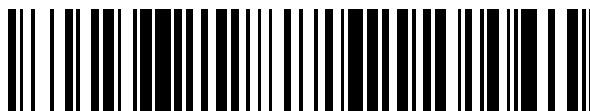


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 704 056**

51 Int. Cl.:

C07D 303/32 (2006.01)

C07D 413/14 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

A61K 31/336 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

C07K 5/083 (2006.01)

C07K 5/087 (2006.01)

C07K 5/065 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.07.2015** **PCT/US2015/040459**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.01.2016** **WO16011088**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.07.2015** **E 15821964 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.08.2018** **EP 3166933**

54 Título: **Compuestos de epoxicetona para la inhibición de enzimas**

30 Prioridad:

14.07.2014 US 201462024024 P

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

14.03.2019

73 Titular/es:

**CENTRAX INTERNATIONAL INC. (100.0%)
400 Oyster Point Boulevard Suite 450
South San Francisco, California 94080, US**

72 Inventor/es:

**YANG, JINFU;
CEN, JIAN JAMES y
FAN, XIAOQING MICHELLE**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 704 056 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

Compuestos de epoxicetona para la inhibición de enzimas

5 REFERENCIAS CRUZADAS A SOLICITUDES RELACIONADAS

La presente solicitud reivindica la prioridad para la solicitud de patente provisional de los Estados Unidos número 62/024.024 registrada el 14 de julio de 2014.

10 CAMPO DE LA INVENCION

La presente divulgación se refiere a compuestos que tienen un esqueleto con estructura de epoxicetona peptídica. Estos compuestos son útiles, por ejemplo, en la inhibición de proteasomas.

15 ANTECEDENTES

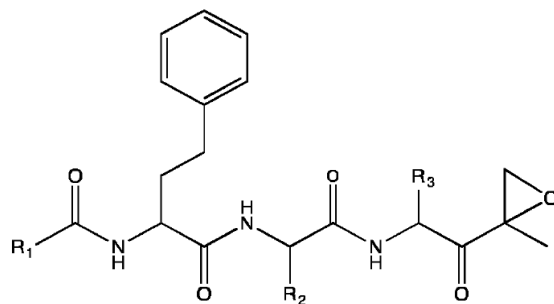
El proteasoma es un complejo de proteasa multicatalítico que desempeña un papel crítico en la mediación de la degradación regulada de proteínas intracelulares. *In vivo*, se cree que el complejo proteasoma existe como proteasoma 26S, que tiene un peso molecular de aproximadamente 2000 kDa y consiste en una partícula de núcleo 20S (proteasoma 20S) y dos partículas reguladoras 19S. El núcleo es hueco y proporciona una cavidad cerrada en la que se degradan las proteínas. Cada extremo de las partículas del núcleo se asocia con una unidad reguladora 19S que contiene múltiples sitios activos de ATPasa y sitios de unión de ubiquitina, que reconocen proteínas poliubiquitinadas y las transfiere al núcleo catalítico. Una forma alternativa de la subunidad reguladora denominada partícula 11S se asocia con el núcleo esencialmente de la misma manera que la partícula 19S; la 11S puede desempeñar un papel en la degradación de péptidos extraños. La partícula de núcleo proteasoma 20S tiene un peso molecular aproximado de 700 kDa y comprende 28 subunidades organizadas en cuatro anillos. En levaduras y otros eucariotas, las subunidades 7 α forman cada uno de los dos anillos exteriores y las subunidades 7 β forman cada uno de los dos anillos interiores. Los anillos α sirven como sitios de unión para el complejo regulador 19S o 11S, así como de barrera física para los dos anillos β interiores. Los dos anillos β interiores contienen sitios proteolíticos activos. La degradación de las proteínas se produce dentro de la cámara central formada por la asociación de los dos anillos β . *In vivo*, la inhibición del proteasoma 20S puede correlacionarse directamente con la inhibición del proteasoma 26S. Hay dos formas de proteasomas: el proteasoma constitutivo expresado ubicuamente por la mayoría de las células del cuerpo, y el inmunoproteasoma, expresado predominantemente en células hematopoyéticas y células que se han expuesto a citoquinas inflamatorias. La degradación de proteínas mediada por proteasomas es un proceso altamente regulado que resulta necesario para una diversidad de procesos intracelulares. Mediante el uso de diferentes sustratos peptídicos, se han definido tres actividades proteolíticas principales para el proteasoma eucariota: actividad de tipo quimotripsina (CT-L), que escinde después residuos hidrofóbicos grandes; actividad de tipo tripsina tripsina (T-L), que escinde después residuos básicos; y actividad de hidrolización del peptidil-glutamil péptido (PGPH), que escinde después residuos ácidos. El proteasoma se ha reconocido hace tiempo como una diana atractiva para el desarrollo de fármacos, y se validó clínicamente en primer lugar como diana terapéutica en oncología (Orlowski y Kuhn, *Cli. Cancer Res.* (2008), 14, 1649-1657).

Se han usado varias moléculas pequeñas para inhibir la actividad del proteasoma, incluyendo ácidos borónicos peptídicos, β -lactonas y epoxicetonas peptídicas (Bennett y Kirk, *Current Opinion in Drug Discovery & Development* (2008), 11, 616-625; Borissenko y Groll, *Chem. Rev.* (2007) 107, 687-717). Sin embargo, estos compuestos generalmente carecen de la especificidad apropiada y/o la potencia necesaria para explorar y explotar completamente los papeles del proteasoma a nivel molecular, celular e *in vivo*. Por ejemplo, los ácidos borónicos peptídicos y β -lactonas son no específicos para el proteasoma, ya que se ha encontrado que inhiben otras proteasas (Borissenko y Groll, *Chem. Rev.* (2007) 107, 687-717; Myung et al., *Medicinal Research Reviews* (2001), 21, 245-273). Esto plantea la posibilidad de que los inhibidores puedan mostrar actividades fuera de rango *in vivo* que se asocian con la inhibición de dianas que no son proteasoma. Por otra parte, las epoxicetonas peptídicas tal y como se divulgan en los documentos US8088741B2, US6831099B1, WO2005/105827, CN101044157A, US7687452B2, WO 2014/018807A1, Zhang y col, *Chem.Biol.& Drug Design* (2014) 84, 497-504 y US2007/0105786A1 son altamente selectivas como inhibidores de proteasomas. Sin embargo, estas epoxicetonas peptídicas tienen poca solubilidad acuosa y/o una potencia inhibidora de proteasoma menos óptima. Por consiguiente, existe la necesidad en la técnica de desarrollar inhibidores novedosos de proteasoma que tengan propiedades farmacéuticas y/o biológicas mejoradas.

60 SUMARIO

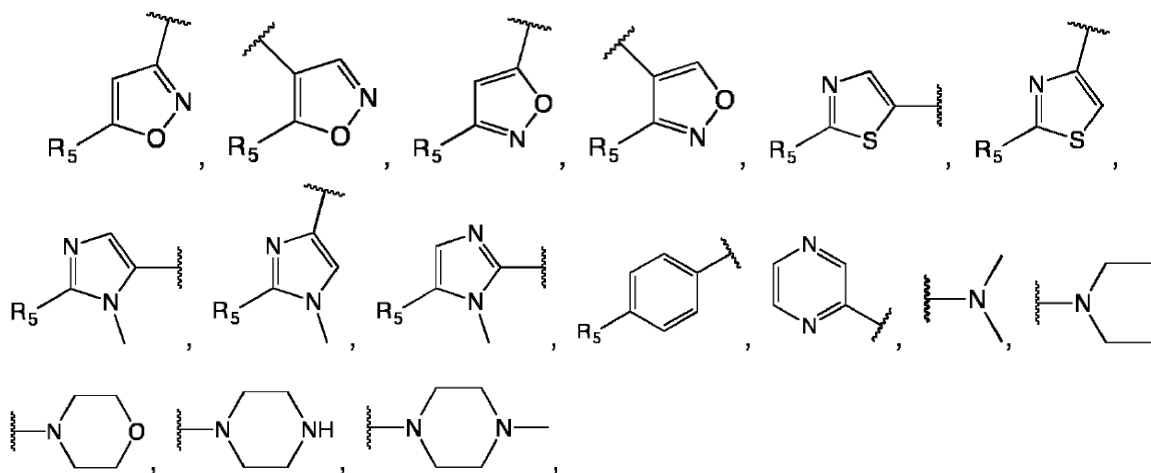
En el presente documento se proporcionan compuestos que tienen un esqueleto de epoxicetona tripeptídica. En el presente documento también se divulgan compuestos de solubilidad acuosa aumentada y propiedad inhibidora de proteasoma mejorada.

65 En el presente documento se describen compuestos que tienen una estructura mostrada en la Fórmula (I), y un enantiómero, diastereómero, tautómero, sal o solvato o profármaco farmacéuticamente aceptables del mismo



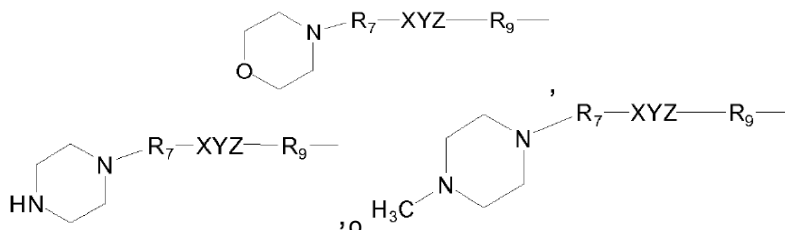
Fórmula (I)

en la que R_1 es $-(CH_2)_m-R_4$, en la que $m=0$ o 1 , R_4 se selecciona del grupo que consiste en alquilo C_{1-10} ,



en los que

cada R_5 es independientemente H, hidroxilo, alquilo C_{1-10} , alcoxilo C_{1-10} , hidroxialquilo C_{1-10} , alquiloalquilo C_{1-10} , NH_2 , NHR_6 , $-R_7-O(C=O)-R_8$, $-R_7-(C=O)X-R_8$, $-R_7-OPO_3M_1M_2$,



en los que

R_6 es alquilo C_{1-10} , fenilo, $-(C=O)$ -alquilo C_{1-6} o $-(C=O)$ -fenilo,

cada R_7 y R_9 está independientemente ausente o es alquileno C_{1-10} ,

cada R_8 es independientemente H, hidroxilo, metal o alquilo C_{1-10} , alquileno C_{1-10} , $-NR_{10}R_{11}$, o $-OPO_3M_1M_2$,

cada R_{10} y R_{11} es independientemente H, alquilo C_{1-10} (p. ej. alquilo C_{1-6}) o alquilo C_{1-10} sustituido (p. ej. alquilo C_{1-6}),

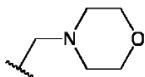
cada M_1 y M_2 es independientemente H o metal,

X está ausente o es O,

Y está ausente o es $-(C=O)-$,

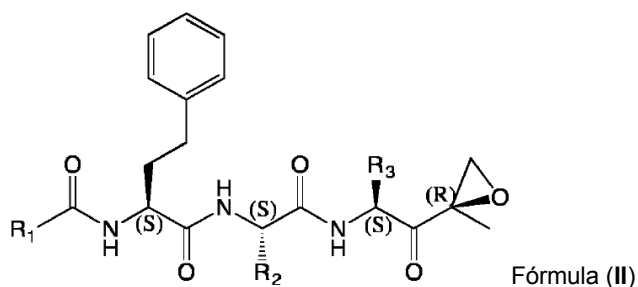
Z está ausente o es O; y

cada R_2 y R_3 se selecciona independientemente entre alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{1-10} , hidroxialquilo C_{1-10} , alcoxialquilo C_{1-10} , arilo, aralquilo C_{1-10} , heteroarilo, heteroalquilo C_{1-10} , heterociclilo, heterocicloalquilo C_{1-10} , carbociclilo y carbocicloalquilo C_{1-10} , no siendo R_3 4-piridilmetilo cuando R_1 es



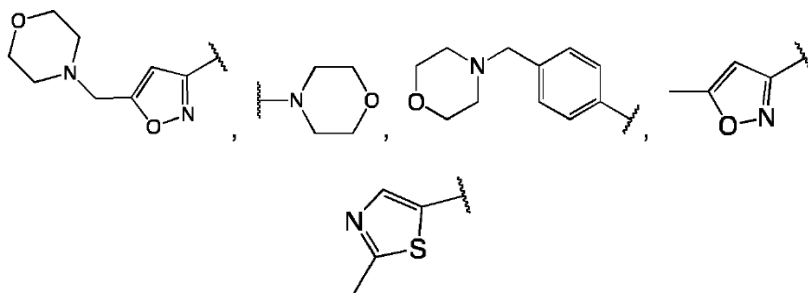
y R_2 es isobutilo.

En el presente documento también se describe el compuesto de Fórmula (I) tal como se proporciona en el presente documento que tiene la configuración que se muestra en la Fórmula (II):

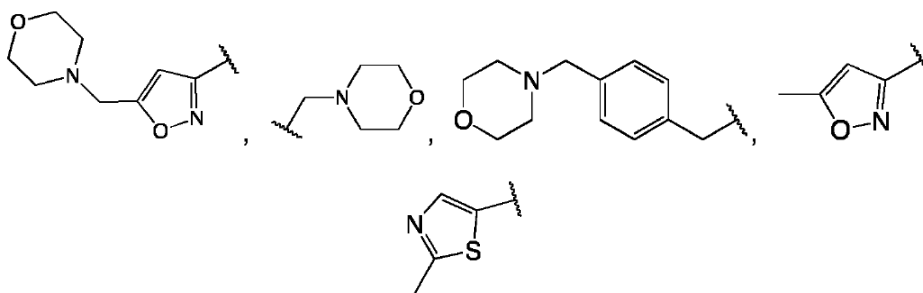


en la que cada R_1 , R_2 y R_3 son tal como se definen anteriormente.

R_4 se puede seleccionar del grupo que consiste en metilo,



R_1 se puede seleccionar del grupo que consiste en metilo,



R_2 puede ser alquilo C_{1-10} , alcoxialquilo C_{1-10} , arilo, heteroarilo, aralquilo C_{1-10} o heteroaralquilo C_{1-10} .

R_2 puede ser metil-oxi-metilo, 4-piridilmetilo, isobutilo, bencilo o 4-tiazolil-metilo.

R_3 puede ser alquilo C_{1-10} , arilo, heteroarilo, aralquilo C_{1-10} o heteroaralquilo C_{1-10} .

R_3 puede ser isobutilo, 4-piridilmetilo o bencilo.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona epoxiketonas tripeptídicas que pueden inhibir la actividad catalítica del proteasoma 20S. En determinadas formas de realización, las epoxiketonas tripeptídicas proporcionadas en el presente documento tienen una inhibición CI_{50} de la actividad catalítica de CT-L del proteasoma 20S a una concentración inferior a 500 nM, 250 nM, 100 nM, 50 nM, 10 nM o 5 nM.

En otro aspecto, los compuestos divulgados en el presente documento tienen una solubilidad acuosa mejorada. En determinadas formas de realización, las epoxicetonas tripeptídicas proporcionadas en el presente documento tienen una solubilidad acuosa de al menos aproximadamente 0,02, 0,05, 0,1, 0,5 o 1 mg/ml.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de proteasoma 20S descrito en el presente documento, lo que es útil, por ejemplo, en el tratamiento de afecciones humanas, incluidas, pero sin limitación, cáncer, inflamación, trastornos neurodegenerativos (tales como la enfermedad de Alzheimer), trastornos de pérdida muscular, trastornos infecciosos crónicos, fiebre, desuso muscular, denervación, lesión nerviosa y afecciones relacionadas con el sistema inmunológico, entre otras.

En determinadas formas de realización, las composiciones farmacéuticas comprenden de aproximadamente 10^{-9} g a aproximadamente 10 g de un compuesto proporcionado en el presente documento. Las dosis apropiadas por sujeto por día pueden ser de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 5 g.

En determinadas formas de realización, los compuestos o composiciones farmacéuticas divulgados en el presente documento se formulan en una forma de dosificación que es apropiada para su administración a un sujeto con necesidad de los mismos mediante administración por vía parenteral (p. ej. subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, intraesternal y/o infusión) y vía no parenteral (p. ej. oral, enteral, bucal, nasal, intranasal, transmucosal, epidérmica, transdérmica, dérmica, oftálmica, pulmonar, sublingual, rectal, vaginal o tópica).

Otro aspecto de la presente divulgación se refiere a procedimientos de tratamiento de una afección asociada con proteasoma 20S, que comprenden la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento.

En otro aspecto más, la presente divulgación proporciona un procedimiento de preparación de una epoxicetona peptídica.

Otras características y ventajas de la presente divulgación resultarán evidentes a partir de la descripción detallada siguiente y a partir de las reivindicaciones.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La figura 1 muestra el porcentaje restante de la actividad de proteasoma en las muestras de sangre extraídas de ratones Balb/c a los que se ha administrado un compuesto descrito en el presente documento. La actividad de proteasoma en las muestras de sangre extraídas de ratones a los que se ha administrado el vehículo se consideró el 100 % (grupo control). La actividad restante se calculó por comparación de la actividad de proteasoma en las muestras de sangre extraídas a ratones a los que se ha administrado un compuesto descrito en el presente documento mediante inyección intravenosa (IV) a 10 mg/kg o mediante una sonda de alimentación oral (PO) a 30 mg/kg con respecto al grupo control.

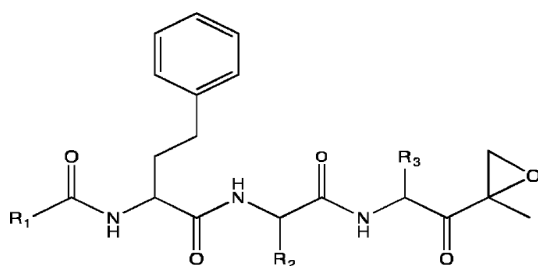
La figura 2A muestra la eficacia antitumoral de CX13-103 en ratones que portaban xenoinjertos de adenocarcinoma colorrectal humano HT-29. El análisis estadístico se llevó a cabo usando ANOVA de 2 vías.

La figura 2B muestra la eficacia antitumoral de CX13-103 en ratones que portaban xenoinjertos de linfoma humano RL. El análisis estadístico se llevó a cabo usando ANOVA de 2 vías.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

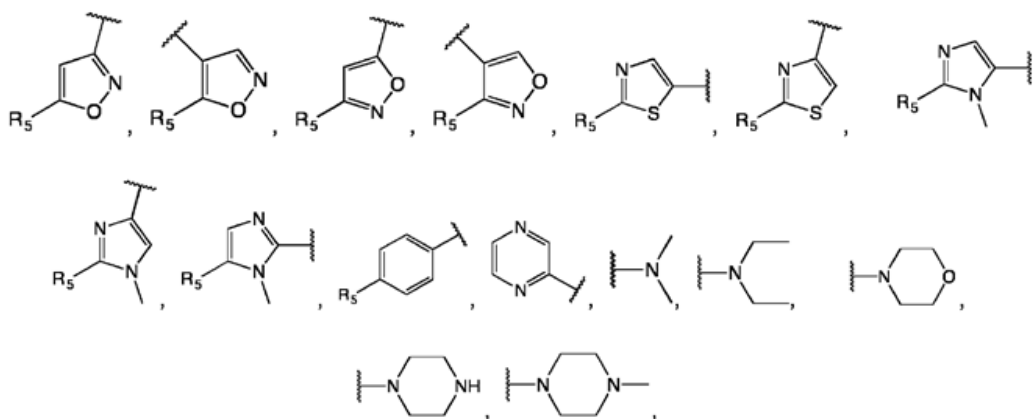
Compuestos y sales farmacéuticas de los mismos

En general, en el presente documento se describen compuestos que tienen la estructura de la Fórmula (I) y un enantiómero, diastereómero, tautómero, sal o solvato o profármaco farmacéuticamente aceptable de los mismos:



Fórmula (I)

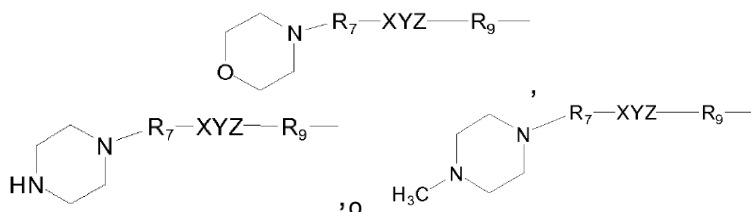
en la que R_1 es $-(CH_2)_m-R_4$, en la que $m=0$ o 1 , R_4 se selecciona del grupo que consiste en alquilo C_{1-10} ,



5

en los que

10 cada R_5 es independientemente H, hidroxilo, alquilo C_{1-10} , alcoxilo C_{1-10} , hidroxialquilo C_{1-10} , alquiloalquilo C_{1-10} , NH_2 , NHR_6 , $-R_7-O(C=O)-R_8$, $-R_7-(C=O)X-R_8$, $-R_7-OPO_3M_1M_2$,



15 en los que

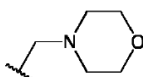
20 R_6 es alquilo C_{1-10} , fenilo, $-(C=O)$ -alquilo C_{1-6} o $-(C=O)$ -fenilo, cada R_7 y R_9 está independientemente ausente o es alquilenos C_{1-10} , cada R_8 es independientemente H, hidroxilo, metal o alquilo C_{1-10} , alquilenos C_{1-10} , $-NR_{10}R_{11}$, o $-OPO_3M_1M_2$, cada R_{10} y R_{11} es independientemente H, alquilo C_{1-10} (p. ej. alquilo C_{1-6}) o alquilo C_{1-10} sustituido (p. ej. alquilo C_{1-6}), cada M_1 y M_2 es independientemente H o metal,

X está ausente o es O,

25 Y está ausente o es $-(C=O)-$,

Z está ausente o es O; y

30 cada R_2 y R_3 se selecciona independientemente entre alquilo C_{1-10} , alquilenos C_{1-10} , hidroxialquilo C_{1-10} , alquiloalquilo C_{1-10} , arilo, aralquilo C_{1-10} , heteroarilo, heteroaralquilo C_{1-10} , heterociclo, heterocicloalquilo C_{1-10} , carbociclo, y carbocicloalquilo C_{1-10} , no siendo R_3 4-piridilmetilo cuando R_1 es



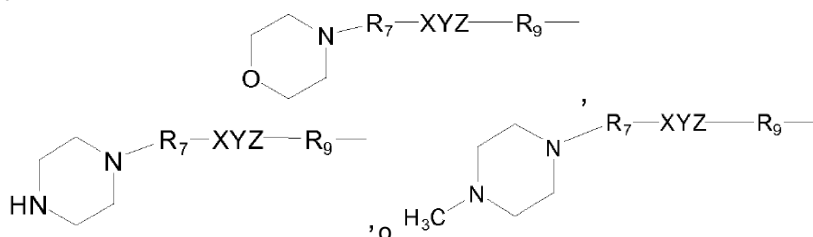
y R₂ es isobutilo

Especialmente, R₅ es -R₇-O(C=O)-R₈, y R₇ y R₈ se definen como anteriormente. Especialmente, R₇ está ausente, y R₈ se selecciona entre H, alquilo C₁₋₁₀ (p. ej. alquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₆), alquileo C₁₋₁₀, -NR₁₀R₁₁, en el que R₁₀ y R₁₁ se definen como anteriormente. En determinadas formas de realización, R₇ es alquileo C₁₋₁₀ (p. ej. -CH₂-, -C₂H₄-, -C₃H₇-, etc.), y R₈ se selecciona entre H, alquilo C₁₋₁₀ (p. ej. alquilo C₁₋₆), alquileo C₁₋₁₀, -NR₁₀R₁₁, en el que R₁₀ y R₁₁ se definen como anteriormente.

Alternativamente, R₅ es -R₇-(C=O)X-R₈, y R₇ y R₈ se definen como anteriormente. En determinadas formas de realización, R₇ está ausente, X es O, y R₈ se selecciona entre H, metal (p. ej. Na y K), NH₄, alquilo C₁₋₁₀ (p. ej. alquilo C₁₋₆), alquileo C₁₋₁₀, y -NR₁₀R₁₁, en el que R₁₀ y R₁₁ se definen como anteriormente. Especialmente, R₇ está ausente, X está ausente, y R₈ se selecciona entre -NR₁₀R₁₁, en el que R₁₂ y R₁₃ se definen como anteriormente.

Alternativamente, R₅ es NH₂, NHCOMe, NHCOEt, NHCOC₃H₇, o NHBoc.

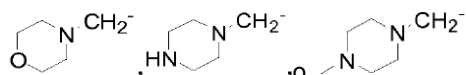
Alternativamente, R₅ es



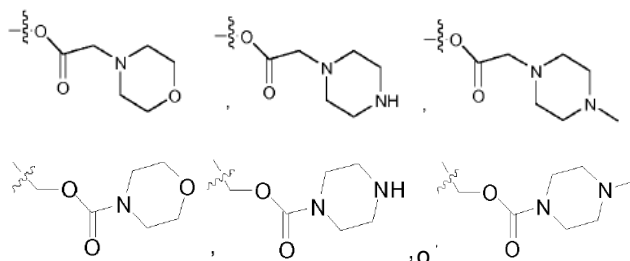
y R₇, R₉, X, Y, y Z se definen como anteriormente. Especialmente, al menos uno de R₇, R₉, X, Y, y Z no está ausente. En determinadas formas de realización, todos los X, Y, Z y R₇ están ausentes, y R₉ es alquileo C₁₋₁₀ (p. ej. -CH₂-, -C₂H₄-, -C₃H₇-, etc.). Especialmente, todos los R₇, R₉ y X están ausentes, Y es -(C=O)- y Z es O. Especialmente, tanto R₇ como X están ausentes, R₉ es alquileo C₁₋₁₀ (p. ej. -CH₂-, -C₂H₄-, -C₃H₇-, etc.), Y es -(C=O)- y Z es O. Especialmente, tanto R₉ como X están ausentes, R₇ es alquileo C₁₋₁₀ (p. ej. -CH₂-, -C₂H₄-, -C₃H₇-, etc.), Y es -(C=O)- y Z es O.

Especialmente, X está ausente, tanto R₇ como R₉ son independientemente alquileo C₁₋₁₀ (p. ej. -CH₂-, -C₂H₄-, -C₃H₇-, etc.), Y es -(C=O)- y Z es O. Todos los R₇, R₉, X y Z pueden estar ausentes, e Y es -(C=O)-.

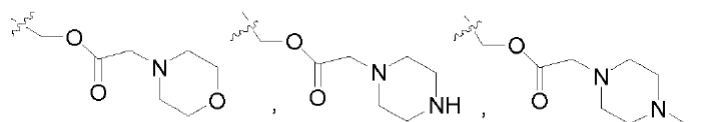
Especialmente, cada R₅ es independientemente H, -CH₃-, -C₂H₅-, -C₃H₇-,



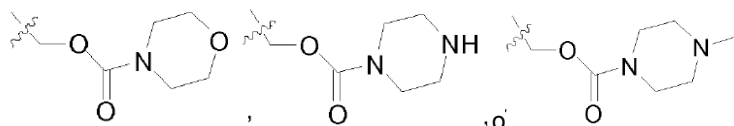
En determinadas formas de realización, cada R₅ es independientemente -OH, -OCH₃, -OC₂H₅, -OC₃H₇, -OPO₃Na₂, -OC(=O)CH₃, -OC(=O)C₂H₅, -OC(=O)C₃H₇, -OC(=O)C₄H₉, -OC(=O)CH₂NH₂, -OC(=O)CH₂N(CH₃)₂, -OC(=O)CH₂N(C₂H₅)₂, OC(=O)NH₂, -OC(=O)N(CH₃)₂, -OC(=O)N(C₂H₅)₂,



Especialmente cada R₅ es independientemente -CH₂OH, -C₂H₅OH, -C₃H₇OH, -CH₂OC(=O)CH₃, -CH₂OC(=O)C₂H₅, -CH₂OC(=O)C₃H₇, -CH₂OC(=O)C₄H₉, -CH₂OPO₃Na₂, -CH₂OC(=O)CH₂NH₂, -CH₂OC(=O)CH₂N(CH₃)₂, -CH₂OC(=O)CH₂N(C₂H₅)₂

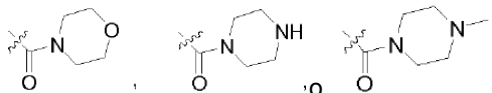


-CH₂OC(=O)NH₂, -CH₂OC(=O)N(CH₃)₂, -CH₂OC(=O)N(C₂H₅)₂,

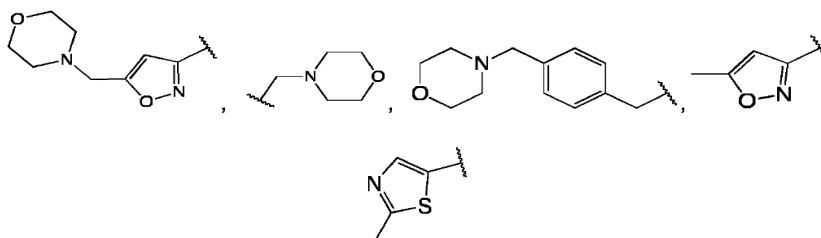


5 Especialmente cada R_5 es independientemente $-(C=O)OH$, $-(C=O)ONa$, $-(C=O)ONH_4$, $-(C=O)OCH_3$, $-(C=O)OC_2H_5$, $-(C=O)OC_3H_7$, o $-(C=O)OC_4H_9$.

Alternativamente, cada R_5 es independientemente $-CONH_2$, $-CON(CH_3)_2$, $-CON(C_2H_5)_2$,



10 Especialmente, R_1 se selecciona del grupo que consiste en metilo,



y

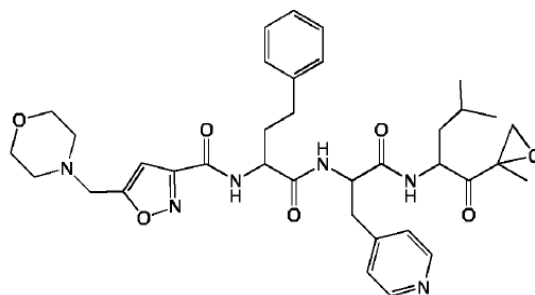
15 Especialmente, R_2 y R_3 son independientemente alquilo C_{1-10} , alcoxi alquilo C_{1-10} , arilo, heteroarilo, aralquilo C_{1-10} o heteroaralquilo C_{1-10} .

20 Especialmente, R_2 y R_3 son independientemente $-(CH_2)_nR_{12}$, R_{12} es alquilo C_{1-6} , fenilo, piridilo, $-O$ -alquilo C_{1-6} , tiazolilo, siendo $n = 0, 1, 2, 3, 4, 5$.

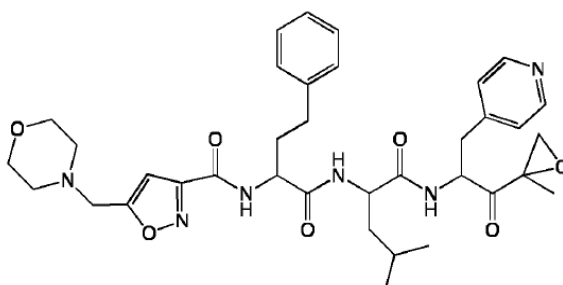
Especialmente, R_2 es metil-oxi-metilo, 4-piridilmetilo, isobutilo, bencilo o 4-tiazolil-metilo.

25 Especialmente, R_3 es isobutilo, 4-piridilmetilo o bencilo.

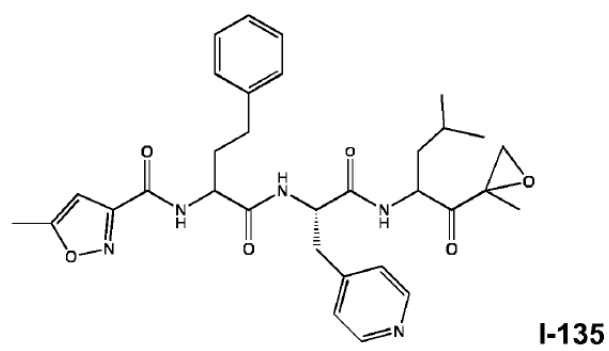
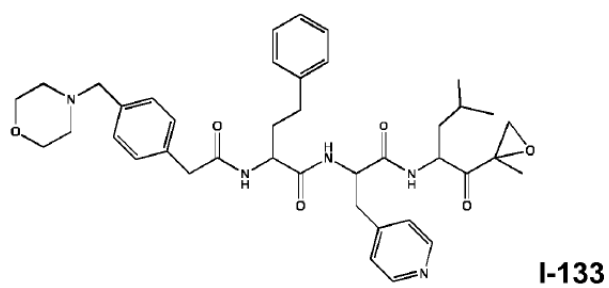
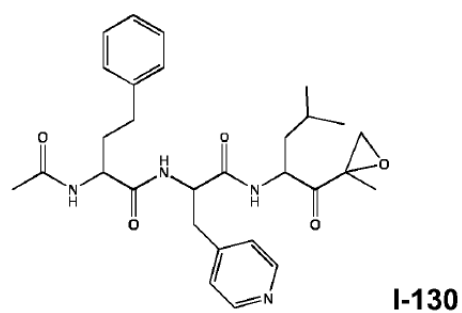
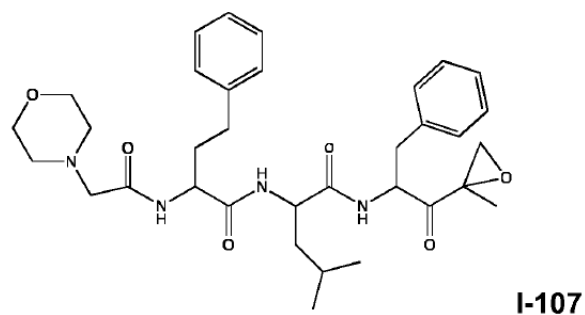
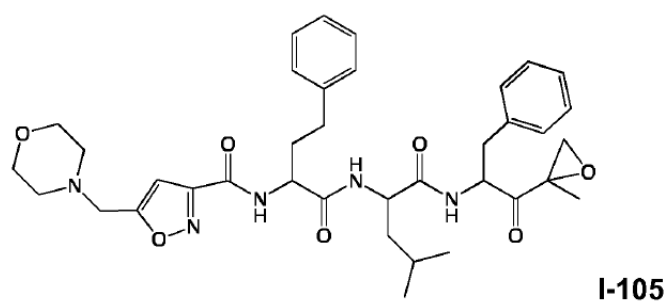
Los ejemplos de compuestos que tienen la estructura de la Fórmula (I) incluyen los compuestos enumerados a continuación:

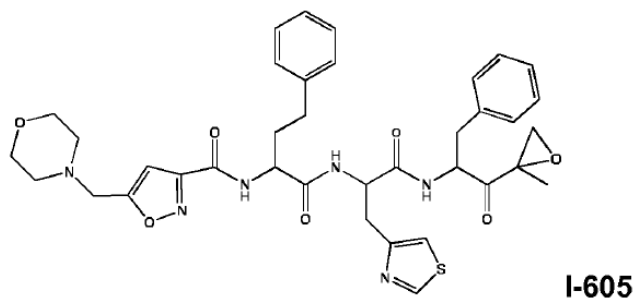
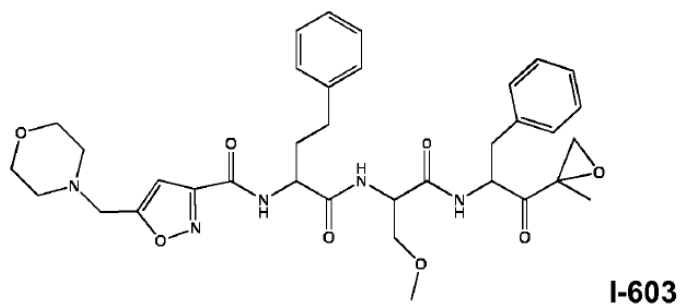
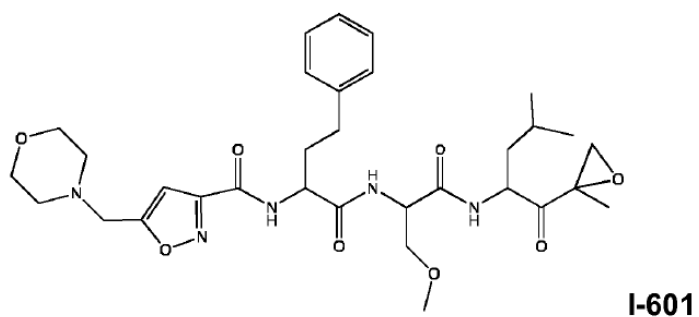
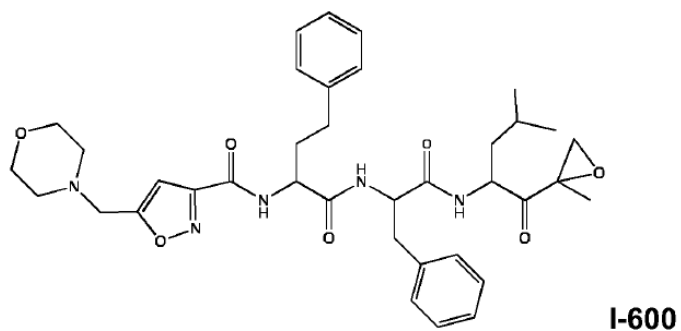
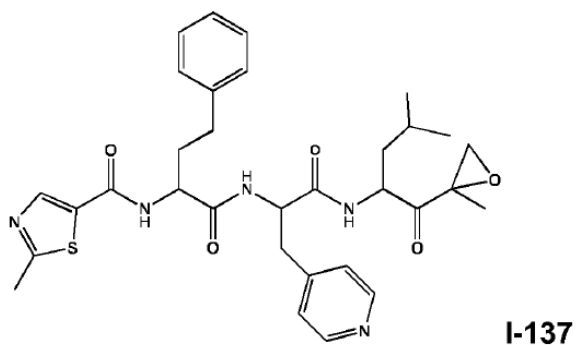


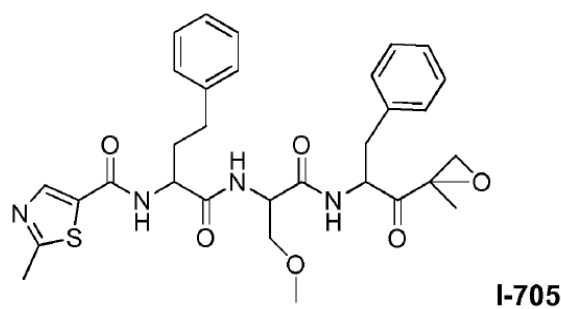
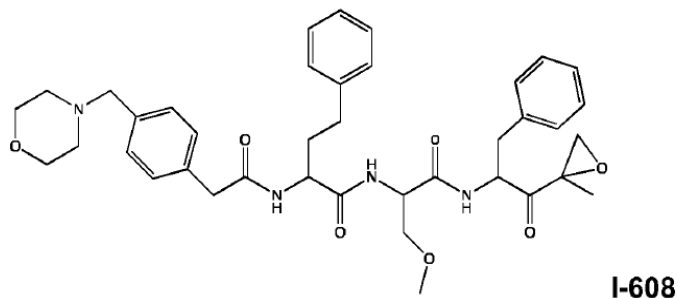
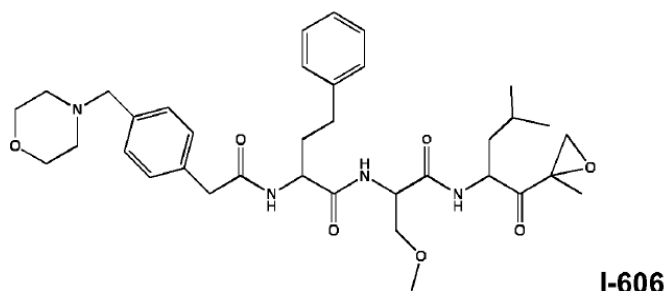
I-103



I-104

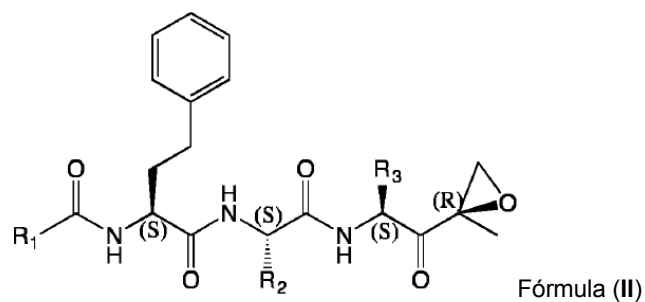




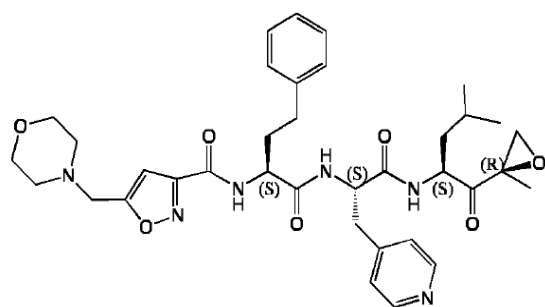


en los que cada uno de los carbonos quirales de la Fórmula (I) puede estar independientemente en configuración R o configuración S.

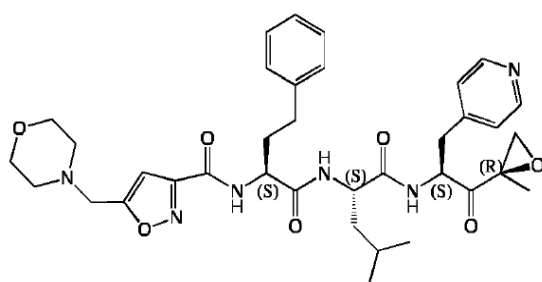
5 Tal como se describe en el presente documento, un compuesto de Fórmula (I) tiene la configuración que se muestra en la Fórmula (II), en la que R_1 , R_2 y R_3 tienen definiciones como las proporcionadas anteriormente:



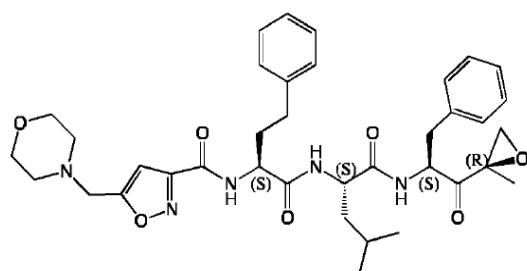
10 De acuerdo con la presente invención, los compuestos proporcionados en el presente documento comprenden una estructura seleccionada entre los compuestos enumerados a continuación, y enantiómeros, diastereómeros, tautómeros, sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos:



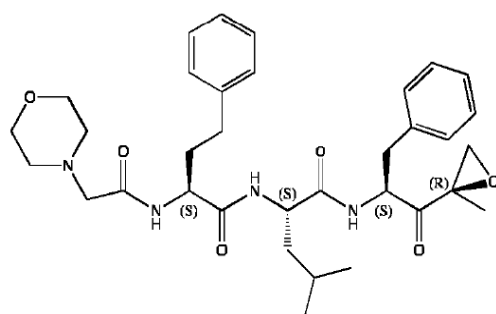
CX13-103,



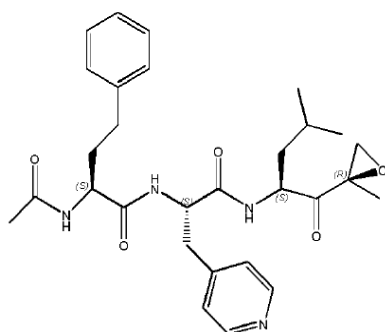
CX13-104,



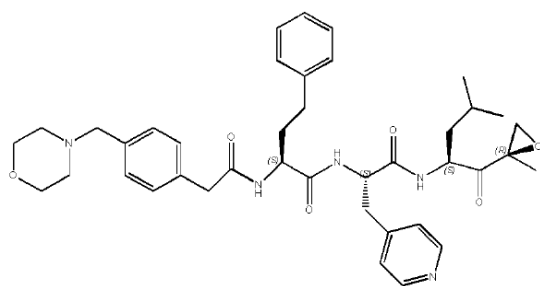
CX13-105,



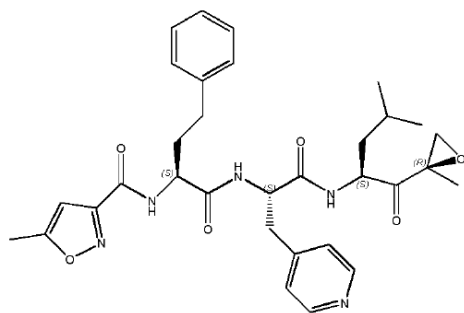
CX13-107,



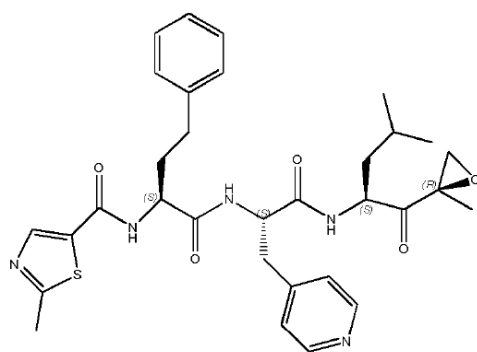
CX13-130,



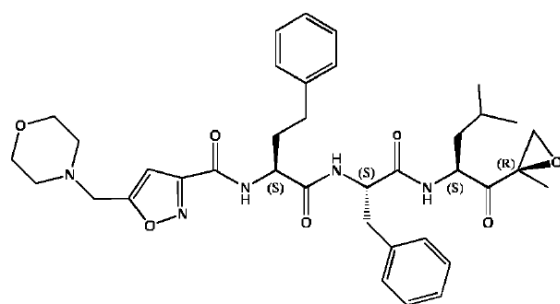
CX13-133,



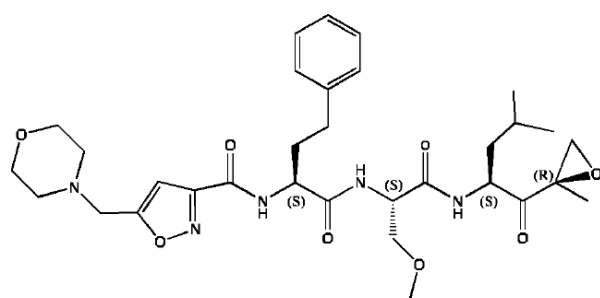
CX13-135



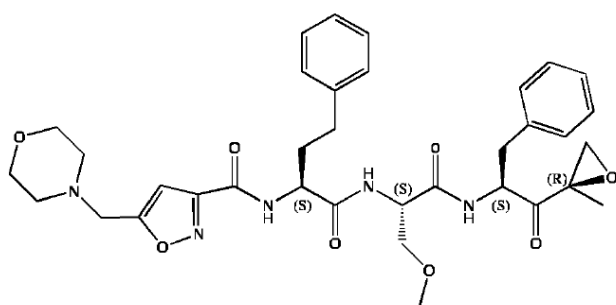
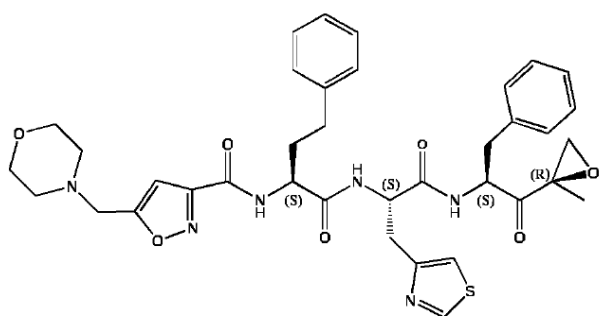
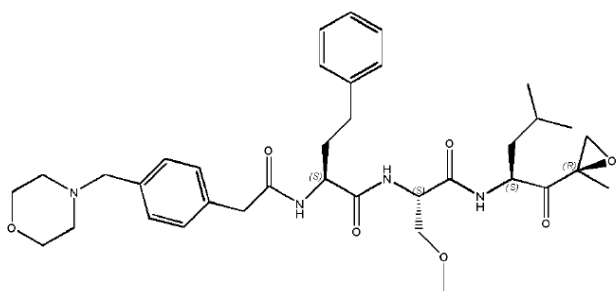
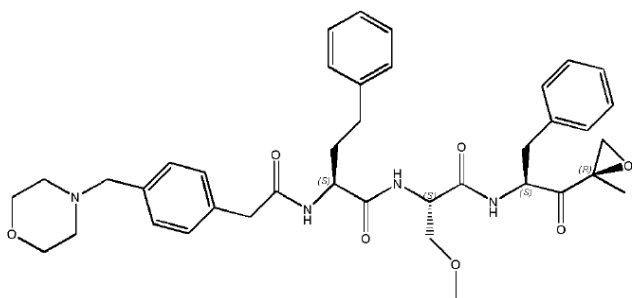
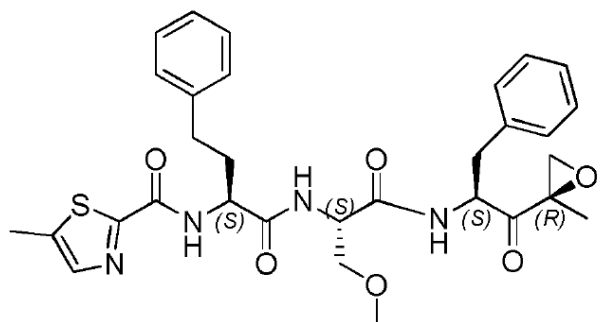
CX13-137,



CX13-600,



CX13-601,

**CX13-603,****CX13-605,****CX13-606,****CX13-608,****CX13-705.**

Las sales farmacéuticamente aceptables pueden ser cualquier sal o éster que sea fisiológicamente aceptable y sea apropiada para la administración al receptor deseado. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adición de ácido (p. ej. sales clorhidrato, bromhidrato, hidroyoduro, nitrato, sulfato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, acetato, lactato, salicilato, citrato, tartrato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato,

gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato y pamoato) y sales básicas (p. ej. sales de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio, cinc y dietanolamina).

5 Definición

El término “alquilo C_{x-y} ” se refiere a grupos hidrocarburo saturados sustituidos o no sustituidos, incluidos grupos alquilo de cadena lineal y grupos alquilo de cadena ramificada que contienen desde x hasta y carbonos en la cadena.

Los términos “alqueno C_{2-y} ” y “alquino C_{2-y} ” se refieren a grupos alifáticos insaturados sustituidos o no sustituidos análogos en longitud y posible sustitución a los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un doble o triple enlace respectivamente.

El término “alcoxi” se refiere a un grupo alquilo con un oxígeno unido al mismo. Los grupos alcoxi representativos incluyen metoxi, etoxi, propoxi, terc-butoxi y similares. Un “éter” son dos hidrocarburos unidos covalentemente por un oxígeno. En consecuencia, el sustituyente de un alquilo que convierte este alquilo en éter es o parece un alcoxi.

El término “alcoxialquilo C_{1-10} ” se refiere a un grupo alquilo C_{1-10} sustituido con un grupo alcoxi, formando de este modo un éter.

El término “aralquilo C_{1-10} ”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C_{1-10} sustituido con un grupo arilo.

El término “heteroaralquilo C_{1-10} ”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C_{1-10} sustituido con un grupo heteroarilo.

El término “arilo”, tal como se usa en el presente documento, incluye grupos aromáticos de un solo anillo de 5, 6 y 7 miembros sustituidos o no sustituidos en los que cada átomo del anillo es carbono.

El término “heteroarilo” incluye estructuras de anillo aromático sustituidas o no sustituidas de 5 a 7 miembros, más preferentemente anillos de 5 a 6 miembros, cuyas estructuras de anillo incluyen desde uno hasta cuatro heteroátomos.

Los términos “carbociclo” y “carbociclilo”, tal como se usa en el presente documento, se refieren a un anillo no aromático sustituido o no sustituido en el que cada átomo del anillo es carbono.

El término “heterociclilo” o la expresión “grupo heterocíclico” se refieren a estructuras de anillo no aromáticas sustituidas o no sustituidas de 3 a 10 miembros, más preferentemente anillos de 3 a 7 miembros, cuyas estructuras de anillo incluyen de uno o cuatro heteroátomos.

El término “hidroxialquilo C_{1-10} ” se refiere a un grupo alquilo C_{1-10} sustituido con un grupo hidroxilo.

El término “profármaco” comprende compuestos que, en condiciones fisiológicas, se convierten en agentes terapéuticamente activos. Un procedimiento habitual para la preparación de profármacos es incluir restos seleccionados que se hidrolizan en condiciones fisiológicas para convertirse en la molécula deseada. En otras formas de realización, el profármaco se convierte mediante una actividad enzimática del animal huésped.

Actividad biológica, selectividad y solubilidad

Los compuestos proporcionados en el presente documento tienen actividad biológica en la inhibición del proteasoma. La inhibición del proteasoma 20S se puede determinar mediante procedimientos y ensayos conocidos en la técnica, por ejemplo, tal como se divulga en Stein et al., *Biochemistry* (1996), 35, 3899-3908; en Lightcap et al., *Clinical Chemistry*, 2000, 46, 673-683; en Kisselev et al., *Journal of Biological Chemistry*, (2006), 281, 8582-8590 y en la solicitud de Estados Unidos número 09/569748. Las actividades de tipo quimotripsina (CT-L), de hidrolización de peptidil-glutamil péptido (PGPH) y de tipo tripsina (T-L) del proteasoma 20S se miden con un procedimiento de ensayo del sustrato fluorogénico usando succinil-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC, Z-Leu-Leu-Glu-AMC y Boc-Leu-Arg-Arg-AMC, respectivamente, como sustratos en un tampón de ensayo. El fluoróforo libre 7-amino-4-metilcumarina (AMC) tras la escisión del sustrato se cuantifica usando un fluorómetro y se determina la actividad de CT-L, PGPH y T-L del proteasoma 20S.

Los compuestos proporcionados en el presente documento son útiles en parte porque inhiben las actividades catalíticas del proteasoma.

En determinadas formas de realización, los compuestos proporcionados en el presente documento muestran inhibición (p. ej., al menos un 50 % de inhibición) de la actividad CT-L del proteasoma 20S cuando están presentes a

concentraciones inferiores a aproximadamente 500 nM, 250 nM, 100 nM (p. ej., CX13-130), 50 nM (p. ej., CX13-104, CX13-137, CX13-601, CX13-603), 10 nM (p. ej., CX13-135, CX13-605, CX13-606, CX13-705) o 5 nM (p. ej., CX13-103, CX13-105, CX13-107, CX13-133, CX13-600, CX13-608). En determinadas formas de realización, los compuestos proporcionados en el presente documento muestran inhibición de la actividad T-L del proteasoma 20S por debajo de aproximadamente 500 nM (p. ej., CX13-133, CX13-606, CX13-608).

En otro aspecto, los compuestos divulgados en el presente documento tienen una solubilidad acuosa mejorada. En determinadas formas de realización, las epoxicetonas tripeptídicas proporcionadas en el presente documento tienen una solubilidad acuosa de al menos aproximadamente 0,02, 0,05, 0,1, 0,5 o 1 mg/ml.

En otro aspecto, las epoxicetonas tripeptídicas proporcionadas en el presente documento tienen todas solubilidad acuosa mejorada e inhibición del proteasoma. En determinadas formas de realización, los compuestos divulgados en el presente documento tienen una solubilidad acuosa de al menos aproximadamente 0,1, 0,5 o 1 mg/ml y muestran inhibición de la actividad CT-L del proteasoma 20S cuando están presentes a una concentración inferior a aproximadamente 100 nM, 50 nM, 10 nM o 5 nM.

Uso de los compuestos

Otro aspecto de la presente divulgación se refiere a procedimientos de inhibición de las actividades del proteasoma que comprenden la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento. "Cantidad terapéuticamente eficaz", tal y como se usa en el presente documento, significa la cantidad de un compuesto que es suficiente para proporcionar la eficacia terapéutica pretendida o la actividad en el sujeto que recibe el compuesto. La cantidad eficaz puede variar dependiendo de diversos factores tales como la edad, el sexo, la condición de salud del sujeto, la forma de dosificación del compuesto, la gravedad de la enfermedad en el sujeto, etc. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede determinarse por parte de un médico o un facultativo que prescribe el compuesto, teniendo en cuenta los factores mencionados anteriormente, entre otros.

Otro aspecto de la presente divulgación se refiere a procedimientos de tratamiento de una afección asociada con el proteasoma. El procedimiento comprende la administración de una cantidad eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento. Los compuestos proporcionados en el presente documento se pueden usar para tratar cualquiera de las afecciones o enfermedades que están asociadas con el proteasoma, incluidas, pero sin limitación, las enumeradas a continuación.

Se sabe o se cree que una diversidad de afecciones o enfermedades están medidas por las funciones catalíticas del proteasoma. Se ha sugerido la inhibición del proteasoma como prevención y/o tratamiento de una multitud de enfermedades que incluyen, sin limitación, cánceres, trastornos neurotóxicos/degenerativos, enfermedad de Alzheimer, afecciones isquémicas, inflamación, trastornos relacionados con el sistema inmunológico, infección por VIH, rechazo de injerto de órganos, choque séptico, inhibición de presentación de antígeno, infecciones parasitarias, afecciones asociadas con acidosis, degeneración macular, enfermedades del crecimiento óseo y capilar. Por consiguiente, las composiciones de inhibidor del proteasoma tales como las epoxicetonas peptídicas divulgadas en el presente documento proporcionan un medio de tratamiento de pacientes con estas afecciones.

La inhibición del proteasoma se ha mostrado clínicamente como una estrategia terapéutica antitumoral. En consecuencia, los compuestos divulgados en el presente documento son útiles para el tratamiento de cánceres. Los ejemplos de cánceres que pueden tratarse incluyen leucemia, linfoma, mieloma y carcinomas, tales como carcinoma hepatocelular, etc. Otros cánceres que pueden tratarse con los compuestos divulgados en el presente documento incluyen carcinoma adrenocortical, carcinomas relacionados con el SIDA, astrocitoma, carcinoma óseo, osteosarcoma, GMB, histiocitoma fibroso maligno, melanoma, mesotelioma maligno, feocromocitoma, pineoblastoma y tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, neuroblastoma, sarcoma uterino, cáncer de conducto biliar, cáncer de vejiga, cánceres de mama, cánceres gastrointestinales, cánceres cervicales, cánceres de colon, cánceres rectales, cánceres esofágicos, cánceres oculares, cáncer de ovario, cánceres de cabeza y cuello, cánceres de riñón, cánceres de labio y cavidad bucal, cánceres de pulmón, cánceres de la cavidad nasal y senos paranasales, cánceres de pene, cánceres de próstata, cánceres de células de transición, cánceres de glándula salivar, cánceres de tejidos blandos, cánceres de piel, cáncer tiroideo, paratiroideo y cánceres vaginales.

Los inhibidores del proteasoma se han asociado con inhibición de NF- κ B. NF- κ B es un potente factor de transcripción que media en la transcripción de genes que incluyen moléculas inflamatorias tales como TNF, IL-1, ciclooxigenasa, ICAM, etc. En consecuencia, los compuestos proporcionados en el presente documento se pueden usar con un inmunosupresor que puede ser útil en trastornos o afecciones inflamatorias, tales como, sin limitación, alergia, asma, rechazo de un órgano/tejido trasplantado, enfermedades autoinmunitarias, lupus, artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple y enfermedades inflamatorias intestinales. Los compuestos proporcionados en el presente documento pueden administrarse en una cantidad eficaz, opcionalmente en una composición farmacéutica, a un sujeto con necesidad de los mismos, para tratar estas afecciones.

Se ha encontrado que los inhibidores del proteasoma reducen la degradación de las proteínas musculares, por lo tanto son útiles en la inhibición de la pérdida muscular y la atrofia de las fibras. En consecuencia, los compuestos

proporcionados en el presente documento se pueden usar para tratar caquexia y trastornos de pérdida muscular, tales como trastornos infecciosos crónicos, fiebre, desuso muscular y denervación, lesiones nerviosas, insuficiencia renal asociada con acidosis y insuficiencia hepática. En determinadas formas de realización, los compuestos proporcionados en el presente documento se pueden administrar en una cantidad eficaz, opcionalmente en una composición farmacéutica, a un sujeto con necesidad de los mismos, para ralentizar o reducir la degradación de proteínas musculares, la degradación de proteínas intracelulares o la degradación de la proteína p53 en una célula.

Los compuestos proporcionados en el presente documento también se pueden usar para tratar enfermedades y afecciones neurodegenerativas, incluyendo, pero sin limitación, apoplejía, daño isquémico al sistema nervioso, trauma neural (p. ej., daño cerebral percusivo, lesión de la médula espinal y daño traumático del sistema nervioso), esclerosis múltiple y otras neuropatías mediadas por el sistema inmunitario (p. ej., síndrome de Guillain-Barre y sus variantes, neuropatía axonal motora aguda, polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda y síndrome de Fisher), complejo de demencia por VIH/SIDA, axonomía, neuropatía diabética, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, meningitis bacteriana, parasitaria, fúngica y vírica, encefalitis, demencia vascular, demencia multiinfarto, demencia por cuerpos de Lewy, demencia de lóbulo frontal tal como enfermedad de Pick, demencias subcorticales (tales como enfermedad de Huntington o parálisis supranuclear progresiva), síndromes de atrofia cortical focal (tales como la afasia primaria), demencias tóxico-metabólicas y demencias causadas por infecciones (tales como sífilis o meningitis crónica).

Los compuestos proporcionados en el presente documento también pueden ser útiles en la regulación del procesamiento de proteínas que está asociado con la deposición extracelular de la proteína β -amiloide (β -AP), la causa principal de la enfermedad de Alzheimer. En consecuencia, los compuestos proporcionados en el presente documento son útiles en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, por ejemplo reduciendo la velocidad de procesamiento de β -AP, reduciendo la velocidad de formación de placas de β -AP, reduciendo la velocidad de generación de β -AP y reduciendo los síntomas clínicos de la enfermedad de Alzheimer.

La inhibición del proteasoma se ha asociado también con la reducción de la fibrosis. En consecuencia, los compuestos proporcionados en el presente documento se pueden usar para el tratamiento de la fibrosis relacionada con afecciones tales como nefropatía diabética, glomeruloesclerosis, nefropatía por IgA, cirrosis, atresia biliar, insuficiencia cardíaca congestiva, escleroderma, fibrosis inducida por radiación, fibrosis pulmonar y fibrosis cardíaca.

Composiciones farmacéuticas y administración

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto proporcionado en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en el presente documento, significa un material, una composición o una sustancia transportadora farmacéuticamente aceptable, tal como un material de carga líquido o sólido, un diluyente, un excipiente, un disolvente o un material encapsulante, implicado en el proceso de portar o transportar un compuesto proporcionado en el presente documento desde una localización, fluido corporal, tejido, órgano (interior o exterior) o porción del cuerpo hasta otra localización, fluido corporal, tejido, órgano (interior o exterior) o porción del cuerpo. Los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden ser sustancias transportadoras, diluyentes, excipientes u otros materiales que se pueden usar para la puesta en contacto con los tejidos de un animal sin excesiva toxicidad o efectos adversos. Los ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, azúcares, almidón, celulosas, malta, goma tragacanto, gelatina, solución de Ringer, ácido alginico, solución salina isotónica, agentes tamponadores, etc.

Cada vehículo es "farmacéuticamente aceptable" en el sentido de que es compatible con los otros ingredientes, p. ej., un compuesto proporcionado en el presente documento de la formulación y apropiado para su uso en contacto con el tejido u órgano de un sujeto biológico sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, inmunogenicidad u otros problemas o complicaciones, proporcionales a una relación razonable beneficio/riesgo.

Varios ejemplos de los materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; (3) celulosa, y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) goma tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como mantequilla de coco y ceras de supositorio; (9) aceites, como aceite de cacahuete, aceite de semillas de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de habas de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como maleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes tamponadores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido alginico; (16) agua exenta de pirógeno; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol, tal como alcohol etílico y alcohol propílico; (20) soluciones de tampón de fosfato; y (21) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas tales como acetona.

Las composiciones farmacéuticas pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables tales como las requeridas para aproximarse a las condiciones fisiológicas tales como agentes de ajuste de pH y agentes

tamponadores, agentes de ajuste de la toxicidad y similares, por ejemplo, acetato sódico, cloruro sódico, cloruro potásico, cloruro cálcico, lactato sódico y similares.

La composición farmacéutica puede prepararse como cualquier forma de dosificación apropiada, como forma de dosificación sólida (p. ej., comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, etc.) y como forma de dosificación líquida (p. ej. solución acuosa, emulsión, elixir, jarabe, etc.). Los procedimientos de preparación de composiciones farmacéuticas son bien conocidos en la técnica, y se pueden llevar a cabo de acuerdo con procedimientos rutinarios tal como se describe, por ejemplo, en Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro ed. 20ª edición, Willians & Wilkins PA, EUA)(2000).

En determinadas formas de realización, las composiciones farmacéuticas comprenden aproximadamente 10-9 g hasta aproximadamente 10 g de un compuesto proporcionado en el presente documento (p. ej., aproximadamente 0,01 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 0,1 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 1 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 5 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 20 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 30 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 40 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 50 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 80 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 100 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 150 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 200 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 300 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 400 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 500 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 600 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 700 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 800 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 900 mg hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 1 g hasta aproximadamente 10 g, aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 5 g, aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 3 g, aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 1 g, aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 900 mg, aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 700 mg, aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 500 mg, o aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 300 mg). Las dosis apropiadas por sujeto por día pueden ser desde aproximadamente 0,01 mg hasta aproximadamente 5 g.

En determinadas formas de realización, los compuestos o composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento se formulan en una forma de dosificación que es apropiada para su liberación a un sujeto con necesidad de los mismos por vía parenteral (p. ej. subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, intraesternal y/o infusión) y por vía no parenteral (p. ej. oral, enteral, bucal, nasal, intranasal, transmucosal, epidérmica, transdérmica, dérmica, oftálmica, pulmonar, sublingual, rectal, vaginal o tópica). En determinados ejemplos, los compuestos o composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento se formulan en una forma de dosificación que es apropiada para la liberación a un sujeto con necesidad de los mismos por vía oral o enteral.

La forma de dosificación apropiada incluye, sin limitación, formulaciones para uso parenteral tales como emulsiones inyectables, soluciones, y suspensiones, formulaciones para uso oral tales como comprimidos, cápsulas, píldoras, grageas, polvos y gránulos, formulaciones para uso tópico o transdérmico tales como pulverizaciones, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches, inhaladores, y formulaciones para uso intravaginal o intratecal tales como supositorios. Estas formulaciones se pueden preparar mediante asociación del compuesto con los excipientes apropiados en las condiciones apropiadas, de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica, tal y como se describen en Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro ed. 20ª edición, Willians & Wilkins PA, EUA)(2000).

Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar a un sujeto por cualquier vía de administración apropiada, tal como por vía oral, intravenosa, intranasal, tópica, intramuscular, intradérmica, transdérmica, o vías subcutáneas.

En determinadas formas de realización, los compuestos o composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento se pueden administrar de forma concomitante con el segundo agente activo, de modo que en el sujeto que lo necesita se puedan alcanzar efectos farmacéuticos combinatorios o incluso sinérgicos. Por ejemplo, los compuestos proporcionados en el presente documento y el segundo agente activo se pueden administrar en una composición farmacéutica individual o simultáneamente en composiciones separadas, o secuencialmente en composiciones separadas. El segundo agente activo que se puede administrar de forma concomitante con los compuestos de la presente divulgación para el tratamiento del cáncer incluye, pero sin limitación: 5-fluorouracilo, doxorubicina, daunorrubicina, tamoxifeno, leuprolida, goserelina, flutamida, nilutimida, finasterida, dexametasona, lenalidomida aminoglutetimida, amsacrina, anastrozol, asparaginasa, bcg, bicalutamida, bleomicina, buserelina, busulfán, campotecina, capecitabina, carboplatino, carmustina, clorambucilo, cisplatino, cladribina, clodronato, colchicina, ciclofosfamida, temozolomida, ciproterona, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daunorrubicina, dienestrol, dietilestilbestrol, docetaxel, doxorubicina adriamicina, epirubicina, estradiol, estramustina, etoposida, exemestano, filgrastim, fludarabina, fludrocortisona, fluorouracilo, fluoximesterona, flutamida, gemcitabina, genisteína, goserelina, tamoxifeno, teniposida, testosterona, titanoceno dicloruro, topotecán, trastuzumab, tretinoína, vinblastina, hidroxiurea, idarrubicina, ifosfamida, imatinib, interferón, irinotecán, ironotecán, letrozol, leucovorina, pentostatina, plicamicina, porfimer, procarbazona, raltitrexed, rituximab, estreptozocina, suramina, leuprolida,

levamisol, lomustina, mecloretamina, medroxiprogesterona, megestrol, melfalán, mercaptopurina, mesna, metotrexato, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, nilutamida, nocodazol, octreotida, oxaliplatino, paclitaxel, pamidronato, tioguanina, tiotepa, bicloruro de titanoceno, topotecán, trastuzumab, tretinoína, vinblastina, vincristina, vindesina, y vinorelbina.

En determinadas formas de realización, un compuesto de la presente divulgación se puede administrar de forma concomitante con procedimientos no químicos del tratamiento del cáncer. En determinadas formas de realización, un compuesto de la presente divulgación se puede administrar de forma concomitante con radioterapia. En determinadas formas de realización, un compuesto de la presente divulgación se puede administrar conjuntamente con cirugía, con termoablación, con tratamiento de ultrasonidos focalizado, con crioterapia, o con cualquier combinación de las mismas.

En determinadas formas de realización, un compuesto de la presente divulgación se administra de forma concomitante con un esteroide, incluyendo, pero sin limitación, amcinonida, beclometasona, betametasona, budesonida, cloroprednisona, clobetasol, clocortolona, cloprednol, corticosterona, cortisona, sortiazol, desonida, desoximetasona, dexametasona, diflorasona, diflucortolona, difuprednato, enoxolona, fluazacort, flumetasona, flunisolida, flucoronida, fluocinolona acetona, fluocinonida, fluocorinbutilo, fluocortolona, fluorometolona, acetato de fluperolona, acetato de fluprednidenol, fluprednisolona, flurandrenolida, fluticasona propionato, formocortal, propionato de halobetasol, halcinonida, halometasona, hidrocortisona, etabonato de loteprednol, mazipredona, medrisona, meprednisona, metilprednisolona, furoato de mometasona, parametasona, prednisolona, dexametasona y 25-aminoacetato de dietilo.

En determinadas formas de realización, un compuesto de la presente divulgación se administra de forma concomitante con un agente inmunoterapéutico, incluidos moduladores MDR tales como verapamilo, rapamicina, micofenilato mofetil, talidomida, ciclofosomida, ciclosporina y anticuerpos monoclonales.

EJEMPLOS

Los siguientes son ejemplos de epoxicetonas tripeptídicas tal como se divulgan en el presente documento, la síntesis de las mismas, la propiedad inhibidora de la actividad del proteasoma, la propiedad de actividad antitumoral y la solubilidad acuosa de las mismas.

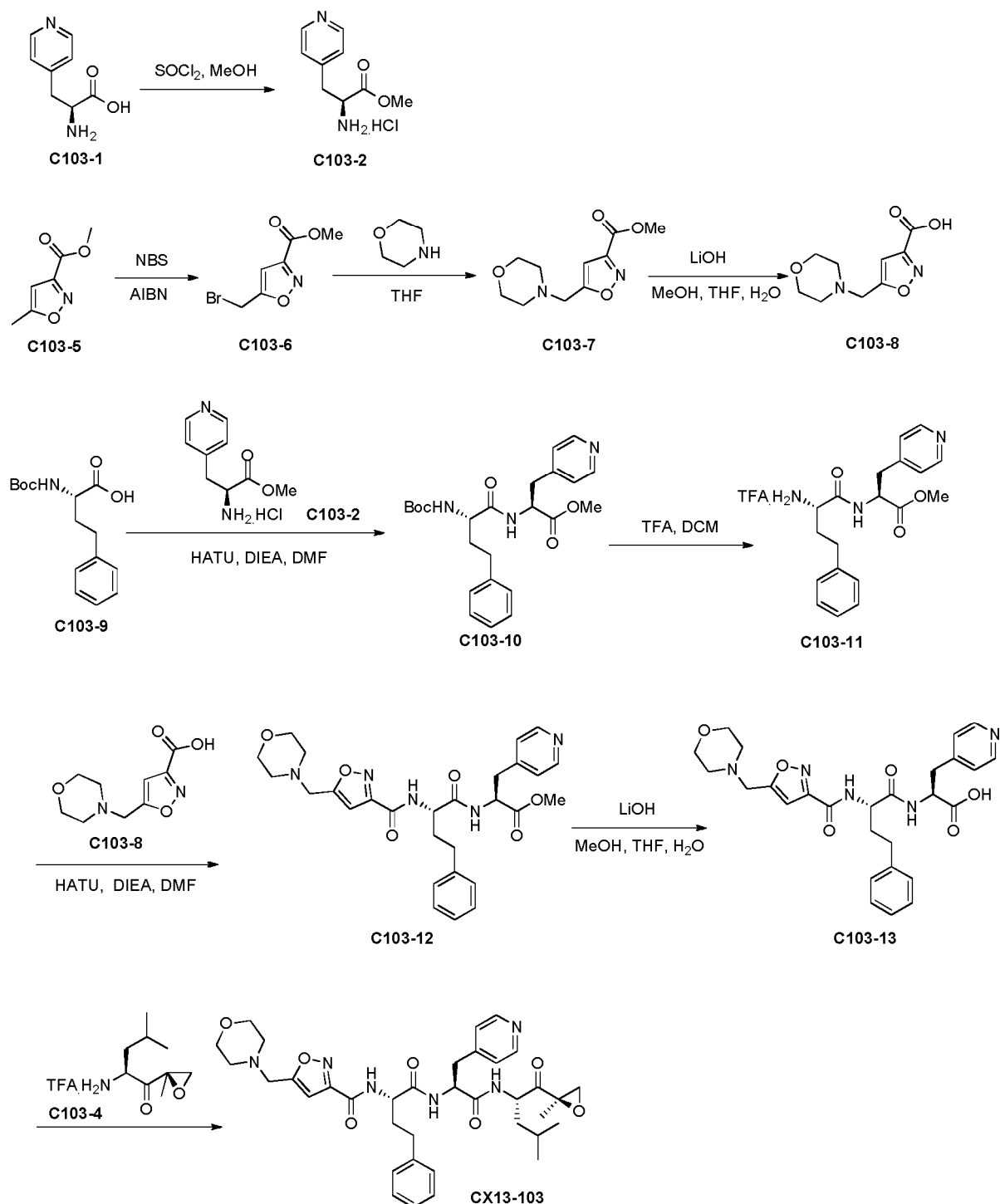
La síntesis de los compuestos proporcionados en el presente documento se ilustra en los esquemas sintéticos en los ejemplos inferiores. Estos esquemas son sólo ilustrativos y no pretenden limitar otros posibles procedimientos que se pueden usar para preparar los compuestos proporcionados en el presente documento. Adicionalmente, las etapas en los esquemas se presentan para una mejor ilustración y se pueden cambiar según convenga. Las formas de realización de los compuestos de los ejemplos se sintetizaron en el extranjero con fines de investigación y la posible presentación a las agencias reguladoras.

Para los procedimientos experimentales generales, se usaron los espectros de RMN de ^1H para conseguir información de las estructuras de los compuestos. La cromatografía líquida con espectrometría de masas (CL-EM) se registró usando un sistema de espectrómetro de masas de cuadrupolo que opera en modo positivo de ionización por electropulverización (ESI). La pureza se comprobó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección UV. Se usó separación por cromatografía líquida de alta resolución preparativa (Prep-HPLC) en la purificación, cuando fue necesario.

EJEMPLO 1

Síntesis del compuesto **CX13-103**

Esquema 1. Síntesis de **CX13-103**



Síntesis de **C103-2**

- 5 Se añadió gota a gota SOCl_2 (5 ml) a MeOH (150 ml) a 0 °C. Se añadió después **C103-1** (10 g, 42 mmol), y se calentó la mezcla a reflujo durante una noche. Después de enfriar a temperatura ambiente, se concentró la mezcla y se secó al vacío para dar el producto puro **C103-2** (11 g, cuantitativo). EM (ESI) m/z : 181 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Síntesis de **C103-6**

- 10 A una solución de **C103-5** (7,05 g, 50 mmol) en CCl_4 (250 ml) se añadió NBS (11,5 g, 65 mmol) y AIBN (820 mg, 5 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante una noche. Después de enfriar a temperatura ambiente, se vertió la mezcla de reacción en agua; se extrajo la capa acuosa dos veces con DCM. Las capas combinadas se

lavarón sobre NaHCO_3 saturado, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío. El resto oleaginoso se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para dar **C103-6** (5,56 g, rendimiento: 51 %). EM (ESI) m/z : 221 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5 Síntesis de **C103-7**

A una solución enfriada (0 °C) de morfina (4,8 g, 55 mmol) en THF (20 ml), se añadió gota a gota una solución de **C103-6** (5,56 g, 25,5 mmol) en THF (20 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 min. Se vertió la mezcla de reacción en agua y se extrajo la capa acuosa dos veces con EtOAc. La capa combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró al vacío. El aceite residual se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para dar **C103-7** (4,03 g, rendimiento: 70 %). EM (ESI) m/z : 227 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Síntesis de **C103-8**

15 A una solución enfriada (0 °C) de **C103-7** (4 g, 17,7 mmol) en THF (30 ml) y MeOH (30 ml) se añadió LiOH 2 N (13 ml, 26 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se ajustó el pH a 5 mediante la adición de ácido clorhídrico acuoso y se concentró la mezcla al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía ultrarrápida para dar **C103-8** (2,65 g, rendimiento: 71 %). EM (ESI) m/z : 213 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

20 Síntesis de **C103-10**

A una solución enfriada (0 °C) de **C103-9** (5,81 g, 20,8 mmol) en DMF (80 ml) se añadió HATU (8,3 g, 21,8 mmol) y DIEA (14,3 ml, 85 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min. Se añadió después **C103-2** (5,22 g, 20,8 mmol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora en atmósfera de nitrógeno. Se vertió la mezcla de reacción en agua y se extrajo dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío. El aceite residual se purificó mediante HPLC preparativa para dar **C103-10** (7,9 g, rendimiento: 86 %). EM (ESI) m/z : 442 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Síntesis de **C103-11**

30 A una solución de **C103-10** (7,9 g, 17,9 mmol) en DCM (40 ml) se añadió TFA (10 ml) lentamente a 0 °C. Se dejó agitar después la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 hora. La concentración al vacío dio el producto crudo, que se utilizó para el siguiente paso sin ninguna purificación adicional. EM (ESI) m/z : 342 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

35 Síntesis de **C103-12**

A una solución enfriada (0 °C) de **C103-8** (2,65 g, 12,5 mmol) en DMF (50 ml) se añadió HATU (6,18 g, 16,25 mmol) y DIEA (10 ml, 60 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min. Se añadió **C103-11**. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora en atmósfera de nitrógeno. Se vertió la mezcla de reacción en agua y se extrajo dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío. El aceite residual se purificó mediante cromatografía para dar **C103-12** (5,3 g, rendimiento: 79 %). EM (ESI) m/z : 536 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Síntesis de **C103-13**

45 A una solución enfriada (0 °C) de **C103-12** (5,3 g, 9,88 mmol) en THF (30 ml) y MeOH (30 ml) se añadió LiOH 2 N (7,5 ml, 16 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El pH se ajustó a 5 mediante la adición de ácido clorhídrico y se concentró al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía para dar **C103-13** (3,4 g, rendimiento: 66 %). EM (ESI) m/z : 522 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Síntesis de **CX13-103**

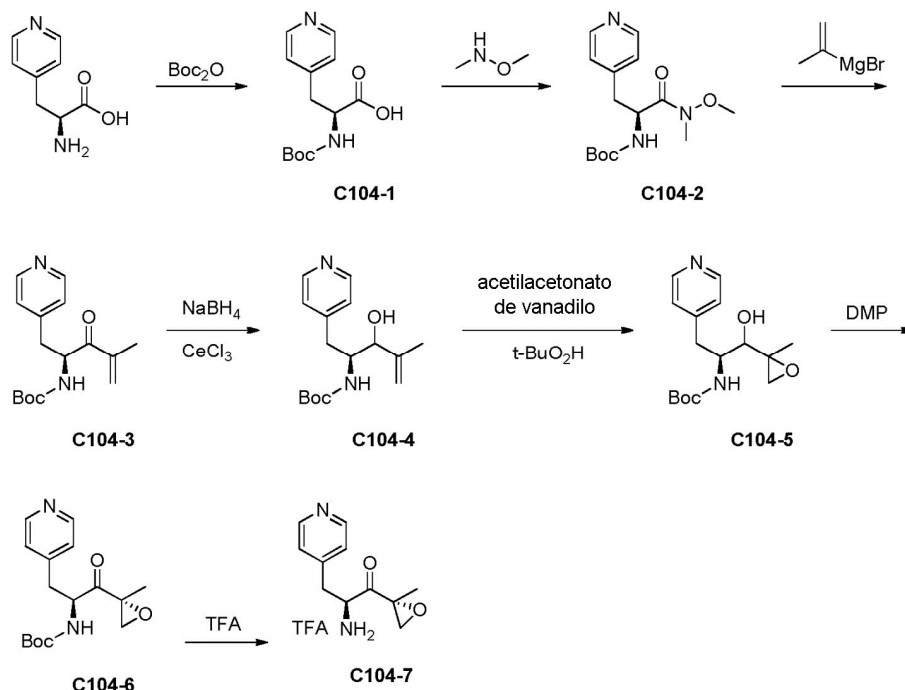
55 A una solución enfriada (0 °C) de **C103-13** (3,4 g, 6,53 mmol) en DMF (20 ml), se añadió HATU (3,23 g, 8,5 mmol) y DIEA (5 ml, 30 mmol). Se agitó la mezcla a 0 °C durante 30 min. Después se añadió **C103-4** (para la síntesis de **C103-4** véase la solicitud de patente PCT PCT/US2013/052143). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora en atmósfera de nitrógeno. Se vertió la mezcla de reacción en agua y se extrajo dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío. El aceite residual se purificó mediante HPLC preparativa para dar **CX13-103** (1,12 g, rendimiento: 25 %).

60 RMN de ^1H (400 MHz, Metanol- d_4) δ 8,37 (d, 2H), 7,32 (d, 2H), 7,29 – 7,25 (m, 2H), 7,20 – 7,18 (m, 3H), 6,71 (s, 1H), 4,77 (dd, 1H), 4,56 – 4,51 (m, 2H), 3,82 (s, 2H), 3,74 – 3,72 (m, 4H), 3,25 (d, 1H), 3,23 (dd, 1H), 3,01 (dd, 1H), 2,95 (d, 1H), 2,70 – 2,50 (m, 6H), 2,20 – 1,95 (m, 2H), 1,80 – 1,60 (m, 1H), 1,52 – 1,20 (m, 5H), 0,91 (d, 3H), 0,89 (d, 3H); EM (ESI) m/z : 675 $[\text{M}+\text{H}]^+$; pureza > 95 %.

65

EJEMPLO 2**Síntesis del compuesto CX13-104****Síntesis del intermedio C104-7**

5

Esquema 2: preparación del intermedio C104-7**Síntesis de C104-1**

10

Se añadieron a 200 ml de una solución acuosa de hidróxido sódico 1 N y 200 ml de THF a 9,6 g (40 mmol) de L-3-(4-piridil)alanina-2HCl. Durante la agitación, se añadieron gota a gota 20 ml de dicarbonato de di-*t*-butilo y se agitó la mezcla de reacción durante 2 horas. Se añadieron a la mezcla de reacción resultante 300 ml de agua y se lavó la mezcla resultante con acetato de etilo (2 x 200 ml). Se añadió a la capa acuosa solución acuosa de bisulfato potásico al 5 % para ajustar el pH de la mezcla a aproximadamente 4, y después, se extrajo la mezcla con *n*-butanol (4 x 200 ml). La capa orgánica se concentró a presión reducida. Se recogió el sólido mediante filtración y se secó para obtener 8,0 g de **C104-1** como un sólido blanco. EM (ESI) m/z : 267,2 $[M+H]^+$.

Síntesis de C104-2

20

Se disolvieron 8,0 g (30 mmol) de **C104-1** en DMF (100 ml) a temperatura ambiente y se enfrió a 4 °C. Se añadió clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina (4,4 g, 45 mmol), seguido de HBTU (17 g, 45 mmol), HOBT (6,1 g, 45 mmol) y DIEA (12 ml, 90 mmol). Se dejó calentar lentamente la reacción a temperatura ambiente y se agitó durante una noche, después de lo cual se diluyó con EtOAc (300 ml) y se lavó sucesivamente con cloruro sódico saturado (2 x 100 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. La purificación mediante columna cromatográfica (DCM (1 % TEA)) rindió el compuesto **C104-2** como un aceite amarillo (6,2 g, 66 %). EM (ESI) m/z : 310,3 $[M+H]^+$.

Síntesis de C104-3

30

El compuesto **C104-2** (6,2 g, 20 mmol) se disolvió en THF (200 ml) y se enfrió a 0 °C (hielo con salmuera). Se añadió lentamente bromuro de isopropenilmagnesio (0,5 M en THF; 200 ml; 100 mmol) a lo largo de 20 minutos. Se agitó la reacción a 0 °C durante 4 horas, después de lo cual se vertió lentamente en una solución de cloruro amónico acuoso saturada a 0 °C. Se eliminó el THF a presión reducida y se extrajo la mezcla con EtOAc (3 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron después con bicarbonato sódico saturado, agua y cloruro sódico saturado. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. La purificación mediante cromatografía de columna (DCM (1 % TEA)) dio el compuesto 3 como un aceite amarillo (5,0 g, 86 %). EM (ESI) m/z : 291,4 $[M+H]^+$.

40

Síntesis de C104-4

El compuesto **C104-3** (5,0 g, 17 mmol) se disolvió en metanol (100 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió cloruro de cerio (III) heptahidratado (8,2 g, 22 mmol), seguido de la adición de borohidruro sódico (0,85 g, 22 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 3 horas. Se vertió la mezcla lentamente en una solución acuosa saturada de cloruro amónico (200 ml) a 0 °C y se extrajo con EtOAc (4 x 100 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. La purificación mediante columna cromatográfica (DCM (1 % TEA)) dio **C104-4** como un sólido amarillo (4,5 g, 90 %). EM (ESI) *m/z*: 293,4 [M+H]⁺.

Síntesis de C104-5

El compuesto **C104-4** (4,5 g, 15 mmol) se disolvió en DCM (100 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió acetilacetato de vanadilo (0,12 g, 0,45 mmol) y a continuación hidróperóxido de terc-butilo (5,0 – 6,0 M en decano; 12 ml, 60 mmol). Se dejó calentar lentamente la reacción a temperatura ambiente durante una noche. Las mezclas se lavaron después con bicarbonato sódico saturado, agua y ácido marino. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida para dar **C104-5** que se utilizó en el siguiente paso sin ninguna purificación adicional. EM (ESI) *m/z*: 309,4 [M+H]⁺.

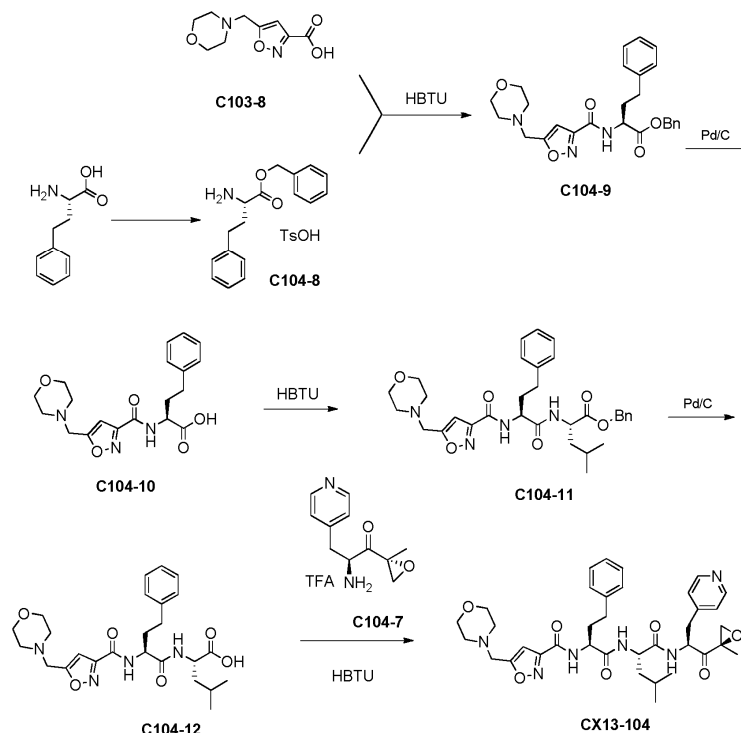
Síntesis de C104-6

El compuesto **C104-5** (4,5 g, 15 mmol) se disolvió en DCM (100 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió peryodinano de Dess-Martin (13 g, 30 mmol). Se dejó calentar la reacción lentamente hasta temperatura ambiente y tras 24 horas se enfrió a 4 °C y se añadió más peryodinano de Dess-Martin (6,4 g, 15 mmol). Se dejó calentar la solución lentamente a temperatura ambiente. Después de 3 horas se filtró la mezcla a través de Celite, el filtrado se lavó después con hiposulfito sódico saturado, bicarbonato sódico saturado, agua y ácido marino. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. La purificación mediante cromatografía de columna (DCM (2 % MeOH)) dio el compuesto **C104-6** (0,35 g, 7,5 %) como un aceite marrón: RMN de ¹H (CLOROFORMO-d) δ (ppm): 8,37 – 8,61 (m, 2H), 7,13 (d, J = 5,2 Hz, 2H), 5,13 (s ancho, 1H), 4,61 (d, 1H), 3,19 (d, 1H), 2,68 – 2,90 (m, 3H), 1,54 (s, 3H), 1,39 (s, 9H). EM (ESI) *m/z*: 307,4 [M+H]⁺.

Síntesis de C104-7

El compuesto **C104-6** (1,3 g, 4,2 mmol) se disolvió en DCM (50 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió TFA (50 ml). Se dejó calentar lentamente la reacción hasta temperatura ambiente. La mezcla se concentró a presión reducida para dar **C104-7** como una sal de TFA. EM (ESI) *m/z*: 207,4 [M+H]⁺.

Esquema 3: preparación de CX13-104



Síntesis de C104-8

Una mezcla de ácido (S)-2-amino-4-fenilbutanoico (5,0 g, 28 mmol), alcohol bencílico (6,0 g, 55 mmol), ácido p-toluenosulfónico monohidrato (9,5 g, 55 mmol) y tolueno (200 ml) se calentó a reflujo durante 16 horas con una trampa de Dean-Stark. La solución de benceno se lavó con NaHCO₃ acuoso al 5 %, salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó a sequedad a presión reducida. Se cristalizó el residuo en hexano para dar **C104-8** (9,0 g, 80 %) como agujas incoloras. EM (ESI) *m/z*: 270,5 [M+H]⁺.

Síntesis de C104-9

A una mezcla de **C103-8** (1,8 g, 8,5 mmol), **C104-8** (3,7 g, 8,5 mmol) HBTU (4,8 g, 13 mmol) en DMF (20 ml) se añadió DIEA (3 ml) lentamente mediante un embudo de adición. Se mantuvo la reacción a la misma temperatura durante 16 horas y después se diluyó con EtOAc (20 ml) y salmuera (20 ml). Se separaron las capas, y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 30 ml). Se combinaron las capas orgánicas y se secaron sobre Na₂SO₄. Se retiró el sólido mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (PE:EA = 5:1) para dar **C104-9** (2,4 g, 61 % rendimiento) como un sólido blanco. EM (ESI) *m/z*: 463,5 [M+H]⁺.

Síntesis de C104-10

A **C104-9** (2,4 g) en THF se añadió Pd/C (0,24 g) y se agitó en atmósfera de H₂ durante 2 horas. Se filtró la mezcla y se concentró para dar el producto **104-5**, que se utilizó en el siguiente paso sin purificación. EM (ESI) *m/z*: 374,5 [M+H]⁺.

Síntesis de C104-11

A una mezcla de **C104-10** (1,8 g, 8,5 mmol), (S)-2-amino-4-metilpentanoato de bencilo (1,9 g, 8,5 mmol) HBTU (4,8 g, 13 mmol) en DMF (20 ml) se añadió DIEA (3 ml) lentamente mediante un embudo de adición. Se mantuvo la reacción a temperatura ambiente durante 16 horas y se diluyó después con EtOAc (20 ml) y salmuera (20 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 30 ml). Se combinaron las capas orgánicas y se secaron sobre Na₂SO₄. Se retiró el sólido mediante filtración y se eliminaron los compuestos volátiles a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (PE:EA = 5:1) para dar **C104-11** (2,4 g, 61 % rendimiento) como un sólido blanco. EM (ESI) *m/z*: 577,5 [M+H]⁺.

Síntesis de C104-12

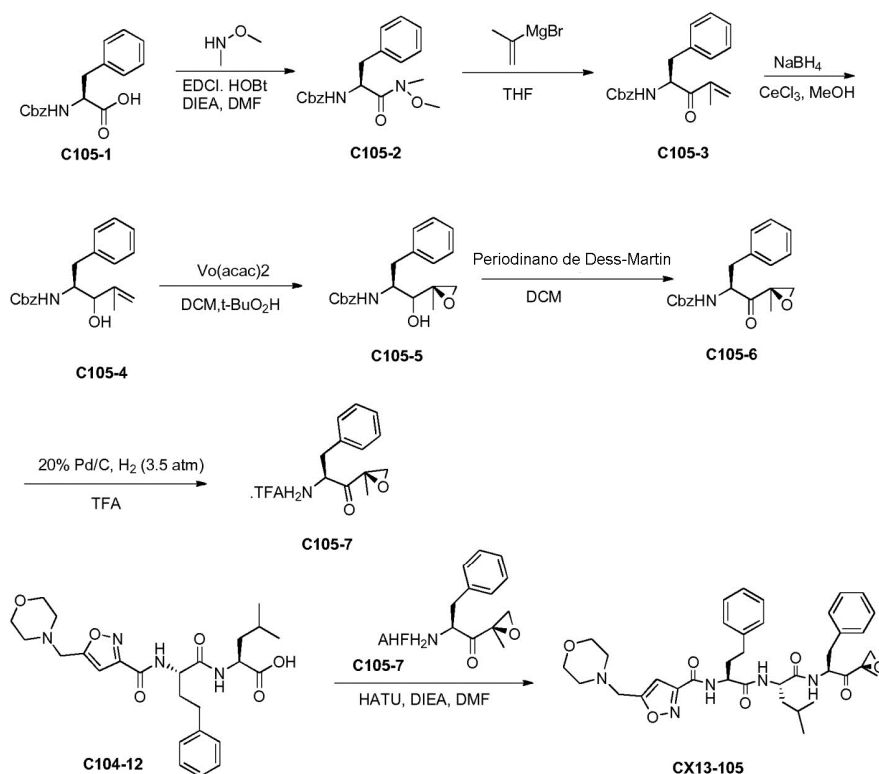
A **C104-11** (2,4 g) en THF se añadió Pd/C (0,24 g). La mezcla se agitó en atmósfera de H₂ durante 2 horas, se filtró y se concentró para dar el producto **C104-12**, que se utilizó en el siguiente paso sin purificación. EM (ESI) *m/z*: 487,5 [M+H]⁺.

Síntesis de CX13-104

Una mezcla de **C104-12** (0,40 g, 0,82 mmol), **C104-7** (0,17 g, 0,82 mmol) HOBt (0,20 g, 1,5 mmol) y HBTU (0,56 g, 1,5 mmol) en THF (5 ml) se mantuvo a -5 °C y se añadió DIEA (1 ml). Se mantuvo la reacción a -5 °C durante 0,5 horas y se diluyó después con EtOAc (10 ml) y salmuera (10 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 5 ml). Se combinaron las capas orgánicas y se secaron sobre Na₂SO₄. Se retiró el sólido mediante filtración y se eliminaron los compuestos volátiles a presión reducida. Se purificó el producto bruto mediante cromatografía en gel de sílice (DCM:MeOH = 50:1) y HPLC preparativa para obtener el compuesto **CX13-104** (50 mg, 6,2 %).

RMN de ¹H (400 MHz, Metanol-d₄) δ (ppm) 0,88 – 0,99 (m, 7H), 1,26 – 1,35 (m, 2H), 1,40 – 1,47 (m, 1H), 1,49 – 1,55 (m, 4H), 1,64 (d, J = 6,45 Hz, 1H), 1,98 – 2,18 (m, 2H), 2,53 – 2,67 (m, 6H), 2,79 (dd, J = 13,97, 9,94 Hz, 1H), 2,99 (d, J = 4,84 Hz, 1H), 3,18 (dd, J = 14,10, 3,63 Hz, 1H), 3,30 (s, 1H), 3,67 – 3,77 (m, 4H), 3,79 – 3,87 (m, 2H), 4,42 (dd, J = 8,73, 6,31 Hz, 1H), 4,53 (dd, J = 8,33, 5,64 Hz, 1H), 4,79 (dd, J = 9,81, 3,63 Hz, 1H), 6,73 (s, 1H), 7,16 – 7,22 (m, 3H), 7,22 – 7,32 (m, 3H), 7,37 (d, J = 5,91 Hz, 2H), 8,40 (d, J = 5,37 Hz, 2H). EM (ESI) *m/z*: 675,5 [M+H]⁺.

EJEMPLO 3Síntesis del compuesto **CX13-105**Esquema 4: Preparación de **CX13-105**



Síntesis de **C105-2**

- 5 A una solución enfriada (0 °C) de **C105-1** (10 g, 33,2 mmol), EDCI (8,3 g, 43,2 mmol), HOBT (7 g, 51,1 mmol) en DMF (40 ml) se añadió DIEA (14,3 ml, 85,2 mmol). Se agitó la mezcla a 0 °C durante 30 min y se añadió después clorhidrato de N,O-dimetil-hidroxilamina (3,2 g, 33,2 mmol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora en atmósfera de nitrógeno. Se vertió la mezcla de reacción en agua y se extrajo dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El aceite residual se purificó mediante columna de gel de sílice para obtener el compuesto del título **C105-2** (8,0 g, rendimiento: 72,7 %). EM (ESI) *m/z*: 343 [M+H]⁺.
- 10

Síntesis de **C105-3**

- 15 A una solución enfriada (0 °C) de **C105-2** (8 g, 23,2 mmol) en THF (50 ml) se añadió bromuro de isopropenil-magnesio (0,5 M en THF, 200 ml, 100 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se vertió lentamente en una solución saturada de NH₄Cl. Se ajustó el pH de la solución a 1,5 utilizando HCl concentrado. Se extrajo la mezcla con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El aceite residual se purificó mediante columna de gel de sílice para obtener el compuesto del título **C105-3** (5,8 g, rendimiento: 77 %).
- 20

Síntesis de **C105-4**

- 25 A una solución enfriada (0 °C) de **C105-3** (5,8 g, 18 mmol) en MeOH (ml) y THF (20 ml) se añadió NaBH₄ (1,21 g, 31,8 mmol) y CeCl₃·7H₂O (11,8 g, 31,8 mmol) a 0 °C. La solución resultante se agitó a 0 °C durante 3 horas en atmósfera de nitrógeno. Se añadió agua (5 ml) para extinguir la reacción. Después de eliminar los compuestos volátiles al vacío se extrajo el residuo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El aceite residual se purificó mediante columna de gel de sílice para obtener el compuesto del título **C105-4** (4,37 g, rendimiento: 72 %). EM (ESI) *m/z*: 326 [M+H]⁺.
- 30

Síntesis de **C105-5**

- 35 A una solución enfriada (0 °C) de **C105-4** (4,37 g, 13,4 mmol) en DCM (20 ml) se añadió Vo(acac)₂ (344 mg, 1,3 mmol) y t-BuO₂H (solución 5,5 M en decano, 2,6 ml, 14,3 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió agua (5 ml) para extinguir la reacción. Se filtró la mezcla resultante a través de Celite. Se extrajo la capa acuosa con DCM. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con una solución acuosa de bisulfito sódico y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío. El aceite residual se utilizó en el siguiente paso sin ninguna purificación adicional. EM (ESI) *m/z*: 342 [M+H]⁺.

Síntesis de C105-6

A una solución enfriada (0 °C) de **C105-5** en DCM (20 ml) se añadió peryodinano de Dess-Martin (13 g, 32,5 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla resultante se filtró a través de Celite, la torta filtrada se lavó dos veces con DCM. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución acuosa de bisulfito sódico, bicarbonato sódico saturado, salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío. El aceite residual se purificó mediante columna de gel de sílice para obtener el compuesto del título **C105-6** (2 g, rendimiento: 29 %). EM (ESI) *m/z*: 340 [M+H]⁺.

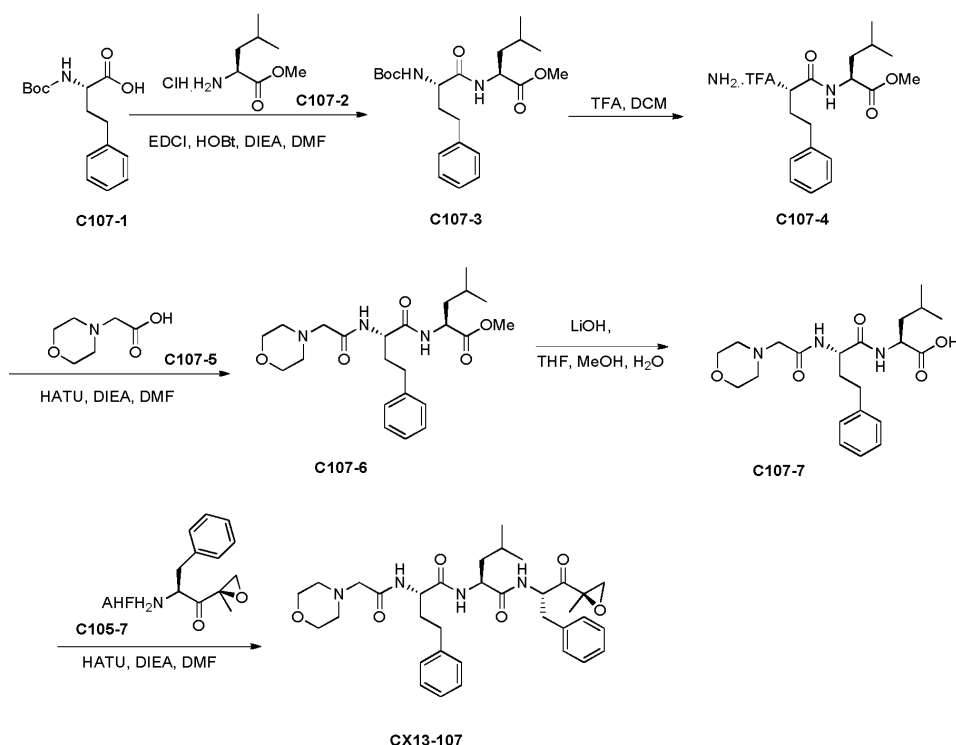
Síntesis de C105-7

A una solución enfriada (0 °C) de **C105-6** en (2 g, 5,88 mmol) en MeOH (10 ml) y TFA (1 ml) se añadió paladio sobre carbono (400 mg, 40 % en peso). Se agitó la suspensión a 0 °C durante 6 horas en atmósfera de hidrógeno (3,5 atm) y después se filtró la mezcla de reacción a través de Celite. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar el producto bruto deseado, que se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional. EM (ESI) *m/z*: 206 [M+H]⁺.

Síntesis de CX13-105

A una solución enfriada (0 °C) de **C104-7** (311 mg, 0,74 mmol), HATU (422 mg, 1,11 mmol) en DMF (5 ml) se añadió DIEA (0,62 ml, 3,7 mmol). Se agitó la mezcla a 0 °C durante 30 min. Se añadió una solución de **C105-7** en DCM (2 ml). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora en atmósfera de nitrógeno. Se vertió la mezcla de reacción en agua y se extrajo dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El aceite residual se purificó mediante HPLC preparativa para dar **CX13-105** (70 mg, rendimiento: 16 %).

RMN de ¹H (400 MHz, Metanol-d₄) δ 7,32 - 7,09 (m, 10H), 6,72 (s, 1H), 4,76 (dd, 1H), 4,55 (dd, 1H), 4,46 (dd, 1H), 3,83 (s, 2H), 3,73 - 3,71 (m, 4H), 3,28 (d, 1H), 3,11 (dd, 1H), 2,94 (d, 1H), 2,76 - 2,60 (m, 3H), 2,59 - 2,55 (m, 4H), 2,11 - 2,02 (m, 2H), 1,65 - 1,61 (m, 1H), 1,54 - 1,51 (m, 2H), 1,45 (s, 3H), 0,94 (d, 3H), 0,90 (d, 3H); EM (ESI) *m/z*: 674 [M+H]⁺. La pureza es > 95 %.

EJEMPLO 4**Síntesis del compuesto CX13-107****Esquema 5: Preparación de CX13-107**

Síntesis de C107-3

A una solución enfriada (0 °C) de **C107-1** (10 g, 35,8 mmol) en DMF (40 ml) se añadió EDCI (8,5 g, 44,3 mmol), HOBt (7 g, 51,1 mmol), DIEA (14,3 ml, 85,2 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min, después se añadió **C107-2** (6,2 g, 34,1 mmol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El aceite residual se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para dar **C107-3** (13,5 g, rendimiento: 97,8 %). EM (ESI) *m/z*: 351 [M+H]⁺.

Síntesis de C107-4

A una solución enfriada (0 °C) de **C107-3** (13,5 g, 33,3 mmol) en DCM (50 ml) se añadió TFA (20 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La concentración al vacío dio el producto bruto, que se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional. EM (ESI) *m/z*: 307 [M+H]⁺.

Síntesis de C107-6

A una solución enfriada (0 °C) de **C107-5** (1,8 g, 12,4 mmol) en DMF (20 ml) se añadió HATU (5,8 g, 15,3 mmol), DIEA (10 ml, 60 mmol). Se agitó la mezcla a 0 °C durante 30 min. Se añadió después **C107-4**. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El aceite residual se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para dar **C107-6** (4,5 g, rendimiento: 88 %). EM (ESI) *m/z*: 434 [M+H]⁺.

Síntesis de C107-7

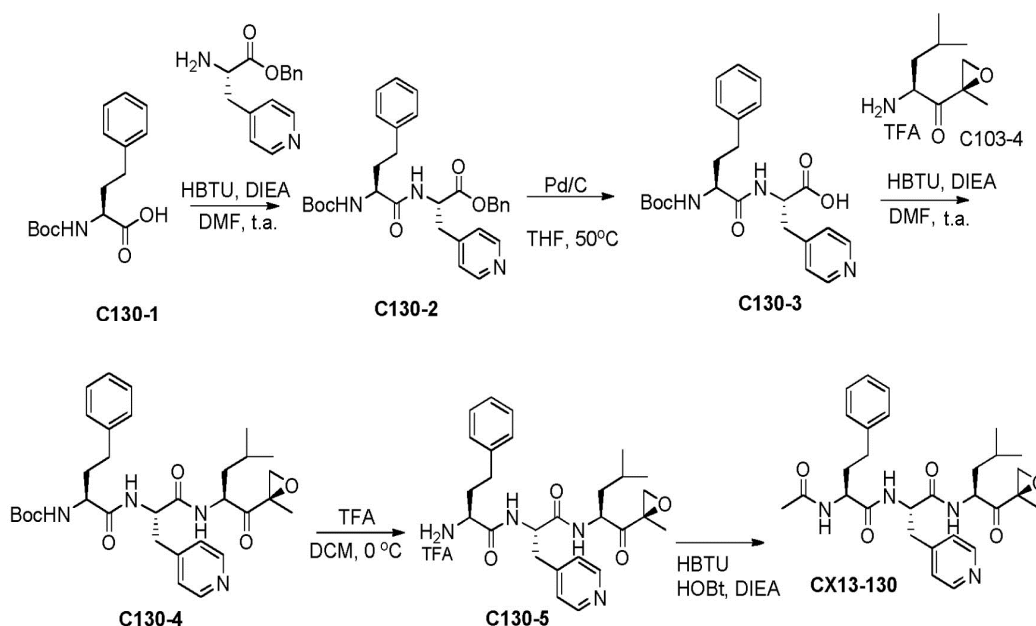
A una solución enfriada (0 °C) de **C107-6** (4,5 g, 10,1 mmol) en THF (10 ml) y MeOH (10 ml) se añadió LiOH 2 N (10 ml, 20 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El pH se ajustó a 5 mediante la adición de ácido clorhídrico acuoso. El sólido resultante se recogió, se lavó con agua y se secó al vacío para proporcionar el título del compuesto (3,8 g, rendimiento: 90 %).

Síntesis de CX13-107

A una solución agitada a 0 °C durante 30 min de **C107-7** (311 mg, 0,74 mmol), HATU (445 mg, 1,17 mmol), DIEA (0,5 ml, 2,2 mmol) en DMF (5 ml) se añadió **C105-7**. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El aceite residual se purificó mediante HPLC preparativa para dar (70 mg, rendimiento: 16 %).

RMN de ¹H (400 MHz, Metanol-d₄) δ 7,20 – 6,98 (m, 10H), 4,67 (dd, 1H), 4,36 – 4,31 (m, 2H), 3,68 – 3,62 (m, 4H), 3,21 (d, 1H), 3,02 (dd, 1H), 2,96 (dd, 2H), 2,85 (d, 1H), 2,63 (dd, 1H), 2,50 – 2,40 (m, 6H), 1,96 – 1,78 (m, 2H), 1,55 – 1,43 (m, 1H), 1,43 – 1,36 (m, 2H), 1,22 (s, 3H), 0,85 (d, 3H), 0,81 (d, 3H); EM (ESI) *m/z*: 607 [M+H]⁺. La pureza es > 95 %.

EJEMPLO 5**Síntesis del compuesto CX13-130****Esquema 6: preparación de CX13-130**



Síntesis de **C130-2**

- 5 A una mezcla del compuesto **C130-1** (1,5 g, 5,4 mmol) en DMF (30 ml) se añadió (S)-2-amino-3-(piridin-4-il)propanoato de bencilo (1,38 g, 5,4 mmol), HBTU (3,1 g, 8,1 mmol) y DIEA (4 ml) a temperatura ambiente. Se mantuvo la reacción a la misma temperatura durante 16 horas y se diluyó con EtOAc (80 ml) y salmuera (40 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 40 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre Na₂SO₄. Se retiró el sólido mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (PE:EA = 10:1) para dar el compuesto **C130-2** (2,0 g, rendimiento 72 %) como un sólido blanco. EM (ESI) *m/z*: 518,3 [M+H]⁺.

Síntesis de **C130-3**

- 15 A una mezcla del compuesto **C130-2** (1,5 g, 2,9 mmol) en THF (25 ml) se añadió Pd/C (0,15 g, 10 % en carbono) y se agitó la mezcla en atmósfera de H₂ durante 16 horas a 50 °C. La mezcla se filtró y se concentró para dar el compuesto **C130-3** (1100 mg, 90 % rendimiento), que se utilizó en el siguiente paso sin purificación. EM (ESI) *m/z*: 428,3 [M+H]⁺.

Síntesis de **C130-4**

- 20 A una mezcla del compuesto **C130-3** (1,1 g, 2,6 mmol) en DMF (15 ml) se añadió (S)-2-amino-4-metil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)pentan-1-ona (0,69 g, 2,6 mmol), HBTU (1,5 g, 3,9 mmol) y HOBt (0,53 g, 3,9 mmol) y DIEA (2 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas y después se diluyó con EtOAc (60 ml) y salmuera (20 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 30 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre Na₂SO₄. El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (PE:EA = 1:1) para dar el compuesto **C130-4** (510 mg, 34 % rendimiento) como un sólido blanco. EM (ESI) *m/z*: 581,4 [M+H]⁺.

Síntesis de **C130-5**

- 30 A una mezcla del compuesto **C130-4** (510 mg, 0,88 mmol) en DCM (10 ml) se añadió TFA (4 ml) a 0 °C. Se mantuvo la reacción a 0 °C durante 2 horas y se eliminaron los compuestos volátiles a presión reducida para dar el compuesto **130-5** (500 mg, 100 % rendimiento). EM (ESI) *m/z*: 481,4 [M+H]⁺.

Síntesis de **CX13-130**

- 35 A una mezcla del compuesto **C130-5** (110 mg, 0,19 mmol) en DMF (2 ml) se añadió ácido acético (14 mg, 0,23 mmol), HBTU (108 mg, 0,29 mmol), HOBt (39 mg, 0,29 mmol) y DIEA (0,2 ml) a temperatura ambiente. Se mantuvo la reacción a temperatura ambiente durante 16 horas y después se diluyó con EtOAc (40 ml) y salmuera (10 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre Na₂SO₄. El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (DCM:MeOH = 40:1) y HPLC preparativa para obtener

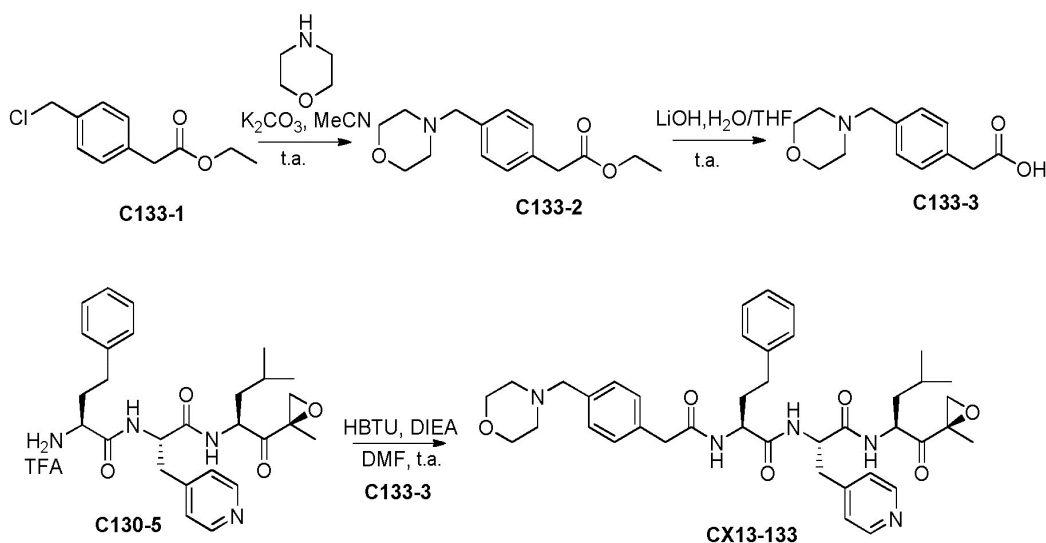
CX13-130 (25 mg, 21 %) como un sólido blanco.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,50 (s, 2H), 7,38 – 7,25 (m, 4H), 7,21 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H), 7,17 (t, $J = 10,3$ Hz, 3H), 6,83 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 6,19 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H), 4,81 (dd, $J = 13,9, 7,7$ Hz, 1H), 4,57 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 4,38 (dd, $J = 14,0, 7,3$ Hz, 1H), 3,25 (dd, $J = 16,9, 5,1$ Hz, 2H), 3,05 (dd, $J = 14,2, 8,2$ Hz, 1H), 2,92 (d, $J = 4,9$ Hz, 1H), 2,65 (dd, $J = 14,7, 6,3$ Hz, 2H), 2,13 (dd, $J = 14,1, 7,5$ Hz, 2H), 1,93 (s, 4H), 1,67 – 1,47 (m, 5H), 1,30 (dd, $J = 16,6, 6,8$ Hz, 2H), 0,92 (dd, $J = 8,9, 6,5$ Hz, 6H). EM (ESI) m/z : 523,7 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

EJEMPLO 6

Síntesis del compuesto **CX13-133**

Esquema 7: preparación de **CX13-133**



Síntesis de **C133-2**

A una solución de morfolina (456 mg, 5,6 mmol) en MeCN (20 ml) se añadió K_2CO_3 (841 mg, 6,1 mmol) y **C133-1** (1 g, 4,7 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 50 °C durante 4 horas. El sólido se retiró mediante filtración y se eliminaron los compuestos volátiles a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (PE:EA = 4:1) para dar el compuesto **C133-2** (1,0 g, 81 % rendimiento) como un aceite incoloro. EM (ESI) m/z : 264,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Síntesis de **C133-3**

A una solución del compuesto **C133-2** (1000 mg, 3,8 mmol) en THF (16 ml) y agua (8 ml) se añadió $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (477 mg, 11,4 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. Después se acidificó la mezcla a pH = 5, se concentró y se purificó mediante cromatografía para dar **C133-3** (750 mg, 84 % rendimiento) como un sólido blanco. EM (ESI) m/z : 236,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

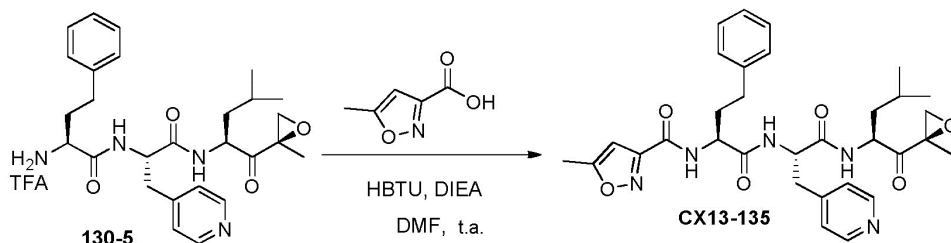
Síntesis de **CX13-133**

A una mezcla de **C130-5** (110 mg, 0,19 mmol) en DMF (2 ml) se añadió **C133-3** (54 mg, 0,23 mmol), HBTU (108 mg, 0,29 mmol), HOBT (39 mg, 0,29 mmol) y DIEA (0,2 ml) a temperatura ambiente. Se mantuvo la reacción a temperatura ambiente durante 16 horas y se diluyó después con EtOAc (40 ml) y salmuera (10 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre Na_2SO_4 . El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (DCM:MeOH = 40:1) y HPLC preparativa para conseguir **CX13-133** (55 mg, 41 %) como un sólido blanco.

RMN de ^1H (400 MHz, Metanol- d_4) δ ppm 0,86 – 1,01 (dd, 6H), 1,43 (t, $J = 6,98$ Hz, 4H), 1,47 – 1,64 (m, 1H), 1,88 – 1,96 (m, 2H), 2,56 (m, 6H), 2,96 (m, 9,94 Hz, 2H), 3,18 (dd, $J = 9,94$ Hz, 1H), 3,22 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 3,4 – 3,6 (m, 4H), 3,6 – 3,66 (m, 4H), 4,26 – 4,28 (m, 1H), 4,46 (d, $J = 4,84$, 1H), 4,71 – 4,75 (m, 1H), 7,06 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 7,16 – 7,20 (m, 1H), 7,20 – 7,24 (m, 2H), 7,26 – 7,32 (m, 2H), 7,34 (s, 4H), 8,36 – 8,38 (m, 2H); EM (ESI) m/z : 698,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

EJEMPLO 7Síntesis del compuesto **CX13-135**

5

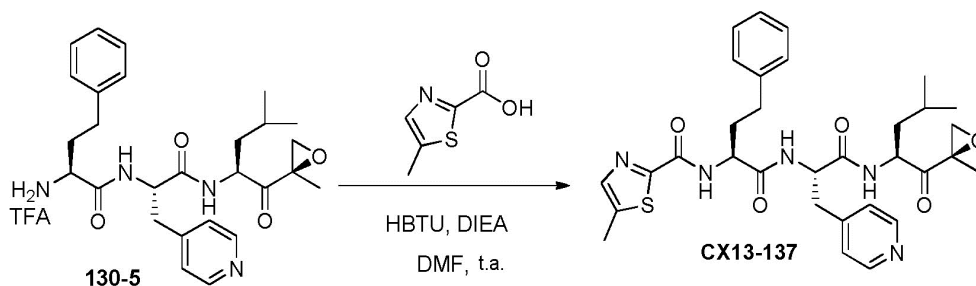
Esquema 8: preparación de **CX13-135**

- 10 A una mezcla del compuesto **C130-5** (110 mg, 0,19 mmol) en DMF (2 ml) se añadió ácido 5-metilisoxazol-3-carboxílico (40 mg, 0,23 mmol), HBTU (108 mg, 0,29 mmol), HOBt (39 mg, 0,29 mmol) y DIEA (0,2 ml) a temperatura ambiente. Se mantuvo la reacción a temperatura ambiente durante 16 horas, se diluyó después con EtOAc (40 ml) y salmuera (10 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre Na₂SO₄. El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (DCM:MeOH = 40:1) y HPLC preparativo para conseguir **CX13-135** (18 mg, 16 %) como un sólido blanco.

15 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,38 (s, 2H), 7,35 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,33 – 7,23 (m, 3H), 7,20 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 7,16 – 7,08 (m, 4H), 6,96 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 6,43 (d, J = 0,7 Hz, 1H), 4,75 (dd, J = 14,2, 7,5 Hz, 1H), 4,62 – 4,43 (m, 2H), 3,26 (d, J = 4,9 Hz, 1H), 3,12 (dd, J = 14,1, 6,2 Hz, 1H), 2,98 (dd, J = 14,1, 7,5 Hz, 1H), 2,91 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 2,67 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 2,58 – 2,45 (m, 3H), 2,21 (dt, J = 14,0, 7,7 Hz, 2H), 2,04 (td, J = 15,6, 7,9 Hz, 1H), 1,64 – 1,42 (m, 5H), 1,37 – 1,16 (m, 2H), 0,89 (dd, J = 13,1, 6,3 Hz, 6H). EM (ESI) m/z: 590,4 [M+H]⁺.

EJEMPLO 8Síntesis del compuesto **CX13-137**Esquema 9: preparación de **CX13-137**

30

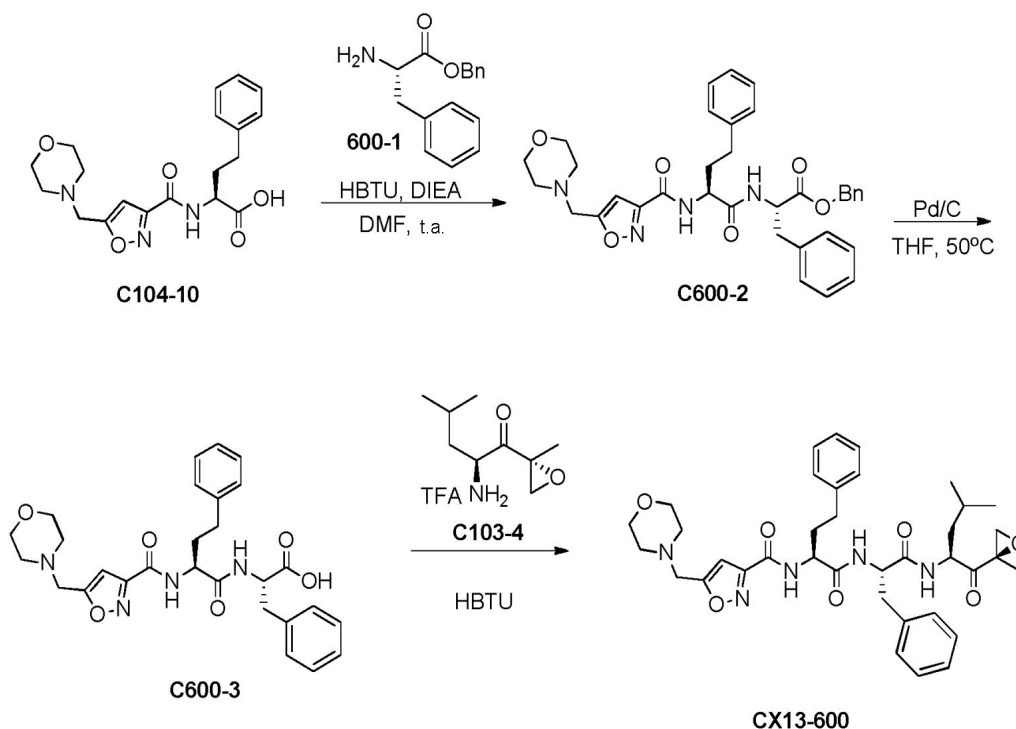


- 35 A una mezcla de **C130-5** (110 mg, 0,19 mmol) en DMF (2 ml) se añadió ácido 5-metiltiazol-2-carboxílico (41 mg, 0,23 mmol), HBTU (108 mg, 0,29 mmol), HOBt (39 mg, 0,29 mmol) y DIEA (0,2 ml) a temperatura ambiente. Se mantuvo la reacción a temperatura ambiente durante 16 horas y se diluyó con EtOAc (40 ml) y salmuera (10 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre Na₂SO₄. El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida y se purificó mediante cromatografía para conseguir **CX13-137** (36 mg, 31 %) como un sólido blanco.

40 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,32 (d, J = 5,6 Hz, 2H), 8,05 (s, 1H), 7,41 (dd, J = 29,1, 17,6 Hz, 3H), 7,20 (dt, J = 24,4, 7,1 Hz, 3H), 7,13 – 7,02 (m, 3H), 4,79 (dd, J = 13,9, 8,0 Hz, 1H), 4,71 – 4,49 (m, 2H), 3,25 (d, J = 4,9 Hz, 1H), 3,11 (dd, J = 13,7, 5,3 Hz, 1H), 2,98 – 2,81 (m, 2H), 2,76 (s, 3H), 2,63 (t, J = 7,7 Hz, 2H), 2,23 – 1,93 (m, 2H), 1,76 – 1,41 (m, 5H), 1,30 (ddd, J = 14,3, 8,6, 4,5 Hz, 2H), 0,87 (dd, J = 17,5, 6,4 Hz, 6H). EM (ESI) m/z: 606,3 [M+H]⁺.

EJEMPLO 9Síntesis del compuesto **CX13-600**

Esquema 10: preparación de CX13-600



5

Síntesis de C600-2

A una mezcla de **C104-10** (2,0 g, 5,4 mmol) en DMF (30 ml) se añadió **C600-1** (1,38 g, 5,4 mmol), HBTU (3,1 g, 8,1 mmol) y DIEA (4 ml) a temperatura ambiente. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 16 horas y después se diluyó con EtOAc (80 ml) y salmuera (40 ml). Se separaron las capas, y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 40 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre Na₂SO₄. El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (PE:EA = 10:1) para dar el compuesto **C600-2** (1,8 g, 69 % rendimiento) como un sólido blanco. EM (ESI) *m/z*: 611,7 [M+H]⁺.

15

Síntesis de C600-3

A una mezcla de **C600-2** (1,77 g, 2,9 mmol) en THF (20 ml) se añadió Pd/C (0,15 g, 10 % en carbono) y se agitó la mezcla en atmósfera de H₂ durante 16 horas a 50 °C. La mezcla se filtró y se concentró para dar el compuesto **C600-3** (1,35 g, 90 % rendimiento), que se utilizó en el siguiente paso sin purificar. EM (ESI) *m/z*: 521,3 [M+H]⁺.

20

Síntesis de CX13-600

A una mezcla enfriada (-5 °C) de **C600-3** (150 mg, 0,29 mmol), **C103-4** (78 mg, 0,29 mmol), HOBt (60 g, 0,51 mmol) y HBTU (165 g, 0,51 mmol) en DMF (4 ml) se añadió DIEA (0,2 ml). Se mantuvo la reacción a -5 °C durante 1 hora y después se diluyó con EtOAc (10 ml) y salmuera (10 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre Na₂SO₄. El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía para obtener el compuesto **CX13-600** (98 mg, 51,0 %).

25

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,30 (s ancho, 1H), 7,13 – 7,28 (m, 10H), 6,57 – 6,73 (m, 2H), 6,16 (s ancho, 1H), 4,66 (d, J = 7,25 Hz, 1H), 4,47 – 4,59 (m, 2H), 3,59 – 3,89 (s ancho, 6H), 3,25 (d, J = 5,10 Hz, 1H), 3,05 (dd, J = 6,72, 3,49 Hz, 2H), 2,90 (d, J = 4,84 Hz, 1H), 2,48 – 2,74 (m, 6H), 2,18 – 2,29 (m, 1H), 1,96 – 2,11 (m, 1H), 1,55 (s, 3H), 1,41 – 1,54 (m, 2H), 1,20 (t, J = 9,94 Hz, 1H), 0,88 (dd, J = 13,30, 5,78 Hz, 6H). EM (ESI) *m/z*: 674,3 [M+H]⁺.

30

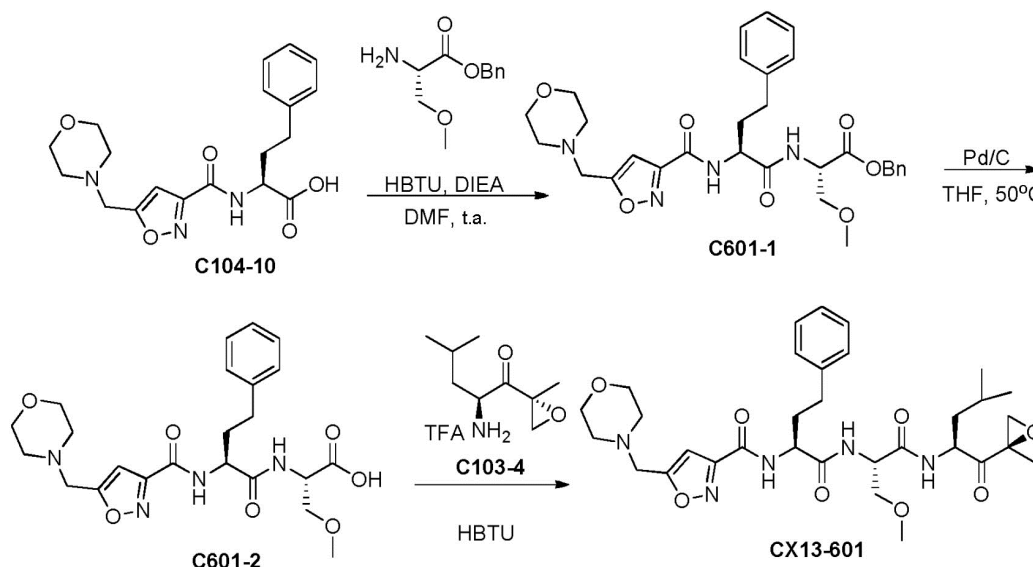
EJEMPLO 10

Síntesis del compuesto CX13-601

35

Esquema 11: preparación de CX13-601

40



Síntesis de **C601-1**

A una mezcla de **C104-10** (500 mg, 1,3 mmol), (S)-2-amino-4-metilpentanoato de bencilo (335 mg, 1,6 mmol), TBTU (516 mg, 13 mmol) en DMF (50 ml) se añadió DIEA (0,3 ml) lentamente mediante un embudo de adición a temperatura ambiente. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 16 horas y después se diluyó con EtOAc (10 ml) y salmuera (10 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 ml). Se combinaron las capas orgánicas y se secaron sobre Na_2SO_4 . El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (PE:EA = 5:1) para dar el compuesto **C601-1** (660 g, 87 % rendimiento) como un sólido blanco. EM (ESI) m/z : 565,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Síntesis de **C601-2**

A **C601-1** (660 mg) en THF se añadió Pd/C (66 mg) y se agitó la mezcla en atmósfera de H_2 durante 12 horas. La mezcla se filtró y se concentró para dar el producto **C601-2**, que se utilizó en el siguiente paso sin purificar. EM (ESI) m/z : 475,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Síntesis de **CX13-601**

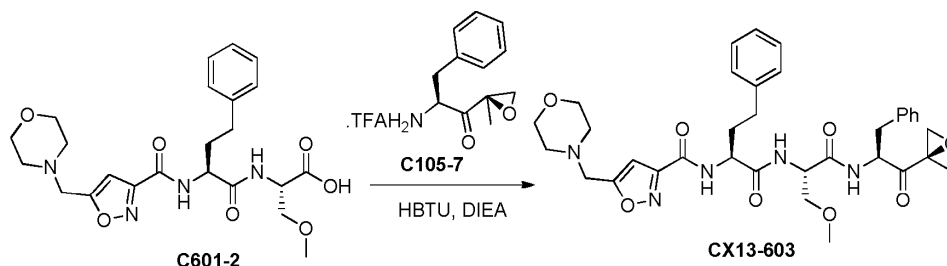
A una mezcla enfriada (-5 °C) de **C601-2** (150 mg, 0,32 mmol), **C103-4** (102 mg, 0,38 mmol), HOBt (51 g, 0,51 mmol) y HBTU (144 g, 0,51 mmol) en DMF (5 ml) se añadió DIEA (0,2 ml). La reacción se mantuvo a -5 °C durante 1 hora y después se diluyó con EtOAc (15 ml) y salmuera (15 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 ml). Se combinaron las capas orgánicas y se secaron sobre Na_2SO_4 . El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía para conseguir el compuesto **CX13-601** (70 mg, 35,3 %).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,33 (d, J = 9,94 Hz, 2H), 7,17 – 7,26 (m, 3H), 6,89 (d, J = 8,33 Hz, 1H), 6,74 (d, J = 6,72 Hz, 1H), 6,66 (s, 1H), 4,58 – 4,67 (m, 2H), 4,50 (m, 1H), 3,69 – 3,83 (m, 7H), 3,35 – 3,47 (m, 4H), 3,30 (d, J = 4,84 Hz, 1H), 2,92 (d, J = 4,84 Hz, 1H), 2,76 (t, J = 7,92 Hz, 2H), 2,49 – 2,60 (m, 4H), 2,24 – 2,37 (m, 1H), 2,12 (m, 1H), 1,53 – 1,67 (m, 2H), 1,49 – 1,58 (m, 4H), 0,89 – 0,98 (m, 6H). EM (ESI) m/z : 628,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

EJEMPLO 11

Síntesis del compuesto **CX13-603**

Esquema 12: preparación de **CX13-603**



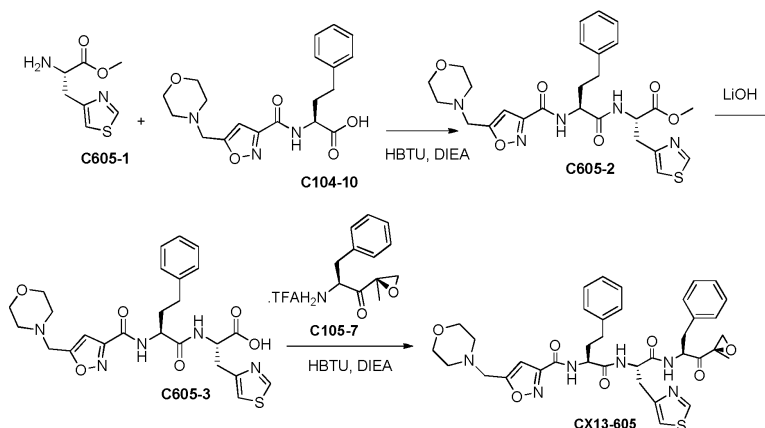
A una mezcla enfriada (-5 °C) de **C601-2** (200 mg, 0,42 mmol), **C105-7** (0,17 g, 0,82 mmol), HOBt (69 mg, 0,51 mmol) y HBTU (191 mg, 0,51 mmol) en DMF (5 ml) se añadió DIEA (0,5 ml). La reacción se mantuvo a -5 °C durante 1 hora y después se diluyó con EtOAc (10 ml) y salmuera (10 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 ml). Se combinaron las capas orgánicas y se secaron sobre Na₂SO₄. El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía para conseguir el compuesto **CX13-603** (60 mg, 21,6 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,35 – 7,23 (m, 7H), 7,22 – 7,13 (m, 4H), 7,02 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,81 (ancho, 1H), 6,64 (d, J = 6,5 Hz, 1H), 4,81 (td, J = 7,6, 4,9 Hz, 1H), 4,58 (dd, J = 13,6, 7,9 Hz, 1H), 4,42 (td, J = 7,3, 3,9 Hz, 1H), 3,85 (b, 5H), 3,74 (dd, J = 9,1, 3,8 Hz, 1H), 3,35 (s, 3H), 3,32 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 3,17 (dd, J = 14,0, 4,9 Hz, 1H), 2,95 (d, J = 4,9 Hz, 1H), 2,86 (dd, J = 14,0, 7,7 Hz, 1H), 2,71 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 2,63 (b, 4H), 2,23 (m, 1H), 2,07 (m, 1H), 1,54 (s, 3H). EM (ESI) *m/z*: 662,3 [M+H]⁺.

EJEMPLO 12

Síntesis del compuesto **CX13-605**

Esquema 13: preparación de **CX13-605**



Síntesis de **C605-2**

A una mezcla de **C104-10** (240 mg, 0,64 mmol), **C605-1** (143 mg, 0,77 mmol), HBTU (245 mg, 0,77 mmol) en DMF (10 ml) se añadió DIEA (0,5 ml) lentamente mediante un embudo de adición. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 16 horas y después se diluyó con EtOAc (10 ml) y salmuera (10 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 ml). Se combinaron las capas orgánicas y se secaron sobre Na₂SO₄. El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida y se purificó mediante cromatografía para conseguir el compuesto **C605-2** (310 mg, 89 % rendimiento) como un sólido blanco. EM (ESI) *m/z*: 542,0 [M+H]⁺.

Síntesis de **C605-3**

A una solución de **C605-2** (270 mg, 2,3 mmol) en THF se añadió LiOH (97,4 mg, 3,5 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se concentró y acidificó a pH = 5, se concentró y se purificó mediante cromatografía para dar **C605-3** como un sólido blanco (150 mg, 61 %). CL-EM: *m/z*: 528,1 [M+H]⁺.

Preparación de **CX13-605**

A una mezcla enfriada (-5 °C) de **C605-3** (150 mg, 0,28 mmol), **C105-7** (87 mg, 0,28 mmol), HOBt (58 mg, 0,42 mmol)

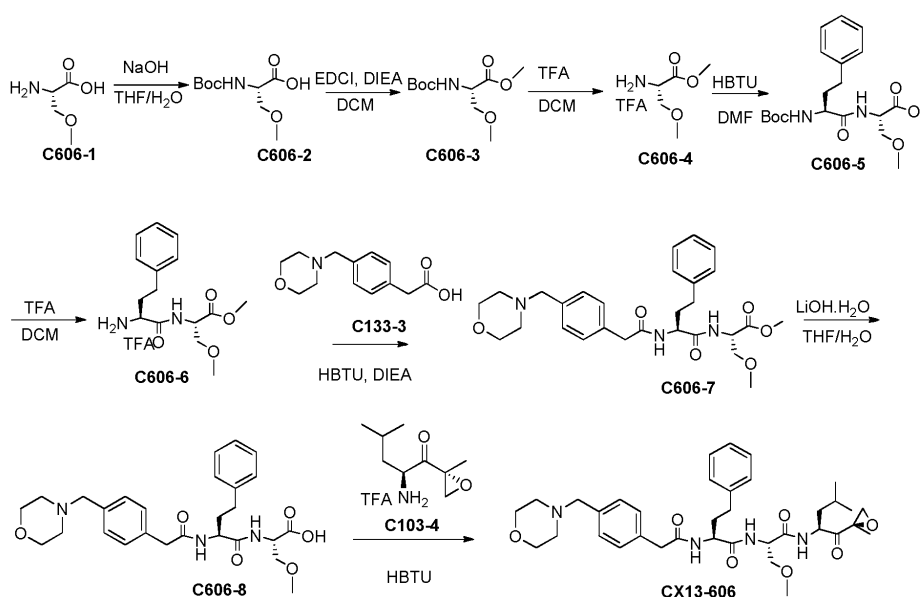
y HBTU (160 g, 0,42 mmol) en DMF (5 ml) se añadió DIEA (0,3 ml). Se mantuvo la reacción a -5 °C durante 1 hora y se diluyó con EtOAc (10 ml) y salmuera (10 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 ml). Se combinaron las capas orgánicas y se secaron sobre Na₂SO₄. El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía para conseguir el compuesto **CX13-605** (50 mg, 25,1 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,82 (s, 1H), 7,15 – 7,41 (m, 10H), 7,11 (d, J = 4,30 Hz, 1H), 6,75 (s, 1H), 4,67 – 4,78 (m, 2H), 4,49 (d, J = 3,49 Hz, 1H), 3,91 (s, 2H), 3,67 – 3,79 (m, 4H), 3,21 – 3,29 (d, J = 5,10 Hz, 2H), 3,03 – 3,16 (m, 2H), 2,94 (d, J = 5,10 Hz, 1H), 2,51 – 2,80 (m, 7H), 1,91 – 2,09 (m, 2H), 1,44 (s, 3H). EM (ESI) *m/z*: 715,3 [M+H]⁺.

EJEMPLO 13

Síntesis del compuesto **CX13-606**

Esquema 14: preparación de **CX13-606**



Síntesis de **C606-2**

A 2,0 g (17 mmol) de **C606-1** se añadieron 35 ml de una solución de hidróxido sódico acuoso 1 N y 35 ml de THF. Se añadió después una solución de dicarbonato de di-terc-butilo (4,03 g, 18,5 mmol) en THF (15 ml) con agitación a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente y se concentró mediante evaporación a presión reducida. La capa acuosa se acidificó a pH 4-5 con ácido cítrico acuoso al 10 % y se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con salmuera, se secó (MgSO₄) y se evaporó para dar 3,6 g del compuesto **C606-2** (98 % rendimiento). EM (ESI) *m/z*: 220,1 [M+H]⁺.

Síntesis de **C606-3**

A una solución de **C606-2** (3,6 g, 16 mmol) en DCM (40 ml) se añadieron MeOH (2 ml), DIEA (8 ml) y EDCI (4,8 g, 25 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche, se diluyó después con DCM (200 ml) y salmuera (50 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄. Se retiró el sólido mediante filtración y se purificó mediante cromatografía para dar **C606-3** (0,8 g, 20 %) como un sólido blanco. EM (ESI) *m/z*: 234,1 [M+H]⁺.

Síntesis de **C606-4**

A una mezcla de **C606-3** (800 mg, 3,4 mmol) en DCM (8 ml) se añadió TFA (2 ml) a 0 °C. Se mantuvo la reacción a 0 °C de temperatura durante 2 horas y se eliminaron los compuestos volátiles a presión reducida para dar el compuesto **C606-4** (790 mg, 100 % rendimiento) como un sólido blanco. EM (ESI) *m/z*: 134,1 [M+H]⁺.

Síntesis de **C606-5**

A una mezcla del compuesto **C606-4** (790 mg, 3,4 mmol) en DMF (10 ml) se añadieron ácido (S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-4-fenilbutanoico (950 mg, 3,4 mmol), HBTU (1950 mg, 5,15 mmol), HOBT (695 mg, 5,15 mmol) y DIEA (2 ml) a temperatura ambiente. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 16 horas y después se diluyó con EtOAc (40 ml) y salmuera (10 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. Se combinaron las capas orgánicas y se secaron sobre Na₂SO₄. El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida y se purificó mediante cromatografía para dar **C606-5** (1,2 g, 89 %) como un sólido blanco. EM (ESI) *m/z*: 395,2 [M+H]⁺.

Síntesis de **C606-6**

A una mezcla del compuesto **C606-5** (600 mg, 1,5 mmol) en DCM (6 ml) se añadió TFA (2 ml) a 0 °C. La reacción se mantuvo a 0 °C durante 2 horas y se eliminaron los compuestos volátiles a presión reducida para dar **C606-6** (595 mg, 100 % rendimiento) como un sólido blanco. EM (ESI) *m/z*: 295,2 [M+H]⁺.

Síntesis de **C606-7**

A una mezcla del compuesto **C606-6** (595 mg, 1,5 mmol) en DMF (5 ml) se añadieron **C133-3** (360 mg, 1,5 mmol), HBTU (870 mg, 2,3 mmol), HOBT (311 mg, 2,3 mmol) y DIEA (1 ml) a temperatura ambiente. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 16 horas y se diluyó después con EtOAc (30 ml) y salmuera (10 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2×20 ml). Se combinaron las capas orgánicas y se secaron sobre Na₂SO₄. El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida y se purificó mediante cromatografía para dar **C606-7** (490 mg, 63 %) como un sólido blanco. EM (ESI) *m/z*: 512,3 [M+H]⁺.

Síntesis de **C606-8**

A una solución del compuesto **C606-7** (490 mg, 0,96 mmol) en THF (6 ml) y agua (2 ml) se añadió LiOH·H₂O (101 mg, 2,4 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. Se acidificó después a pH = 5, se extrajo con EtOAc (100 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron para dar **C606-8** (440 mg, 92 % rendimiento) como un sólido blanco. EM (ESI) *m/z*: 498,3 [M+H]⁺.

Síntesis de **CX13-606**

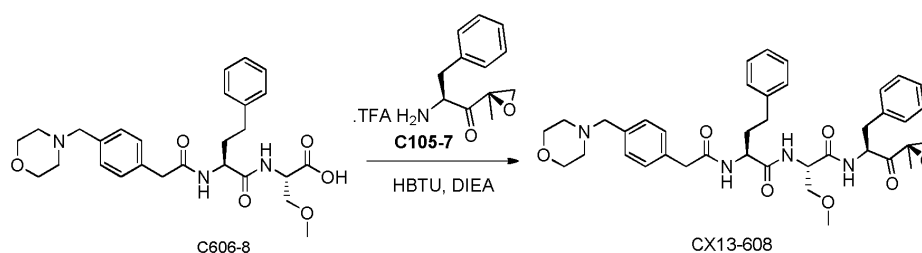
A una mezcla del compuesto **C606-8** (200 mg, 0,4 mmol) en DMF (3 ml) se añadieron **C103-4** (107 mg, 0,4 mmol), HBTU (227 mg, 0,6 mmol), HOBT (82 mg, 0,6 mmol) y DIEA (0,2 ml) a temperatura ambiente. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 16 horas y se diluyó después con EtOAc (30 ml) y salmuera (10 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2×20 ml). Se combinaron las capas orgánicas y se secaron sobre Na₂SO₄. El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida y se purificó mediante cromatografía para dar **CX13-606** (100 mg, 38 %) como un sólido blanco.

RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) δ 7,33 (s, 4H), 7,24 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 7,15 (dd, J = 20,9, 7,1 Hz, 3H), 4,63 – 4,48 (m, 2H), 4,37 (dd, J = 8,3, 4,9 Hz, 1H), 3,65 (dd, J = 8,8, 4,1 Hz, 4H), 3,60 (dd, J = 6,1, 3,7 Hz, 3H), 3,54 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 3,24 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 2,93 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 2,69 – 2,52 (m, 2H), 2,46 (s, 4H), 2,18 – 2,04 (m, 1H), 2,01 – 1,85 (m, 1H), 1,76 – 1,63 (m, 1H), 1,54 – 1,42 (m, 4H), 1,35 (ddd, J = 13,9, 9,0, 3,7 Hz, 1H), 0,91 (dd, J = 9,7, 6,6 Hz, 6H). EM (ESI) *m/z*: 652,0 [M+H]⁺.

EJEMPLO 14

Síntesis del compuesto **CX13-608**

Esquema 15: preparación de **CX13-608**



A **C606-8** (200 mg, 0,4 mmol) en DMF (3 ml) se añadieron **C105-7** (107 mg, 0,4 mmol), HBTU (227 mg, 0,6 mmol), HOBT (82 mg, 0,6 mmol) y DIEA (0,2 ml) a temperatura ambiente. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente

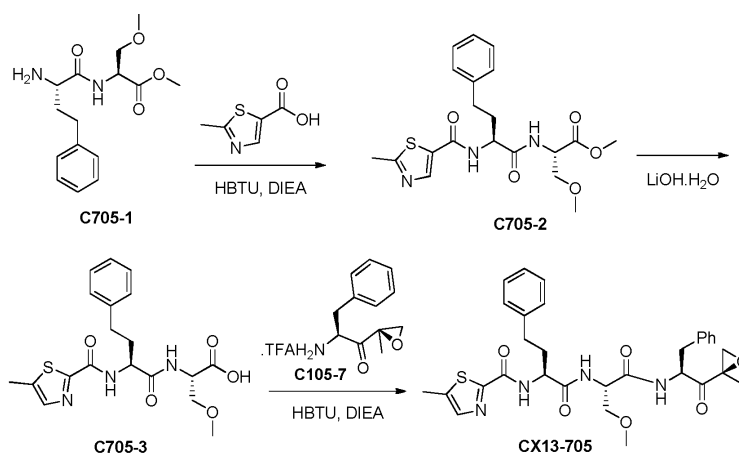
durante 16 horas. Se diluyó después con EtOAc (30 ml) y salmuera (10 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml). Se combinaron las capas orgánicas y se secaron sobre Na₂SO₄. El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida y se purificó mediante cromatografía para dar **CX13-608** (100 mg, 36 %) como un sólido blanco.

RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) δ 7,32 (s, 4H), 7,27 – 7,12 (m, 8H), 7,11 – 7,08 (m, 2H), 4,79 (dd, J = 8,6, 4,6 Hz, 1H), 4,47 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 4,33 (dd, J = 9,2, 5,0 Hz, 1H), 3,64 (t, J = 4,8 Hz, 4H), 3,51 – 3,59 (m, 4H), 3,50 (s, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,25 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 3,07 (dd, J = 13,9, 4,6 Hz, 1H), 2,93 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 2,76 (dd, J = 13,9, 8,7 Hz, 1H), 2,64 – 2,49 (m, 2H), 2,43 (t, J = 4,8 Hz, 4H), 2,05 (m, 1H), 1,91 (m, 1H), 1,43 (s, 3H). EM (ESI) *m/z*: 685,3 [M+H]⁺.

EJEMPLO 15

Síntesis del compuesto **CX13-705**

Esquema 16: preparación de **CX13-705**



Síntesis de **C705-2**

A una mezcla de **C705-1** (239 mg, 0,81 mmol) en DMF (5 ml) se añadieron ácido 5-metiltiazol-2-carboxílico (116 mg, 0,81 mmol), HBTU (370 mg, 0,97 mmol), HOBt (131 mg, 0,97 mmol) y DIEA (0,73 ml) a temperatura ambiente. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 12 horas. Se diluyó después con EtOAc (20 ml) y salmuera (10 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 150 ml). Se combinaron las capas orgánicas y se secaron sobre Na₂SO₄. El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida y se purificó mediante cromatografía para dar **C705-2** (300 mg, 88 %) como un sólido blanco. CL-EM: *m/z*: 420,1 [M+H]⁺.

Síntesis de **C705-3**

A una solución de **C705-2** (340 mg, 0,81 mmol) en THF (6 ml) y agua (2 ml) se añadieron LiOH·H₂O (68 mg, 1,62 mmol) a t.a. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después la mezcla se acidificó a pH = 5, se extrajo con acetato de etilo (20 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida para dar **C705-3** (265 mg, 78 %) como un sólido blanco. EM (ESI) *m/z*: 406,1 [M+H]⁺.

Preparación de **CX13-705**

A una mezcla de **C705-3** (265 mg, 0,65 mmol) en DMF (3 ml) se añadieron C105-7 (130 mg, 0,72 mmol), HBTU (300 mg, 0,79 mmol), HOBt (106 mg, 0,79 mmol) y DIEA (0,6 ml) a temperatura ambiente. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 4 horas. Se diluyó después con EtOAc (20 ml) y salmuera (10 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml). Se combinaron las capas orgánicas y se secaron sobre Na₂SO₄. El sólido se retiró mediante filtración y los compuestos volátiles se eliminaron a presión reducida y se purificó mediante cromatografía para dar **CX13-705** (90 mg, 23 %) como un sólido blanco.

RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) δ 8,22 (s, 1H), 7,31 – 7,13 (m, 10H), 4,80 (dd, J = 8,8, 4,8 Hz, 1H), 4,57 – 4,48 (m, 2H), 3,66 – 3,52 (m, 2H), 3,25 (d, J = 4,84 Hz, 1H), 3,10 (dd, J = 13,97, 4,57 Hz, 1H), 2,94 (d, J = 5,10 Hz, 1H), 2,66 – 2,82 (m, 6H), 2,02 – 2,16 (m, 2H); EM (ESI) *m/z*: 593,0 [M+H]⁺.

EJEMPLO 16

Propiedad inhibidora de la actividad proteosómica de los compuestos

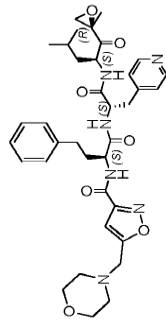
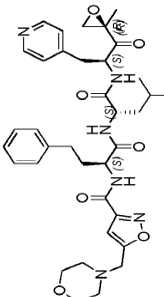
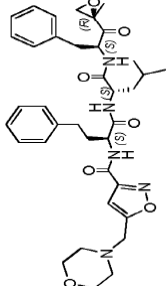
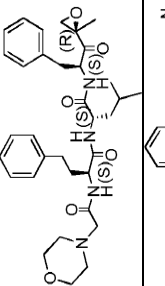
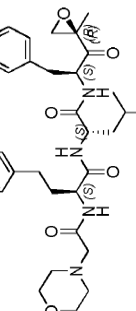
- 5 La inhibición de la actividad de tipo quimotripsina (CT-L), de la actividad de hidrolizar peptidil-glutamil péptido (PGPH) y de actividades de tipo tripsina (T-L) del proteasoma 20S en ensayos enzimáticos se determinaron respectivamente utilizando succinil-Leu-Leu-Val-Tir-AMC (10 imol/l), Z-Leu-Leu-Glu-AMC (10 imol/l) y Boc-Leu-Arg-Arg-AMC (50 imol/l) como sustratos con proteasoma 20S humano purificado a 2, 4 y 8 nmol/l, respectivamente, en
10 en un tampón de ensayo que contenía HEPES 25 mM (pH 7,5), EDTA 0,5 mM, dodecilsulfato sódico (SDS) al 0,002 % y NP-40 al 0,05 %. Las soluciones madre de inhibidores de proteasoma 20S descritas en el presente documento se prepararon en dimetilsulfóxido (DMSO) y la concentración final de DMSO en la mezcla de ensayo era del 1 %. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante una hora. La actividad proteosómica se midió en base a la detección del fluoróforo 7-amino-4-metilcumarina (AMC) después de la escisión de los sustratos con un
15 espectrofluorómetro basado en placas. La CI_{50} es una medida cuantitativa que indica la concentración de un inhibidor a la que la actividad catalítica del proteasoma 20S está inhibida en un 50 %. En determinadas formas de realización, la potencia de inhibición del proteasoma de los compuestos se describe en el presente documento en la Tabla 1.

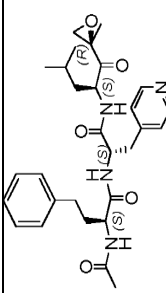
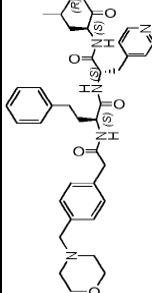
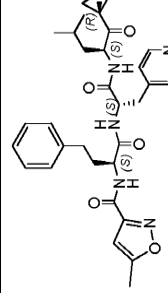
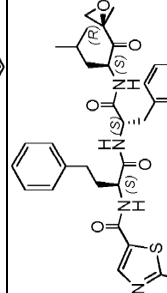
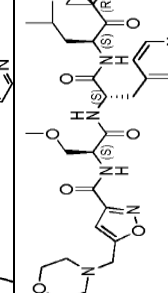
EJEMPLO 17

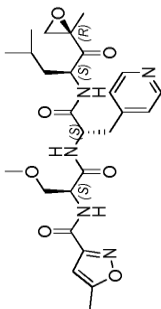
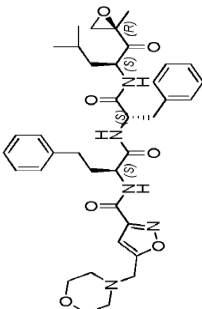
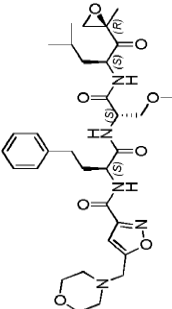
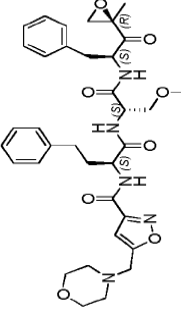
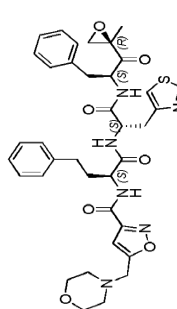
- 20 Solubilidad en agua de los compuestos

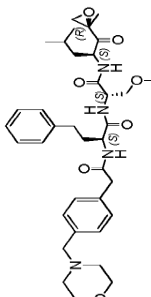
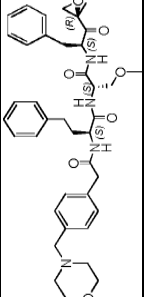
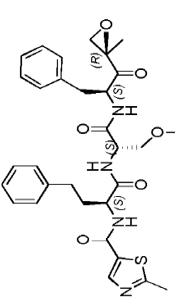
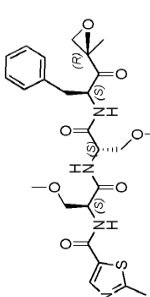
- Para determinar la solubilidad de los compuestos se pesó 1-5 mg del compuesto en un vial. Se añadió 1 ml de tampón acuoso (citrato 50 mM a pH 4,0). Se agitó el vial a 25 °C durante 24 horas y se centrifugó después durante
25 10 min a 10000 rpm. Se filtró el sobrenadante a través de un filtro de membrana de 0,45 µm y se analizó la concentración del compuesto. En determinadas formas de realización la solubilidad en agua de los compuestos se describe en el presente documento en la Tabla 1.

Tabla 1. Potencia inhibitoria de la actividad proteosómica (Cl₅₀) y solubilidad en agua

Compuesto		Número de identificación	Inhibición del proteasoma Cl ₅₀ (nM)						Solubilidad en agua (mg/ml) a pH 4,0 (citrato 50 mM)
Estructura	Inmunoproteasoma 20S		Proteasoma 20S constitutivo						
	CT-L		PGPH	T-L	CT-L	PGPH	T-L		
	CX13-103	0,92	>20000	14405	1,09	>20000	15334	2,88	
	CX13-104	33,6	>20000	>20000	33,3	>20000	>20000	1,44	
	CX13-105	1,34	>20000	>20000	0,97	>20000	>20000	0,021	
	CX13-107	5,1	>20000	6225	4,74	>20000	9947	0,083	
	CX13-109	>500	>20000	>20000	>500	>20000	>20000	3,49	

Compuesto		Inhibición del proteasoma Cl ₅₀ (nM)							Solubilidad en agua (mg/ml) a pH 4,0 (citrato 50 mM)
Estructura	Número de identificación	Immunoproteasoma 20S			Proteasoma 20S constitutivo				
		CT-L	PGPH	T-L	CT-L	PGPH	T-L		
	CX13-130	248	>20000	1648	62,4	>20000	3601	1,36	
	CX13-133	4,65	>20000	455	3,58	>20000	443	6,36	
	CX13-135	28,1	>20000	6450	6,56	>20000	13384	1,16	
	CX13-137	60,4	>20000	5859	13,5	>20000	11857	0,91	
	CX13-500	170	>20000	>20000	121	>20000	>20000	>2,35	

Compuesto		Número de identificación	Inhibición del proteasoma Cl ₅₀ (nM)						Solubilidad en agua (mg/ml) a pH 4,0 (citrato 50 mM)
Estructura	Immunoproteasoma 20S			Proteasoma 20S constitutivo					
	CT-L		PGPH	T-L	CT-L	PGPH	T-L		
	CX13-501	392	>20000	>20000	113	>20000	>20000	4,48	
	CX13-600	7,41	>20000	19921	4,28	>20000	>20000	0,02	
	CX13-601	31,7	>20000	>20000	16	>20000	>20000	0,48	
	CX13-603	11,1	>20000	>20000	14,2	>20000	>20000	0,52	
	CX13-605	6,81	>20000	>20000	12,2	>20000	>20000	0,12	

Compuesto		Número de identificación	Inhibición del proteasoma Cl ₅₀ (nM)							Solubilidad en agua (mg/ml) a pH 4,0 (citrato 50 mM)
Estructura	Immunoproteasoma 20S			Proteasoma 20S constitutivo						
	CT-L		PGPH	T-L	CT-L	PGPH	T-L			
	CX13-606	59,3	>20000	186	6,1	>20000	297	3,73		
	CX13-608	4,26	>20000	542	3,73	>20000	490	1,43		
	CX13-705	15,3	>20000	>20000	9,75	>20000	15778	0,02		
	CX13-709	256	>20000	>20000	124	>20000	>20000	0,57		

EJEMPLO 18

Inhibición de la actividad proteosómica en muestras de sangre recogidas de ratones a los que se administró un compuesto descrito en el presente documento a una dosis tolerable.

Se administró a ratones Balb/c o bien un vehículo (20 % (p/v) de hidroxipropil-p-ciclodextrina en citrato sódico 10 mM a pH 3,5), o bien un compuesto de los descritos en el presente documento a una dosis tolerable por inyección intravenosa a 10 mg/kg o mediante una sonda de alimentación oral a 30 mg/kg. Una hora después de la dosificación se recogieron mediante punción cardíaca muestras de sangre completa en tubos que contenían heparina sódica y se centrifugaron a 150 x g durante 5 minutos a 4 °C. El sedimento resultante se lavó tres veces utilizando solución salina tamponada con fosfato (PBS) enfriada con hielo. Cada una de las veces se resuspendió el sedimento en 1 ml de PBS frío y se centrifugó a 6000 x g durante 10 minutos a 4 °C. Después del último lavado las células sedimentadas se lisaron mediante la adición de 100 μ l de tampón de lisis (PBS que contenía EDTA 5 mM a pH 7,4) durante 1 hora y después se centrifugó a 6000 x g durante 10 minutos a 4 °C. Se transfirió el sobrenadante a un nuevo tubo y el sedimento celular se descartó. Se midió la concentración del lisado de sangre mediante el procedimiento BCA. Se utilizaron 10 μ g de proteína para la medición de actividad de CT-L y 30 μ g de proteína para la medición de las actividades de PGPH y T-L. Se añadieron después succinil-Leu-Leu-Val-Tir-AMC (25 μ mol/l), Z-Leu-Leu-Glu-AMC (10 μ mol/l) o Boc-Leu-Arg-Arg-AMC (10 μ mol/l) como sustrato, respectivamente para CT-L, PGPH o T-L. Se incubó la mezcla durante 60 minutos a 37 °C. Se cuantificó la fluorescencia de AMC libre utilizando una serie de filtros de 360/460 nm en un fluorómetro para medir las actividades de CT-L, PGPH o T-L del proteosoma 20S. Se calculó el porcentaje de inhibición de la actividad proteosómica mediante la comparación de muestras recogidas de los ratones a los que se administró un compuesto de los descritos en el presente documento con muestras recogidas de los ratones a los que se administró el vehículo. El porcentaje de inhibición de las actividades proteosómicas se describen en el presente documento en la figura 1. Tal y como se muestra en la figura 1, los compuestos sometidos a ensayo inhibieron la actividad de CT-L en las muestras de sangre. Especialmente, CX13-603 administrado mediante sonda de alimentación oral inhibió la actividad de CT-L en muestras de sangre. El CX13-608 inhibió simultáneamente tanto la actividad de CT-L como de T-L del proteosoma en las muestras de sangre.

EJEMPLO 19

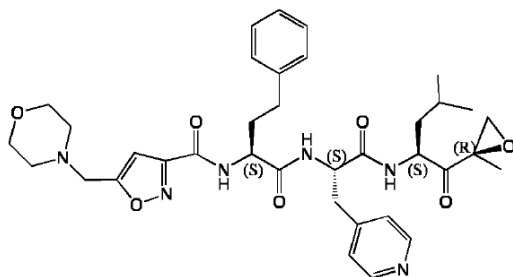
Eficacia anti-tumoral de los compuestos descritos en el presente documento en ratones que portaban xenoinjertos de tumores humanos.

Se mantuvieron ratones hembra (ratones atímicos NIH III HO adquiridos de Charles River Laboratories (aproximadamente 20 g, 5-6 semanas de edad) en jaulas durante el periodo experimental. Se inyectaron 3×10^6 células de cáncer de colon humano (HT-29) de ATCC® (HTB-38™) o 1×10^7 células de linfoma de células B humano (RL) de ATCC® (CRL38™) en 100 μ l de solución salina tamponada con fosfato subcutáneamente en el flanco derecho de los ratones. Cuando el tamaño medio del tumor alcanzó aproximadamente 20-30 mm³ para HT29, o aproximadamente 60-90 mm³ para RL, los animales con tumores se distribuyeron aleatoriamente en diferentes grupos (7-10 ratones en cada grupo) de forma que todos los grupos tuvieran una distribución igual de los tamaños de los tumores. Se administró a los animales mediante inyección intravenosa un vehículo (10 % (p/v) de hidroxipropil-p-ciclodextrina, citrato 10 mM, pH 4,0) o una solución que contenía CX13-103 preparada en el vehículo. Se administró a los animales tres veces a la semana los días 1, 2 y 5 durante 4-5 semanas. Se midieron los tamaños de los tumores mediante un calibre 2 o 3 veces a la semana. El volumen del tumor se calculó mediante la fórmula: longitud x anchura²/2. El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando ANOVA de 2 vías. Tal y como se muestra en la figura 2A y la figura 2B, la administración de CX13-103 suprimió significativamente el crecimiento del tumor.

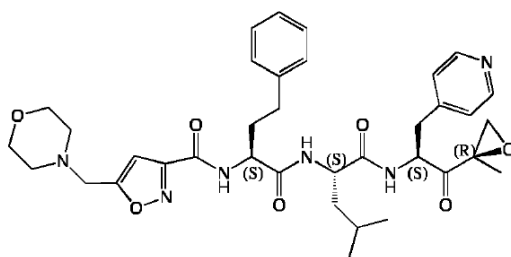
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la estructura que se muestra a continuación y una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo

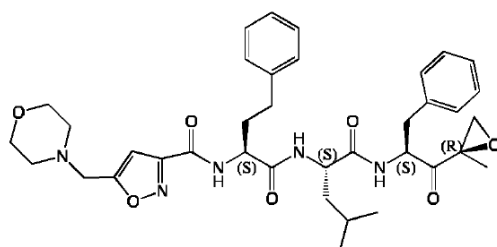
5



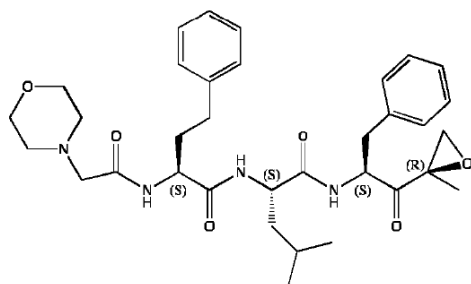
CX13-103,



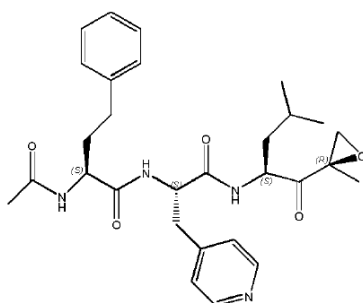
CX13-104,



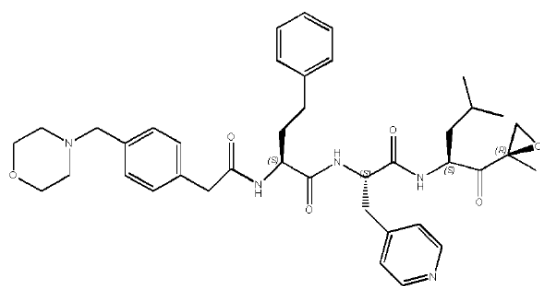
CX13-105,



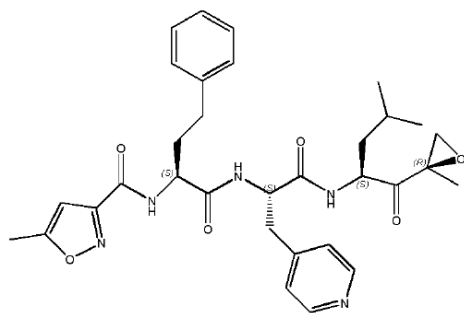
CX13-107,



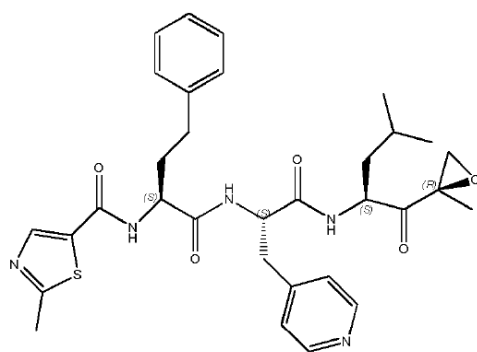
CX13-130,



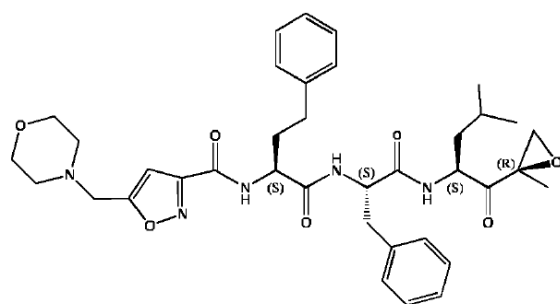
CX13-133,



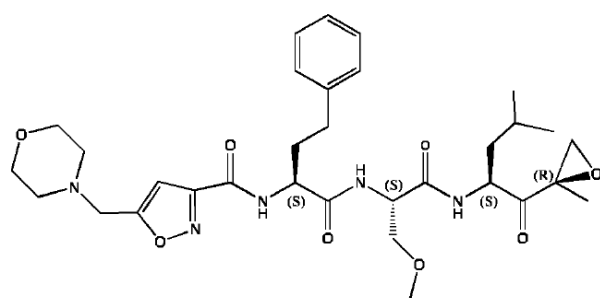
CX13-135



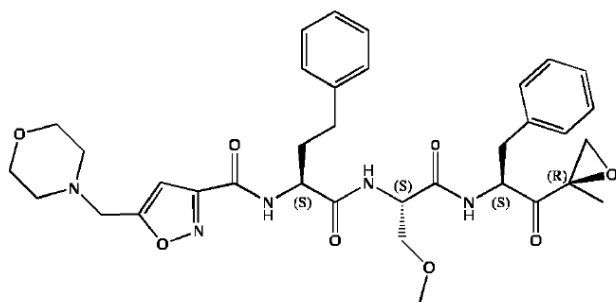
CX13-137,



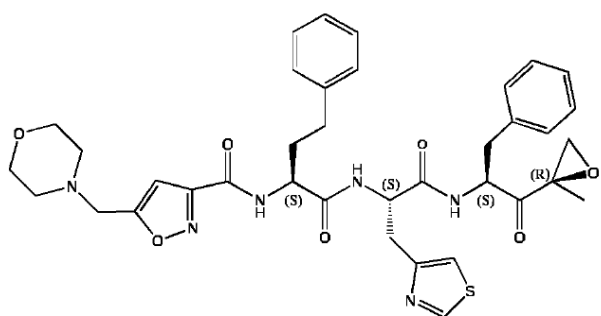
CX13-600,



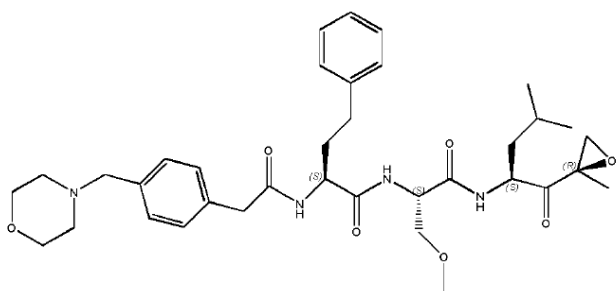
CX13-601,



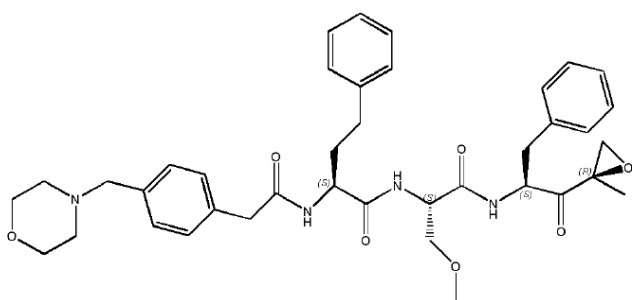
CX13-603,



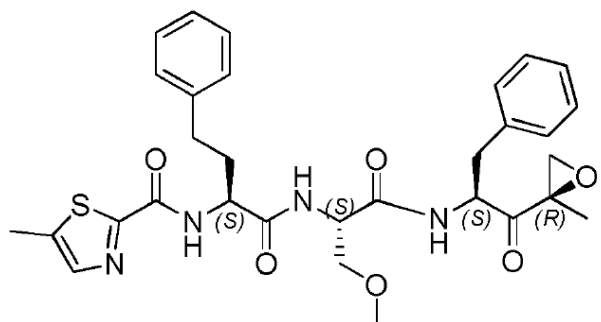
CX13-605,



CX13-606,



CX13-608,



CX13-705.

2. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
3. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en un procedimiento de inhibición específica de la

actividad catalítica de proteasoma 20S y el tratamiento de una enfermedad o afección relacionada con proteasoma.

- 5 4. El compuesto para su uso de la reivindicación 3, en el que la actividad CT-L y la actividad T-L del proteasoma 20S se inhiben simultáneamente.
5. El compuesto para su uso de la reivindicación 4, administrándose el compuesto a través de una vía parenteral.
- 10 6. El compuesto para su uso de la reivindicación 5, administrándose el compuesto por vía subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, intraesternal, o por infusión.
- 15 7. El compuesto para su uso de la reivindicación 4, administrándose el compuesto mediante una vía no parenteral.
8. El compuesto para su uso de la reivindicación 7, administrándose el compuesto por vía oral, enteral, bucal, nasal, intranasal, transmucosal, epidérmica, transdérmica, dérmica, oftálmica, pulmonar, sublingual, rectal, vaginal o tópica.
- 20 9. Uso de un compuesto de la reivindicación 1 en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o afección relacionada con el proteasoma 20S.
- 25 10. El compuesto para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 3-8 o el uso de la reivindicación 9, en el que la enfermedad o afección relacionada con el proteasoma 20S se selecciona del grupo que consiste en cáncer, trastorno neurotóxico/degenerativo, enfermedad de Alzheimer, afección isquémica, inflamación, trastorno relacionado con el sistema inmunológico, infección por VIH, rechazo de injerto de órganos, choque séptico, inhibición de presentación de antígeno, reducción de la expresión de genes víricos, infección parasitaria, afección asociada con acidosis, degeneración macular, afección pulmonar, trastorno de pérdida muscular, enfermedad fibrótica y enfermedad del crecimiento óseo y capilar.
- 30

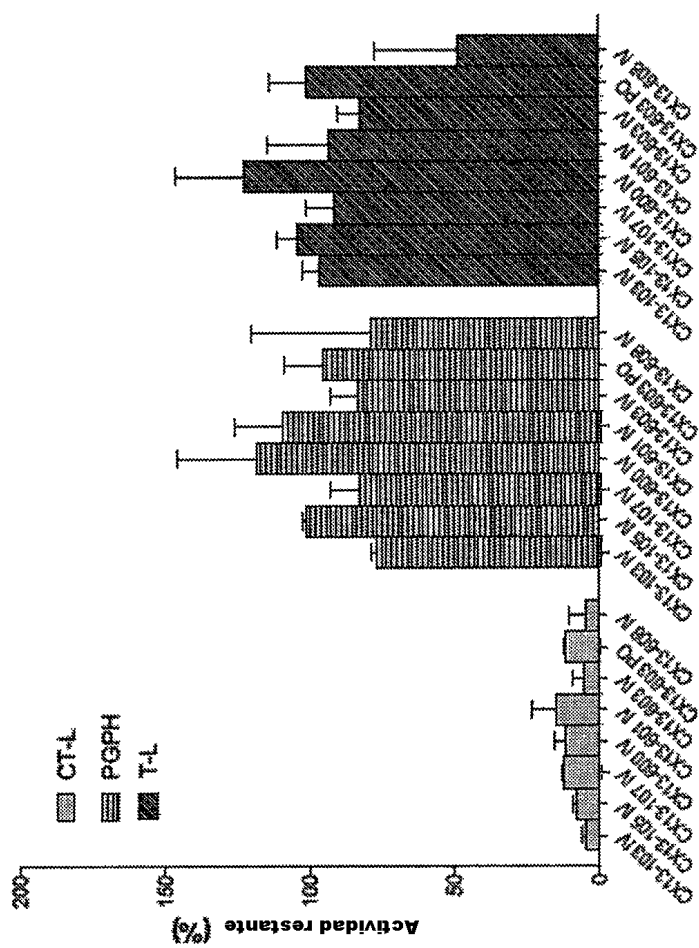


FIG. 1

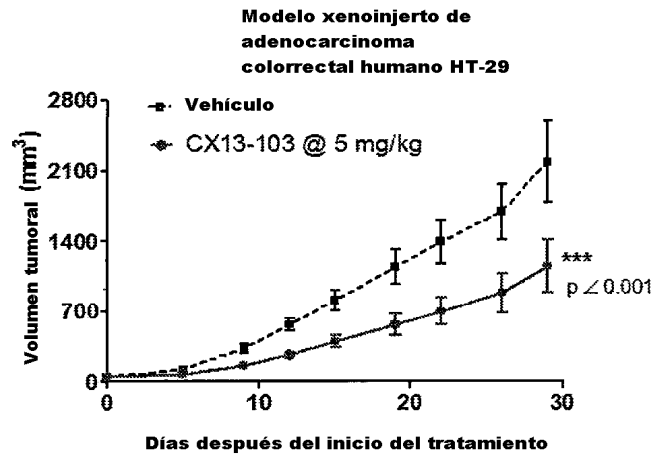


FIG. 2A

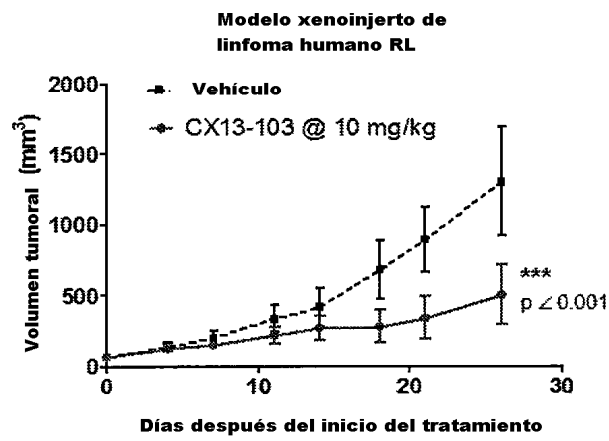


FIG. 2B