzamida):



10 Cada uno de estos compuestos exhibió la capacidad de inhibir RR en un grado significativo, y tanto COH20 como  
 COH29 exhibieron la capacidad de inhibir el crecimiento de células cancerosas en una amplia gama de tipos de células  
 cancerosas. Por consiguiente, en ciertas realizaciones, la presente solicitud describe nuevos inhibidores de RR,  
 composiciones, formulaciones y kits que comprenden uno o más de estos inhibidores, y métodos para usar estos  
 15 inhibidores para inhibir RR, inhibir el crecimiento o la proliferación celular, tratar el cáncer y/o inhibir la proliferación de  
 células madre.

COH20 consiste en tres unidades estructurales básicas: un farmacóforo (para la inhibición de la actividad de RR), un  
 grupo de unión (para selectividad) y un grupo de enlazamiento (para conectar el farmacóforo y el grupo de unión). Como

se divulga aquí, COH20 exhibió baja Inhibición de intervalo micromolar tanto de RR recombinante como intracelular *in vitro*, y causó una disminución en los grupos de dNTP. El análisis bioquímico reveló que COH20 se dirige a RRM2. Tras la unión al complejo RRM1/RRM2, parece que COH20 reside en el bolsillo en forma de V en la interfaz entre RRM1 y RRM2 y bloquea la vía de transferencia de radicales libres a través de un novedoso mecanismo de estabilización del radical catecol. Considerando el tamaño y la composición química de COH20 y la distancia al centro de hierro dinuclear, el ligando unido (en este bolsillo) no parece ser susceptible a la quelación del hierro como con 3-AP o involucrada en la inactivación directa del radical libre de tirosilo formado inicialmente como con HU. Se encontró que COH20 inhibe el crecimiento de las líneas celulares de leucemia humana REH y MOLT-4, la línea celular de cáncer de próstata humana LNCaP y la línea celular de cáncer de orofaringe humana KB *in vitro* a una concentración de menos de 10  $\mu\text{M}$ , mientras que exhiben menos citotoxicidad hacia las células de fibroblastos normales que HU. COH20 también exhibió una mayor citotoxicidad hacia la línea celular KBHUR resistente a HU que 3-AP, lo que indica que es capaz de superar la resistencia a fármacos HU. COH20 exhibió citotoxicidad hacia las células KBMDR a una concentración más baja que 3-AP o HU (80  $\mu\text{M}$  frente a 200  $\mu\text{M}$  y > 1000  $\mu\text{M}$ , respectivamente), lo que indica que COH20 evade la MDR más eficazmente que 3-AP. Además, el COH20 tuvo una toxicidad muy baja cuando se administró a ratones, sin evidencia de quelación de hierro o metahemoglobulina.

Como se divulga en este documento, COH29 mostró efectos inhibidores de crecimiento prometedores en una amplia gama de líneas de células cancerosas humanas, que incluyen:

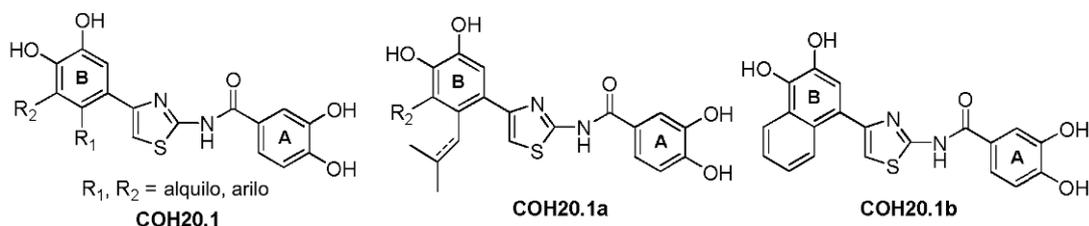
- líneas celulares de cáncer de pulmón de células no pequeñas humanas NCI-H23, NCI-H522, A549-ATCC, EKVX, NCI-H226, NCI-H332M, H460, H0P62, HOP92;
- líneas celulares de cáncer de colon humano HT29, HCC-2998, HCT116, SW620, COLO205, HCT15, KM12;
- líneas celulares de cáncer de mama MCF7, MCF7ADRr, MDAMB231, HS578T, MDAMB435, MDN, BT549, T47D;
- líneas celulares de cáncer de ovario OVCAR3, OVCAR4, OVCAR5, OVCAR8, IGROV1, SKOV3;
- líneas celulares de leucemia humana CCRFCM, K562, MOLT4, HL60, RPMI8266, SR;
- líneas celulares de cáncer renal UO31, SN12C, A498, CAKI1, RXF393, 7860, ACHN, TK10;
- líneas celulares de melanoma LOXIMVI, MALME3M, SKMEL2, SKMEL5, SKMEL28, M14, UACC62, UACC257;
- líneas celulares de cáncer de próstata PC3, DU145; y
- líneas celulares de cáncer del CNS SNB19, SNB75, U251, SF268, SF295, SM539.

En ciertas realizaciones, COH29 mostró un GI50 de menos de aproximadamente 10  $\mu\text{M}$  para las líneas celulares de cáncer humano NCI 60, excepto la línea celular de cáncer de colon HT29, la línea celular de cáncer de melanoma UACC-257, la línea celular de cáncer de ovario NCI/ADR-RES y la línea celular de cáncer renal CAKI-1. Además, los estudios farmacocinéticos de COH29 mostraron una manera dependiente de la dosis cuando se administró COH29 por i.v. en bolo.

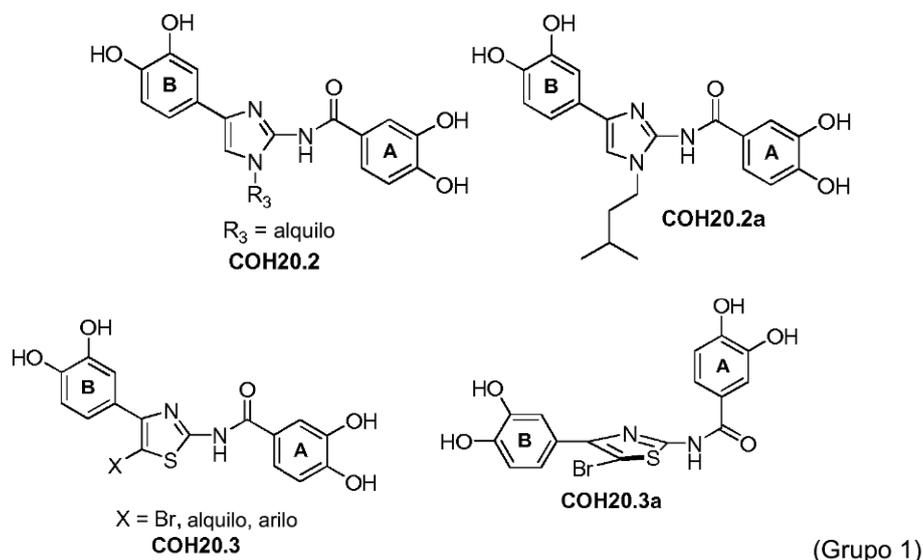
COH4, COH20 y COH29 representan inhibidores de RR únicos con alta actividad antitumoral que proporcionan ventajas significativas sobre los inhibidores de RR descritos anteriormente. Específicamente, COH20 ofrece un mecanismo único y especificidad objetivo que interfiere con la vía de transferencia de radicales en la interfaz RRM1/RRM2 con mayor potencia que HU y la mejora de los efectos secundarios relacionados con la quelación de hierro observada con 3-AP. Por lo tanto, en el presente documento se proporcionan en ciertas realizaciones inhibidores de RR de molécula pequeña y métodos para usar estos inhibidores para inhibir RR y para tratar cáncer. Los inhibidores divulgados en la presente memoria son capaces de superar la resistencia a HU, un obstáculo común para la terapia del cáncer, y también son capaces de superar la resistencia a múltiples fármacos.

En ciertas realizaciones, un nuevo inhibidor de RR como se divulga en este documento es COH1, COH2, COH4, COH20 o COH29, o una sal, solvato, estereoisómero o profármaco farmacéuticamente aceptable derivado de los mismos.

En ciertas realizaciones, un nuevo inhibidor de RR como se divulga en el presente documento es:



45



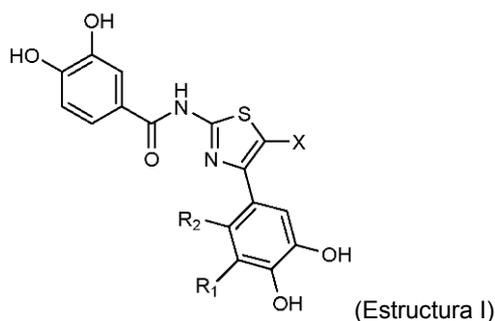
o una sal, solvato, estereoisómero o profármaco farmacéuticamente aceptable derivado de los mismos, en los que:

$R_1$  y  $R_2$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en grupos hidrógeno, alquilo y arilo;

5  $R_3$  se selecciona del grupo que consiste en grupos alquilo; y

X se selecciona del grupo que consiste en grupos Br, halógeno, alquilo y arilo.

En ciertas realizaciones, un inhibidor de RR como se divulga en el presente documento es:



o una sal, solvato, estereoisómero o profármaco farmacéuticamente aceptable o derivado del mismo, en el que

10 X se selecciona del grupo que consiste en halógeno, grupos alquilo sustituido y no sustituido y arilo sustituido y no sustituido;

$R_1$ - $R_2$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, OH, grupos alquilo sustituido y no sustituido, y arilo sustituido y no sustituido; y

$R_1$ - $R_2$  pueden combinarse para formar un anillo en el que el anillo es arilo o no arilo.

15 Como se usa en este documento, el término "halógeno" significa F, Cl, Br, I y At.

Los inhibidores de RR divulgados en el presente documento se dirigen específicamente a RRM2, inhibiendo la interacción entre RRM1 y RRM2 e inhibiendo la actividad del complejo RR. Por lo tanto, estos inhibidores se pueden usar para ciertos cánceres, incluidos los cánceres asociados con la sobreexpresión de RRM2 o para los que existe un índice terapéutico adecuado. Como se divulga en el presente documento, RRM2 se puede sobreexpresar en células de cáncer de mama frente a células normales, y la expresión de RRM2 exógeno aumenta el potencial invasivo de células cancerígenas. Se ha demostrado que los inhibidores divulgados en este documento inhiben el crecimiento de múltiples tipos de células cancerosas *in vitro*, apoyando el uso de estos inhibidores para tratar una amplia gama de cánceres.

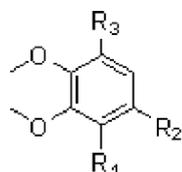
25 Estudios previos han demostrado que RRM2 está altamente expresado en células madre en el colon (Liu, 2006). En las primeras etapas del cáncer de colon, la expresión de RRM2 disminuye ligeramente. Sin embargo, la expresión de RRM2 aumenta significativamente una vez que el tumor se vuelve agresivo. Estos resultados respaldan los hallazgos en este documento de que la expresión de RRM2 se asocia con un aumento en la invasividad de las células cancerígenas.

Además, apoyan el uso de los inhibidores divulgados en este documento para inhibir el crecimiento o la proliferación de células madre que dan lugar al cáncer, previniendo o ralentizando así la aparición de ciertos tipos de cáncer.

Además del cáncer, los inhibidores divulgados en este documento se pueden usar para tratar otras afecciones asociadas con RR o la sobreexpresión de RR, tales como, por ejemplo, diversas enfermedades mitocondriales, relacionadas con redox o degenerativas. Además, los inhibidores pueden usarse para inhibir el crecimiento o la proliferación de células que expresan RR.

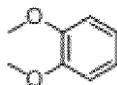
En este documento, en ciertas realizaciones, se proporcionan métodos para la síntesis a pequeña y gran escala de los inhibidores de RR de molécula pequeña divulgados en este documento. En ciertas de estas realizaciones, el inhibidor RR de molécula pequeña que se sintetiza es COH29. Los inhibidores de RR de molécula pequeña sintetizados usando los métodos proporcionados en este documento pueden purificarse mediante diversos métodos conocidos en la técnica. Las etapas de purificación específicas que pueden utilizarse incluyen, por ejemplo, precipitación, trituración, cristalización o técnicas cromatográficas tales como cromatografía sobre gel de sílice.

En ciertas realizaciones, se proporcionan métodos para la síntesis de COH29. En ciertas de estas realizaciones, el material de partida es un compuesto que tiene la estructura:

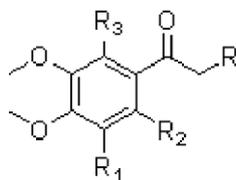


Estructura II

en la que R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son cada uno independientemente hidrógeno, un arilo sustituido o no sustituido o un alquilo sustituido o no sustituido. En ciertas de estas realizaciones, el compuesto del material de partida es veratrol (1,2-dimetoxibenceno), que tiene la estructura:

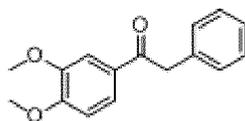


En ciertas realizaciones, la primera etapa en la síntesis de COH29 es la conversión del compuesto del material de partida en un primer compuesto intermedio que tiene la estructura:

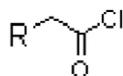


(Estructura III)

en la que R es un arilo sustituido o no sustituido, que incluye, por ejemplo, un fenilo, y R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son cada uno independientemente hidrógeno, un arilo sustituido o no sustituido o un alquilo sustituido o no sustituido. En ciertas de estas realizaciones, el primer compuesto intermedio es 1-(3,4-dimetoxifenil)-2-feniletanona, que tiene la estructura:

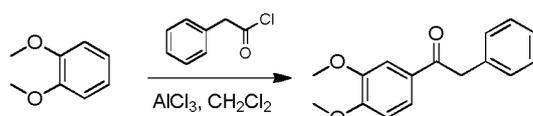


En ciertas realizaciones, el compuesto del material de partida se convierte en el primer compuesto intermedio añadiendo el compuesto del material de partida a una mezcla que comprende AlCl<sub>3</sub> anhidro en diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) y un compuesto que tiene la estructura:

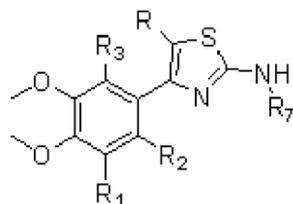


(Estructura IV)

en la que R es un arilo sustituido o no sustituido, incluyendo, por ejemplo, un fenilo. En ciertas realizaciones, el compuesto de Estructura IV es cloruro de fenilacetilo. En ciertas realizaciones, el primer compuesto intermedio se precipita a partir de las capas orgánicas combinadas, por ejemplo, usando diclorometano y/o hexanos. En ciertas realizaciones, la primera etapa de un método de síntesis de COH29 como se proporciona en el presente documento se resume de la siguiente manera:

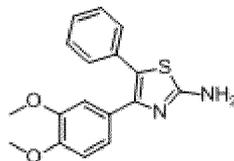


En ciertas realizaciones, la segunda etapa en la síntesis de COH29 es la conversión de un primer compuesto intermedio de Estructura III en un segundo compuesto intermedio que tiene la estructura:



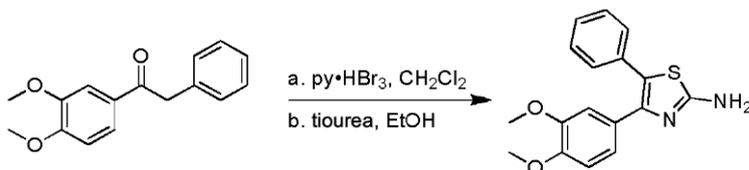
Estructura V

- 5 en la que R es un arilo sustituido o no sustituido, que incluye, por ejemplo, un fenilo, y R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>7</sub> son cada uno independientemente hidrógeno, un arilo sustituido o no sustituido o un alquilo sustituido o no sustituido. En ciertas de estas realizaciones, el segundo compuesto intermedio es 4-(3,4-dimetoxifenil)-5-feniltiazol-2-amina que tiene la estructura:

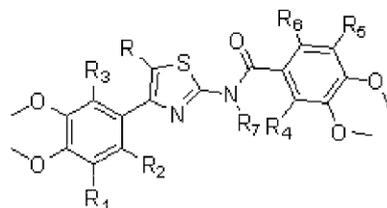


- 10 En ciertas realizaciones, el primer compuesto intermedio se convierte en el segundo compuesto intermedio resolviendo el primer compuesto intermedio y tribromuro de piridinio en diclorometano, seguido de lavado y secado. En ciertas realizaciones, la mezcla de reacción seca se mezcla a continuación con tiourea en etanol. En ciertas realizaciones, el producto resultante se puede concentrar, lavar y purificar por trituración y secado.

- 15 En ciertas realizaciones, la segunda etapa de un método de síntesis de COH29 como se proporciona en el presente documento se resume de la siguiente manera:

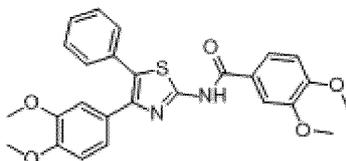


En ciertas realizaciones, la tercera etapa en la síntesis de COH29 es la conversión de un segundo compuesto intermedio de Estructura V en un tercer compuesto intermedio que tiene la estructura:



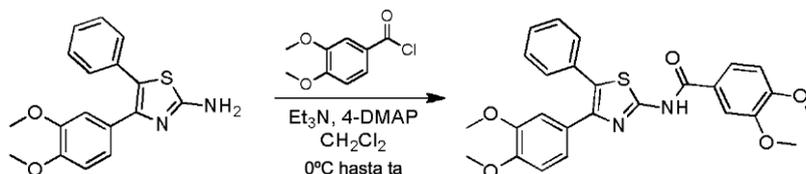
Estructura VI

- 20 en la que R es un arilo sustituido o no sustituido, que incluye, por ejemplo, un fenilo, y R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> son cada uno independientemente hidrógeno, un arilo sustituido o no sustituido o un alquilo sustituido o no sustituido. En algunas de estas realizaciones, el segundo compuesto intermedio es N-(4-(3,4-dimetoxifenil)-5-feniltiazol-2-il)-3,4-dimetoxibenzamida, que tiene la estructura:



En ciertas realizaciones, un segundo compuesto intermedio se convierte en un tercer compuesto intermedio añadiendo el segundo compuesto intermedio, 4-dimetilamino piridina, y Et<sub>3</sub>N a una solución de cloruro de ácido que contiene ácido 3,4-dimetoxibenzoico y dimetilformamida tratada con cloruro de tionilo. En ciertas realizaciones, la reacción puede interrumpirse con NaHCO<sub>3</sub>. En ciertas realizaciones, la suspensión resultante se puede extraer con diclorometano, y en algunas de estas realizaciones, el producto extraído se puede triturar usando hexanos.

En ciertas realizaciones, la tercera etapa de un método de síntesis de COH29 como se proporciona en la presente memoria se resume de la siguiente manera:



En ciertas realizaciones, la cuarta etapa en la síntesis de COH29 es la conversión de un tercer compuesto intermedio de Estructura VI en COH29. En algunas de estas realizaciones, el tercer compuesto intermedio se mezcla con tribromuro de boro en tolueno y, en algunas de estas realizaciones, la reacción se interrumpe con etanol, seguido de precipitación en agua. En ciertas realizaciones, el producto resultante se somete a una o más etapas de purificación. En ciertas de estas realizaciones, el producto se purifica usando un gel de sílice C-18, opcionalmente seguido de cristalización.

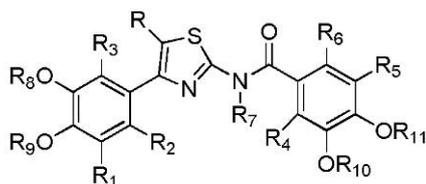
En ciertas realizaciones, la cuarta etapa de un método de síntesis de COH29 como se proporciona aquí se resume de la siguiente manera:



En ciertas realizaciones, la síntesis de COH29 da como resultado un rendimiento final del 50% o superior, y en algunas de estas realizaciones el rendimiento final es 60% o superior, 70% o superior, 80% o superior, o 90% o superior.

En ciertas realizaciones, se proporcionan métodos para la síntesis a gran escala de COH29 usando la ruta sintética expuesta en la Figura 26.

También se divulga que se proporciona un compuesto que tiene la fórmula:



Estructura VIA.

En la Estructura VIA, R es arilo sustituido o no sustituido. En realizaciones, R es fenilo no sustituido. R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> son independientemente hidrógeno, -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, oxo, halógeno, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, o heteroarilo sustituido o no sustituido. En realizaciones, R<sub>7</sub> no es -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, oxo o halógeno. R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub> y R<sub>11</sub> son independientemente un grupo protector de hidroxilo. R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se unen opcionalmente entre sí para formar un heterocicloalquilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, heterocicloalquilo de 5 miembros). R<sub>10</sub> y R<sub>11</sub> se unen opcionalmente entre sí para formar un heterocicloalquilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, heterocicloalquilo de 5 miembros). R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> también pueden ser independientemente hidrógeno, arilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, fenilo) o un alquilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>).

Cuando R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> o R<sub>7</sub> son un alquilo sustituido, heteroalquilo sustituido, cicloalquilo sustituido, heterocicloalquilo sustituido, arilo sustituido o heteroarilo sustituido, el sustituyente puede ser un grupo sustituyente, como se definió anteriormente. El sustituyente también puede ser un grupo sustituyente de tamaño limitado, como se definió anteriormente. El sustituyente también puede ser un grupo sustituyente inferior, como se definió anteriormente.

Cuando R es un arilo sustituido sustituido, el sustituyente puede ser un grupo sustituyente, como se definió anteriormente. El sustituyente también puede ser un grupo sustituyente de tamaño limitado, como se definió anteriormente. El sustituyente también puede ser un grupo sustituyente inferior, como se definió anteriormente.

En realizaciones,  $R_8$ ,  $R_9$ ,  $R_{10}$  y  $R_{11}$  son independientemente alquilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, alquilo  $C_1$ - $C_{10}$ ), heteroalquilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, heteroalquilo de 2 a 10 miembros), cicloalquilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, cicloalquilo  $C_3$ - $C_8$ ), heterocicloalquilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros), arilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, fenilo) o heteroarilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, heteroarilo de 5 o 6 miembros). En realizaciones,  $R_8$ ,  $R_9$ ,  $R_{10}$  y  $R_{11}$  son alquilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, alquilo  $C_1$ - $C_{10}$ ), heteroalquilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, heteroalquilo de 2 a 10 miembros) o arilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, fenilo). En realizaciones,  $R_8$ ,  $R_9$ ,  $R_{10}$  y  $R_{11}$  son independientemente un sililo sustituido. Un "sililo sustituido" como se usa en el presente documento, se refiere a un heteroalquilo sustituido en el que al menos uno de los heteroátomos es un átomo de silicio. El átomo de silicio puede estar directamente unido al átomo de oxígeno del hidroxilo que está protegido formando así un silil éter. En realizaciones, el sililo sustituido está sustituido con un alquilo no sustituido (por ejemplo, alquilo  $C_1$ - $C_5$ ), heteroalquilo no sustituido (por ejemplo, heteroalquilo de 2 a 5 miembros), cicloalquilo no sustituido (por ejemplo, cicloalquilo  $C_3$ - $C_6$ ), heterocicloalquilo no sustituido (por ejemplo, heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros), arilo no sustituido (por ejemplo, fenilo) o heteroarilo no sustituido (por ejemplo, heteroarilo de 5 o 6 miembros). En realizaciones, el sililo sustituido está sustituido con un alquilo no sustituido (por ejemplo, alquilo  $C_1$ - $C_5$ ), arilo no sustituido (por ejemplo, fenilo), o heteroarilo no sustituido (por ejemplo, heteroarilo de 5 o 6 miembros). En realizaciones relacionadas, el átomo de silicio del sililo sustituido está directamente unido al átomo de oxígeno del resto del compuesto formando así un silil éter.

Cuando  $R_8$ ,  $R_9$ ,  $R_{10}$  y  $R_{11}$  son un alquilo sustituido, heteroalquilo sustituido (por ejemplo, sililo sustituido), cicloalquilo sustituido, heterocicloalquilo sustituido, arilo sustituido o heteroarilo sustituido, el sustituyente puede ser un grupo sustituyente, como se definió anteriormente. El sustituyente también puede ser un grupo sustituyente de tamaño limitado, como se definió anteriormente. El sustituyente también puede ser un grupo sustituyente inferior, como se definió anteriormente.

$R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$  y  $R_7$  pueden ser también, independientemente, hidrógeno, -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, oxo, halógeno, alquilo sustituido o no sustituido con  $R_{17}$  (por ejemplo, alquilo  $C_1$ - $C_{10}$ ), heteroalquilo sustituido o no sustituido con  $R_{17}$  (por ejemplo, heteroalquilo de 2 a 10 miembros), cicloalquilo sustituido o no sustituido con  $R_{17}$  (por ejemplo, cicloalquilo  $C_3$ - $C_8$ ), heterocicloalquilo sustituido o no sustituido con  $R_{17}$  (por ejemplo, heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros), arilo sustituido o no sustituido con  $R_{17}$  (por ejemplo, fenilo) o heteroarilo sustituido o no sustituido con  $R_{17}$  (por ejemplo, heteroarilo de 5 o 6 miembros). En realizaciones,  $R_7$  no es -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, oxo o halógeno.  $R_8$  y  $R_9$  pueden estar unidos opcionalmente para formar un heterocicloalquilo sustituido o no sustituido con  $R_{18}$  (por ejemplo, heterocicloalquilo de 5 miembros).  $R_{10}$  y  $R_{11}$  pueden estar unidos opcionalmente para formar un heterocicloalquilo sustituido o no sustituido con  $R_{19}$  (por ejemplo, heterocicloalquilo de 5 miembros).  $R$  puede ser arilo sustituido o no sustituido con  $R_{19A}$ .  $R_8$ ,  $R_9$ ,  $R_{10}$  y  $R_{11}$  pueden ser alquilo sustituido o no sustituido con  $R_{19B}$  (por ejemplo, alquilo  $C_1$ - $C_{10}$ ), heteroalquilo sustituido o no sustituido con  $R_{19B}$  (por ejemplo, heteroalquilo de 2 a 10 miembros), cicloalquilo sustituido o no sustituido con  $R_{19B}$  (por ejemplo, cicloalquilo  $C_3$ - $C_8$ ), heterocicloalquilo sustituido o no sustituido con  $R_{19B}$  (por ejemplo, heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros), arilo sustituido o no sustituido con  $R_{19B}$  (por ejemplo, fenilo) o heteroarilo sustituido o no sustituido con  $R_{19B}$  (por ejemplo, heteroarilo de 5 o 6 miembros).

$R_{12}$ ,  $R_{13}$ ,  $R_{14}$ ,  $R_{15}$  y  $R_{16}$  pueden ser independientemente alquilo sustituido o no sustituido con  $R_{19C}$  (por ejemplo, alquilo  $C_1$ - $C_{10}$ ), heteroalquilo sustituido o no sustituido con  $R_{19C}$  (por ejemplo, heteroalquilo de 2 a 10 miembros), cicloalquilo sustituido o no sustituido con  $R_{19C}$  (por ejemplo, cicloalquilo  $C_3$ - $C_8$ ), heterocicloalquilo sustituido o no sustituido con  $R_{19C}$  (por ejemplo, heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros), arilo sustituido o no sustituido con  $R_{19C}$  (por ejemplo, fenilo) o heteroarilo sustituido o no sustituido con  $R_{19C}$  (por ejemplo, heteroarilo de 5 o 6 miembros).  $R_{12}$ ,  $R_{13}$ ,  $R_{14}$ ,  $R_{15}$  y  $R_{16}$  pueden ser independientemente alquilo sustituido o no sustituido con  $R_{19C}$  (por ejemplo, alquilo  $C_1$ - $C_{10}$ ), o arilo sustituido o no sustituido con  $R_{19}$  (por ejemplo, fenilo).

Cada  $R_{17}$ ,  $R_{18}$ ,  $R_{19}$ ,  $R_{19A}$ ,  $R_{19B}$  y  $R_{19C}$  son independientemente -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, oxo, halógeno, alquilo sustituido o no sustituido con  $R_{20}$  (por ejemplo, alquilo  $C_1$ - $C_{10}$ ), heteroalquilo sustituido o no sustituido con  $R_{20}$  (por ejemplo, heteroalquilo de 2 a 10 miembros), cicloalquilo sustituido o no sustituido con  $R_{20}$  (por ejemplo, cicloalquilo  $C_3$ - $C_8$ ), heterocicloalquilo sustituido o no sustituido con  $R_{20}$  (por ejemplo heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros), arilo sustituido o no sustituido con  $R_{20}$  (por ejemplo, fenilo), o heteroarilo sustituido o no sustituido con  $R_{20}$  (por ejemplo, heteroarilo de 5 o 6 miembros). Cada  $R_{20}$  es independientemente -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, oxo, halógeno, alquilo sustituido o no sustituido con  $R_{21}$  (por ejemplo, alquilo  $C_1$ - $C_{10}$ ), heteroalquilo sustituido o no sustituido con  $R_{21}$  (por ejemplo, de 2 a 10 miembros heteroalquilo), cicloalquilo sustituido o no sustituido con  $R_{21}$  (por ejemplo, cicloalquilo  $C_3$ - $C_8$ ), heterocicloalquilo sustituido o no sustituido con  $R_{21}$  (por ejemplo heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros), arilo sustituido o no sustituido con  $R_{21}$  (por ejemplo, fenilo) o heteroarilo sustituido o no sustituido con  $R_{21}$  (por ejemplo, heteroarilo de 5 o 6 miembros). Cada  $R_{21}$  es independientemente -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, oxo, halógeno, alquilo no sustituido (por ejemplo, alquilo  $C_1$ - $C_{10}$ ), heteroalquilo no sustituido (por ejemplo, heteroalquilo de 2 a 10 miembros), cicloalquilo no sustituido (por ejemplo, cicloalquilo  $C_3$ - $C_8$ ), heterocicloalquilo no sustituido (por ejemplo, heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros), arilo no sustituido (por ejemplo, fenilo) o heteroarilo no sustituido (por ejemplo, heteroarilo de 5 o 6 miembros).

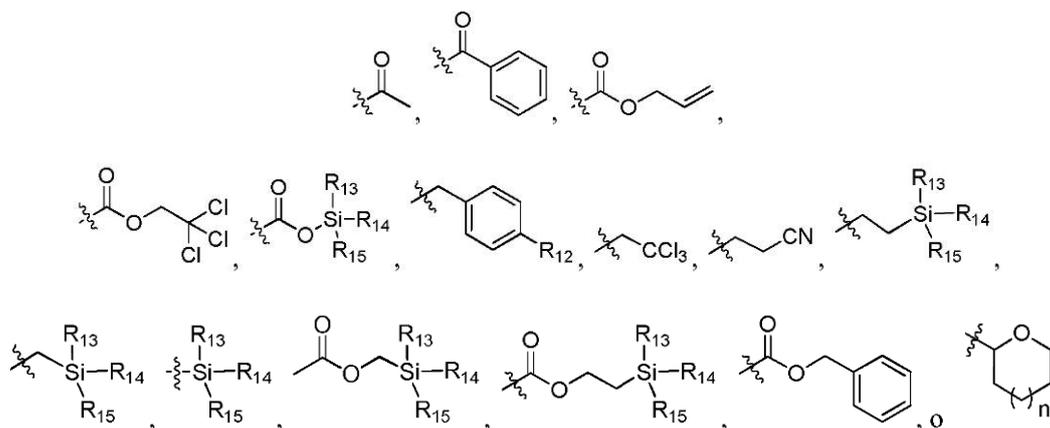
En realizaciones, cada  $R_{17}$ ,  $R_{18}$ ,  $R_{19}$ ,  $R_{19A}$ ,  $R_{19B}$  y  $R_{19C}$  son independientemente -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, oxo, halógeno, alquilo no sustituido (por ejemplo, alquilo  $C_1$ - $C_{10}$ ), heteroalquilo no sustituido (por ejemplo, heteroalquilo de 2 a 10 miembros), cicloalquilo no sustituido (por ejemplo, cicloalquilo  $C_3$ - $C_8$ ), heterocicloalquilo no sustituido (por ejemplo,

heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros), arilo no sustituido (por ejemplo, fenilo) o heteroarilo no sustituido (por ejemplo, heteroarilo de 5 o 6 miembros).

5 En realizaciones,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$  y  $R_7$  son independientemente hidrógeno, -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, oxo, halógeno, alquilo no sustituido (por ejemplo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>), heteroalquilo no sustituido (por ejemplo, heteroalquilo de 2 a 10 miembros), cicloalquilo no sustituido (por ejemplo, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>), heterocicloalquilo no sustituido (por ejemplo, heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros), arilo no sustituido (por ejemplo, fenilo) o heteroarilo no sustituido (por ejemplo, heteroarilo 5 o 6 de miembros). En realizaciones, al menos uno de  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$  y  $R_7$  es hidrógeno. En realizaciones, al menos dos de  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$  y  $R_7$  son hidrógeno. En realizaciones, al menos tres de  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$  y  $R_7$  son hidrógeno. En realizaciones, al menos cuatro de  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$  y  $R_7$  son hidrógeno. En realizaciones, al menos cinco de  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$  y  $R_7$  son hidrógeno. En realizaciones, al menos seis de  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$  y  $R_7$  son hidrógeno. En realizaciones,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$  y  $R_7$  son hidrógeno.

15 En realizaciones,  $R_8$ ,  $R_9$ ,  $R_{10}$  y  $R_{11}$  son independientemente alquilo no sustituido (por ejemplo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>), heteroalquilo no sustituido (por ejemplo, heteroalquilo de 2 a 10 miembros), cicloalquilo no sustituido (por ejemplo, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>), heterocicloalquilo no sustituido (por ejemplo, heterocicloalquilo 3 a 6 miembros), arilo no sustituido (por ejemplo, fenilo) o heteroarilo no sustituido (por ejemplo, heteroarilo de 5 o 6 miembros).

20 En realizaciones,  $R_8$ ,  $R_9$ ,  $R_{10}$  y  $R_{11}$  son independientemente un grupo protector de etileno activado, un grupo protector de bencil éter, un grupo protector de carbonato basado en silicio o un grupo protector de acetal cíclico. En realizaciones,  $R_8$ ,  $R_9$ ,  $R_{10}$  y  $R_{11}$  son metil bencilo, p-metoxibencilo, alilo, tritilo, p-metoxifenilo, tetrahidropiraniilo, metoximetilo, 1-etoxietilo, 2-metoxi-2-propilo, 2,2,2-tricloroetoximetilo, 2-metoxietoximetilo, 2-trimetilsililetoximetilo, metiltiometilo, trimetilsililo, trietilsililo, trisopropilsililo, trifenilsililo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo,



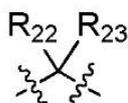
25 El símbolo  $n$  es 0 o 1.  $R_{12}$  es hidrógeno, -OH, -OR<sub>16</sub>, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, o heteroarilo sustituido o no sustituido. En realizaciones,  $R_{12}$  es hidrógeno, -OH, -OR<sub>16</sub> o alquilo sustituido o no sustituido. En realizaciones,  $R_{12}$  es hidrógeno.  $R_{16}$  es alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, o heteroarilo sustituido o no sustituido. En realizaciones,  $R_{16}$  es alquilo sustituido o no sustituido.  $R_{13}$ ,  $R_{14}$  y  $R_{15}$  son independientemente alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, o heteroarilo sustituido o no sustituido. En la realización,  $R_{13}$ ,  $R_{14}$  y  $R_{15}$  son independientemente alquilo sustituido o no sustituido o arilo sustituido o no sustituido.

35 Cuando  $R_{12}$ ,  $R_{13}$ ,  $R_{14}$ ,  $R_{15}$  y  $R_{16}$  es un alquilo sustituido, heteroalquilo sustituido, cicloalquilo sustituido, heterocicloalquilo sustituido, arilo sustituido o heteroarilo sustituido, el sustituyente puede ser un grupo sustituyente, como se definió anteriormente. El sustituyente también puede ser un grupo sustituyente de tamaño limitado, como se definió anteriormente. El sustituyente también puede ser un grupo sustituyente inferior, como se definió anteriormente.

En realizaciones,  $R_{12}$  es hidrógeno, metilo u -OCH<sub>3</sub>.  $R_{13}$ ,  $R_{14}$  y  $R_{15}$  pueden ser alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> no sustituido o fenilo no sustituido. En realizaciones,  $R_{13}$ ,  $R_{14}$  y  $R_{15}$  pueden ser alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> no sustituido.

40 En realizaciones,  $R$  es arilo no sustituido (por ejemplo, fenilo).  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$  y  $R_7$  pueden ser independientemente hidrógeno, arilo no sustituido (por ejemplo, fenilo) o alquilo no sustituido (por ejemplo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>).

45 En realizaciones,  $R_8$  y  $R_9$  se unen opcionalmente entre sí para formar un grupo protector de acetal y  $R_{10}$  y  $R_{11}$  se unen opcionalmente entre sí para formar un grupo protector de acetal. Se usa un "grupo protector de acetal" de acuerdo con su significado común en la técnica de la síntesis química, en la que se usa frecuentemente un grupo acetal para proteger fracciones hidroxilo de catecol. Un grupo protector de acetal puede tener la fórmula:



Estructura VIC.

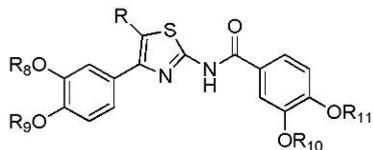
En la Estructura VIC,  $R_{22}$  y  $R_{23}$  son independientemente hidrógeno, alquilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, alquilo  $C_1$  a  $C_5$ , tal como metilo) o arilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, fenilo). El símbolo  $\sim$  representa el punto de unión a los átomos de oxígeno de catecol (es decir, átomos de oxígeno unidos a  $R_8$ ,  $R_9$  y  $R_{10}$  y  $R_{11}$ , respectivamente).

5

En realizaciones,  $R_{22}$  y  $R_{23}$  son independientemente hidrógeno, alquilo no sustituido (por ejemplo, alquilo  $C_1$  a  $C_5$ , tal como metilo) o arilo no sustituido (por ejemplo, fenilo). En algunas realizaciones,  $R_{22}$  y  $R_{23}$  son hidrógeno. En realizaciones,  $R_{22}$  y  $R_{23}$  son alquilo no sustituido (por ejemplo, alquilo  $C_1$  a  $C_5$ ). En realizaciones,  $R_{22}$  y  $R_{23}$  son metilo. En algunas realizaciones,  $R_{22}$  y  $R_{23}$  son arilo no sustituido (por ejemplo, fenilo). En realizaciones, el grupo protector de acetal es un acetal de difenilmetileno.

10

En realizaciones, el compuesto de Estructura VIA tiene la fórmula:



Estructura VIB.

En la Estructura VIB,  $R$ ,  $R_8$ ,  $R_9$ ,  $R_{10}$  y  $R_{11}$  son como se han definido anteriormente, incluyendo todas las realizaciones de las mismas. En realizaciones del compuesto de Estructura VIA o VIB,  $R$  es arilo no sustituido. En las realizaciones de la Estructura VIA o VIB,  $R$  es fenilo no sustituido.

15

En realizaciones, se proporciona una composición que incluye el compuesto de Estructura VIA o realizaciones de la misma, o la Estructura VIB o realizaciones de la misma, y un disolvente orgánico (por ejemplo, un disolvente no polar o un disolvente aprótico polar). En realizaciones, el disolvente orgánico es un disolvente no polar (por ejemplo, tolueno o 1,4-dioxano). En realizaciones, el disolvente orgánico es dioxano. En realizaciones, el disolvente orgánico es un disolvente aprótico polar (por ejemplo, acetona, dimetilformamida, acetonitrilo o dimetilsulfóxido). En realizaciones, el disolvente orgánico es dimetilformamida.

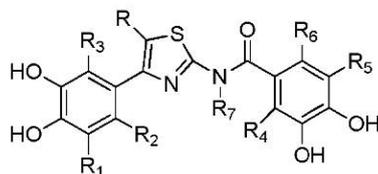
20

En realizaciones, se proporciona una composición que incluye el compuesto de Estructura VIA o realizaciones de la misma, o de Estructura VIB o realizaciones de la misma y un agente de desprotección de hidroxilo. El agente de desprotección de hidroxilo es un agente químico útil para eliminar un grupo protector de hidroxilo como se describe en este documento. Los agentes químicos útiles se seleccionan como agentes de desprotección de hidroxilo para minimizar la degradación del compuesto de la Estructura VIA y realizaciones de la misma, de la Estructura VIB y realizaciones de la misma y de la Estructura VID y realizaciones de la misma. En realizaciones, el agente de desprotección es un agente reductor, un agente ácido o un agente básico. En realizaciones, el agente de desprotección es tribromuro de boro, un aril metil éter, fluoruro de tetrabutilamonio, un agente reductor (por ejemplo, un agente reductor de paladio tal como hidrógeno/ $Pd/C$ ), un agente ácido metálico (por ejemplo,  $Zn$ /ácido tal como  $Zn$ /ácido acético o  $Zn/HCl$ ) o amoniaco.

25

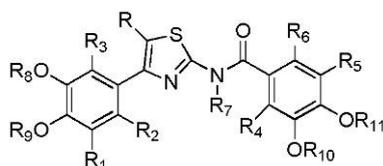
30

En ciertas realizaciones, se proporciona un método para sintetizar un compuesto que tiene la estructura:



Estructura VID

El método incluye poner en contacto un agente de desprotección de hidroxilo (como se describió anteriormente) con un compuesto que tiene la fórmula:



Estructura VIA

35

En la Estructura VIA y la Estructura VID,  $R$ ,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$ ,  $R_7$ ,  $R_8$ ,  $R_9$ ,  $R_{10}$  y  $R_{11}$  son como se han definido anteriormente, incluyendo todas las realizaciones. En realizaciones,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$  y  $R_7$  son independientemente hidrógeno, arilo sustituido o no sustituido o un alquilo sustituido o no sustituido.  $R_8$ ,  $R_9$ ,  $R_{10}$  y  $R_{11}$  pueden ser

independientemente un grupo protector de hidroxilo. R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se unen opcionalmente entre sí para formar un heterocicloalquilo sustituido o no sustituido. R<sub>10</sub> y R<sub>11</sub> se unen opcionalmente entre sí para formar un heterocicloalquilo sustituido o no sustituido.

#### Ejemplos

##### 5 Ejemplo 1: Confirmación de RRM2 como un objetivo para terapia contra el cáncer:

Se administró una construcción de la fusión RRM2-luciferasa ("pR<sub>2</sub>Luc") sola o en combinación con un ARNip de RRM2 ("siR<sub>2</sub>B + 5") mediante inyección hidrodinámica en la vena de la cola (HPTV) [plásmido 0,25 mg/kg, ARNip 1,25 mg/kg] a ratones hembra BALB/c implantados con células de cancerosas hepáticas HepG2 humanas. Las imágenes de bioluminiscencia *in vivo* revelaron una potente subregulación dentro de las células de cancerosas hepáticas de ratón durante varias semanas (Figura 1). Los ratones que recibieron RRM2 en combinación con ARNip de RRM2 exhibieron una disminución significativa en el crecimiento del tumor frente a los ratones que recibieron RRM2 solo o en combinación con ARNip de control ("siCONTROL"). Estos resultados sugieren que RRM2 juega un papel crítico en el crecimiento del cáncer y lo valida como un objetivo terapéutico.

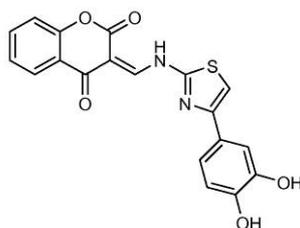
Se midieron los niveles de expresión de ARNm de RRM2 mediante RT-PCR en 35 biopsias frescas de cáncer de mama humano congelado y muestras de tejido normal correspondientes. Se determinaron las concentraciones óptimas de cebador y sonda de PCR de RRM2 y el gen de mantenimiento de β-actina para alcanzar la eficacia máxima durante la amplificación. La reacción de PCR se realizó en un volumen final de 20 μL, añadiendo 1 μL de ADNc de cada muestra usando la mezcla PCR Taqman (Applied Biosystems, Foster City, CA). Se observó un aumento significativo en la expresión de RRM2 en tejido de cáncer de mama frente a tejido normal correspondiente (p <0,05) (Figura 2A). Una transferencia Western reveló que los tejidos humanos normales diferentes a los de hígado fetal y testículos expresan niveles bajos de RRM2, mientras que las células cancerosas expresan niveles significativamente más altos de RRM2 (Figura 2B).

Células KB de cáncer de orofaringe humano (p53 de tipo silvestre) PC3 de cáncer de próstata humano (p53 truncado) se transfecaron con RRM2 sentido (KBM2 y PC3M2, respectivamente) y vector de control, y la sobreexpresión resultante de RRM2 se confirmó mediante análisis de inmunotransferencia Western. Los transfectantes se aplicaron a la capa superior de Matrigel en una cámara Borden. Después de 72 horas, las células que invadieron la capa inferior se fijaron con alcohol, se tiñeron con azul de metileno y se contaron y examinaron. Las células transfectadas con RRM2 exhibieron un mayor potencial invasivo en comparación con las células no transfectadas (Figura 3).

##### Ejemplo 2: identificación de nuevos inhibidores de RR:

Se sometió una biblioteca de compuestos diversos del Programa de Terapéuticas Experimentales (DTP) del NCI a un proceso de selección virtual para identificar posibles inhibidores de RR. La biblioteca DTP contiene 2.000 compuestos diferentes. Se seleccionó un novedoso bolsillo de unión del ligando en RRM2 humano identificado a partir de la estructura cristalina de rayos X (PDB 2UW2) para identificar posibles compuestos inhibidores que estaban muy cerca de la interfaz RRM1/RRM2, pero distantes del centro de ditirosil-dihierro para evitar efectos secundarios de la quelación del hierro. Este bolsillo de unión al ligando, que consiste en 32 residuos de aminoácidos conservados entre las familias de proteínas RRM2 humanas y de ratón, está muy cerca de la interfaz RRM1/RRM2. La estructura del bolsillo de unión del ligando se expone en la Figura 4. El bolsillo consiste en hélices α7, α8 y α10 en el dominio C-terminal. El extremo interior angosto del bolsillo en forma de V está alineado con residuos hidrófobos cerca de la parte posterior del centro de la agrupación de ditirosil-ihierro. Los residuos polares tales como D271, R330 y E334 que se encuentran cerca del extremo abierto del bolsillo pueden interactuar potencialmente con el C-terminal flexible. El bolsillo está alineado principalmente con residuos hidrófobos interiores con residuos cargados y expuestos a la superficie.

Los compuestos que se acoplaron al bolsillo de unión del ligando se identificaron usando la herramienta de acoplamiento TRIPOS FlexX y se clasificaron usando una puntuación de acoplamiento de consenso incorporada. Los 80 mejores candidatos de inhibidores de RR que exhibieron una afinidad de unión igual o mayor que la de 3-AP en la selección virtual se sometieron a una selección *in vitro* usando un ensayo conocido basado en holoenzima de semi alto rendimiento para determinar la potencia y selectividad de la subunidad de inhibidores de moléculas pequeñas (Shao, 2005). El ensayo utilizó el complejo RRM1/RRM2 recombinante o RRM1/RRM2 y midió la actividad de reducción de [<sup>3</sup>H] CDP (es decir, CDP a dCDP) por HPLC. Diez compuestos mostraron la capacidad de inhibir la actividad nativa RRM1/RRM2 en más del 50% *in vitro*, y cuatro de estos compuestos inhibieron la actividad de la enzima en un 80% o más. Tres de los cuatro compuestos que exhibían una inhibición ≥80% compartían un andamiaje estructural similar (NCI-3, NSC # 659390 y NSC # 45382), y también mostraron una mejor solubilidad y menor toxicidad que los otros compuestos probados. NCI-3 (dihidroxifeniltiazol, DHPT) tiene la siguiente estructura:



Se sintetizaron una serie de análogos de NCI-3 usando la estrategia expuesta en la Figura 5. Se desarrollaron 24 análogos adicionales de NCI-3 uniendo una variedad de grupos R al grupo de aminotiazol. Los compuestos generados de esta manera incluyen COH1, COH2, COH4, COH20 y COH29.

#### 5 Ejemplo 3: Caracterización de nuevos análogos de NCI-3:

La capacidad de NCI-3 y los análogos de NCI-3 sintetizados en el Ejemplo 2 para inhibir la actividad de RR se analizó usando el ensayo de holo enzima *in vitro* descrito anteriormente. COH4 exhibió una inhibición significativa de RR. COH20 fue incluso más eficaz, causando 90,2% de inhibición del complejo recombinante RRM1/RRM2 *in vitro* (Figura 6). Los resultados de  $IC_{50}$  para diversos compuestos se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1:

Compuesto	$IC_{50} \pm S,D, (\mu M)$
HU	$148,0 \pm 7,34$
3-AP	$1,2 \pm 0,13$
NCI-3	$19,1 \pm 0,43$
COH4	$15,3 \pm 1,8$
COH20	$9,3 \pm 2,3$

En marcado contraste con 3-AP, la inhibición de RR por COH20 prácticamente no se vio afectada por la adición de hierro (Tabla 2).

Tabla 2:

	$IC_{50} \pm S.D. (\mu M) RRM1/RRM2$
COH20 solo	$9,31 \pm 2,3$
Complejo COH20-Fe	$9,12 \pm 1,9$
Complejo COH20-Fe con adición de Fe	$10,41 \pm 2,1$

Se llevaron a cabo mutagénesis dirigida al sitio, análisis Biacore y análisis de diferencia de transferencia de saturación (STD) de RMN para validar la interacción del bolsillo de unión y el ligando/proteína entre COH20 y RRM2. Se generaron mutantes puntuales RRM2 mutando ciertos residuos clave en el bolsillo de unión. Estos residuos incluyen Y323, D271, R330 y E334, cada uno de los cuales está cargado y reside en la superficie del bolsillo de unión, y G233, que se encuentra en el fondo del bolsillo. La atenuación de la inhibición en estos mutantes confirmó la participación de los residuos mutados en la unión del ligando y validó el bolsillo de unión. Curiosamente, la única mutación que no atenuó la inhibición fue G233V. Esto sugiere la presencia de una bolsillo hidrófobo que se estabiliza mediante la introducción de una cadena lateral de valina.

Para confirmar que la capacidad de COH20 para inhibir la actividad de RR no era específica del RR recombinante, se realizó un ensayo que prueba el efecto del COH20 sobre el RR intracelular. Las células KB tratadas con 10  $\mu M$  de COH20 se lisaron y la proteína se extrajo en un regulador con alto contenido de sal y se pasó a través de una columna Sefadex G25 para eliminar moléculas pequeñas tales como dNTP. El eluato se mezcló con [ $^3H$ ] CDP en regulador de reacción para controlar la actividad de RR. El tratamiento con COH20 disminuyó la actividad RR intracelular en aproximadamente un 50% (Figura 7). El tratamiento con COH20 no tuvo ningún efecto sobre los niveles de proteína

RRM2 medida por transferencia Western, lo que indica que el efecto de COH20 en la actividad de RR no se debe a una disminución en la expresión de RRM2.

Se midieron grupos de dNTP de células KB mediante un ensayo de plantilla de polimerasa después del tratamiento con 10  $\mu\text{M}$  de COH20. Los sedimentos celulares pre y post tratamiento se mezclaron con 100  $\mu\text{L}$  de ácido tricloroacético al 15%, se incubaron en hielo durante diez minutos y se centrifugaron a alta velocidad durante cinco minutos. Los sobrenadantes se recogieron y se extrajeron con dos alícuotas de 50  $\mu\text{L}$  de freón/trioctilamina (55%/45%) para neutralizar el ácido tricloroacético. Después de cada adición, las muestras se centrifugaron a alta velocidad y se recogió el sobrenadante. Se usaron dos alícuotas de 5  $\mu\text{L}$  (una para cada duplicado) de cada muestra para verificar las concentraciones de dATP, dCTP, dGTP y dTTP. La mezcla de reacción en cada tubo contenía Tris-HCl 50 mM pH 7,5, MgCl 10 mM, DTT 5 mM, plantilla/cebador 0,25 mM,  $^3\text{H}$ -dATP 1,25  $\mu\text{M}$  (para el ensayo dCTP) o  $^3\text{H}$ -dTTP (para el ensayo dATP) y 0,3 unidades de Sequenase (2,0) en un volumen total de 50  $\mu\text{L}$ . La síntesis de ADN se dejó avanzar durante 20 minutos a temperatura ambiente. Después de la incubación, se colocaron 40  $\mu\text{L}$  de cada mezcla de reacción sobre un papel Whatman DE81 de intercambio de iones (2,4 cm de diámetro). Los papeles se secaron durante 30-60 minutos a temperatura ambiente, se lavaron con  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  al 5% (3 X 10 minutos) y se enjuagaron una vez con agua destilada y una vez más con etanol al 95%. Cada papel se secó y se depositó en un pequeño vial, y se añadieron 5 mL de fluido de centelleo a cada vial. Los dNTP marcados con tritio se contaron usando un contador de centelleo líquido y se compararon con los estándares preparados a 0,25, 0,5, 0,75 y 1,0 pmol/ $\mu\text{L}$  de dNTP. Para comparación, se llevaron a cabo conjuntos de reacciones por duplicado con inhibidores recién añadidos. Se encontró que COH20 disminuye las agrupaciones dATP, dCTP, dGTP y dTTP en las células KB, lo que indica que la inhibición de RR da como resultado una disminución concomitante en la producción de dNTP (Figura 8). Se realizarán experimentos similares usando otras líneas celulares.

Se evaluó la citotoxicidad *in vitro* de COH4 y COH20 hacia células REH y MOLT-4 de leucemia humana, células LNCaP de cáncer de próstata humana, células KB de cáncer de orofaringe humana y células NHDF de fibroblastos normales usando un ensayo MTT. Se sembraron 5.000 células en placas de seis pozos durante 72 horas con diversas concentraciones de fármaco. El COH20 era citotóxico para las líneas celulares cancerosas a menos de 10  $\mu\text{M}$ , mientras que causaba menos citotoxicidad para las células normales que el 3-AP. Los resultados se resumen en la Tabla 3. Los resultados para LNCaP, KB y NHDF se muestran en las Figuras 9-11. Según el amplio rango de tipos de células cancerosas contra las cuales COH20 presenta citotoxicidad, se espera que COH20 sea citotóxico para una variedad de tipos adicionales de células cancerosas, incluyendo cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer de pulmón, melanoma, leucemia y células de linfoma.

Tabla 3 :

Línea celular	IC50 ( $\mu\text{M}$ )			
	COH20	COH4	3-AP	HU
REH	2,54	20,6	1,42	32,8
MOLT-4	5,26	11,85	1,21	165
LNCaP	8,49	22,96	1,75	280
KB	9,25	30,6	1,98	300
NHDF	82,8	52,6	7,35	>1000

Se repitieron los ensayos de citotoxicidad *in vitro* usando KBHUR, un clon resistente a HU derivado de células KB que sobreexpresa RRM2. COH20 fue citotóxico para KBHUR a concentraciones significativamente más bajas que los otros inhibidores de RR analizados, lo que confirma que COH20 es capaz de superar la resistencia a HU (Figura 12). Además, se encontró que COH20 era citotóxico para KBMDR, un clon de KB que sobreexpresa la bomba MDR en la membrana celular, a concentraciones más bajas que 3-AP o HU (Figura 13). Un ensayo de proliferación en tiempo real confirmó que COH20 también inhibe la proliferación celular en células KBMDR (Figura 14). Experimentos similares se repetirán utilizando la línea celular resistente KBGem a gemcitabina, que también sobreexpresa RRM2. Con base en los resultados con otras líneas celulares, se espera que el COH20 también presente citotoxicidad e inhibición del crecimiento hacia KBGem.

La citotoxicidad *in vitro* de COH29 frente a un panel de líneas celulares de cáncer humano se probó usando el ensayo de MTT descrito anteriormente. COH29 inhibió significativamente el crecimiento en una amplia gama de tipos de células cancerosas, con una  $\text{IC}_{50}$  de menos de aproximadamente 10  $\mu\text{M}$  en todos los tipos de células analizadas, excepto para cáncer de colon HT29, melanoma UACC-257, cáncer de ovario NCI/ADR-RES y cáncer renal CAKI-1 (Figuras 20-24). Los resultados representativos se resumen en la Tabla 4.

Tabla 4:

Línea celular	IC <sub>50</sub>
Leucemia CCRF-CEM	2.8 µM
Leucemia MOLT-4	2.5 µM
Leucemia SUP B15	5.0 µM
Cáncer de ovario OV 90	2.6 µM

Se realizaron citometría de flujo y tinción con anexina en células KB tratadas con COH20 a 9 o 27 µM o 3-AP a 3 µM durante 24 horas. Estos resultados mostraron que el tratamiento con COH20 detiene las células en la fase S de una manera dependiente de la dosis (Figura 15, panel superior). Después del tratamiento con COH20 durante 72 horas, la tinción con anexina mostró una muerte celular significativa, que indica apoptosis (Figura 15, panel inferior). COH20 indujo apoptosis con aproximadamente la misma potencia que 3-AP.

Se inyectó COH20 en tres ratos macho a razón de 1 mg/kg para la evaluación farmacocinética de dosis única. Se descubrió que la eliminación de COH20 del plasma es triexponencial, con una fase de disminución inicial rápida (posible distribución tisular o absorción hepática) seguida de una fase intermedia (distribución y eliminación combinadas) y una fase terminal (eliminación) más lenta (Figura 16). La semivida terminal ( $T_{1/2}$ ) fue de aproximadamente 5,5 horas. Se realizarán estudios farmacocinéticos más detallados con varias dosis de COH20 para establecer parámetros como eliminación, biodisponibilidad y los coeficientes de partición en tejido/plasma.

La evaluación farmacocinética se realizó en COH29 usando las mismas técnicas, con COH29 administrado a una dosificación de 25 mg/kg. Los resultados del análisis por triplicado se resumen en la Tabla 5. Los cálculos del área bajo la curva (AUC) mostraron que el COH29 actúa de una manera dependiente de la dosis cuando se administra por i.v. en bolo (Figura 25).

Tabla 5:

	C <sub>máx</sub> (ng/mL)	T <sub>máx</sub> (h)	AUC (ng*h/mL)	CL (mL/(h*kg))	V <sub>ss</sub> (mL/kg)	T <sub>1/2</sub> (h)
1	31300	0,03	3668	6816	1185	0,4
2	26000	0,03	2861	8738	576	7,6
3	25600	0,03	3918	6381	653	0,03
Promedio	27633	0,03	3482	7312	804	2,67
SD	1837	--	319	724	191	2,45

Para determinar la dosis máxima tolerada de COH20, se administró COH20 a ratones por vía intravenosa con dosis que varían de 10 a 160 mg/kg. Aparte de un ratón que murió en el grupo de 160 mg/kg, el peso corporal se mantuvo estable para todos los grupos de tratamiento, lo que indica que COH20 es un compuesto tolerable con toxicidad mínima (Figura 17). No hubo evidencia de quelación de hierro letal o inducción de metahemoglobulina, lo que indica además que COH20 no tiene efectos secundarios significativos de quelación de hierro.

Se usó un instrumento Biacore T100 para estudiar la interacción ligando-proteína entre COH20 o 3-AP y RRM2. Se aisló RRM2 de tipo silvestre y se inmovilizó sobre chips sensores CM4 usando métodos de acoplamiento estándar de aminas a 25°C y un caudal de 10 µL/minuto. Específicamente, las superficies de carboximetil dextrano de las celdas de flujo se activaron con una inyección de 7 minutos de una relación 1:1 (N-etil-N0-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) de 0,4 M y N-hidroxisuccinimida (NHS) 0,1 M. Se diluyó RRM2 en 10 mM de acetato sódico, pH 4,5, a 25 µg/mL y se inyectó sobre celdas de flujo objetivo para inmovilización objetivo de 8000RU. Se inyectó acetato de sodio 10 mM, pH 4,5 en la celda de flujo de referencia para la inmovilización del blanco. La superficie activada restante se bloqueó con una inyección de 7 min de etanolamina-HCl 1M, pH 8,5. Se usó solución salina regulada con fosfato (PBS) como regulador de prueba durante la inmovilización. Se disolvieron COH20 y 3-AP en DMSO para preparar una solución patrón de 100 mM Después, los compuestos se diluyeron en serie en regulador de prueba (PBS, DMSO al 1,5%, carboximetil dextrano 10 veces, metil-6-O-(N-heptilcarbamoil)-α-D-glucopiranosido al 0,002%) a las concentraciones de

prueba apropiadas. Las muestras se inyectaron sobre la celda de flujo de referencia y la celda de flujo objetivo (con RRM2 inmovilizado) a un caudal de 60  $\mu\text{L}/\text{min}$  a 25°C. Se midieron la asociación y la disociación durante 180 segundos y 60 segundos, respectivamente. Todos los compuestos se probaron por triplicado a cinco concentraciones diferentes. Las series de concentración para cada compuesto se realizaron al menos dos veces. Dentro de una serie dada de concentraciones de compuestos, las muestras se tomaron aleatoriamente para minimizar los errores sistemáticos. Entre muestras, el chip sensor se regeneró mediante inyección de SDS al 0,3% durante 30 segundos. Los resultados mostraron una interacción significativa entre COH20 y RRM2, pero no entre COH20 y 3-AP (Figura 18).

El Biacore T100 también se usó para analizar la capacidad de COH20 para interferir con la unión de RRM2 a RRM1. Se inyectaron concentraciones fijas de RRM1 (1  $\mu\text{M}$ ) en ausencia y presencia de serie de concentración diluidas dos veces de COH20 (3,125-25  $\mu\text{M}$ ) sobre una celda de flujo de referencia y una celda de flujo objetivo (con RRM2 inmovilizado) a un caudal de 30  $\mu\text{L}/\text{min}$  a 25°C. La asociación y la disociación se midieron durante 90 segundos y 60 segundos, respectivamente. Las pruebas de los duplicados se realizaron usando las mismas condiciones. Entre las muestras, el chip sensor se regeneró mediante inyección de SDS al 0,3%,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,2 M durante 30 segundos. Se encontró que COH20 interrumpe la interacción RRM1/RRM2 en la interfaz (Figura 19).

La eficacia citotóxica de COH20 se probará *in vivo* utilizando un modelo de xenoinjerto de ratón. Los modelos de tumor de xenoinjerto se crearán utilizando líneas celulares de cáncer humano tales como KB, KBHUR y KBGem. Para el establecimiento del modelo de xenoinjerto KB, se inyectarán  $1-5 \times 10^6$  células KB en un volumen de 0,1 mL de solución salina en el flanco trasero derecho de ratones hembra desnudos de 5-6 semanas de edad. El volumen tumoral se controlará dos veces por semana con calibradores digitales. Cuando el volumen tumoral alcanza aproximadamente 100-160  $\text{mm}^3$ , los ratones se dividirán en grupos de diez, de modo que la mediana y el peso corporal medio y el volumen tumoral sean aproximadamente los mismos para todos los ratones dentro de un grupo. COH20 se administrará ya sea 1) solo en una dosis única para determinar la dosificación efectiva, 2) solo en diversos intervalos para un estudio de programación, o 3) en combinación con agentes terapéuticos conocidos contra el cáncer tales como agentes quimioterapéuticos. Durante un período de seguimiento de aproximadamente cuatro semanas, se analizarán los cambios en el crecimiento de las células tumorales, el peso corporal, la disfunción de los órganos y los efectos secundarios quelantes de hierro en diversos momentos. Después del período de monitoreo, se sacrificará a los ratones y se analizarán los tejidos, el tumor y el plasma por examen visual e histológico. Con base en la citotoxicidad de COH20 hacia diversas líneas celulares de cáncer *in vitro*, se espera que los ratones tratados con COH20 exhiban mayores tasas de supervivencia, disminución del crecimiento tumoral y menos efectos secundarios relacionados con el tumor (por ejemplo, pérdida de peso, disfunción orgánica).

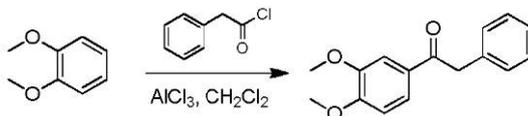
La estructura de los análogos de NCI-3 tales como COH20 y COH29 puede refinarse y optimizarse generando diversos análogos y analizando su unión a RRM2 y al complejo RRM1/RRM2 usando estudios de mutagénesis dirigida al sitio, análisis Biacore y experimentos de STD por RMN. Se pueden realizar estudios de cristalografía de rayos X para determinar la estructura tridimensional del complejo COH20-RRM2. Con estas herramientas, se pueden generar inhibidores de RR adicionales con mayor potencia, mayor selectividad y menor toxicidad.

Como se mostró anteriormente, el RRM2 mutante G233V mejoró la actividad inhibitoria de COH20. Se cree que interacciones hidrófobas adicionales entre la cadena lateral de valina y el ligando unido contribuyen a mejorar la unión y la inhibición, lo que sugiere que una cadena lateral hidrófoba adicional que se extiende desde COH20 podría optimizar la afinidad de unión. Por lo tanto, los análogos de COH20 que contienen estas cadenas laterales hidrófobas (por ejemplo, COH1, COH2, COH4, COH29, compuestos que tienen la Estructura I, y compuestos seleccionados del Grupo I) también son probablemente inhibidores de RR.

Ejemplo 4: Síntesis y purificación de COH29:

COH29 se sintetizó usando la ruta de síntesis descrita en la Figura 26.

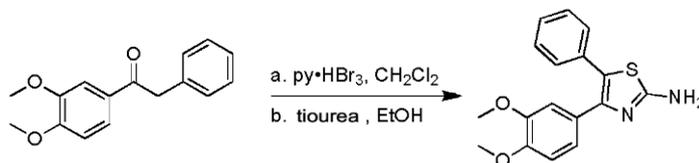
Etapa 1: Conversión de 1,2-dimetoxibenceno (veratrol) en 1-(3,4-dimetoxifenil)-2-feniletanona (Compuesto intermedio 1):



El compuesto intermedio 1 se sintetizó en un recipiente de reacción equipado con un burbujeador desfogado a una trampa de dedos fría. Se añadió gota a gota cloruro de fenilacetilo (151 mL, 1,12 mol) durante 30 minutos a una suspensión en agitación de  $\text{AlCl}_3$  anhidro (161 g, 1,21 mol) en diclorometano (DCM;  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 600 mL) a 0°C en una atmósfera de nitrógeno. Se añadió gota a gota veratrol (129 mL, 1,00 mol) durante seis horas, manteniendo la temperatura interna por debajo de 10°C. Una vez completada la adición, se retiró el baño de enfriamiento. Después de 16 horas a temperatura ambiente, la reacción se enfrió a 0°C y se inactivó por adición gota a gota de HCl 2 N (700 mL) mientras se mantenía la temperatura interna por debajo de 20°C. La capa orgánica se lavó con agua (600 mL) y  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado (500 mL), se filtró a través de Celite y se concentró a presión reducida hasta aproximadamente 400 mL de volumen total. Se añadieron hexanos (1,7 L) y el producto se precipitó con agitación

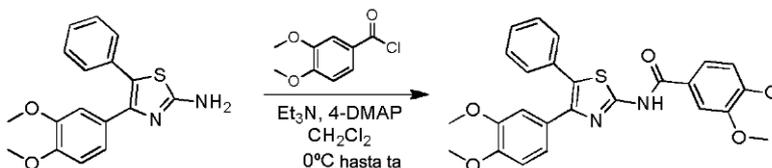
vigorosa. El sólido resultante se filtró y la torta del filtro se lavó con hexanos (2 x 250 mL). El sólido se secó al vacío a 50°C para producir 1-(3,4-dimetoxifenil)-2-feniletanona (Compuesto intermedio 1; 213 g, 831 mmol, 83% de rendimiento) en forma de un sólido de color blanquecino.

5 Etapa 2: Conversión del Compuesto intermedio 1 en 4-(3,4-dimetoxifenil)-5-feniltiazol-2-amina (Compuesto intermedio 2):



10 El compuesto intermedio 2 se sintetizó en un recipiente de reacción equipado con un burbujeador que desfoga en una trampa de dedo frío. El Compuesto intermedio 1 (213 g, 831 mmol) y el tribromuro de piridinio (315 g, 886 mmol) se disolvieron en DCM (1,2 L) bajo atmósfera de nitrógeno. Después de cinco horas a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo y se inactivó con agua (750 mL) mientras se mantenía la temperatura interna por debajo de 20°C. La capa orgánica se lavó con agua (750 mL) y se concentró hasta sequedad. La suspensión resultante se recogió en etanol (1,2 L) y se enfrió a 20°C, y se añadió tiourea (114 g, 1,48 mol). Tras completar la adición, la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La reacción se concentró a presión reducida y la suspensión resultante se repartió entre EtOAc (1,0 L) y NaOH 2 N (800 mL). La emulsión se dejó separar, y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (750 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (250 mL) y se concentraron a presión reducida. El sólido resultante se trituró con Et<sub>2</sub>O (1,5 L) y se filtró, y la torta del filtro se lavó con Et<sub>2</sub>O (200 mL). El producto se secó al vacío a 50°C para producir 4-(3,4-dimetoxifenil)-5-feniltiazol-2-amina (Compuesto intermedio 2; 230 g, 736 mmol, rendimiento del 89% para 2 etapas) en forma de un sólido de color marrón.

20 Etapa 3: Conversión del Compuesto intermedio 2 en N-(4-(3,4-dimetoxifenil)-5-feniltiazol-2-il)-3,4-dimetoxibenzamida (Compuesto intermedio 3):



25 Se sintetizó el Compuesto intermedio 3 en un recipiente de reacción equipado con un burbujeador que desfoga en una trampa de dedo frío. Se añadió cloruro de tionilo (100 mL, 1,36 mol) gota a gota durante dos horas a una solución enfriada de ácido 3,4-dimetoxibenzoico (250 g, 1,36 mol) en dimetilformamida (DMF; 20 mL) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1,0 L) mientras manteniendo una temperatura interna por debajo de 15°C. Después de completar la adición, la reacción se agitó durante tres horas a temperatura ambiente, luego se concentró a sequedad a presión reducida. Se añadió cloruro de ácido (164 g, 818 mmol, 1,5 eq) en porciones a una suspensión en agitación del Compuesto intermedio 2 (170 g, 545 mmol), 4-dimetilaminopiridina (4-DMAP; 6,73 g, 54,5 mmol, 10% en moles) y Et<sub>3</sub>N (384 mL, 2,73 moles) en DMF (1,0 L) en atmósfera de nitrógeno, manteniendo una temperatura interna inferior a 20°C. La reacción se agitó durante 15 horas a temperatura ambiente, luego se adicionó en porciones el cloruro de ácido restante (112 g, 545 mmol). Después de seis horas a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se inactivó con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (500 mL), se lavó con agua (500 mL) y se concentró a presión reducida. El producto se purificó por cromatografía ultrarrápida (MeOH al 0-5%/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Las fracciones cromatográficas combinadas se concentraron hasta sequedad a presión reducida. El sólido se secó al vacío a 50°C para producir N-(4-(3,4-dimetoxifenil)-5-feniltiazol-2-il)-3,4-dimetoxibenzamida (Compuesto intermedio 3; 245 g, 515 mmol, 70%) en forma de un sólido de color blanquecino.

Etapa 4: Conversión del Compuesto intermedio 3 en COH29:



40 COH29 se sintetizó en un recipiente de reacción equipado con un burbujeador que desfoga en una trampa de dedo fría. Se añadió lentamente tribromuro de boro (BBr<sub>3</sub>; 191 mL, 1,98 mol) a una solución en agitación del Compuesto intermedio 3 (245 g, 515 mmol) en tolueno (1,2 L) en atmósfera de nitrógeno, manteniendo la temperatura interna por debajo de 15°C. Tras completar la adición, la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante cinco horas. La mezcla de reacción se enfrió y se inactivó lentamente con EtOH (800 mL) mientras se mantenía la

temperatura interna por debajo de 20°C. Una vez completada la adición, la solución se agitó durante dos horas a temperatura ambiente y se concentró a presión reducida. El sólido resultante se trituroó con DCM (1,0 L) y se filtró, y la torta del filtro se lavó con DCM (100 mL). El sólido resultante se recogió en EtOH caliente (400 mL) y se añadió lentamente al agua (2,4 L) para inducir la precipitación. La suspensión resultante se agitó durante dos horas a temperatura ambiente y se filtró, y la torta del filtro se lavó con agua (200 mL). Este proceso de trituración se repitió tres veces más para proporcionar un sólido blanquecino. El sólido resultante se secó a 50°C al vacío durante 24 horas, luego a 125°C al vacío durante 24 horas para producir COH29 (118 g, 281 mmol, 55%)

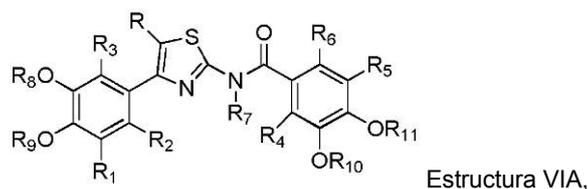
#### Referencias

1. Angus, S.P., et al. 2002. *J Biol Chem* 277: 44376-44384.
- 10 2. Berge et al. 1977. *J Pharm Sci* 66: 1-19.
3. Chabes, A.L., et al. 2004. *J Biol Chem* 279: 10796-10807.
4. Chang, C.H, Cheng, Y.C. 1979. *Cancer Res* 39: 5081-5086.
5. Chen, S-Y., et al. 2000. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev* 10: 111-116.
6. Cooperman, B.S., Kashlan, O.B. 2003. *Adv Enzyme Regul* 43: 167-182.
- 15 7. Cory, J.G., Sato, A. 1983. *Mol Cell Biochem* 53-54: 257-66.
8. Currie, R.A. 1998. *J Biol Chem* 273: 1430-1434.
9. Elledge, S.J., Davis, R.W. 1990. *Genes Dev* 4: 740-751.
10. Fan, H., et al. 1997. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 13181-13186.
11. Fan, H., et al. 1998. *Cancer Res* 58: 1650-1653.
- 20 12. Filatov, D., Thelander, L. 1995. *J Biol Chem* 270: 25239-25243.
13. Goan, Y.G., et al. 1999. *Cancer Res* 59: 4204-4207.
14. Guittet, O., et al. 2001. *J Biol Chem* 276: 40647-40651.
15. Huang, A., et al. 1997. *Cancer Res* 57: 4876-4881.
16. Jordan, A., Reichard, P. 1998. *Annu Rev Biochem* 67: 71-98.
- 25 17. Kimura, T., et al. 2003. *Nature Genetics* 34: 440-445.
18. Kuschak, T.I., et al. 2002. *Gene (Amst.)* 238: 351-365.
19. Lassmann, G., et al. 1992. *Biochem Biophys Res Commun* 188: 879-887.
20. Le, N.T., Richardson, D.R. 2002. *Biochim Biophys Acta* 1603: 31-46.
21. Liu, X., et al. 2004. *Biochem Pharmacol* 67: 1499-1511.
- 30 22. Liu, X., et al. 2005. *Biochem Pharmacol* 70: 1288-1297.
23. Liu, X., et al. 2006. *Clin Cancer Res* 12: 6337-6344.
24. Lozano, G., Elledge, S.J. 2000. *Nature* 404: 24-25.
25. Nakano, K. et al. 2000. *Oncogene* 19: 4283-4289.
26. Nocentini, G. 1996. *Crit Rev Oncol Hematol* 22: 89-126.
- 35 27. Nyholm, S., et al. 1993. *Biochemistry* 32: 11569-11574.
28. Ochiai, E., et al. 1990. *J Biol Chem* 265: 15758-15761.
29. Remington, 2000, *The Science and Practice of Pharmacy* (Gennaro ed., vigésima edición, Williams & Wilkins PA, EE.UU.).
30. Shao, J., et al. 2005. *Biochem Pharmacol* 69: 627-634.
- 40 31. Tanaka, H., et al. 2000. *Nature* 404: 42-49.

32. Thelander, L., Berg, P. 1998. *Mol Cell Biol* 6: 3433-3442.
33. Wright, J.A., et al. 1990. *Biochem Cell Biol* 68: 1364-1371.
34. Xue, L., et al. 2007. *Cancer Res* 63: 980-986.
35. Yamaguchi, T., et al. 2001. *Cancer Res* 61: 8256-8262.
- 5 36. Yen, Y., et al. 1994. *Cancer Res* 54: 3686-3691.
37. Zhou, B.S., et al. 1995. *Cancer Res* 55: 1328-1333.
38. Zhou, B.S., et al. 1998. *Clin Exp Metastasis* 16: 43-49.
39. Zhou, B., et al. 2003. *Cancer Res* 63: 6583-6594.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula:



o una sal de la misma,

5 en la que,

R es arilo sustituido o no sustituido,

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> son independientemente hidrógeno, arilo sustituido o no sustituido, o un alquilo sustituido o no sustituido; y

R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub> y R<sub>11</sub> son independientemente alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> no sustituido.

10 2. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal del mismo,

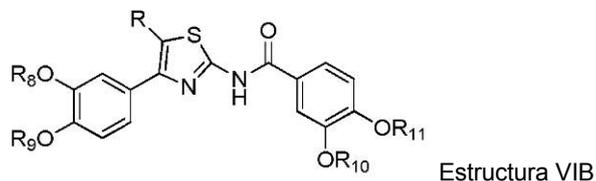
en el que

R es arilo no sustituido,

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> son independientemente hidrógeno, arilo no sustituido o alquilo no sustituido.

3. El compuesto de una de las reivindicaciones 1 o 2, en el que R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub> y R<sub>11</sub> son cada uno metilo.

15 4. El compuesto de una de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo, que tiene la fórmula:

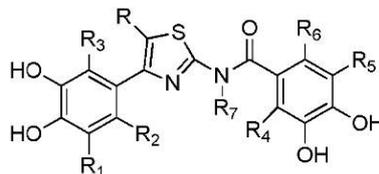


5. Una composición que comprende el compuesto de una de las reivindicaciones 1 a 4, o una sal del mismo, y un disolvente orgánico, por ejemplo, un disolvente no polar o un disolvente aprótico polar; preferiblemente, en la que el disolvente orgánico es tolueno, dimetilformamida o diclorometano.

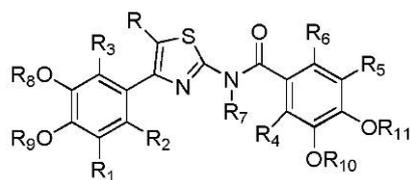
20 6. Una composición que comprende el compuesto de una de las reivindicaciones 1 a 4, o una sal del mismo, y un agente de desprotección de hidroxilo.

7. La composición de la reivindicación 6, en la que dicho agente de desprotección de hidroxilo es tribromuro de boro.

8. Un método para sintetizar un compuesto que tiene la estructura:



25 comprendiendo dicho método poner en contacto un agente de desprotección de hidroxilo con un compuesto que tiene la fórmula:



Estructura VIA

en la que,

R es arilo sustituido o no sustituido,

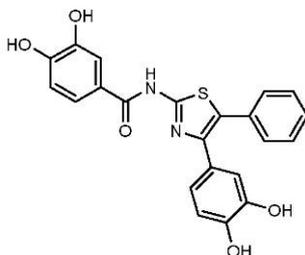
5 R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> son independientemente hidrógeno, arilo sustituido o no sustituido, o un alquilo sustituido o no sustituido; y

R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub> y R<sub>11</sub> son independientemente alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> no sustituido.

9. El método de la reivindicación 8, en el que R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub> y R<sub>11</sub> son cada uno metilo.

10. El método de la reivindicación 8 o la reivindicación 9, en el que dicho agente de desprotección es tribromuro de boro.

10 11. Un método para sintetizar un compuesto que tiene la estructura:



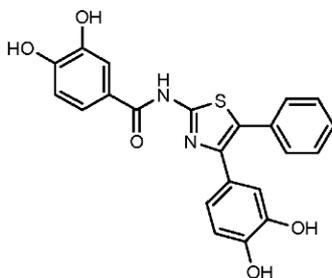
que comprende las etapas:

(a) convertir veratrol en 1-(3,4-dimetoxifenil)-2-feniletanona;

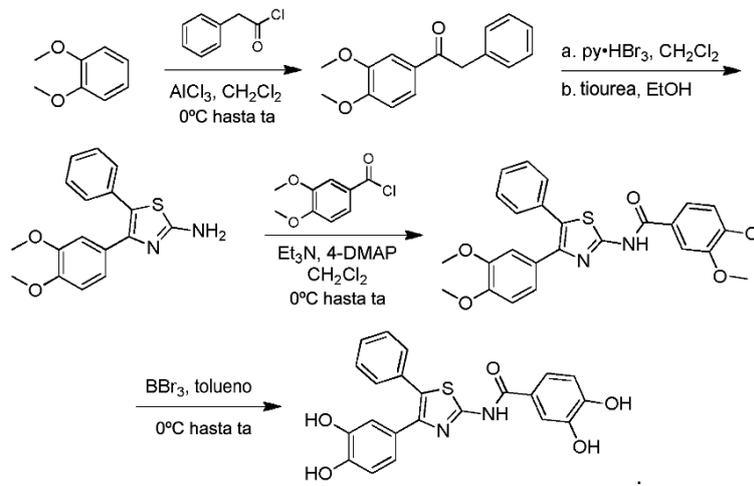
(b) convertir 1-(3,4-dimetoxifenil)-2-feniletanona en 4-(3,4-dimetoxifenil)-5-feniltiazol-2-amina;

15 (c) convertir 4-(3,4-dimetoxifenil)-5-feniltiazol-2-amina en N-(4-(3,4-dimetoxifenil)-5-feniltiazol-2-il)-3,4-dimetoxibenzamida; y

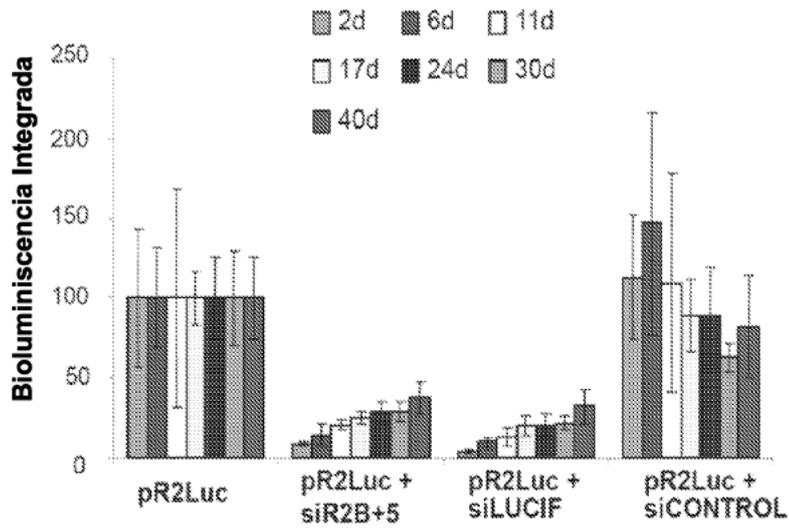
(d) convertir N-(4-(3,4-dimetoxifenil)-5-feniltiazol-2-il)-3,4-dimetoxibenzamida en



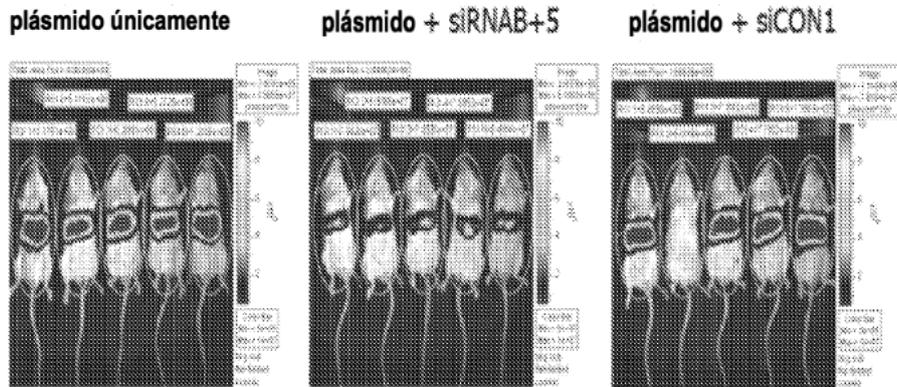
12. El método de la reivindicación 11, en el que la síntesis se produce a través de la siguiente ruta:

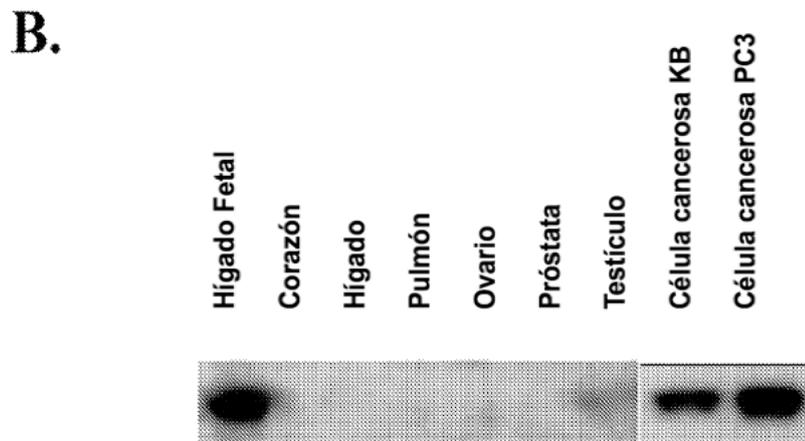
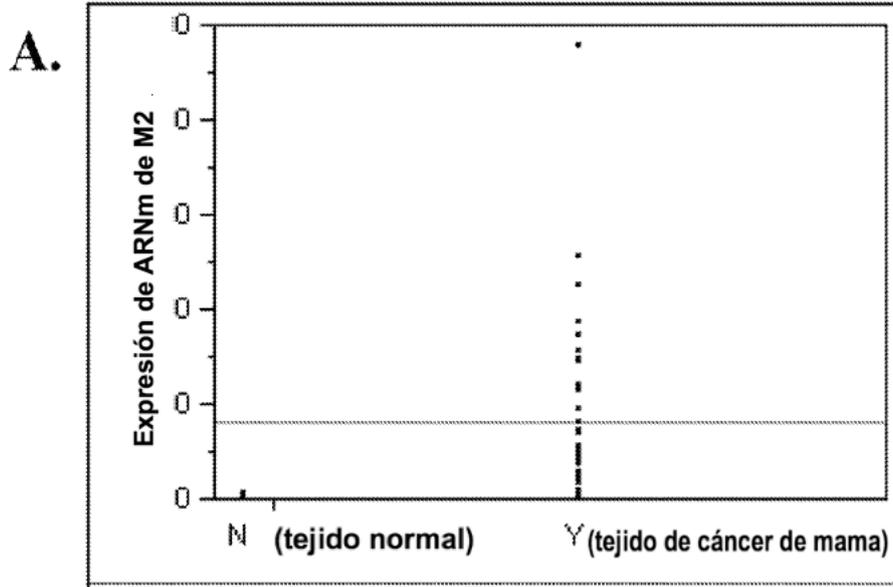


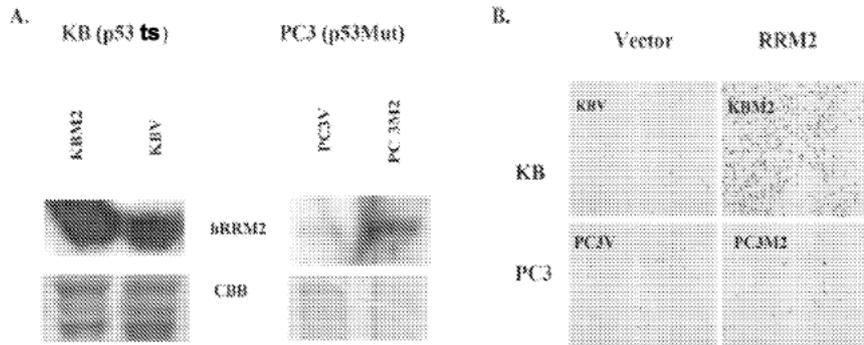
**Inyecciones HPTV de Ratones BALB/c hembra con pR2Luc (0,25 mg/kg) y ARNip (1,25 mg/kg)**



Imágenes tomadas 2 días después de la inyección (todas a la misma escala)



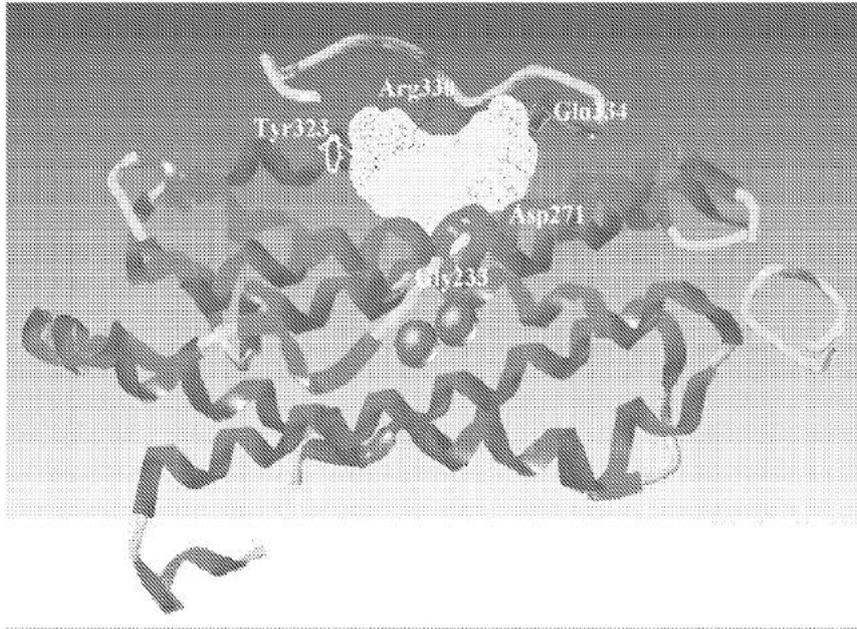


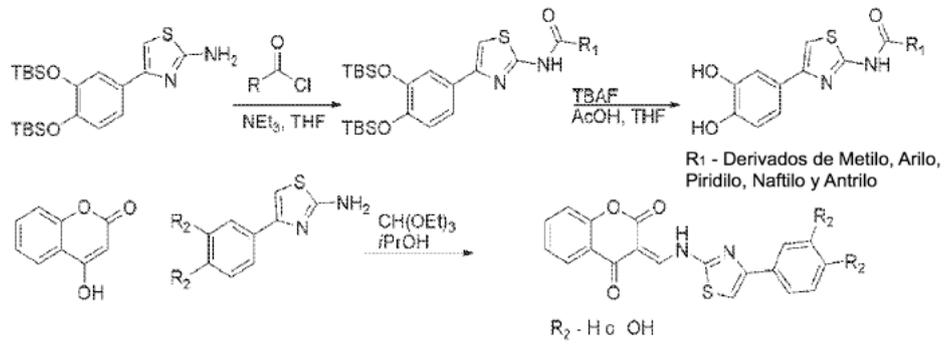


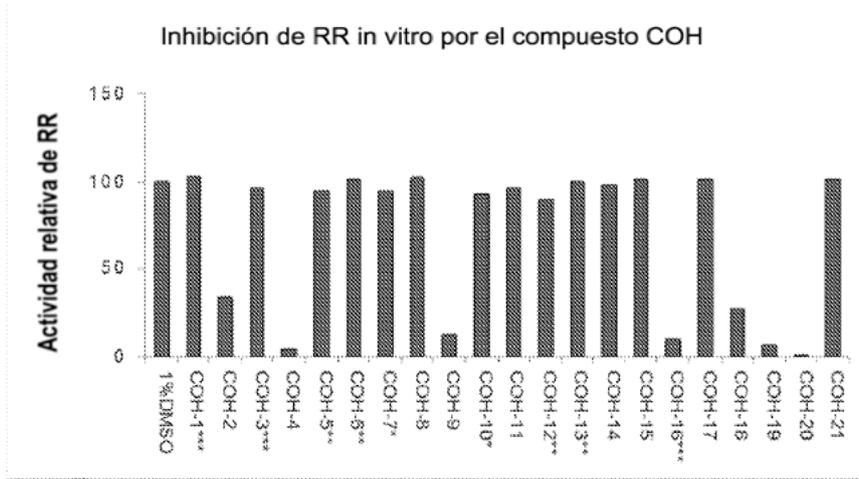
**C. Comparación de la expresión de RR y la capacidad de migración del Vector, y transfectantes sentido de RRM2**

	Cantidad relativa de proteína RRM2 <sup>a</sup>	Campo de migración del número de células (intervalo)
<b>Célula KB</b>		
KBV	1.0	12 (10 – 14)
KBM2	4.2	235.5 (185 – 286)
<b>Célula PC3</b>		
PC3V	1.0	21.5 (18 – 25)
PC3M2	2.3	27.5 (25 – 30)

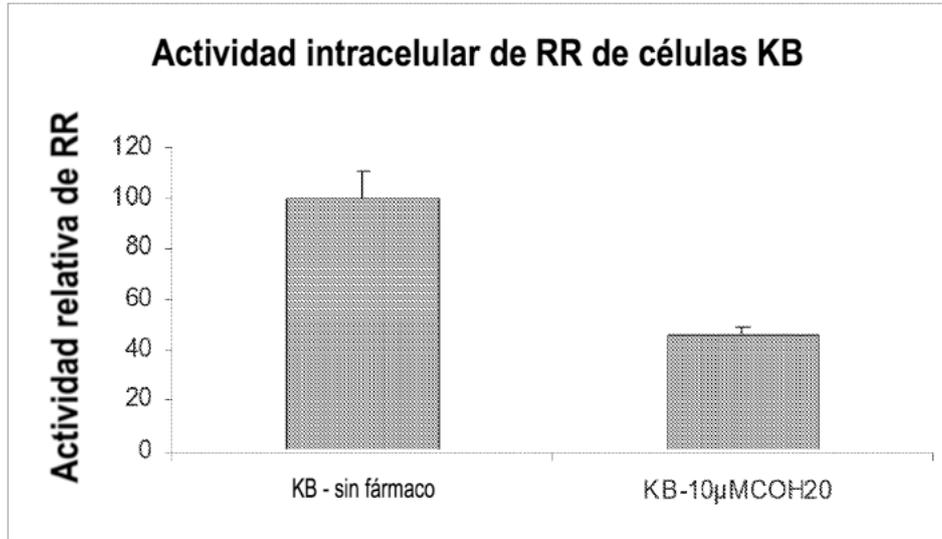
a. El nivel de expresión de la proteína se determinó usando análisis de transferencia Western. La cantidad relativa de proteína se normalizó usando un transfectante de control.

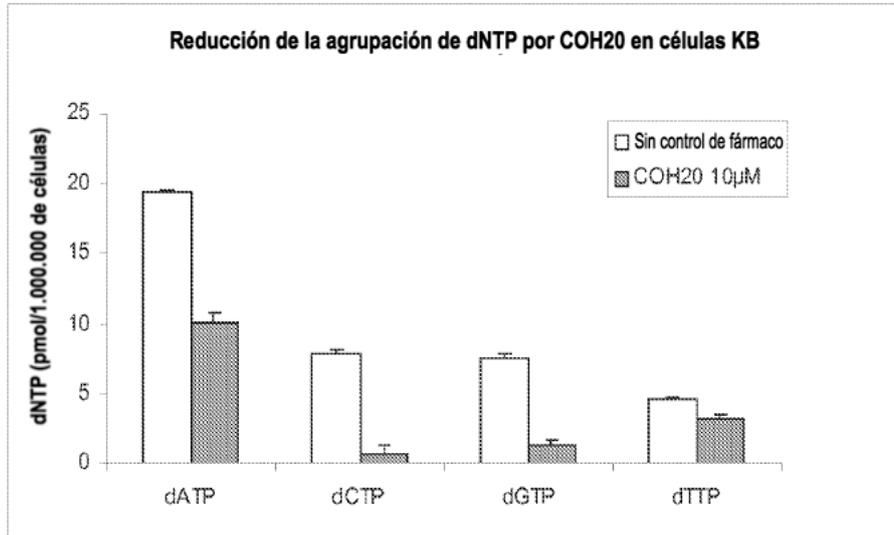




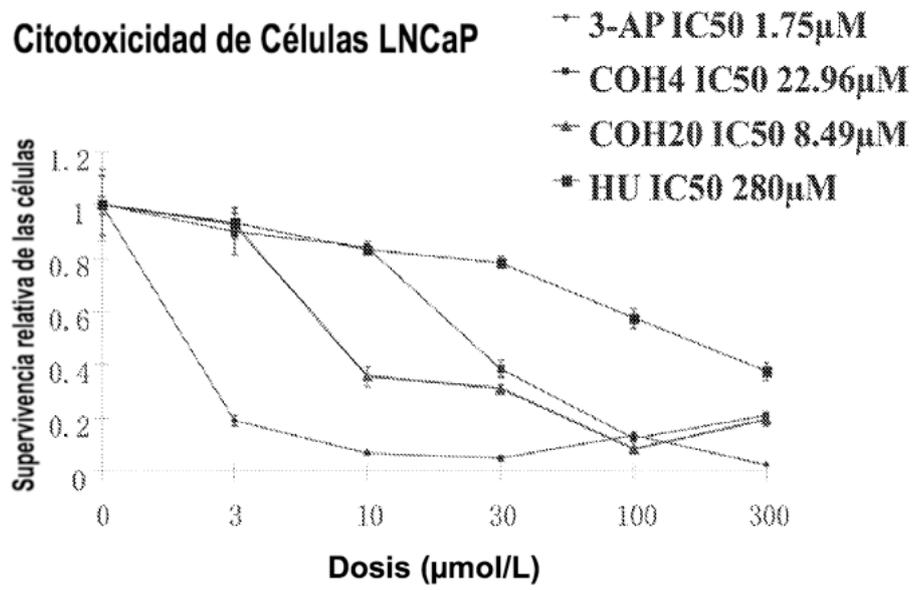


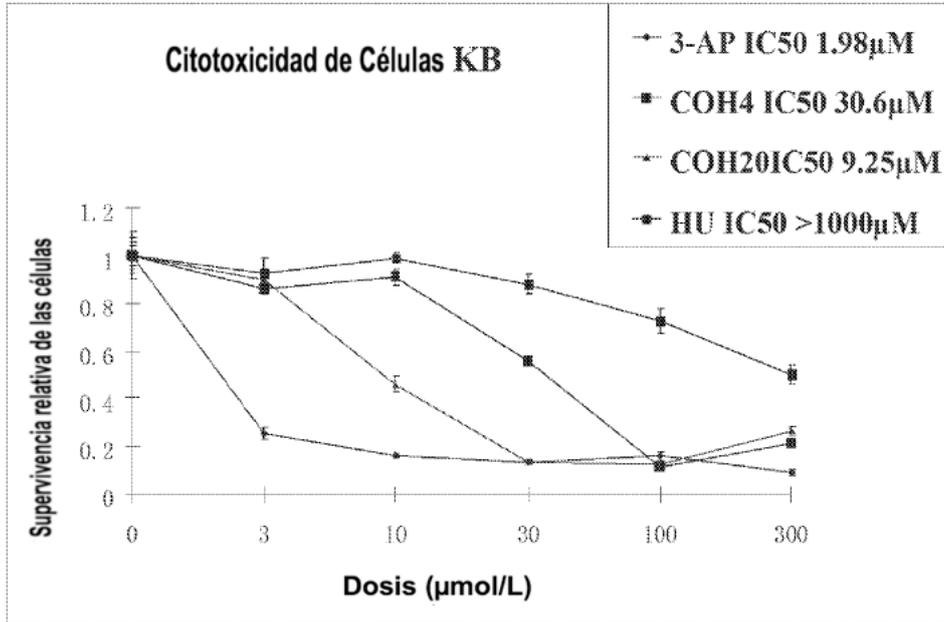
\* Representa dificultades en la solubilidad

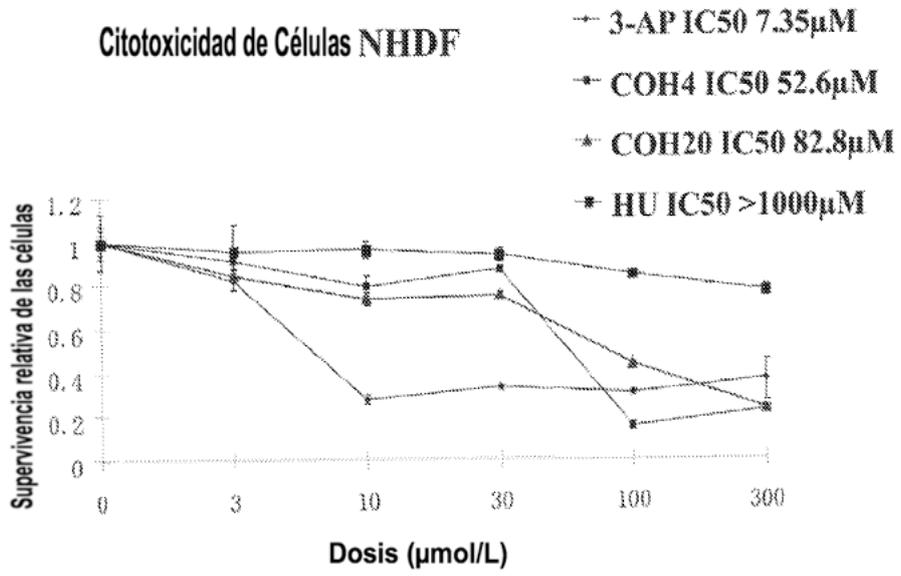


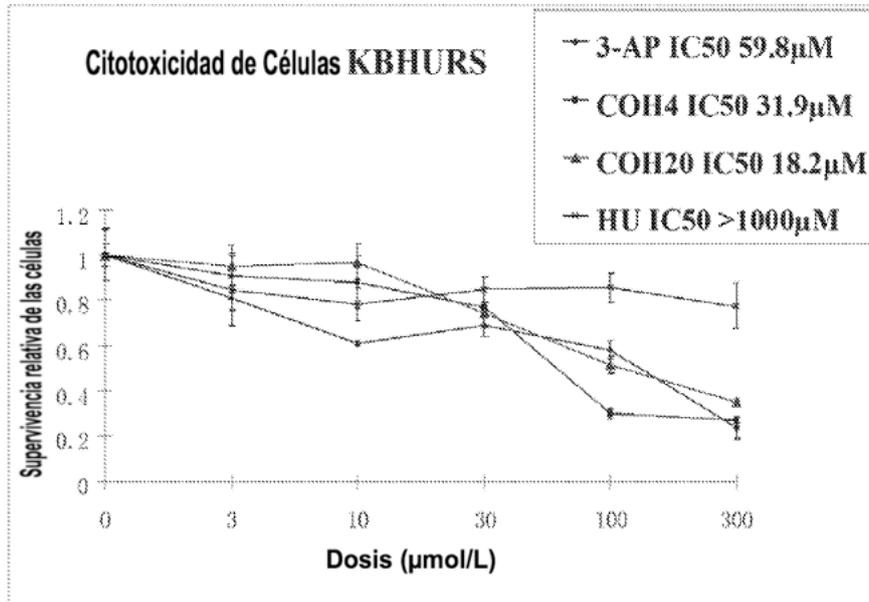


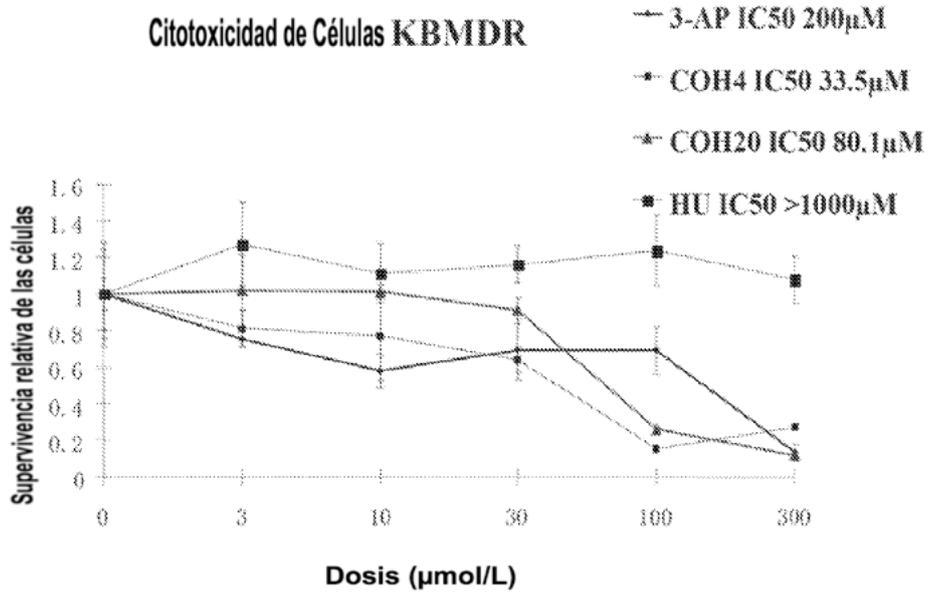
**Citotoxicidad de Células LNCaP**



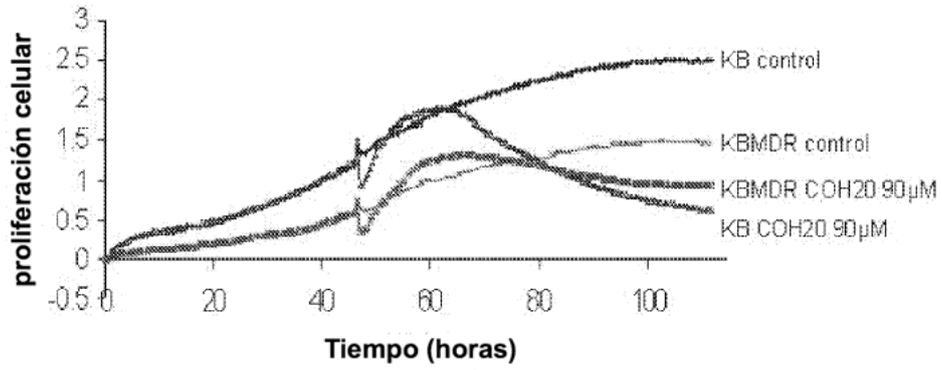


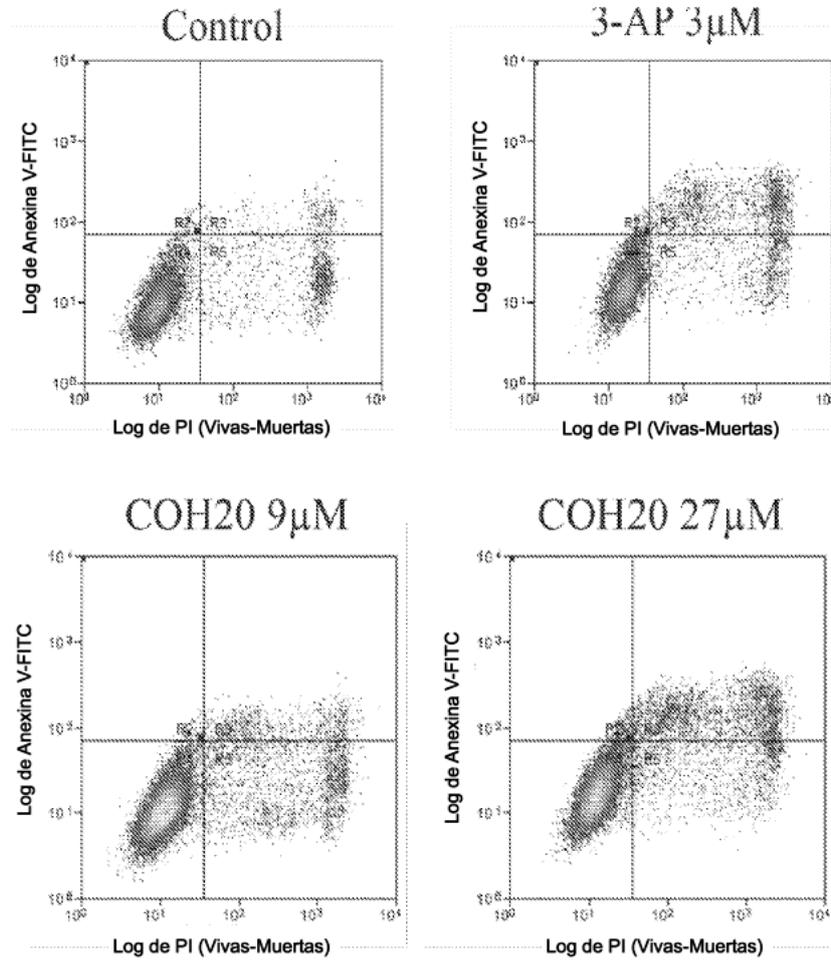


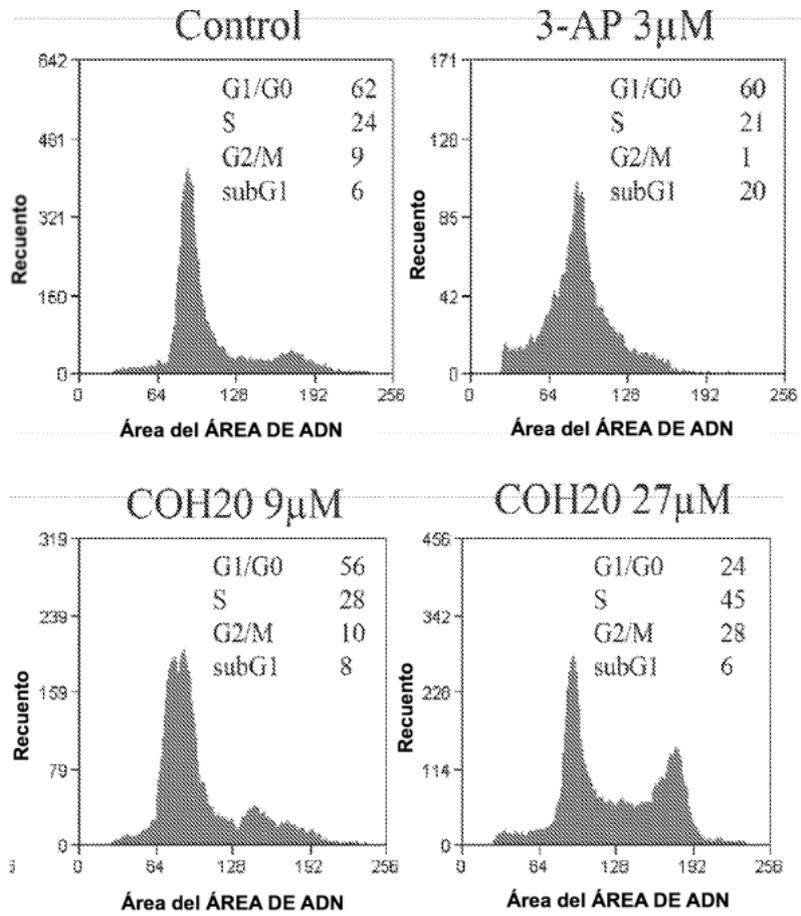


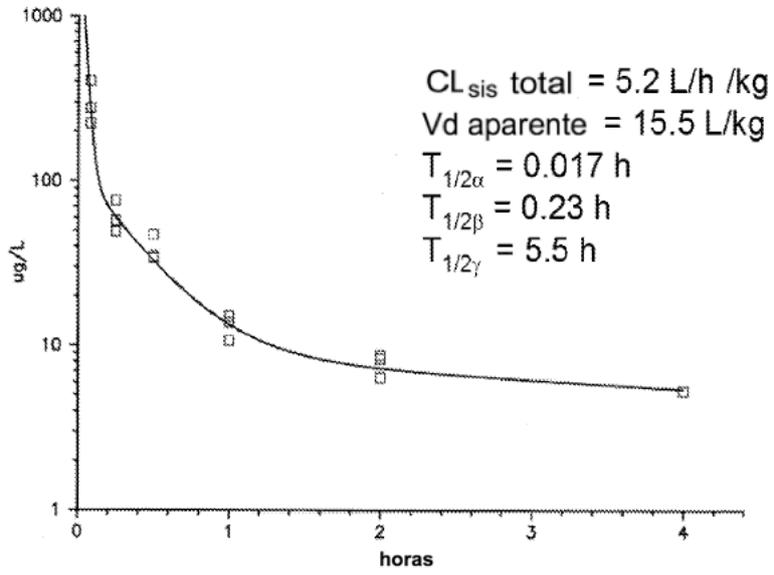


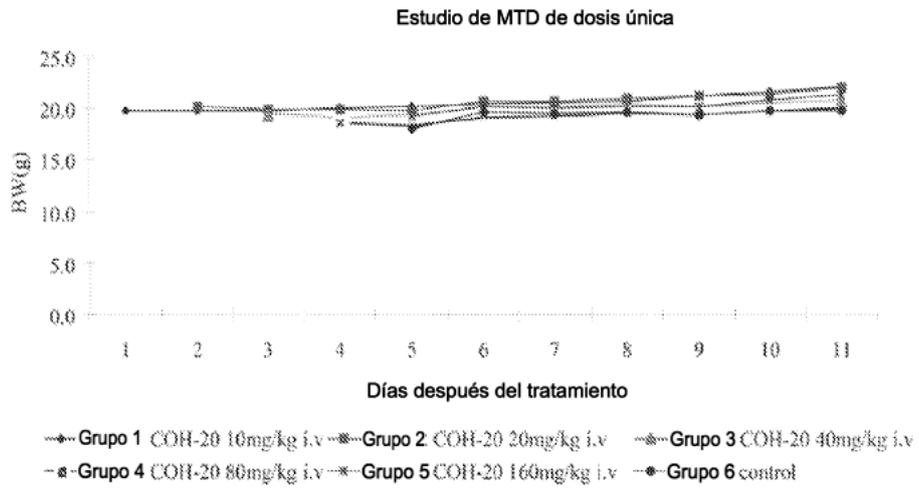
**Control de crecimiento de células en tiempo real  
de células KWts y KBMDR inhibidas por COH20**

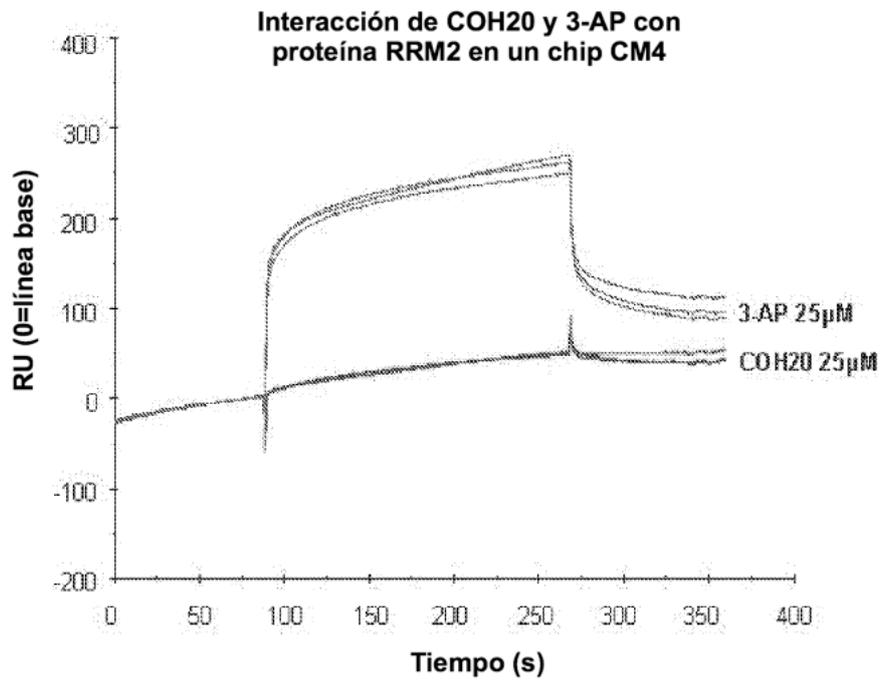


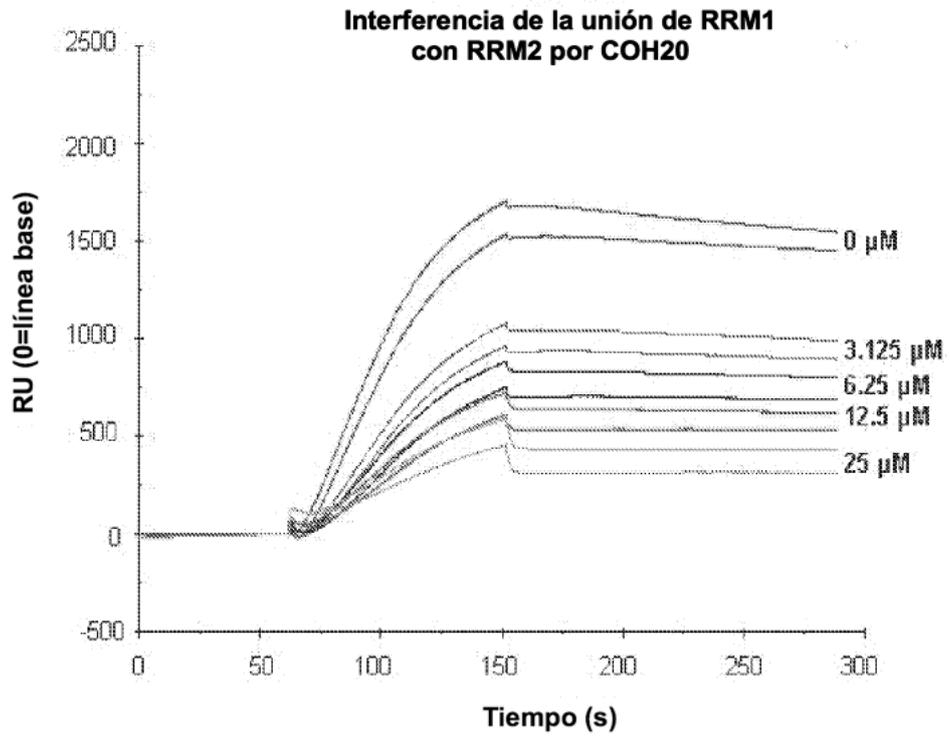


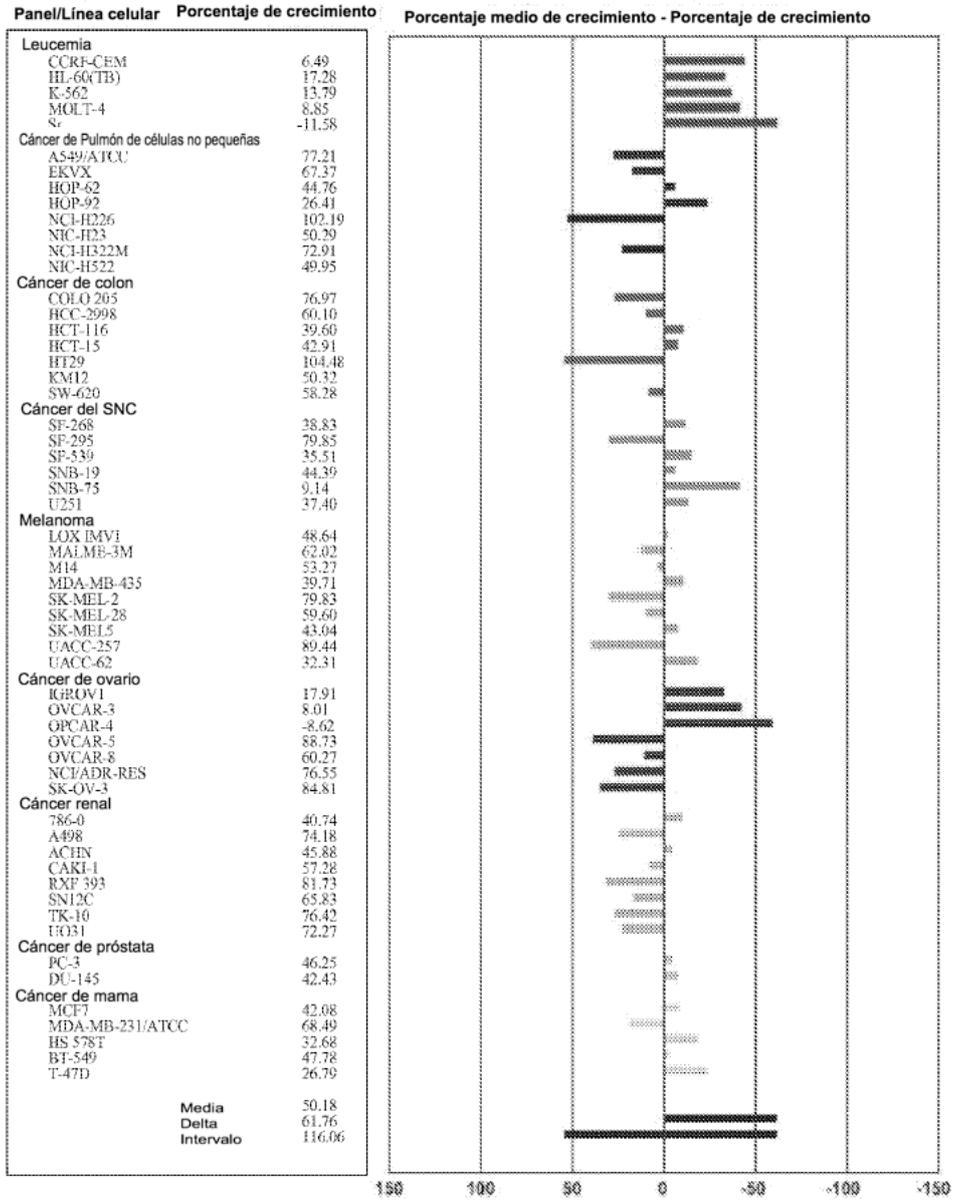


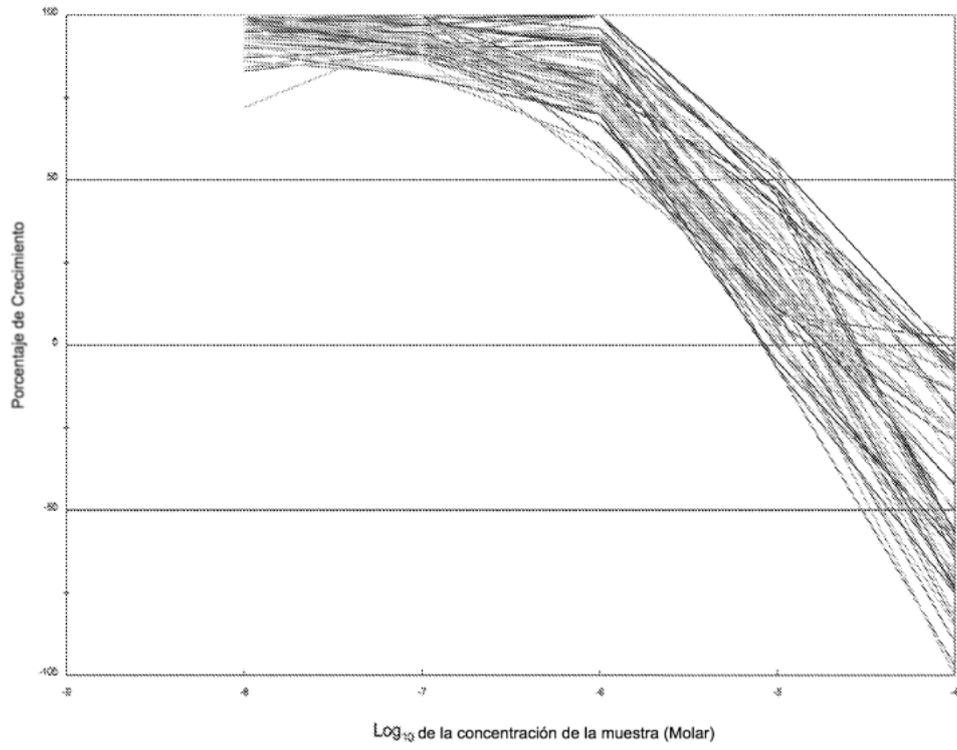




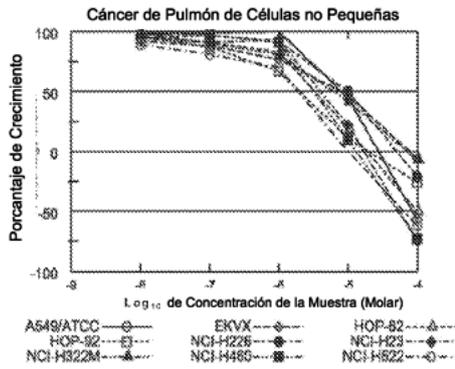




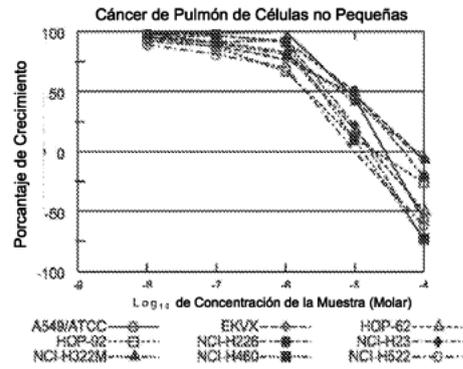




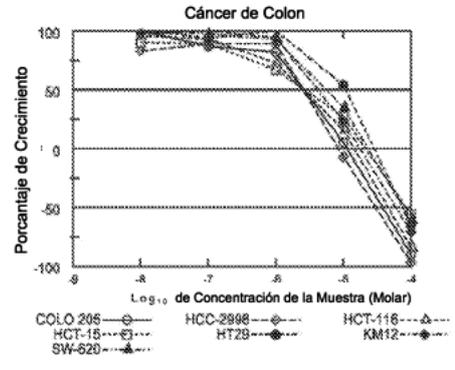
A.



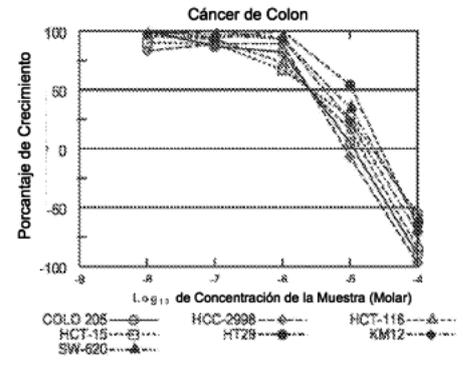
B.



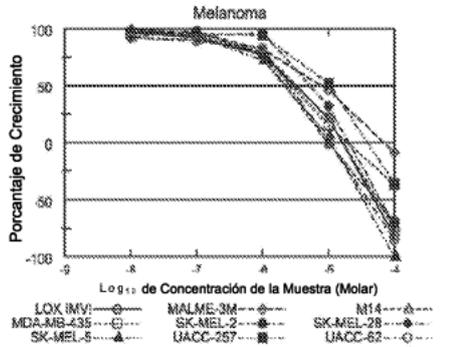
C.



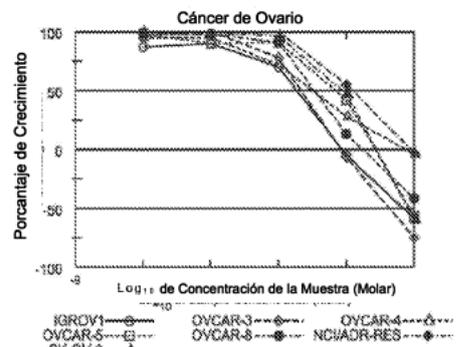
D.



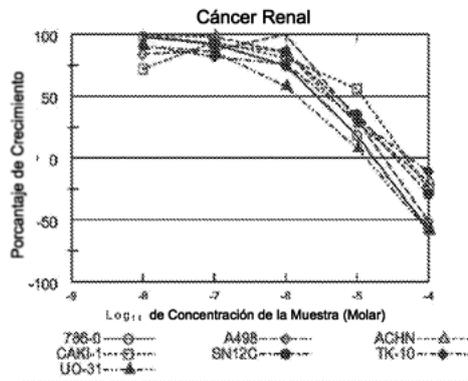
E.



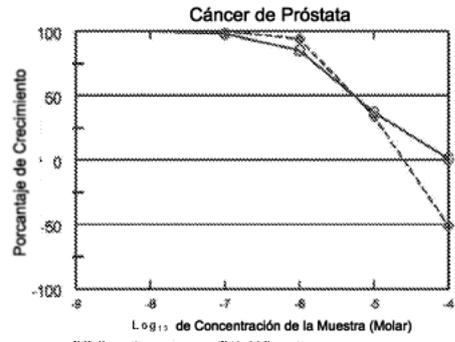
F.



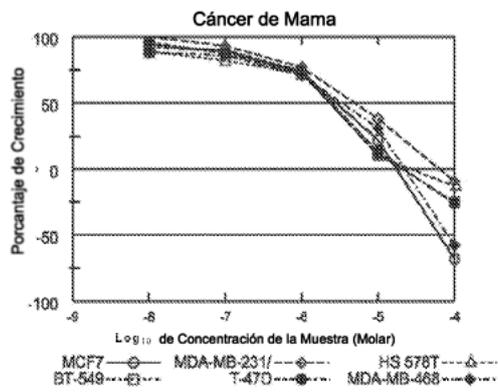
G.



H.



I.



ES 2 681 027 T3

Panel/Línea Celular	Log10 Concentración											Q16Q	TGI	LC50	
	Tiempo		Densidad Óptica Media					Porcentaje de Crecimiento							
	2mo	6to	-8.0	-7.8	-8.0	-8.2	-8.0	-7.8	-8.0	-8.0	-8.0				
<b>Leucemia</b>															
CCRF-CEM	0.250	1.543	1.485	1.359	1.181	0.589	0.270	94	89	72	9	2	2.24E-6	> 1.00E-4	> 1.00E-4
HL-60(TB)	0.283	0.855	0.921	1.040	0.793	0.326	0.202	111	125	78	7	-29	2.33E-6	> 1.00E-4	> 1.00E-4
K-562	0.132	0.763	0.785	0.853	0.580	0.201	0.398	101	87	71	11	-26	2.24E-6	1.97E-5	> 1.00E-4
MOLT-4	0.170	0.470	0.475	0.500	0.349	0.204	0.147	102	110	60	11	-14	1.98E-6	2.82E-6	> 1.00E-4
RPMM-8226	0.224	0.907	0.878	0.827	0.787	0.498	0.295	98	88	82	40	-8	5.89E-6	5.79E-5	> 1.00E-4
<b>Cáncer de Pulmón de células no pequeñas</b>															
A549(ATCC)	0.286	1.306	1.372	1.380	1.302	0.778	0.115	88	90	190	45	-57	8.20E-6	2.77E-5	8.56E-5
BEVK	0.544	1.578	1.493	1.453	1.341	1.030	0.514	92	88	77	47	-8	7.93E-6	7.89E-5	> 1.00E-4
HOP-82	0.378	1.215	1.184	1.142	1.074	0.541	0.190	95	91	83	18	-50	3.32E-6	1.91E-6	> 1.00E-4
HOP-92	0.533	0.954	0.947	0.910	0.822	0.581	0.397	96	87	87	11	-26	2.02E-6	2.01E-5	> 1.00E-4
H1299	0.759	1.525	1.547	1.561	1.518	1.170	0.586	85	87	82	50	-21	8.84E-6	4.88E-5	> 1.00E-4
H1975	0.616	1.806	1.810	1.809	1.688	0.921	0.356	84	91	83	22	-74	4.82E-6	1.70E-5	5.88E-5
H1975M	0.658	1.620	1.812	1.628	1.431	1.061	0.594	89	83	81	42	-7	6.03E-6	7.28E-5	> 1.00E-4
H1975S	0.130	1.291	1.311	1.258	1.183	0.241	0.035	102	97	91	10	-73	9.17E-6	1.30E-5	8.22E-5
H1975T	0.659	2.182	2.036	1.933	1.753	0.856	0.327	89	91	70			1.54E-6	9.24E-6	6.31E-5
<b>Cáncer de colon</b>															
COLO 205	0.177	0.746	0.782	0.673	0.646	0.204	0.218	103	87	82	9	-90	2.61E-6	1.12E-5	3.79E-5
HCC-3898	0.787	1.557	1.434	1.477	1.477	0.711	0.028	83	89	88	-7	-87	2.53E-6	8.39E-6	3.01E-5
HCT-116	0.182	1.244	1.295	1.259	1.032	0.371	0.028	96	93	73	16	-84	2.59E-6	4.86E-5	4.86E-5
HCT-116	0.202	1.132	1.038	1.034	0.821	0.461	0.088	89	88	87	27	-56	2.60E-6	2.10E-5	8.37E-5
H1299	0.246	1.851	1.596	1.588	1.698	1.007	0.087	102	94	101	58	-85	1.03E-5	1.93E-5	7.53E-5
HM-1	0.437	1.759	1.746	1.878	1.754	0.749	0.105	87	109	84	21	-71	4.15E-6	1.78E-5	6.98E-5
SW-620	0.178	1.084	1.115	1.053	1.024	0.405	0.065	103	97	93	35	-81	5.69E-6	2.30E-5	7.84E-5
<b>Cáncer del SNC</b>															
SF-268	0.412	1.233	1.168	1.148	1.023	0.557	0.305	93	85	77	15	-26	2.90E-6	2.59E-5	> 1.00E-4
SF-268	0.843	2.453	2.252	2.320	2.111	1.203	0.484	84	92	79	22	-43	3.23E-6	2.21E-5	> 1.00E-4
SF-538	0.693	2.156	2.088	2.041	1.838	0.733	0.257	93	90	76	3	-83	2.24E-6	1.19E-5	6.38E-5
SNB-19	0.381	1.285	1.258	1.215	1.100	0.533	0.310	85	91	75	18	-14	3.02E-6	3.08E-5	> 1.00E-4
SNB-78	0.449	0.808	0.843	0.825	0.729	0.503	0.465	86	82	51	13	-9	1.72E-6	4.08E-5	> 1.00E-4
U251	0.195	1.025	1.070	0.989	0.844	0.316	0.148	105	93	84	15	-28	1.07E-6	2.92E-5	> 1.00E-4
<b>Melanoma</b>															
LOX IMVI	0.200	1.644	1.606	1.639	1.339	0.582	0.293	87	82	77	22	-82	3.07E-6	1.62E-5	4.96E-5
MALME-3M	0.681	1.288	1.281	1.263	1.180	0.959	0.615	89	86	82	46	-9	7.73E-6	6.83E-5	> 1.00E-4
M14	0.371	1.179	1.116	1.059	1.016	0.542	0.395	92	89	80	24	-76	3.23E-6	1.89E-5	6.49E-5
MDA-MB-438	0.486	1.627	1.855	1.819	1.428	0.647	0.285	87	84	78	18	-57	2.77E-6	1.94E-5	> 1.00E-4
SK-MEL-2	0.946	1.785	1.725	1.768	1.638	0.937	0.292	83	88	77	-1	-69	2.29E-6	9.74E-5	5.26E-5
SK-MEL-28	0.418	1.109	1.106	1.088	1.036	0.539	0.117	88	84	85	32	-72	5.24E-6	2.03E-5	8.13E-5
SK-MEL-5	0.385	1.880	1.887	1.783	1.481	0.856	0.303	88	84	72	6	-100	2.19E-6	1.14E-5	3.38E-5
UACC-267	0.722	1.856	1.519	1.528	1.502	1.199	0.482	85	96	84	82	-38	1.08E-6	3.91E-5	> 1.00E-4
UACC-62	0.796	3.122	2.908	1.979	1.892	0.774	0.118	92	89	83	1	-85	2.52E-6	1.02E-5	3.92E-5
<b>Cáncer de ovario</b>															
IGROV1	0.232	0.878	0.797	0.814	0.898	0.220	0.094	87	90	70	-5	-59	1.88E-6	8.54E-5	6.89E-5
OVCA-3	0.339	0.881	0.803	0.869	0.785	0.316	0.083	102	101	78	-7	-78	2.15E-6	8.39E-5	4.28E-5
OVCA-4	0.482	1.371	1.329	1.306	1.195	0.706	0.434	95	95	72	28	-4	3.14E-6	7.48E-5	> 1.00E-4
OVCA-5	0.538	1.130	1.117	1.070	1.077	0.787	0.230	98	90	91	42	-57	8.89E-6	2.66E-5	8.48E-5
OVCA-8	0.692	1.952	1.918	1.826	1.836	0.764	0.345	88	86	81	10	-42	3.08E-6	1.71E-5	> 1.00E-4
NCIADR-RES	0.593	1.858	1.700	1.821	1.857	1.186	0.546	104	97	100	85	-3	1.22E-6	8.98E-5	> 1.00E-4
SK-OV-3	0.478	1.187	1.156	1.178	1.199	0.804	0.182	99	101	85	47	-80	8.80E-6	7.78E-5	8.16E-5
<b>Cáncer renal</b>															
786-O	0.523	1.735	1.708	1.636	1.432	0.739	0.221	98	92	76	18	-58	2.73E-6	1.72E-5	7.58E-5
A498	0.770	1.653	1.424	1.454	1.674	1.012	0.377	84	87	103	31	-51	6.42E-6	2.38E-5	8.71E-5
ACHN	0.375	1.525	1.533	1.605	1.309	0.695	0.303	101	96	86	28	-19	4.13E-6	3.91E-5	> 1.00E-4
CAKI-1	0.430	0.748	0.856	0.750	0.889	0.607	0.324	72	84	81	86	-26	1.19E-5	4.82E-5	> 1.00E-4
SN12C	0.375	1.151	1.155	1.057	1.044	0.547	0.207	108	92	86	36	-29	5.10E-6	3.53E-5	> 1.00E-4
TK-10	0.611	1.959	1.288	1.239	1.188	0.859	0.543	91	82	76	31	-11	3.82E-6	5.48E-5	> 1.00E-4
UO-31	0.343	0.913	0.891	0.854	0.876	0.390	0.140	91	86	58	8	-89	1.47E-6	1.32E-5	7.28E-5
<b>Cáncer de próstata</b>															
PC-3	0.207	1.183	1.210	1.174	1.048	0.568	0.215	102	98	85	37	1	5.31E-6	> 1.00E-4	> 1.00E-4
DU-145	0.304	1.018	1.068	1.058	0.978	0.550	0.148	107	110	84	34	-51	6.49E-6	2.51E-5	8.81E-5
<b>Cáncer de mama</b>															
MCF7	0.173	1.091	1.031	0.977	0.840	0.372	0.056	94	89	73	22	-68	2.85E-6	1.78E-5	6.82E-5
MDA-MB-231(ATCC 9096)	1.159	1.240	1.152	1.047	0.783	0.491		108	93	77	38	-8	4.99E-6	6.59E-5	> 1.00E-4
HS 578T	0.483	0.914	0.879	0.869	0.800	0.528	0.415	92	90	74	10	-13	2.38E-6	2.73E-5	> 1.00E-4
BT-20	0.958	1.842	1.742	1.683	1.626	1.077	0.728	89	82	72	12	-25	2.36E-6	2.19E-5	> 1.00E-4
T-47D	0.487	1.138	1.110	1.050	0.936	0.555	0.345	96	87	73	13	-26	2.43E-6	2.10E-5	> 1.00E-4
MDA-MB-468	0.279	0.832	0.588	0.582	0.531	0.390	0.117	88	86	71	31	-58	3.42E-6	2.24E-5	8.08E-5

