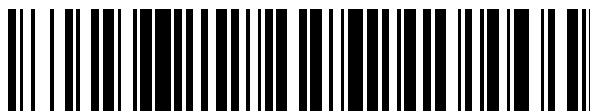


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11) Número de publicación: **2 742 213**

51) Int. Cl.:

C07C 401/00 (2006.01)
A61K 31/565 (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01)
A61K 31/56 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07J 31/00 (2006.01)
C07J 41/00 (2006.01)
C07J 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.04.2011 PCT/US2011/031930**
 87) Fecha y número de publicación internacional: **13.10.2011 WO11127465**
 96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.04.2011 E 11766857 (4)**
 97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2019 EP 2556055**

54) Título: **Inhibidores de SHIP y uso de los mismos**

30) Prioridad:

09.04.2010 US 322378 P

45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.02.2020

73) Titular/es:

**THE RESEARCH FOUNDATION OF THE STATE UNIVERSITY OF NEW YORK (50.0%)
 Technology Transfer Office, 35 State Street
 Albany, New York 12207, US y
 SYRACUSE UNIVERSITY TECHNOLOGY TRANSFER AND INDUSTRIAL DEVELOPMENT OFFICE (50.0%)**

72) Inventor/es:

**KERR, WILLIAM G. y
 CHISHOLM, JOHN D.**

74) Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 742 213 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de SHIP y uso de los mismos

Referencia cruzada con las solicitudes relacionadas

5 Esta solicitud reivindica el beneficio prioritario de la Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos No. de Serie 61/322,378, presentada el 9 de abril de 2010.

Declaración de derechos del gobierno

Esta invención se realizó con el apoyo del gobierno bajo los números de subvención HL085580 y HL072523 otorgados por el National Heart, Lung, and Blood Institute of the National Institutes of Health. El gobierno tiene ciertos derechos en la invención.

10 Campo de la invención

La presente invención se refiere a inhibidores de molécula pequeña de SHIP y usos terapéuticos de estos inhibidores.

Antecedentes de la invención

15 La inositol 5-fosfatasa 1 que contiene el dominio de homología 2 de Src (SHIP-1 o SHIP1) es una proteína citosólica que se ha encontrado que controla el nivel intracelular del fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato producto de fosfoinositida 3-quinasa y funciona como un regulador negativo de la citoquina y la señalización del receptor inmune. Usando diversos modelos genéticos, se ha demostrado que los hospedadores deficientes en SHIP1 son permisivos para la implantación de injertos de médula ósea (BM) no coincidentes del complejo de histocompatibilidad mayor (MHC), y exhiben GVHD reducida después del trasplante y rechazo retardado de los injertos alogénicos vascularizados (Refs. 1 -5). Además, la deficiencia de SHIP1 aumenta profundamente los números de células inmunorreguladoras mieloides (MIR) y su función y los números de granulocitos (Refs. 2, 4, 6-8). Estos estudios sugieren que SHIP1 podría ser 20 direccionado para facilitar el aumento del número de granulocitos/neutrófilos durante la infección o para reducir la gravedad y la incidencia de respuestas nocivas de células T alogénicas en la médula ósea y el trasplante de órganos (Ref. 5).

25 SHIP1, SHIP2 y PTEN se consideran comúnmente como opuestos a la actividad del eje de señalización PI3K/Akt que promueve la supervivencia de las células cancerosas y los tumores. Sin embargo, las actividades enzimáticas de estas fosfatasas de inositol son bastante distintas, ya que la actividad 3'-polifosfatasa de PTEN invierte la reacción PI3K para generar PI(4,5)P₂ a partir de PI(3,4,5)P₃, mientras que la actividad de la 5'-polifosfatasa de SHIP1/2 convierte PI(3,4,5)P₃ en PI(3,4)P₂. Esta distinción es potencialmente crucial, ya que podría permitir que SHIP1/2 y PTEN tengan efectos claramente diferentes en la señalización de Akt. El dominio PH de Akt se une con mayor afinidad al producto 30 SHIP1/2 PI(3,4)P₂ que conduce a una activación más potente de Akt que el producto directo de PI3K, PI(3,4,5)P₃ (Ref. 9). Por lo tanto, SHIP1, que se expresa en la mayoría de los tumores malignos de células sanguíneas, en realidad podría contribuir a su crecimiento y supervivencia. De acuerdo con esta hipótesis, los niveles de PI(3,4)P₂ aumentan en las células leucémicas (Ref. 10) y los niveles aumentados de PI(3,4)P₂ promueven la transformación y la tumorigenicidad de los fibroblastos embrionarios de ratón (MEF) (Ref. 11)

35 Hasta la fecha, la estructura molecular de SHIP1 no se ha determinado y, por lo tanto, no ha sido posible un enfoque de diseño racional para desarrollar inhibidores de SHIP1. Por lo tanto, las pruebas de detección de alto rendimiento (HTS) se han utilizado para identificar compuestos que pueden inhibir la actividad enzimática de SHIP1. Sin embargo, existe la necesidad de inhibidores selectivos de SHIP1 que sean capaces de aumentar la producción de granulocitos y células MIR in vivo y promover la apoptosis de los cánceres de células sanguíneas.

40 Nikolaropoulos S et al., "formation of acetamido azasteroid", Journal of Heterocyclic Chemistry, Wiley-Blackwell Publishing, Inc, US, vol. 27, no. 7, 1990 páginas 1997-1999 es un artículo de revista sobre la síntesis de acetoamido-aza-esteroides. Divulga diversas oximas de 3-acetamido-5 α -androstano-17-ona.

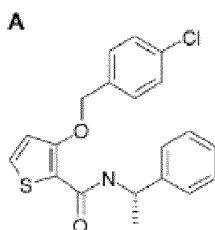
45 Cowell D B et al. "Bromo, chloro and amino derivatives of 5.alpha.-androstane and 5.alpha.-estrane", Journal of the Chemical society, Perkin transactions, vol. 1974, no. 13, páginas 1505-1513, es un estudio sobre la anisotropía magnética y los cálculos de campo eléctrico de 5 α -androstano y 5 α -estrano.

Ahmad Wasi et al., "Synthesis of facial amphiphile 3,7-diamino-5.alpha.-colestane derivatives as a molecular receptor", bulletin of the korean chemical society, vol. 30, no. 9, no. 9, páginas 2101 - 2106, es un estudio sobre la síntesis de derivados de 3,7-diamino-5 α -colestano y su uso como receptores de moléculas.

50 COSME G F et al., "Aminoselenenylation of Alkenes: Syntheses of p-Phenylseleno Carbamates and p-Phenylseleno Cyanamides", Journal of The Chemical Society, no. 9, páginas 2417 - 2427, es un artículo de revista sobre la síntesis de β -fenilseleno carbamatos y β -fenilseleno cianamidas.

Howard e. Smith et al., "Optically active amines. 30. Application of the salicylideneimino chirality rule to aliphatic and alicyclic amines", The Journal of Organic Chemistry, vol. 47, no. 13, páginas 2525 - 2531, es un estudio sobre la

- 5 síntesis de aminas ópticamente activas. Kurt Ponsold et al., "Darstellung und Ringöffnungsreaktionen der epimeren 2,3- Imino-colestane", *Chemische Berichte*, vol. 99, no. 5, páginas 1502 - 1508, es un estudio sobre la preparación y las reacciones de apertura de anillo de los epimeros de los colestanos 2,3-imino. Akira Yagi et al., "Synthesis of C-3 ureido steroids", *The Journal of Organic Chemistry*, vol. 32, no. 3, páginas 713 - 718, es un estudio sobre la síntesis de esteroides ureidos C-3. Keun Jang et al., "Synthesis of 9-Anthryl Ethers from trans-9,10-Dihydro-9,10-dimethoxy-anthracene by Acid-Catalyzed Transesterification", vol. 2009, no. 10, páginas 1703 - 1707, sintetiza diversos 9-Antril Éteres.
- 10 Harwood Simon M et al., "The synthesis of 3.alpha.-/3.beta.- colesteryl and colestanyl esters and ethers - an assessment of their mesogenicity", *molecular crystals and liquid crystals science and technology. Section a. Molecular crystals and liquid crystals; proceedings of the 17th international liquid crystal conference : strasbourg, france, july 19 - 24, 1998*, gordon and breach publishers, vol. 332, es un estudio sobre la síntesis de ésteres y éteres de 3 α -/3 β -colesterilo y colestanilo.
- 15 Vill Volkmar et al., "Liquid crystalline colestanyl and colesteryl ether lipids", *Molecular Crystals And Liquid Crystals Science And Technology. Section A. Molecular Crystals And Liquid Crystals*, Gordon And Breach Publishers, vol. 250, páginas 73 - 83, se refiere a la síntesis de colestanilo líquido cristalino y lípidos de éter de colesterilo.
- Maghar S Manhas et al., "Steroids. Part X.1 A Convenient Synthesis of Alkyl Aryl Ethers", *Journal of The Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic And Bio-Organic Chemistry*, no. 5, páginas 461 - 463, proporciona varias síntesis de alquil aril éteres.
- 20 Zheng Zhi Wu et al., "Organic photochemistry. Part 94. Triethylamine-photosensitized reduction of a ketone via a chemical sensitization mechanism", *Journal of The American Chemical Society*, vol. 114, no. 5, páginas 1812-1816, a la reducción fotosensibilizada con trietilamina de una cetona.
- 25 Annis D Allen et al., "Inhibitors of the lipid phosphatase SHIP2 discovered by high throughput affinity selection-mass spectrometry screening of combinatorial libraries", *Combinatorial Chemistry And High Throughput Screening*, Bentham Science Publishers, vol. 12, no. 8, páginas 760 - 771, divulga diversos inhibidores de SHIP2 para el tratamiento de la diabetes tipo 2.
- A Suwa et al., "Discovery and functional characterization of a novel small molecule inhibitor of the intracellular phosphatase, SHIP2", *British Journal of Pharmacology*, vol. 158, no. 3, páginas 879 - 887, divulga el siguiente compuesto como un inhibidor de SHIP2:



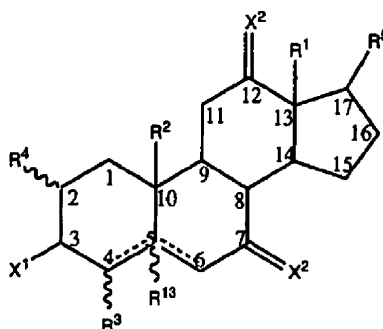
- 30 La presente invención está dirigida a superar estas y otras deficiencias en la técnica.

Resumen de la invención

En un aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende:

compuestos inhibidores de SHIP de la fórmula (I), y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y

un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde la fórmula (I) es la siguiente:



(I)

en donde los grupos R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R¹³, X¹ y X² son como se definen a de aquí en adelante a continuación.

Los "compuestos inhibidores de SHIP" de la presente invención también se denominan en el presente documento como "inhibidores de SHIP", "inhibidores de SHIP1", "compuestos inhibidores de SHIP1" y similares.

5 R³ es hidrógeno, amino sustituido o no sustituido, alquilo C₁-C₄, haloalquilo C₁-C₄ o alqueno C₁-C₄. En una realización, tanto R³ como R¹³ son hidrógeno.

R⁴ es hidrógeno, amino sustituido o no sustituido, alquilo C₁-C₄ o bencilo. En una realización, R⁴ es hidrógeno.

R⁵ representa un átomo de hidrógeno junto con un grupo alquilo. En una realización, el grupo alquilo es 1, 5-dimetilhexilo.

10 X¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, mercapto alquiltio, ariltio, alquilcarbonamido, arilcarbonamido, ariloxicarbonamido, arilsulfonamido, (alquil C₁-C₄)carboniloxi, (alcoxi C₁-C₄)carboniloxi, ariloxicarboniloxi, un grupo amino secundario o terciario que incluye al menos un alquilo C₁-C₄, cicloalquilo C₅-C₆, arilo o sustituyente heterocíclico, o combinaciones de los mismos, amino no sustituido y aminoalquilo, con la condición de que X¹ no pueda ser un grupo amino primario cuando: R¹ y R² son cada uno metilo; X², R³, R⁴ y R¹³ son cada uno hidrógeno; y R⁵ representa un átomo de hidrógeno junto con un grupo 1, 5-dimetilhexil alquilo.

15 X¹ puede seleccionarse además del grupo que consiste en un grupo amino secundario y terciario que incluye al menos un alquilo C₁-C₄, cicloalquilo C₅-C₆, arilo o sustituyente heterocíclico, o combinaciones de los mismos. En una realización, el grupo amino secundario o terciario contiene al menos una unidad estructural alquilo C₁-C₄, que puede estar sustituido adicionalmente.

20 X¹ puede ser además un grupo amino, excepto cuando: R¹ y R² son cada uno metilo; X², R³, R⁴ y R¹³ son cada uno hidrógeno; y R⁵ representa un átomo de hidrógeno junto con un grupo alquilo, donde el grupo alquilo es el grupo 1, 5-dimetilhexilalquilo.

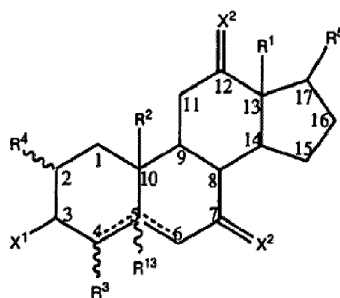
Cada X² representa dos átomos de hidrógeno.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica para uso en la inhibición de la proteína SHIP1 en un sujeto que la necesita que comprende:

25 un compuesto inhibidor de SHIP de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

un portador farmacéuticamente aceptable;

en donde la fórmula (I) es como sigue:



(I)

en donde

30 R¹ es un alquilo C₁-C₄ de cadena lineal o haloalquilo C₁-C₄;

R² es hidrógeno, metilo o halometilo;

R³ es hidrógeno, amino sustituido o no sustituido, alquilo C₁-C₄, haloalquilo C₁-C₄ o alqueno C₁-C₄;

R⁴ es hidrógeno, hidroxilo, amino sustituido o no sustituido, alquilo C₁-C₄ o bencilo;

R⁵ representa un oxo átomo divalente, o dos átomos de hidrógeno, o un átomo de hidrógeno junto con un grupo alquilo;

35 R¹³ está ausente o es hidrógeno;

X¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, mercapto, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, alquilcarbonamido, alcoxicarbonamido, -arilcarbonamido, ariloxicarbonamido, alquilsulfonamido, arilsulfonamido, amino sustituido o no sustituido; y aminoalquilo;

cada X² representa individualmente un oxo átomo divalente o dos átomos de hidrógeno;

con la condición de que X¹ no pueda ser un grupo amino primario cuando: R¹ y R² son cada uno metilo; X², R³, R⁴ y R¹³ son cada uno hidrógeno; y R⁵ representa un átomo de hidrógeno junto con un grupo 1, 5-dimetilhexil alquilo.

5 En un aspecto adicional, la composición farmacéutica es para uso en un método de tratamiento de la enfermedad de injerto contra huésped en un sujeto. Esto incluye la etapa de administrar un inhibidor de SHIP1 de la presente invención a un sujeto en necesidad de tratamiento.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método de inhibición de una proteína SHIP1 en una célula. El método incluye la etapa de poner en contacto la célula que contiene una proteína SHIP1 con un inhibidor de SHIP1 de la presente invención.

10 En aún otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método de inhibición selectiva de una proteína SHIP1 en una célula. El método incluye la etapa de poner en contacto la célula que contiene una proteína SHIP1 con un inhibidor de SHIP1 de la presente invención, en donde el inhibidor de SHIP1 de la presente invención se proporciona en una cantidad efectiva para inhibir SHIP1 pero no para inhibir SHIP2 o PTEN.

15 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método para tratar o prevenir la enfermedad de injerto contra huésped (GvHD) en un receptor de un trasplante de órgano o tejido. El método incluye la etapa de administrar al receptor del trasplante un inhibidor de SHIP de la presente invención en una cantidad farmacéuticamente efectiva después del trasplante. En ciertas realizaciones, la etapa de administrar el inhibidor de SHIP1 se realiza antes del trasplante de órganos o tejidos.

20 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método de modulación de la actividad de SHIP en una célula que expresa SHIP1 o SHIP2. El método incluye la etapa de poner en contacto la célula con al menos un inhibidor de SHIP de la presente invención. En una realización particular, la modulación SHIP se usa para prevenir al menos una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en enfermedad autoinmune, enfermedad de injerto contra huésped y rechazo de injerto de órgano sólido, obesidad inducida por la dieta, crecimiento de células tumorales. El SHIP modulado puede ser SHIP1 o SHIP2. En otra realización, la modulación SHIP se usa para prevenir la obesidad inducida por la dieta. En realizaciones adicionales, la modulación SHIP puede usarse para modular el número de células y las funciones de las células seleccionadas del grupo que consiste en células madre hematopoyéticas, células NK, células Treg y células supresoras derivadas de mieloides. Las células Treg son células ingenuas T FoxP3+. En realizaciones todavía

25 adicionales, la modulación SHIP se usa para convertir células T CD4+ ingenuas/efectoras en células inmunorreguladoras. En realizaciones adicionales, la modulación SHIP puede usarse para facilitar el injerto de células seleccionadas del grupo que consiste en células madre alogénicas de médula ósea, células madre hematopoyéticas, células madre pluripotentes, IPS y derivados de las mismas.

30 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en el método de tratamiento ex vivo o in vitro de trasplantes. El método puede incluir las etapas de aislar células derivadas de sangre, trasplantes de médula ósea o trasplantes de órganos y poner en contacto las células derivadas de sangre aisladas, los trasplantes de médula ósea o los trasplantes de órganos con un inhibidor de SHIP de la presente invención. El tratamiento de los trasplantes sirve para inactivar los linfocitos T contenidos en la muestra.

35 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método para inhibir el crecimiento tumoral y la metástasis en un sujeto. El método incluye la etapa de administrar al sujeto uno o más inhibidores de SHIP de la presente invención.

40 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método de tratamiento de una malignidad hematológica en un sujeto. El método incluye la etapa de administrar al sujeto uno o más inhibidores de SHIP de la presente invención. La malignidad hematológica puede ser leucemia, linfoma, mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico (MDS), enfermedad mieloproliferativa (MPD) o enfermedades MDS/MPD. En ciertas realizaciones, la leucemia es leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica o leucemia linfocítica crónica. En ciertas realizaciones, el linfoma es la enfermedad de Hodgkin, linfoma linfocítico pequeño, linfoma difuso de células B grandes, linfoma folicular, linfoma de células del manto, leucemia de células pilosas, linfoma de la zona marginal, linfoma de Burkitt, trastorno linfoproliferativo posterior al trasplante, leucemia linfocítica pro de células T, Leucemia prolinfocítica de células B, Macroglobulinemia de Waldenstrom, linfoma linfoplasmácítico u otros linfomas de células NK o T. En ciertas realizaciones, la enfermedad mieloproliferativa es policitemia vera, trombocitosis esencial o mielofibrosis. En ciertas realizaciones, la enfermedad MDS/MPD es leucemia mielomonocítica crónica, leucemia mielomonocítica juvenil y leucemia mielóide crónica atípica.

45 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método para inducir apoptosis de células de mieloma múltiple. El método incluye la etapa de poner en contacto las células con uno o más inhibidores de SHIP de la presente invención.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método de tratamiento de mieloma múltiple en un sujeto. El método incluye la etapa de administrar al sujeto uno o más inhibidores de SHIP de la presente invención.

5 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método para inhibir la proliferación de una célula de cáncer de mama humano. El método incluye la etapa de poner en contacto la célula con uno o más inhibidores de SHIP de la presente invención.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método de tratamiento de cáncer de mama en un sujeto. El método incluye la etapa de administrar al sujeto uno o más inhibidores de SHIP de la presente invención.

10 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método de tratamiento de mielosupresión en un sujeto. Este método incluye la etapa de administrar al sujeto uno o más compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente invención bajo condiciones efectivas para tratar la mielosupresión en el sujeto.

15 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método de tratamiento de anemia en un sujeto. Este método incluye la etapa de administrar al sujeto uno o más compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente invención bajo condiciones efectivas para tratar la anemia en el sujeto.

20 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método para aumentar las plaquetas en un sujeto. Este método incluye la etapa de administrar al sujeto uno o más compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente invención bajo condiciones efectivas para aumentar las plaquetas en el sujeto.

25 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método para ayudar a la recuperación de un sujeto que se ha sometido a un trasplante de médula ósea. Este método incluye la etapa de administrar al sujeto uno o más compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente invención bajo condiciones efectivas para aumentar la producción en el sujeto de componentes de células sanguíneas, ayudando así a la recuperación del sujeto tras el trasplante de médula ósea. Este método se puede utilizar para ayudar a la recuperación de los sujetos que se han sometido a un trasplante autólogo de médula ósea o un trasplante alogénico de médula ósea. En una realización, este método puede incluir además administrar al menos un factor de crecimiento al sujeto junto con uno o más compuestos inhibidores de SHIP1.

30 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método para mejorar la recolección de células madre sanguíneas de un sujeto. Este método incluye la etapa de administrar al sujeto uno o más compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente invención bajo condiciones efectivas para movilizar células madre en el sujeto desde la médula ósea a la sangre.

Breve descripción de los dibujos

35 La Figura 1 muestra los resultados de un ensayo SHIP1 malaquita fosfatasa. La falta de color verde indica inhibición para la amida y el hidrocioruro, mientras que la etilamina es un inhibidor deficiente.

La Figura 2 muestra los resultados de un ensayo SHIP1 malaquita fosfatasa. La falta de color verde indica inhibición.

40 La Figura 3 muestra los resultados de un ensayo SHIP1 malaquita fosfatasa usando un lector de placas UV-Vis. La absorbancia se registra a 620 nm, los números más pequeños indican una falta de color verde y la inhibición de la fosfatasa.

La Figura 4 muestra los resultados de un ensayo SHIP1 malaquita fosfatasa utilizando un lector de placas UV-Vis. La absorbancia se registra a 620 nm, los números más pequeños indican una falta de color verde y la inhibición de la fosfatasa.

45 Las Figuras 5A-5C ilustran los resultados de estudios de potencia con respecto al 3 α -amino-5 α -androstano (3A5AS). El derivado 3AC, 3A5AS (figura 5A), es igualmente potente para la inhibición de la actividad de SHIP1 recombinante in vitro como se mide mediante un ensayo de Verde de Malaquita (véase la figura 5B). Sin embargo, 3A5AS es más potente para la destrucción de células de cáncer de sangre (células de leucemia C1498) que el compuesto original 3AC medido en el ensayo MTT para la viabilidad celular (véase Figura 5C).

50 Las Figuras 6A-6D ilustran los resultados relacionados con la actividad inhibidora de SHIP1 de un derivado de 3AC. Como se muestra en los resultados, un derivado 3AC más soluble retiene la actividad inhibidora de SHIP1 in vitro e in vivo. Figura 6A: Ensayo de Malaquita Verde para la actividad de SHIP1 contra el sustrato de PI(3,4,5)P₃ en presencia de 3AC o 3A5AS. La columna "Sin SHIP" indica la absorbancia de fondo cuando el ensayo se lleva a cabo con sustrato PIP3 en ausencia de SHIP1 recombinante. Figura 6B: ensayo MTT del crecimiento de leucemia C1498 en presencia

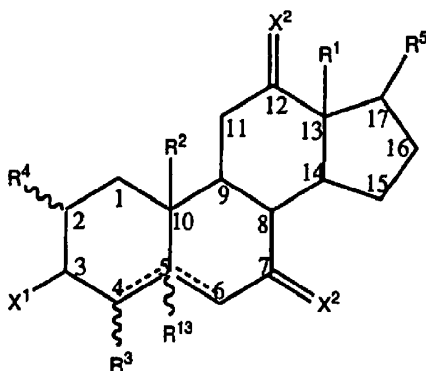
de 3AC y 3A5AS a las concentraciones indicadas. Figura 6C: Ejemplos de inducción de células MIR en ratones tratados con 3AC y 3A5AS en comparación con un control de vehículo. Figura 6D: Gráficos de barras y análisis estadístico de los números de células MIR en los grupos de tratamiento indicados (**, $p < 0.01$; NS, no significativo). [Nota bene: DRV-IV-26 = 3A5AS]

5 Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto inhibidor de SHIP de la fórmula (I), y sus sales farmacéuticamente aceptables, y

un portador farmacéuticamente aceptable,

donde la fórmula (I) es la siguiente:



(I)

10

en donde los grupos R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R¹³, X¹ y X² son como se definen más aquí adelante.

Los "compuestos inhibidores de SHIP" de la presente invención también se denominan en el presente documento como "inhibidores de SHIP", "inhibidores de SHIP1", "compuestos inhibidores de SHIP1" y similares. En una realización, los compuestos inhibidores de SHIP de la presente invención son inhibidores selectivos de SHIP1.

15

R¹ es un alquilo C₁-C₄ de cadena lineal o haloalquilo C₁-C₄. En una realización, R¹ es metilo.

R² es hidrógeno, metilo o halometilo. En una realización, R² es metilo.

R³ es hidrógeno, amino sustituido o no sustituido, alquilo C₁-C₄, haloalquilo C₁-C₄ o alquenilo C₁-C₄. En una realización, tanto R³ como R¹³ son hidrógeno.

R⁴ es hidrógeno, amino sustituido o no sustituido, alquilo C₁-C₄ o bencilo. En una realización, R⁴ es hidrógeno.

20

R⁵ representa un átomo de hidrógeno junto con un grupo alquilo. En una realización, el grupo alquilo es 1, 5-dimetilhexilo.

X¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, mercapto alquilitio, arilitio, alquilcarbonamido, arilcarbonamido, ariloxicarbonamido, arilsulfonamido, (alquilo C₁-C₄)carboniloxi, (alcoxi C₁-C₄)carboniloxi, ariloxicarboniloxi, un grupo amino secundario o terciario que incluye al menos un alquilo C₁-C₄, cicloalquilo C₅-C₆, arilo o sustituyente heterocíclico, o combinaciones de los mismos, amino no sustituido y aminoalquilo.

25

X¹ puede seleccionarse además del grupo que consiste en un grupo amino secundario y terciario que incluye al menos un alquilo C₁-C₄, cicloalquilo C₅-C₆, arilo o sustituyente heterocíclico, o combinaciones de los mismos. En una realización, el grupo amino secundario o terciario contiene al menos una unidad estructural alquilo C₁-C₄, que puede estar sustituido adicionalmente.

30

X¹ puede ser además un grupo amino, excepto cuando: R¹ y R² son cada uno metilo; X², R³, R⁴ y R¹³ son cada uno hidrógeno; y R⁵ representa un átomo de hidrógeno junto con un grupo alquilo, donde el grupo alquilo es el grupo 1, 5-dimetilhexilalquilo.

35

Cada X² se define independientemente para representar dos átomos de hidrógeno. En una realización, cada X² representa dos átomos de hidrógeno.

Los compuestos de la presente invención, como apreciará un experto en la técnica, poseen varios átomos de carbono quirales potenciales. Como consecuencia de estos centros quirales, los compuestos de la presente invención pueden aparecer como racematos, mezclas racémicas, diastereómeros individuales e isómeros sustancialmente puros. Todas

las formas asimétricas, isómeros individuales y combinaciones de los mismos están dentro del alcance de la presente invención.

A lo largo de esta especificación, los términos y sustituyentes conservan sus definiciones. A continuación se presentan definiciones particulares de los términos utilizados en este documento.

- 5 El término "alquilo" por sí mismo o como parte de otro sustituyente significa, a menos que se indique otra cosa, un radical hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que tiene el número indicado de átomos de carbono e incluye grupos de cadena lineal o ramificada tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, sec-butilo y homólogos e isómeros superiores tales como n-pentilo, n-hexilo, 2-metilpentilo, 1,5-dimetilhexilo, 1-metil-4-isopropilo, hexilo y similares. Un radical divalente derivado de un alcano se ejemplifica por $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$. Un radical divalente derivado de un alqueno se ejemplifica por $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$.

El término "alqueno", empleado solo o en combinación con otros términos, significa un grupo hidrocarburo monoinsaturado de cadena lineal o ramificada que tiene el número indicado de átomos de carbono, tales como, por ejemplo, vinilo, propenilo (alilo), crotilo, isopentenilo y los diversos isómeros de butenilo.

- 15 Los grupos alquilo y alqueno pueden incluir sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, hidroxilo, ciano, mercapto, $-\text{S}(\text{alquilo } \text{C}_1\text{-C}_4)$, amino, amino sustituido, acetamido, carboxi, trifluorometilo, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_4$, (alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_4$) carbonilo y aminocarbonilo.

- 20 El término "cicloalquilo" significa un radical hidrocarburo cíclico saturado monovalente no sustituido o sustituido que tiene el número indicado de átomos de carbono, que incluyen diversos isómeros de ciclopentilo y ciclohexilo. El término "cicloalqueno" significa un radical hidrocarburo cíclico monoinsaturado monovalente no sustituido o sustituido que tiene el número indicado de átomos de carbono, que incluyen diversos isómeros de ciclopentenilo y ciclohexenilo. El término "cicloalcadienilo" significa un radical cíclico diinsaturado monovalente que tiene el número indicado de átomos de carbono, incluidos los diversos isómeros de ciclopentadienilo y ciclohexadienilo. Los sustituyentes pueden ser uno o dos de los mismos o diferentes sustituyentes seleccionados de halo, hidroxilo, ciano, mercapto, $-\text{S}(\text{alquilo } \text{C}_1\text{-C}_4)$, amino, amino sustituido, acetamido, carboxilo, trifluorometilo, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_4$, (alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_4$) carbonilo y aminocarbonilo.

- 25 Las líneas punteadas entre las posiciones 4,5 y 5,6 representan la presencia o ausencia de un enlace adicional; es decir, una insaturación. Solo una insaturación puede estar presente a la vez. El átomo de hidrógeno en la posición 5 y R^{13} mostrados en la Fórmula (I), por supuesto, estarán ausentes cuando esté presente una insaturación.

- 30 El término "arilo" significa un grupo fenilo monovalente no sustituido o sustituido. Los sustituyentes pueden seleccionarse independientemente de halo, $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{S}(\text{alquilo } \text{C}_1\text{-C}_4)$, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_5$, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_5$, carboxi, (alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_4$) carbonilo, aminocarbonilo, $\text{C}_1\text{-C}_4$ alquilaminocarbonilo, amino, acetamido, alquilamino $\text{C}_1\text{-C}_4$, di(alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$)amino o un grupo $-(\text{CH}_2)_q\text{-R}$ donde q es 1, 2, 3 o 4 y R es hidroxilo, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_4$, carboxi, $\text{C}_1\text{-C}_4$ alcoxicarbonilo, amino, aminocarbonilo, alquilamino $\text{C}_1\text{-C}_4$ o di(alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$) amino.

El término "bencilo" significa un grupo monovalente en el que una unidad estructural fenilo está sustituido por un grupo metileno. El grupo bencilo puede incluir sustituyentes adicionales en la unidad estructural fenilo.

- 35 El término "amino" significa un grupo $-\text{NH}_2$. El término "amino sustituido" significa un grupo amino donde uno o ambos amino hidrógenos se reemplazan independientemente por un alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$, alqueno $\text{C}_2\text{-C}_4$, cicloalquilo $\text{C}_5\text{-C}_6$, cicloalqueno $\text{C}_5\text{-C}_6$, arilo, bencilo o un grupo $-(\text{CH}_2)_q\text{-R}$ donde q es 1, 2, 3 o 4 y R es hidroxilo, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_4$, carboxi, alcoxycarbonilo $\text{C}_1\text{-C}_4$, amino, aminocarbonilo, alquilamino $\text{C}_1\text{-C}_4$ o di(alquil $\text{C}_1\text{-C}_4$) amino.

- 40 El término "alquilcarbonamido" significa un grupo (alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$) $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R})-$, donde R representa H o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$. Más específicamente, el término "acetamido" significa un grupo $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{NH}-$. El término "arilcarbonamido" significa un grupo (aril) $\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R})-$, donde R representa H o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$. El término "aminocarbonamido" significa un grupo $\text{R}'\text{R}''\text{NC}(\text{O})\text{N}(\text{R})-$, donde R representa H o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$, y R' y R'' representan independientemente H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$, $\text{C}_5\text{-C}_6$ cicloalquilo, arilo o heterocíclico.

- 45 El término "alquilsulfonamido" significa un grupo (alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$) $\text{SO}_2\text{N}(\text{R})-$, donde R representa H o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$. El término "arilsulfonamido" significa un grupo (aril) $\text{SO}_2\text{N}(\text{R})-$, donde R representa H o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$. El término "aminosulfonamido" significa un grupo $\text{R}'\text{R}''\text{NHSO}_2\text{N}(\text{R})-$, donde R representa H o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$, y R' y R'' representan independientemente H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$, cicloalquilo $\text{C}_5\text{-C}_6$, arilo, o heterocíclico.

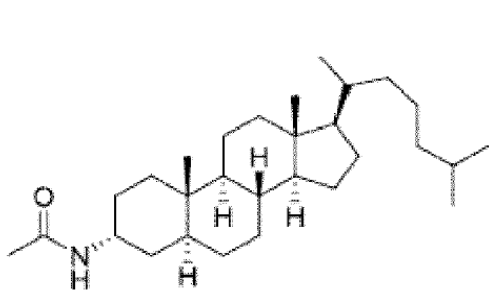
- 50 El término "alquilcarboniloxi" significa un grupo (alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$) $\text{C}(\text{O})\text{O}-$. El término "alcoxicarboniloxi" significa un grupo (alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$) $\text{OC}(\text{O})\text{O}-$. El término "arilcarboniloxi" significa un grupo (aril) $\text{C}(\text{O})\text{O}-$. El término "ariloxycarboniloxi" significa un grupo (aril) $\text{OC}(\text{O})\text{O}-$. El término "aminocarboniloxi" significa un grupo $\text{R}'\text{R}''\text{NC}(\text{O})\text{O}-$, donde R' y R'' representan independientemente H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$, cicloalquilo $\text{C}_5\text{-C}_6$, arilo o heterocíclico.

El término "halo" significa cloro, bromo, flúor o yodo. El término "mercapto" significa un grupo $-\text{SH}$.

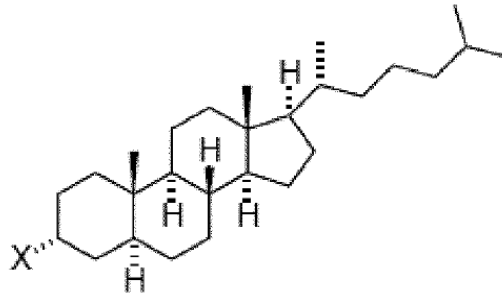
El término "heterociclo" significa un anillo heterocíclico monocíclico estable de 5 o 6 miembros no sustituido o sustituido que consiste en átomos de carbono y de uno a tres heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en N, O y S,

y en donde los heteroátomos de nitrógeno y azufre opcionalmente puede oxidarse, y el heteroátomo de nitrógeno puede opcionalmente cuaternizarse. El anillo heterocíclico puede estar unido, a menos que se indique otra cosa, en cualquier heteroátomo o átomo de carbono que proporcione una estructura estable. El heterociclo puede estar no sustituido o sustituido con uno o dos sustituyentes.

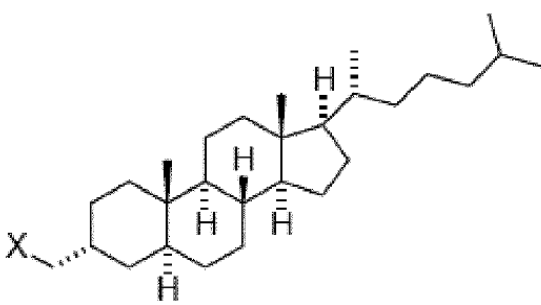
- 5 En una realización de la presente invención, el compuesto de fórmula (I) es un compuesto de una fórmula como se establece a continuación:



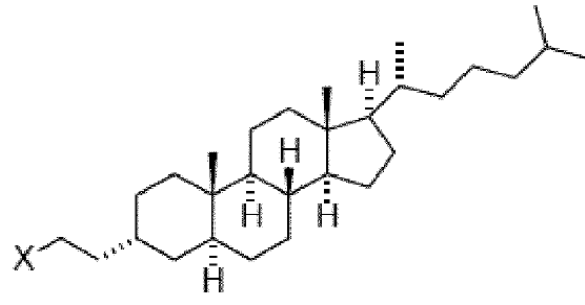
Fórmula 10



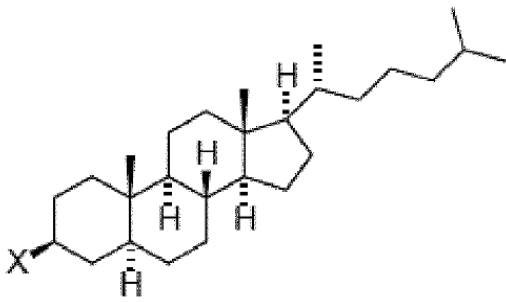
Fórmula 11



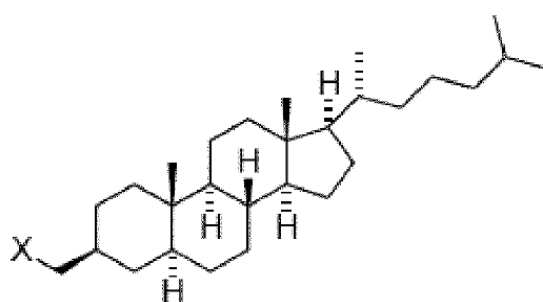
Fórmula 12



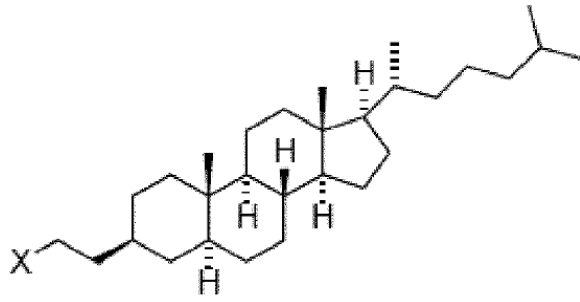
Fórmula 13



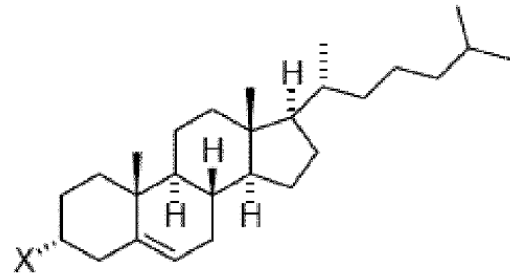
Fórmula 14



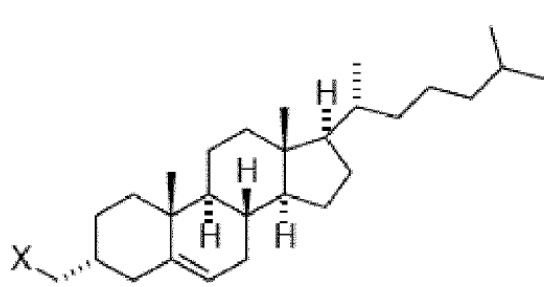
Fórmula 15



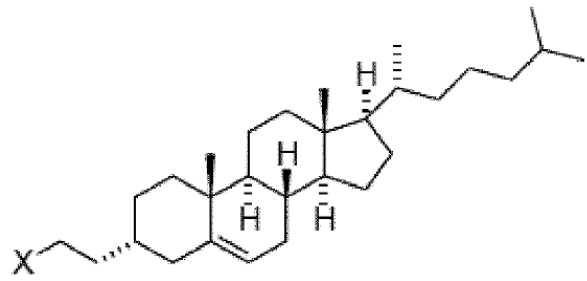
Fórmula 16



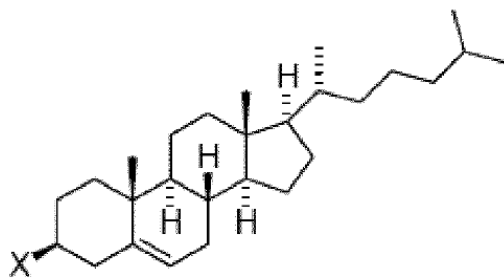
Fórmula 17



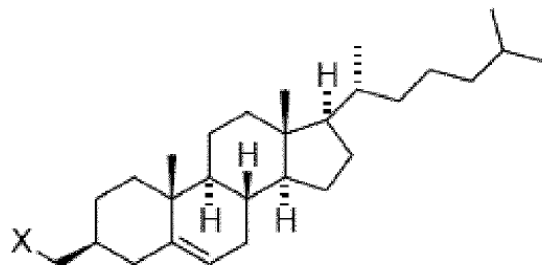
Fórmula 18



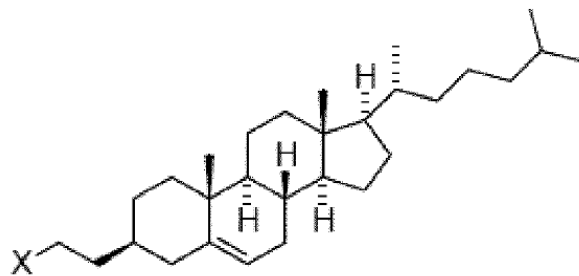
Fórmula 19



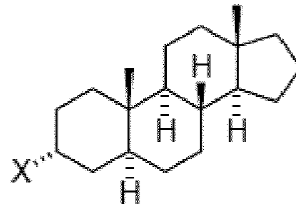
Fórmula 20



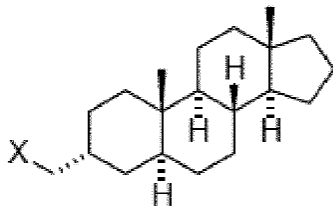
Fórmula 21



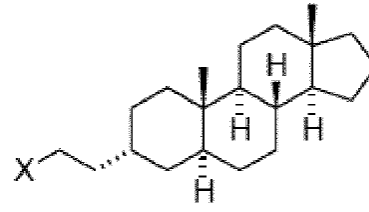
Fórmula 22



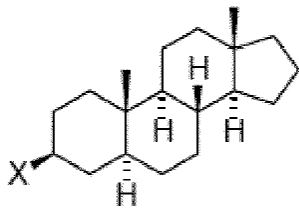
Fórmula 25



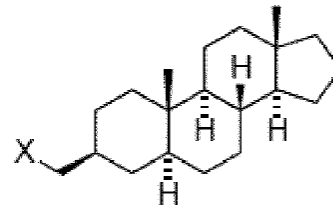
Fórmula 26



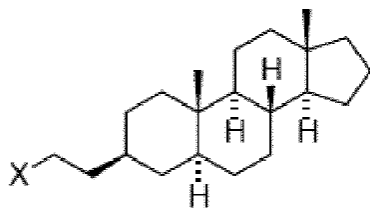
Fórmula 27



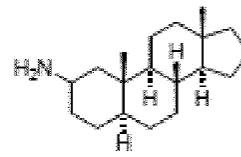
Fórmula 28



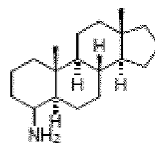
Fórmula 29



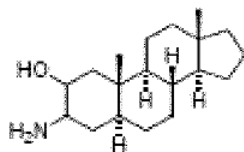
Fórmula 30



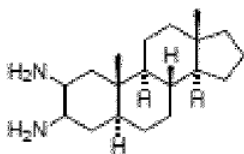
Fórmula 31



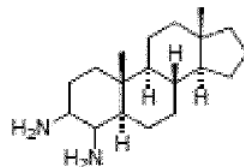
Fórmula 32



Fórmula 34



Fórmula 36



Fórmula 37

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde **X = NR₂, NRCOR, NHCONR₂, OR, SR, OCOR, OCONR₂ o NHCNHH₂**, y en donde **R = H, alquilo, cicloalquilo, arilo o bencilo**.

5 La presente invención proporciona una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en métodos para la prevención y el tratamiento clínico de diversas formas de enfermedad de injerto contra huésped (GVHD) mediante el uso de inhibidores del dominio SH2 que contiene inositol fosfatasa (SHIP). En particular, se proporcionan nuevas formulaciones de inhibidores de SHIP para el tratamiento con el fin de suprimir las respuestas inmunes mediadas por linfocitos T.

10 La deficiencia de SHIP 1 se ha relacionado con la tolerancia al trasplante en estudios genéticos. En consecuencia, la orientación molecular de SHIP1 se puede utilizar para lograr efectos similares, incluido un aumento en la capacidad inmunorreguladora. Los compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente invención proporcionan tal direccionamiento molecular. El tratamiento con los compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente invención expande significativamente el compartimento de células inmunorreguladoras mieloides y deteriora la capacidad de los tejidos linfoides periféricos para preparar respuestas de células T alogénicas. Además, el tratamiento con los compuestos
15 inhibidores de SHIP1 de la presente invención aumenta profundamente la producción de granulocitos sin desencadenar la consolidación pulmonar asociada a mieloides observada en ratones SHIP1 +/- . También se descubrió que la inhibición química de SHIP1 desencadena la apoptosis de las células de cáncer de sangre. Por lo tanto, los inhibidores de SHIP1 de la presente invención proporcionan una nueva clase de moléculas pequeñas que tienen el potencial de mejorar el trasplante alogénico, aumentar la inmunidad innata y mejorar el tratamiento de los tumores malignos hematológicos.

20 SHIP es crítico en las respuestas inmunes alogénicas mediadas por células, y los anfitriones deficientes en SHIP no admiten el cebado de respuestas de células T alogénicas. Apuntar a SHIP facilita el trasplante alogénico. También se cree que los compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente invención también pueden inhibir SHIP2, un objetivo molecular potencial en diabetes, pero no PTEN. Se cree además que los compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente invención también pueden inhibir la capacidad de los tejidos linfoides periféricos para cebar las respuestas alogénicas de células T in vitro. Se cree que la administración de los compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente
25 invención expande el número de células inmunorreguladoras tanto mieloides como linfoides T en tejidos linfoides secundarios donde se ceba GvHD y expande el número de células NK en la periferia de los modelos. Tales resultados demuestran que la actividad enzimática de SHIP es necesaria para el cebado de las respuestas de las células T alogénicas.

30 Se cree que los compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente invención descritos e identificados aquí inhiben significativamente la actividad enzimática de SHIP en solución. Para validar además que los compuestos identificados en el ensayo basado en solución para la actividad de SHIP son permeables a las células y pueden alterar el sistema inmune de una manera comparable a la observada en ratones con deficiencia de SHIP, puede probarse la capacidad de algunos de los inhibidores de SHIP más potentes para inhibir cebado de una respuesta alogénica de células T in vitro y por la capacidad de expandir las poblaciones de células inmunorreguladoras y derogar la GvHD. También se
35

muestra que un inhibidor potente de SHIP en solución inhibe el cebado de una respuesta alogénica de células T medida en una MLR no compatible con MHC y puede expandir significativamente el número de células inmunorreguladoras mieloides y linfoides T en tejidos linfoides secundarios.

5 El hecho de que los inhibidores de SHIP identificados a través de un cribado de HTS pueden perjudicar el cebado de las respuestas de las células T alogénicas in vitro y puede expandir las células inmunorreguladoras en los tejidos linfoides sugiere que la inhibición química de la actividad de SHIP podría utilizarse para facilitar los procedimientos de trasplante alogénico. Por lo tanto, los compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente invención son útiles para mejorar el injerto de BM alogénico ya que se sabe que las células Treg no solo combaten GvHD, sino que también pueden facilitar el injerto de BM donante en entornos de trasplante no coincidentes con MHC. Además, la expansión de las células supresoras derivadas de mieloides (MDSC) y los números de células Treg también reducen la frecuencia con que las células T del donante son cebadas por las células presentadoras de antígeno del huésped (APC) en los tejidos linfoides secundarios y, por lo tanto, reduce la incidencia y la gravedad de la GvHD. Como las respuestas del injerto de órganos sólidos por las células T del huésped también son cebadas en los tejidos linfoides secundarios, y las células Treg también facilitan la aceptación del injerto de órganos sólidos, los inhibidores de SHIP de la presente invención resultarán útiles para reducir el rechazo del injerto de órganos. Como los ratones con deficiencia de SHIP exhiben inmunidad humoral normal y cebado de APC de la respuesta de células T a antígenos extraños, los compuestos descritos en el presente documento evitan la función inmune adaptativa normal. Por lo tanto, ofrecen un método más selectivo para amortiguar las respuestas nocivas de células T alogénicas del huésped y del donante sin comprometer las funciones inmunes adaptativas necesarias para combatir los patógenos oportunistas que frecuentemente infectan a los pacientes trasplantados sometidos a terapias inmunosupresoras convencionales.

La inhibición de SHIP también evita la quimio-atracción de las células tumorales a los tejidos dirigidos in vivo. SDF1 sirve como quimio-atrayente para atraer células madre y células tumorales a sitios de tejido, lo que se conoce como metástasis para células tumorales. Hay muy poco o nada de SDF1/CXCL 12 producido en BM (médula ósea) u órganos sólidos (por ejemplo, bazo) en ratones con deficiencia de SHIP. Por lo tanto, los inhibidores de SHIP pueden administrarse para detener o reducir significativamente la producción de SDF1/CXCL 12 en tejidos y órganos. Los inhibidores de SHIP también son útiles para inhibir el crecimiento tumoral y la metástasis en órganos y tejidos sólidos.

La presente divulgación describe además la identificación y caracterización inicial in vivo de inhibidores de molécula pequeña de la enzima SHIP1. Para validar que estos compuestos son permeables a las células y pueden alterar el sistema inmune de una manera comparable a la observada en ratones con deficiencia de SHIP1, se probó su capacidad para expandir las células MIR y, en consecuencia, inhibir el cebado de una respuesta de células T alogénicas. Se muestra aquí que la inhibición química de SHIP1 es capaz de ambos. Además, la inhibición de SHIP1 promueve un aumento profundo en el número de granulocitos circulantes y la apoptosis de las células de cáncer de sangre.

También se muestra que la administración de un inhibidor de SHIP1 puede expandir las células inmunorreguladoras en los tejidos linfoides periféricos y suprimir el cebado de las respuestas alogénicas de las células T. Debido a que las respuestas de células T alogénicas que culminan en GvHD o rechazo de injertos de órganos sólidos se ceban en tejidos linfoides periféricos, [Lafferty KJ, et al., Surg Clin North Am (1986) 66 (6): 1231-1253; Kosaka H, et al., J Exp Med (1992) 176 (5): 1291-1302; Shlomchik WD, et al., Science (1999) 285 (5426): 412-415] estos resultados muestran que los compuestos inhibidores de SHIP de la presente invención pueden usarse potencialmente para limitar las respuestas nocivas de células T que median la GvHD y el rechazo del injerto de órganos. De acuerdo con esto, la GvHD se reduce y el rechazo del injerto cardíaco se retrasa en ratones adultos con deficiencia de SHIP1 [Paraiso KH, et al., J Immunol (2007) 178(5):2893-2900; Collazo MM, et al., Blood (2009) 113:2934-2944]. Como los ratones deficientes en SHIP 1 exhiben inmunidad humoral normal [Brauweiler A, et al., J Exp Med (2000) 191(9):1545-1554; Liu Q, et al., J Exp Med (1998) 188(7):1333-1342] y cebado de respuestas de células T a antígenos ingenuos [[Ghansah T, et al., J Immunol (2004) 173(12):7324-7330], el inhibidor de SHIP1 descrito aquí, y potencialmente otros, pueden no comprometer significativamente la función inmune adaptativa. Por lo tanto, los compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente invención ofrecen un método más selectivo para amortiguar las respuestas perjudiciales de células T alogénicas del huésped y del donante sin comprometer las funciones inmunes adaptativas necesarias para combatir los patógenos oportunistas que pueden comprometer la recuperación y supervivencia de los pacientes trasplantados que reciben regímenes inmunosupresores del estado de la técnica.

El aumento de la señalización de Akt y la supervivencia en NK primaria [Wang JW, et al., Science (2002) 295(5562):2094-2097] and myeloid cells [Liu A, et al., Genes & Development (1999) 13(7):786-791] aislados de ratones SHIP1 +/- han sido documentados. Sin embargo, también existe un papel emergente para el producto SHIP1/2 PI(3,4)P₂ en la promoción de la activación de Akt [Franke TF, et al., Science (1997) 275 (5300): 665-668] y tumorigenicidad. [Ivetac I., et al., EMBO Rep (2009) 10 (5): 487-493] Por lo tanto, mediante la generación de PI(3,4)P₂, SHIP1/2 podría amplificar las señales de supervivencia en células transformadas o neoplásicas al proporcionar ubicaciones adicionales de la membrana plasmática para el reclutamiento y activación de las quinasas que contienen el dominio PH, tal como Akt. De hecho, se ha encontrado que los niveles de PI(3,4)P₂ aumentan en las células leucémicas. [Jain SK, et al., Blood (1996) 88 (5): 1542-1550] Consistente con esta hipótesis, se muestra que un inhibidor selectivo de SHIP1 reduce la activación de Akt y promueve la apoptosis de los cánceres de células sanguíneas humanas que expresan SHIP1. Por lo tanto, la inhibición de SHIP1 se puede usar como un complemento de otras terapias para disminuir además la supervivencia de las malignidades hematológicas. También habrá

aplicaciones para los inhibidores de SHIP1/2 en cánceres no hematológicos, ya que la expresión de SHIP2 aumenta en el cáncer de mama y promueve señales de supervivencia del EGF-R en estas células. [Prasad NK, et al., Tumor Biol (2008) 29 (5): 330341; Prasad NK, et al., Carcinogenesis (2008) 29 (1): 25-34; Prasad NK, Int J Oncol (2009) 34 (1): 97-105]

5 Aunque el tratamiento de ratones con un inhibidor selectivo de SHIP1 indujo muchos de los mismos fenotipos mieloides observados en ratones que son genéticamente deficientes en SHIP1, algunos efectos nocivos clave asociados con deficiencias genéticas de SHIP1 estuvieron notablemente ausentes. Es importante destacar que no se observó consolidación pulmonar mieloide ni neumonía emergente en ratones tratados con inhibidores. Esto podría ser fortuito, ya que esta neumonía es la principal patología que limita la vida útil de los ratones SHIP1 +/- . [Helgason CD, et al. 10 (1998) Genes & Development 12 (11): 1610-1620] Sin desear limitarse a una teoría en particular, hay varias razones por las cuales la inhibición química de la actividad enzimática SHIP1 y la deficiencia de la línea germinal SHIP1 no resultan en manifestaciones hematológicas idénticas. En los ratones con deficiencia de SHIP1 en la línea germinal existe una pérdida completa de la proteína SHIP1 desde el punto de concepción y, por lo tanto, los efectos de desarrollo de la deficiencia de SHIP1 pueden desencadenar algunas anomalías que pueden no ocurrir en el 15 tratamiento de ratones adultos con un inhibidor de SHIP1. Aunque se ha documentado que se inducen varios fenotipos SHIP1 en ratones MxCreSHIP1^{fllox/fllox} que se vuelven deficientes en SHIP 1 como adultos, [Ghansah T, et al., J Immunol (2004) 173 (12): 7324-7330; Hazen AL, et al., Blood (2009) 113 (13): 2924-2933; Collazo MM, et al., Blood (2009) 113: 2934-2944], estos ratones no han sido examinados por patología pulmonar. Otra posible explicación de la diferencia entre la ablación química y genética de la función SHIP1 es que una mutación nula SHIP1 da como resultado la ausencia de la proteína SHIP1. La ausencia de la proteína SHIP1 tiene el potencial de permitir actividades inapropiadas por parte de otras proteínas de señalización que asumen su lugar en los complejos de señalización celular. De hecho, se sabe que esto ocurre en las células SHIP1 +/- NK, ya que la pérdida de la expresión de SHIP1 conduce a un reclutamiento inapropiado de SHP1 en el receptor de la familia 2B4 SLAM convirtiendo este receptor del modo de activación a un modo inhibitorio dominante. [Wahle JA, et al., J Immunol (2007) 179 (12): 8009-8015] Es posible que 25 la consolidación mieloide pulmonar observada en ratones SHIP1 +/- también resulte de una actividad inapropiada de otra proteína de señalización que llena el vacío dejado por la ausencia de proteína SHIP1. Un análisis más detallado de estas preguntas podría proporcionar información mecanicista sobre el papel que desempeña SHIP1 en la biología alveolar de los macrófagos.

Además de los efectos anteriores relevantes para el trasplante alogénico, los inhibidores de SHIP1 también ofrecerán beneficios a los pacientes con cáncer. Por ejemplo, un inhibidor de SHIP1 podría usarse para mejorar la recuperación de granulocitos después de BMT autólogo o altas dosis de quimioterapia/radioterapia que frecuentemente compromete la producción y función de granulocitos. Los granulocitos sirven como la primera línea de defensa contra las infecciones bacterianas, fúngicas y parasitarias y, por lo tanto, desempeñan un papel destacado en la recuperación después de las terapias mieloablativas. Además, el crecimiento y la supervivencia de los tumores malignos de células sanguíneas que expresan SHIP1 se reducen significativamente por la inhibición química de SHIP1. Por lo tanto, los compuestos 30 inhibidores de SHIP1 de la presente invención representan una nueva clase de compuestos que potencialmente podrían encontrar utilidad tanto en el trasplante como en el tratamiento del cáncer.

En una realización, se proporciona una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método para tratar a un paciente que padece de GVHD. El método comprende administrar al paciente con GVHD 40 una composición que incluye un compuesto inhibidor de SHIP1 de la presente invención.

Las cantidades y la frecuencia de dosificación variarán de acuerdo con el inhibidor de SHIP particular, la forma de dosificación y las características individuales del paciente. En términos generales, la determinación de la cantidad y frecuencia de dosificación para un inhibidor de SHIP particular, la forma de dosificación y la característica individual del paciente se puede lograr utilizando estudios de dosificación convencionales, junto con diagnósticos apropiados.

45 En una realización particular, un inhibidor de SHIP se usa para tratar pacientes que tienen enfermedad aguda de injerto contra huésped (aGVHD) pero falló al menos un régimen inmunosupresor, tal como un régimen que incluye esteroides tales como prednisona y metilprednisolona, ciclofosfamida, ciclosporina A, FK506, talidomida , azatioprina y daclizumab. Por ejemplo, los pacientes con trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH) que manifiestan aGVHD de grado 2 o superior, que no han respondido al tratamiento con al menos 2 mg/kg de metilprednisolona o corticosteroides equivalentes u otra terapia de rescate, pueden tratarse con un inhibidor SHIP1. 50

Un inhibidor de SHIP de la presente invención también se puede usar como una profilaxis para prevenir la aparición de GVHD o para reducir los efectos de GVHD.

Un inhibidor de SHIP de la presente invención puede administrarse como una profilaxis de GVHD a un receptor de trasplante dentro de una ventana de tiempo predeterminado antes o después del trasplante.

55 En una realización, un inhibidor de SHIP de la presente invención puede administrarse al receptor en los días -3 o -2 (es decir, 3 o 2 días antes del trasplante) como parte de un régimen de acondicionamiento no mieloablativo, seguido de un trasplante tal como infusión de células madre hematopoyéticas. Alternativamente, un inhibidor de SHIP de la presente invención puede administrarse como una profilaxis de GVHD a un receptor de trasplante después del trasplante. Por ejemplo, para el trasplante estándar (es decir, mieloablativo) o el trasplante de células madre no

mieloablativas (NST) donde no se usa un inhibidor de SHIP de la presente invención en el régimen de acondicionamiento, se administra un inhibidor de SHIP de la presente invención al receptor del trasplante a 0.5-1.5 mg/m²/día en los días +8, +15, +22 y +30 después de la infusión de células madre.

5 Además del uso en un tratamiento de un solo agente o prevención de la GvHD, también se puede usar un inhibidor de SHIP de la presente invención en una terapia de combinación para la GvHD aguda o crónica. La terapia de combinación puede tener efectos terapéuticos sinérgicos en los pacientes y, por lo tanto, requiere una cantidad menor del inhibidor de SHIP de la presente invención y el otro agente usado en conjunto para lograr una eficacia terapéutica satisfactoria. Como resultado, los posibles efectos secundarios asociados con altas dosis de medicamentos, tal como la mielosupresión, se reducen y se mejora la calidad de vida del paciente.

10 Se pueden combinar diversos otros agentes terapéuticos con el inhibidor de SHIP para el tratamiento o prevención de la GvHD. Los otros agentes terapéuticos incluyen, entre otros, agentes inmunosupresores tales como esteroides (por ejemplo, prednisona y metilprednisolona), ciclofosfamida, ciclosporina A, FK506, talidomida, azatioprina, anticuerpos monoclonales (por ejemplo, Daclizumab (anti-interleucina (IL)) 2, Infliximab (factor de necrosis antitumoral), MEDI-205 (anti-CD2), abx-cbl (anti-CD 147) y anticuerpos policlonales (por ejemplo, ATG (globulina antitímocítica)). Por ejemplo, un inhibidor de SHIP de la presente invención puede combinarse con un esteroide tal como metilprednisolona para tratar la GvHD, sin embargo, tal combinación puede ser demasiado inmunosupresora para hacer que el paciente sea más susceptible a la infección oportunista.

20 Para el tratamiento de la GvHD aguda, un inhibidor de SHIP de la presente invención puede combinarse preferiblemente con anticuerpos monoclonales que se dirigen específicamente a células T tales como Infliximab, Daclizumab, MEDI-205 o abx-cbl. El anticuerpo monoclonal puede administrarse a la dosis aprobada por la FDA y por su vía de administración estándar (por ejemplo, IV), seguido de la administración oral o parenteral de un inhibidor de SHIP de la presente invención.

25 El inhibidor de SHIP también puede usarse junto con otros agentes inmunosupresores como profilaxis para la GvHD después del trasplante. Por ejemplo, el receptor del trasplante de médula ósea se puede tratar con un inhibidor de SHIP de la presente invención junto con un régimen estándar posterior a la infusión que incluye mini-metotrexato a 5 mg/m² (en oposición a la dosis convencional a 10-15 mg/m²), ciclosporina A (5-6 mg/Kg/d IV o 10-18 mg/Kg/d por vía oral) y FK506 (0.05-0.1 mg/Kg/d IV o 0.15-0.3 mg/Kg/d por vía oral).

30 Además, un inhibidor de SHIP de la presente invención puede usarse junto con otros tipos de terapia como profilaxis para la GvHD antes del trasplante. Por ejemplo, el receptor del trasplante de médula ósea se puede tratar previamente con un inhibidor de SHIP de la presente invención junto con TBI (radiación), fototerapia, melfalan, ciclofosfamida o ATG para prevenir la aparición de GvHD.

35 En aún otro aspecto, la invención se refiere a un método de tratamiento ex vivo o in vitro de células derivadas de sangre, trasplantes de médula ósea u otros trasplantes de órganos. El método comprende tratar las células derivadas de la sangre, los trasplantes de médula ósea u otros trasplantes de órganos con un inhibidor de SHIP de la presente invención en una cantidad efectiva tal que las actividades de los linfocitos T en el mismo se inhiban sustancialmente, particularmente por al menos un 50% de reducción en la actividad, más particularmente en al menos un 80% de reducción en la actividad, y más particularmente en al menos un 90% de reducción en la actividad.

40 La invención se practica en un entorno in vitro o ex vivo. Toda la discusión anterior con respecto al tratamiento clínico o la prevención de la GvHD que es relevante para un entorno in vitro o ex vivo se aplica a esta práctica. En una realización particular, la práctica de una realización in vitro o ex vivo de la invención podría ser útil en la práctica de trasplantes del sistema inmunitario, tales como trasplantes de médula ósea u obtención de células madre periféricas. En tales procedimientos, el inhibidor de SHIP podría usarse, como se describe de manera general anteriormente, para tratar el material de trasplante para inactivar los linfocitos T en el mismo de modo que la respuesta inmune mediada por linfocitos T se suprima tras el trasplante.

45 Por ejemplo, un inhibidor de SHIP de la presente invención se puede agregar a una solución de preservación para un trasplante de órganos en una cantidad suficiente para inhibir la actividad de los linfocitos T del órgano. Tal solución de preservación puede ser adecuada para la preservación de diferentes tipos de órganos, tales como el corazón, los riñones y el hígado, así como el tejido de los mismos. Un ejemplo de soluciones de conservación disponibles comercialmente es Plegisol (Abbott), y otras soluciones de conservación nombradas con respecto a sus orígenes incluyen la solución UW (Universidad de Wisconsin), la solución Stanford y la solución Collins modificada. La solución de conservación también puede contener cosolventes, excipientes, agentes estabilizantes y/o agentes reguladores convencionales.

50 La forma de dosificación del inhibidor de SHIP de la presente invención puede ser una solución líquida lista para uso o destinada a la dilución con una solución de conservación. Alternativamente, la forma de dosificación puede liofilizarse o llenarse de energía antes de la reconstitución con una solución de conservación. La sustancia liofilizada puede contener, si es adecuado, excipientes convencionales.

La solución de conservación o regulador que contiene un inhibidor de SHIP de la presente invención también se puede usar para lavar o enjuagar un trasplante de órgano antes del trasplante o almacenamiento. Por ejemplo, una solución

de conservación que contiene pentostatina puede usarse para perfundir con enjuague un corazón aislado que luego se almacena a 4°

En otra realización, la práctica de la invención podría usarse para acondicionar trasplantes de órganos antes del trasplante. Antes del trasplante, se puede agregar un inhibidor de SHIP de la presente invención al regulador de lavado para eliminar el trasplante de linfocitos T activos. De esta manera, el riesgo de desarrollar GvHD aguda tras el trasplante debe reducirse significativamente, y el huésped no solo está protegido de la GvHD sino también de los posibles efectos secundarios del inhibidor de SHIP. La concentración del inhibidor de SHIP en la solución de conservación o el regulador de lavado puede variar según el tipo de trasplante. Otras aplicaciones in vitro o ex vivo que usan un inhibidor de SHIP de la presente invención se le ocurrirán a un experto en la técnica y, por lo tanto, se consideran dentro del alcance de la invención.

Excepto en los ejemplos operativos, o a menos que se especifique expresamente otra cosa, todos los rangos numéricos, cantidades, valores y porcentajes tales como los de cantidades de materiales, tiempos y temperaturas de reacción, relaciones de cantidades, valores por peso molecular (ya peso molecular promedio en número ("M_n") o el peso molecular promedio en peso ("M_w"), y otros en la siguiente parte de la especificación pueden leerse como precedidos por la palabra "aproximadamente" aunque el término "aproximadamente" no aparezca expresamente con el valor, cantidad o rango. Por consiguiente, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos establecidos en la especificación y las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que se desean obtener mediante la presente divulgación. Como mínimo, y no como un intento de limitar la aplicación de la doctrina de los equivalentes al alcance de las reivindicaciones, cada parámetro numérico debe al menos interpretarse a la luz del número de dígitos significativos informados y mediante la aplicación de técnicas de redondeo ordinarias.

No obstante que los rangos numéricos y los parámetros que establecen el amplio alcance de la divulgación son aproximaciones, los valores numéricos establecidos en los ejemplos específicos se informan con la mayor precisión posible. Sin embargo, cualquier valor numérico contiene inherentemente ciertos errores que resultan necesariamente de la desviación estándar encontrada en sus respectivas mediciones de prueba. Adicionalmente, cuando se establecen rangos numéricos de alcance variable en el presente documento, se contempla que se puede usar cualquier combinación de estos valores, incluidos los valores mencionados.

Como se usa en el presente documento, el término "pretratar" (o "pretratamiento") significa que se administra un primer tratamiento antes de, o junto con, un segundo tratamiento. En otras palabras, el pretratamiento puede realizarse antes de otro tratamiento posterior, lo que permite que el tiempo de pretratamiento surta efecto. Alternativamente, el pretratamiento puede realizarse o administrarse simultáneamente con un segundo tratamiento sin un retraso temporal. Ventajosamente, se administra un pretratamiento antes de un segundo tratamiento.

El término "administración" y sus variantes (por ejemplo, "administrar" un compuesto) en referencia a un compuesto de la invención significa introducir el compuesto o un profármaco del compuesto en el sistema del animal que necesita tratamiento. Cuando se proporciona un compuesto de la invención o profármaco del mismo en combinación con uno o más de otros agentes activos (por ejemplo, un agente citotóxico, etc.), se entiende que "administración" y sus variantes incluyen la introducción simultánea y secuencial del compuesto o profármaco de la misma y otros agentes.

Como se usa en el presente documento, el término "composición" pretende abarcar un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de la combinación de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.

El término "cantidad terapéuticamente efectiva" como se usa en el presente documento significa la cantidad de compuesto activo o agente farmacéutico que provoca la respuesta biológica o medicinal en un tejido, sistema, animal o humano que está buscando un investigador, veterinario, médico u otro clínico. En referencia a los cánceres u otra proliferación celular no deseada, una cantidad efectiva comprende una cantidad suficiente para hacer que un tumor se contraiga y/o disminuya la tasa de crecimiento del tumor (tal como para suprimir el crecimiento del tumor) o para prevenir o retrasar otra proliferación de células no deseadas. En algunas realizaciones, una cantidad efectiva es una cantidad suficiente para retrasar el desarrollo. En algunas realizaciones, una cantidad efectiva es una cantidad suficiente para prevenir o retrasar la ocurrencia y/o recurrencia. Se puede administrar una cantidad efectiva en una o más dosis. En el caso del cáncer, la cantidad efectiva del medicamento o composición puede: (i) reducir la cantidad de células cancerosas; (ii) reducir el tamaño del tumor; (iii) inhibir, retardar, ralentizar hasta cierto punto y preferiblemente detener la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; (iv) inhibir (es decir, ralentizar hasta cierto punto y preferiblemente detener) la metástasis tumoral; (v) inhibir el crecimiento tumoral; (vi) prevenir o retrasar la aparición y/o recurrencia del tumor; y/o (vii) aliviar en cierta medida uno o más de los síntomas asociados con el cáncer.

El término "tratar el cáncer" o "tratamiento del cáncer" se refiere a la administración a un mamífero afectado por una condición cancerosa y se refiere a un efecto que alivia la condición cancerosa al matar las células cancerosas, pero también a un efecto que resulta en la inhibición de crecimiento y/o metástasis del cáncer.

- 5 Como se usa en este documento, "tratamiento" se refiere a la obtención de resultados clínicos beneficiosos o deseados. Los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero no se limitan a, cualquiera o más de: alivio de uno o más síntomas (tales como crecimiento tumoral o metástasis), disminución de la extensión del cáncer, estado de cáncer estabilizado (es decir, sin empeoramiento), prevenir o retrasar la propagación (por ejemplo, metástasis) del
- 10 cáncer, prevenir o retrasar la aparición o recurrencia del cáncer, retrasar o ralentizar la progresión del cáncer, mejorar el estado del cáncer y remisión (ya sea parcial o total). Los métodos de la invención contemplan uno o más de estos aspectos del tratamiento.
- Un "sujeto que necesita tratamiento" es un mamífero con una condición que pone en peligro la vida o que perjudica la salud o acorta la vida útil del mamífero.
- 15 Un componente "farmacéuticamente aceptable" es uno que es adecuado para uso con humanos y/o animales sin efectos secundarios adversos indebidos (tales como toxicidad, irritación y respuesta alérgica) proporcionales a una relación beneficio/riesgo razonable.
- Una "cantidad segura y efectiva" se refiere a la cantidad de un componente que es suficiente para producir una respuesta terapéutica deseada sin efectos secundarios adversos indebidos (tales como toxicidad, irritación o respuesta
- 20 alérgica) proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable cuando se usa en la forma de esta invención.
- Un "vehículo farmacéuticamente aceptable" es un vehículo, tal como un solvente, agente de suspensión o vehículo, para suministrar el compuesto o compuestos en cuestión al animal o humano. El vehículo puede ser líquido o sólido y se selecciona teniendo en cuenta la forma de administración planificada. Los liposomas también son un vehículo farmacéutico. Como se usa en el presente documento, "portador" incluye cualquiera y todos los solventes, medios de
- 25 dispersión, vehículos, recubrimientos, diluyentes, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción, reguladores, soluciones portadoras, suspensiones, coloides y similares. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticas activas es bien conocido en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas.
- 30 Una persona con experiencia normal en la técnica puede determinar fácilmente una dosis apropiada de una de las composiciones instantáneas para administrar a un sujeto sin experimentación excesiva. Típicamente, un médico determinará la dosis real que será más adecuada para un paciente individual y dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, modo y tiempo de administración, tasa de excreción, combinación de medicamentos, la gravedad de la condición particular y el individuo sometido a terapia. Las dosificaciones divulgadas en este documento son de ejemplo del caso promedio. Por supuesto, puede haber casos individuales en los que se merecen intervalos de dosificación más altos o más bajos, y tales están dentro del alcance de esta invención.
- 35 A menos que se defina otra cosa, todos los términos técnicos y científicos utilizados en este documento tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la técnica (por ejemplo, en cultivo celular, genética molecular, química de ácidos nucleicos, técnicas de hibridación y bioquímica). Las técnicas estándar se utilizan para métodos moleculares, genéticos y bioquímicos. Véase, en general, Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2d ed. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. and Ausubel et al., *Short Protocols in Molecular Biology* (1999) 4th Ed, John Wiley & Sons, Inc.; as well as Guthrie et al., *Guide to Yeast Genetics and Molecular Biology*, *Methods in Enzymology*, Vol. 194, Academic Press, Inc., (1991), PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (Innis, et al. 1990. Academic Press, San Diego, Calif), McPherson et al., *PCR Volume 1*, Oxford University Press, (1991), *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique*, 2nd Ed. (R. I. Freshney. 1987. Liss, Inc. New York, N.Y.), and *Gene Transfer and Expression Protocols*, pp. 109-128, ed. E. J. Murray, The Humana Press Inc., Clifton, N.J.).
- 40 Además de las aplicaciones descritas anteriormente, los compuestos inhibidores de SHIP de la presente invención pueden usarse para diversas otras aplicaciones, particularmente con respecto al tratamiento de condiciones que siguen a la quimioterapia, radioterapia o infección, o que se presentan en pacientes con insuficiencia mielodisplásica/ósea. Tales condiciones pueden incluir, sin limitación, mielosupresión, anemia y la falta de plaquetas. Por ejemplo, los inhibidores de SHIP de la presente invención pueden usarse para aumentar la producción de todos
- 45 los tipos de células sanguíneas clave, así como las células blancas de la sangre y los linfocitos. Los inhibidores de SHIP de la presente invención también pueden usarse para pacientes que se recuperan de un trasplante de médula ósea autólogo o alogénico para mejorar la recuperación de componentes clave de células sanguíneas después del trasplante. Diversos factores de crecimiento conocidos en la técnica pueden combinarse con los inhibidores de SHIP de la presente invención en una terapia de combinación, por ejemplo, para estimular neutrófilos/granulocitos, glóbulos
- 50 rojos y plaquetas en un sujeto. Además, los inhibidores de SHIP de la presente invención pueden usarse para mejorar la recolección de células madre sanguíneas, por ejemplo, se ha demostrado que los inhibidores de SHIP movilizan una dosis radioprotectora de tales células madre desde la médula ósea a la sangre.
- 55 En vista de lo anterior, a continuación se encuentran otros aspectos de la presente invención.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método de tratamiento de mielosupresión en un sujeto. Este método incluye la etapa de administrar al sujeto uno o más compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente invención bajo condiciones efectivas para tratar la mielosupresión en el sujeto.

5 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método de tratamiento de anemia en un sujeto. Este método incluye la etapa de administrar al sujeto uno o más compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente invención bajo condiciones efectivas para tratar la anemia en el sujeto.

10 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método para aumentar las plaquetas en un sujeto. Este método incluye la etapa de administrar al sujeto uno o más compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente invención bajo condiciones efectivas para aumentar las plaquetas en el sujeto.

15 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método para ayudar a la recuperación de un sujeto que se ha sometido a un trasplante de médula ósea. Este método incluye la etapa de administrar al sujeto uno o más compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente invención bajo condiciones efectivas para aumentar la producción en el sujeto de componentes de células sanguíneas, ayudando así a la recuperación del sujeto tras el trasplante de médula ósea. Este método se puede utilizar para ayudar a la recuperación de los sujetos que se han sometido a un trasplante autólogo de médula ósea o un trasplante alogénico de médula ósea. En una realización, este método puede incluir además administrar al menos un factor de crecimiento al sujeto junto con uno o más compuestos inhibidores de SHIP 1.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 9 para uso en un método para mejorar la recolección de células madre sanguíneas de un sujeto. Este método incluye la etapa de administrar al sujeto uno o más compuestos inhibidores de SHIP1 de la presente invención bajo condiciones efectivas para movilizar células madre en el sujeto desde la médula ósea a la sangre.

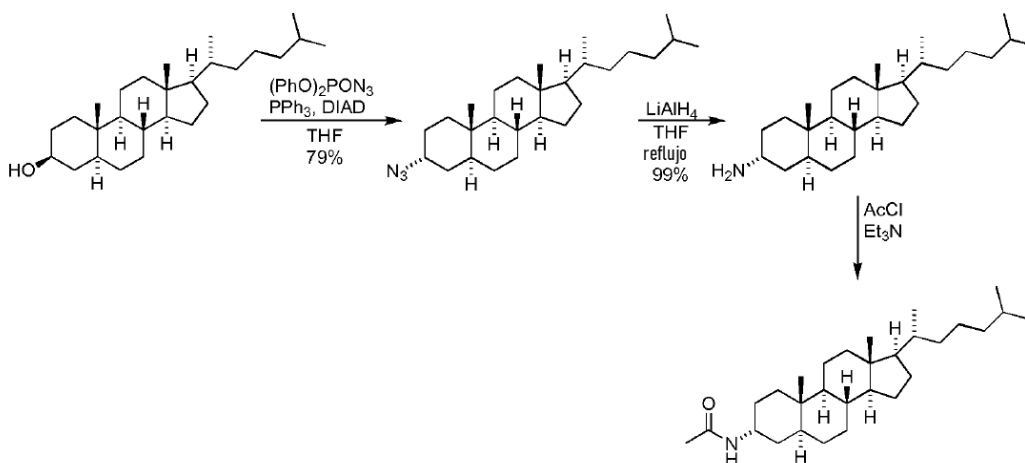
25 Ejemplos

Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar realizaciones particulares de la presente invención, pero de ninguna manera pretenden limitar el alcance de la presente invención.

Ejemplo 1

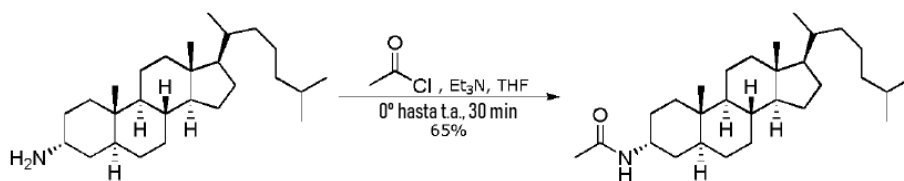
Síntesis de 3 α -Acetamido-5 α -Colestano

30 El 3 α -acetamido-5 α -colestano de la presente invención se puede hacer usando el siguiente esquema sintético:



Ejemplo 2

Datos experimentales relacionados con 3 α -Acetamido-5 α -Colestano



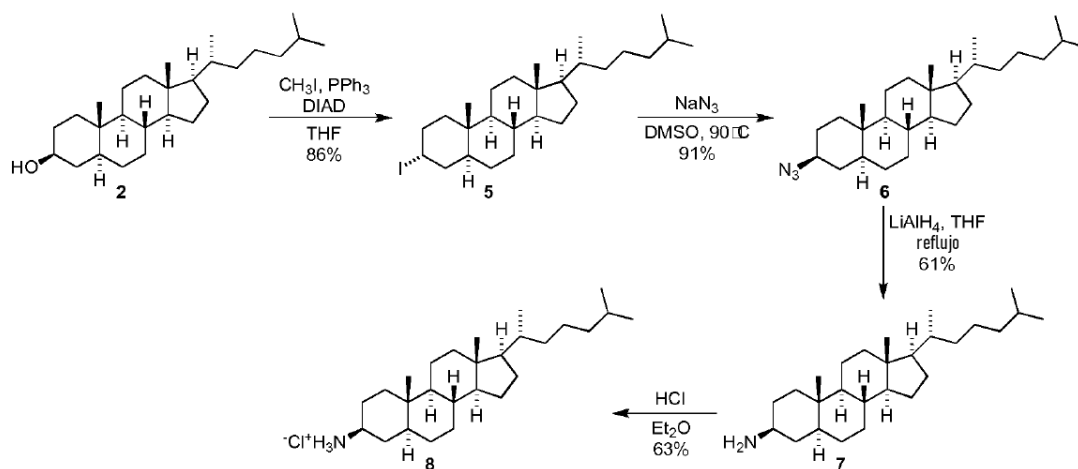
3 α -acetamido-5 α -colestano. La α -amina (0.29 g, 0.75 mmol) se disolvió en THF (2.21 mL) en un matraz de fondo redondo. Se añadió gota a gota Et₃N (0.12 ml, 0.90 mmol) y la solución resultante se enfrió a 0°C. Se añadió cloruro de acetilo (0.06 ml, 0.83 mmol) gota a gota a la solución enfriada que dio como resultado la formación de un precipitado blanco. La solución blanca lechosa se agitó continuamente durante 15 minutos a 0°C antes de permitir que la mezcla de reacción se calentara hasta temperatura ambiente. Se añadió THF (5 ml) y la solución diluida se lavó con HCl (10 ml, 1 M), solución de salmuera (10 ml) y H₂O (10 ml). La capa orgánica se recogió, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró bajo presión reducida. La recrystalización del residuo sólido usando EtOH proporcionó amida (0.22 g, 65%) como un sólido blanquecino.

- 5 IR (KBr): 3265, 2931, 2864, 2848, 1667, 1337 cm⁻¹. m.p. = 215-216 °C ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 5.71 (ancho, 1H), 4.13 (ancho, 1H), 1.99 (s, 3H), 1.96 (t, J = 3 Hz, 1H), 1.79 (m 1H), 1.60-1.65 (m, 2H), 1.45-1.60 (m, 7H), 1.31-1.36 (m, 6H), 1.27-1.28 (m, 1H), 1.03-1.04 (m, 2H), 0.96- 1.00 (m, 5H), 0.94-0.96 (m, 1H), 0.87 (s, J = 1.2 Hz, 3H), 0.85 (d, J = 1.2 Hz, 3H), 0.80 (s, 3H), 0.68-0.73 (m, 1H), 0.65 (s, 3H). ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): δ 169.4, 56.7, 56.4, 54.7, 44.9, 42.7, 41.0, 40.2, 39.6, 36.3, 36.1, 35.9, 35.5, 33.3, 33.0, 32.1, 28.6, 28.4, 28.1, 26.1, 24.3, 24.0, 23.8, 23.0, 22.7, 20.9, 18.8, 12.2, 11.6

Ejemplo 3

Síntesis del compuesto de β -amina

El compuesto de β -amina de la presente invención puede prepararse usando el siguiente esquema sintético:

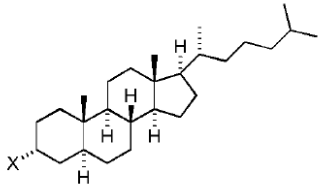


20 Ejemplo 4

Análogos

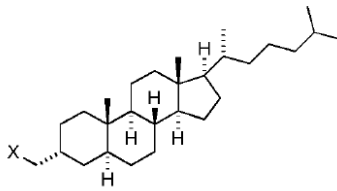
Se contemplan diversos análogos como inhibidores de SHIP de la presente invención, como se describe a continuación:

ES 2 742 213 T3



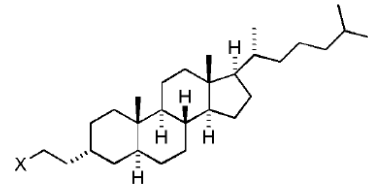
X = NR₂, NRCOR, NHCONR₂
OR, SR, OCOR, OCONR₂, NHCNHNH₂

R = H, alquilo, cicloalquilo, arilo, bencilo
también debe cubrir las sales de la amina



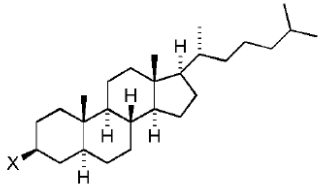
X = NR₂, NRCOR, NHCONR₂
OR, SR, OCOR, OCONR₂, NHCNHNH₂

R = H, alquilo, cicloalquilo, arilo, bencilo
también debe cubrir las sales de la amina



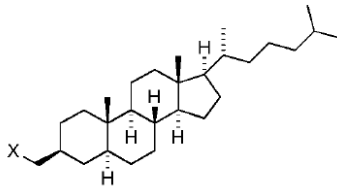
X = NR₂, NRCOR, NHCONR₂
OR, SR, OCOR, OCONR₂, NHCNHNH₂

R = H, alquilo, cicloalquilo, arilo, bencilo
también debe cubrir las sales de la amina



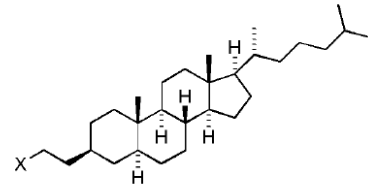
X = NR₂, NRCOR, NHCONR₂
OR, SR, OCOR, OCONR₂, NHCNHNH₂

R = H, alquilo, cicloalquilo, arilo, bencilo
también debe cubrir las sales de la amina



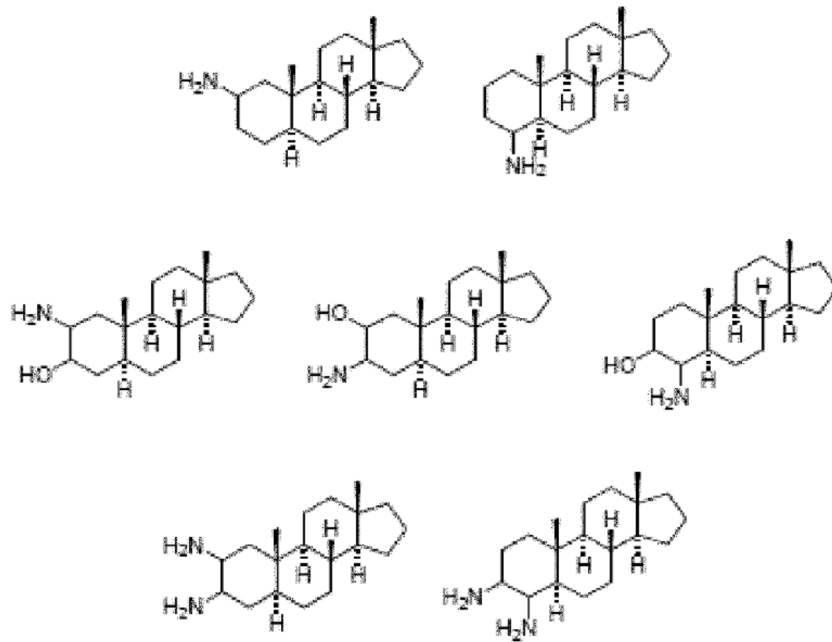
X = NR₂, NRCOR, NHCONR₂
OR, SR, OCOR, OCONR₂, NHCNHNH₂

R = H, alquilo, cicloalquilo, arilo, bencilo
también debe cubrir las sales de la amina



X = NR₂, NRCOR, NHCONR₂
OR, SR, OCOR, OCONR₂, NHCNHNH₂

R = H, alquilo, cicloalquilo, arilo, bencilo
también debe cubrir las sales de la amina

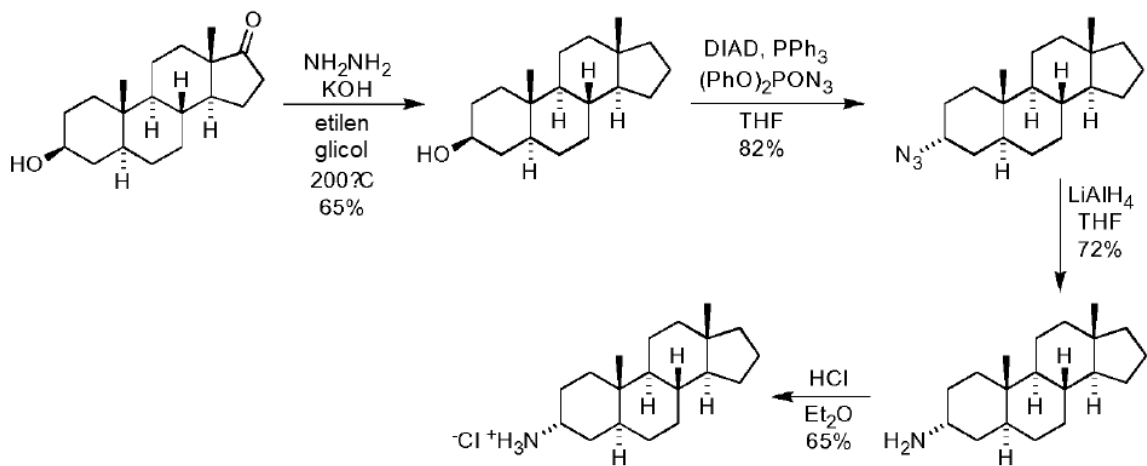


Ejemplo 5

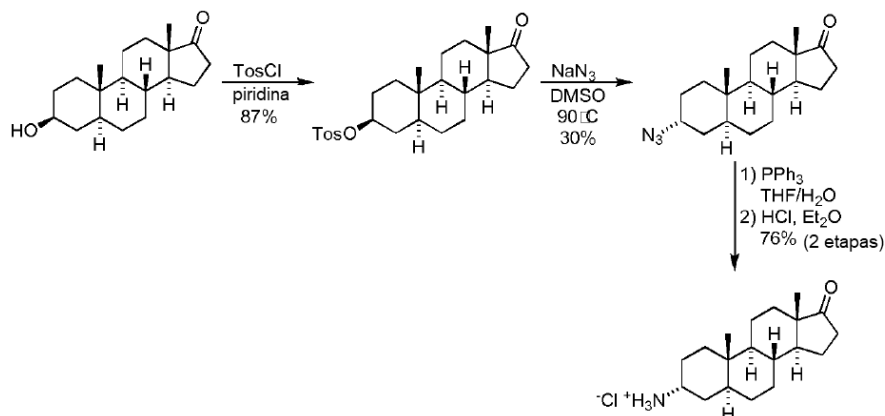
Esquemas sintéticos

5 A continuación hay diversos esquemas relacionados con análogos contemplados como inhibidores de SHIP de la presente invención, como se describe a continuación:

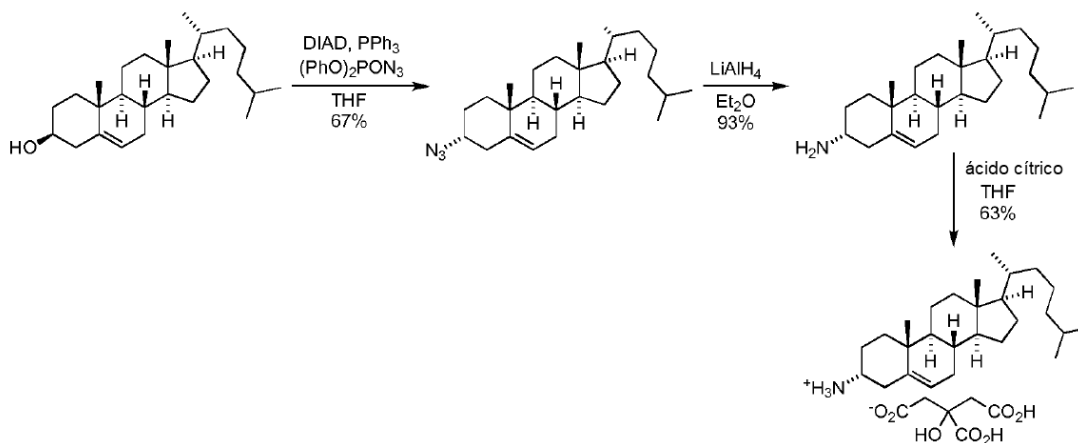
Esquema A



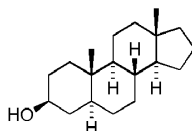
Esquema B



Esquema C



Ejemplo 6

5 α -Androstan-3 β -ol

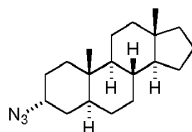
5

10

15

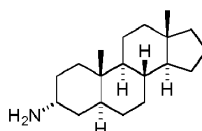
5 α -Androstan-3 β -ol: en un matraz secado al fuego, se disolvió hidróxido de potasio (1.58 g, 28.2 mmol) en etilenglicol (10 ml) por calentamiento. La solución se enfrió a temperatura ambiente antes de añadir trans-androsterona (2.00 g, 6.89 mmol) e hidrato de hidrazina (0.98 ml, 20.2 mmol). La solución se calentó hasta reflujo a 208 °C. Después de 23 h, la solución se enfrió a temperatura ambiente antes de agregar HCl (14.1 ml, 2 M). Se extrajo con CH₂Cl₂ (4 x 30 ml). Las capas orgánicas se recogieron, se combinaron, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron bajo presión reducida. El residuo sólido resultante se recristalizó en MeOH para proporcionar 5 α -androstan-3 β -ol (1.56 g, 82%). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 3.58 (heptet, J= 4.9 Hz, 1H), 1.76-1.82 (m, 1H), 1.70-1.75 (m, 2H), 1.65-1.69 (m, 2H), 1.61-1.63 (m, 1H), 1.57-1.60 (m, 1H), 1.52-1.57 (m, 2H), 1.47-1.50 (m, 1H), 1.40-1.45 (m, 1H), 1.33-1.39 (m, 1H), 1.29-1.30 (m, 1H), 1.22-1.28 (m, 4H), 1.04-1.17 (m, 4H), 0.9-1.02 (m, 1H), 0.85-0.93 (m, 2H), 0.80 (s, 3H), 0.68 (s, 3H) 0.60-0.65 (m, 1H).

Ejemplo 7

3 α -Azido-5 α -Androstano

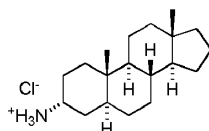
5 3 α -azido-5 α -androstano: en un matraz de fondo redondo de 50 ml, se disolvió 5 α -androstan-3 β -ol (1.12 g, 4.05 mmol) en THF (20 ml). Se añadió PPh₃ (1.06 g, 4.04 mmol) a la solución seguido de DIAD (0.83 ml, 4.05 mmol). La solución de color amarillo resultante se agitó continuamente a temperatura ambiente durante 10 minutos antes de añadir (PhO)₂PON₃ (0.88 ml, 4.05 mmol). La solución se agitó continuamente a temperatura ambiente. Después de 24 h, la mezcla de reacción se concentró y el residuo se recristalizó para proporcionar 3 α -azido-5 α -androstano como un sólido blanco (0.90 g, 74%). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 3.88 (p, *J* = 2.8 Hz, 1H), 1.71-1.72 (m, 1H), 1.67-1.70 (m, 3H), 1.59-1.64 (m, 2H), 1.57-1.53 (m, 3H), 1.45-1.52 (m, 3H), 1.36-1.42 (m, 2H), 1.26-1.31 (m, 1H), 1.18-1.24 (m, 3H), 1.14-1.17 (m, 2H), 1.13-1.10 (m, 1H), 0.85-1.03 (m, 2H), 0.79 (s, 3H), 0.72-0.77 (m, 1H), 0.69 (s, 3H).

Ejemplo 8

3 α -Amino-5 α -Androstane

15 3 α -Amino-5 α -Androstano: en un matraz de fondo redondo, se suspendió LiAlH₄ (0.39 g, 9.83 mmol, 95%) en THF (10 ml). La suspensión se enfrió a 0°C usando un baño de hielo/H₂O antes de añadir una solución de α -azida (0.90 g, 2.98 mmol) en THF (5 ml). La solución se calentó hasta temperatura ambiente y se calentó a reflujo a 80 °C durante 4 h. La reacción se enfrió a temperatura ambiente antes de diluir la solución con THF (15 ml). La mezcla de reacción diluida se enfrió a 0°C y se inactivó usando un método Fieser. La mezcla de reacción se agitó continuamente hasta que se convirtió en una solución blanca lechosa. La solución se filtró luego a través de Celite y se lavó con THF. El filtrado se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró bajo presión reducida para proporcionar 3 α -amino-5 α -androstano (0.59 g, 72%). IR (KBr): 2926, 2855, 1472, 1378, 1124, 753 cm⁻¹. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 3.18 (ancho, 1H), 1.71-1.73 (m, 2H), 1.65-1.69 (m, 3H), 1.61-1.63 (m, 1H), 1.59-1.60 (m, 1H), 1.55-1.57 (m, 2H), 1.50-1.53 (m, 1H), 1.40-1.45 (m, 3H), 1.30-1.32 (m, 1H), 1.23-1.29 (m, 3H), 1.18-1.21 (m, 3H), 1.14-1.18 (m, 2H), 1.07-1.10 (m, 2H), 0.89-1.99 (m, 2H), 0.78 (s, 3H), 0.69 (s, 3H).

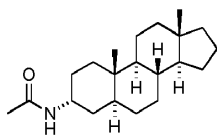
Ejemplo 9

Clorhidrato de 3 α -Amino-5 α -androstano

30 Clorhidrato de 3 α -amino-5 α -androstano: la α -amina 11 (0.20 g, 0.73 mmol) se disolvió en Et₂O (5 ml). Se añadió gota a gota una solución de HCl en Et₂O (0.73 ml, 2 M) que dio como resultado la formación de precipitado. La solución se filtró y el precipitado se recogió, se lavó sobre Et₂O y se secó a vacío para proporcionar hidrocloreto de 3 α -amino-5 α -androstano (0.15 g, 65%) como un sólido blanco. IR (KBr): 3320, 2945, 1619, 1495, 1443, 1379 cm⁻¹. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.45 (ancho, 3H), 3.60 (ancho, 1H), 1.84 (ancho, 2H), 1.62-1.69 (m, 8H), 1.51-1.58 (m, 4H), 1.37-1.44 (m, 1H), 1.23-1.29 (m, 2H), 1.09-1.20 (m, 4H), 0.92-1.07 (m, 3H), 0.79 (s, 3H), 0.69 (s, 3H).

Ejemplo 10

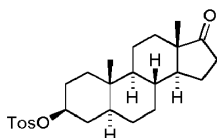
3 α -Acetamido-5 α -Androstano



- 3α-acetamido-5α-androstano: la α-amina (0.20 g, 0.73 mmol) se disolvió en THF (3 ml) en un matraz de fondo redondo. Se añadió Et₃N (0.12 ml, 0.88 mmol) gota a gota y la solución resultante se enfrió a 0°C. Se añadió cloruro de acetilo (0.05 ml, 0.80 mmol) gota a gota a la solución enfriada que dio como resultado la formación de un precipitado blanco.
- 5 La solución blanca lechosa se agitó continuamente durante 15 minutos a 0°C antes de permitir que la mezcla de reacción se calentara a temperatura ambiente. Se añadió THF (5 ml) y la solución diluida se lavó con HCl (10 ml, 1 M), solución de salmuera (10 ml) y H₂O (10 ml). La capa orgánica se recogió, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró bajo presión reducida. La recrystalización del residuo sólido usando EtOH proporcionó 3α-acetamido-5α-androstano (0.05 g, 22%) como un sólido blanco. IR (KBr): 3264, 3077, 2933, 2834, 1637, 1558 cm⁻¹. ¹HRMN(300 MHz, CDCl₃): δ 5.70 (ancho, 1H), 4.12 (m, 1H), 1.99 (s, 3H), 1.72-1.76 (m, 1H), 1.68-1.71 (m, 2H), 1.62-1.66 (m, 2H), 1.60-1.62 (m, 2H), 1.56-1.58 (m, 1H), 1.52-1.55 (m, 1H), 1.48-1.51 (m, 1H), 1.42-1.46 (m, 1H), 1.36-1.39 (m, 1H), 1.29-1.34 (m, 2H), 1.23-1.27 (m, 1H), 1.21 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 1.18-1.19 (m, 1H), 1.12-1.17 (m, 2H), 1.08-1.11(m, 1H), 1.00-1.06 (m, 1H), 0.92-0.97 (m, 1H), 0.84-0.90 (m, 1H), 0.81 (s, 3H), 0.71-0.77 (m, 1H), 0.69 (s, 3H).

Ejemplo 11

- 15 3β-Tosiloxi-5α-Androstan-17-ona

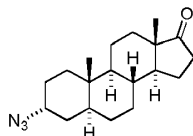


- 3β-Tosiloxi-5α-Androstan-17-ona: en un matraz de fondo redondo de 25 ml, se disolvió trans-androsterona (1.00 g, 3.44 mmol) y cloruro de p-toluenosulfonilo (1.51 g, 7.91 mmol) en piridina (4.30 ml). La mezcla de reacción se agitó continuamente a temperatura ambiente. Después de 24 h, la mezcla de reacción se inactivó agregando H₂O (10 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 20 ml). Se recogieron todas las capas orgánicas, se combinaron y se lavaron sobre HCl (3 x 20 ml, 2 M), solución de salmuera (3 x 20 ml) y H₂O (3 x 20 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron bajo presión reducida produciendo 3β-tosiloxi-5α-androstan-17-ona (1.33 g, 87%) como un sólido blanco. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): d 7.79 (dt, J = 8.3, 1.9 Hz, 2H), 7.33 (dd, J = 8.0, 0.5 Hz, 2H), 4.42 (h, J = 5.9 Hz, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.38-2.47 (m, 1H), 1.99-2.11 (m, 1H), 1.86-1.95 (m, 1H), 1.78-1.80 (m, 1H), 1.71-1.77 (m, 2H), 1.65-1.69 (m, 1H), 1.56-1.64 (m, 3H), 1.44-1.55 (m, 3H), 1.30-1.31 (m, 1H), 1.28-1.29 (m, 2H), 1.22-1.24 (m, 1H), 1.18-1.20 (m, 1H), 1.04-1.16 (m, 1H), 0.85-1.00 (m, 2H), 0.84 (s, 3H), 0.80 (s, 1H), 0.60-0.69 (m, 1H).

Ejemplo 12

3α-Azido-5α-Androstan-17-ona

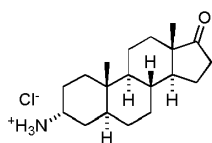
30



- 3α-Azido-5α-Androstan-17-ona: Una suspensión de tosilato (1.33 g, 2.99 mmol) y NaN₃ (1.94 g, 29.9 mmol) en DMSO (75 mL) se calentó a reflujo a 90 °C. Después de aproximadamente 5 h, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente antes de agregar H₂O (10 ml). La solución diluida se extrajo con Et₂O (3 x 20 ml). Todas las capas orgánicas se recogieron, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron bajo presión reducida. El residuo sólido se recrystalizó en EtOH para proporcionar 3α-azido-5α-androstan-17-ona (0.28 g, 30%). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): d 3.88 (pentet, J = 2.6 Hz, 1H), 2.43 (dd, J = 10.3, 9.6 Hz, 1H), 2.00-2.12 (m, 1H), 1.88-1.97 (m, 1H), 1.81-1.83 (m, 1H), 1.76-1.78 (m, 1H), 1.66-1.72 (m, 2H), 1.62-1.65 (m, 1H), 1.51-1.56 (m, 2H), 1.39-1.49 (m, 4H), 1.17-1.34 (m, 7H), 0.94-1.08 (m, 1H), 0.85 (s, 3H), 0.81 (s, 3H).

- 40 Ejemplo 13

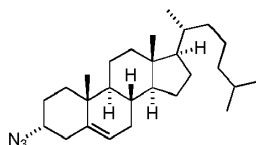
Clorhidrato de 3α-Amino-5α-androstan-17-ona



5 Clorhidrato de 3α-amino-5α-androstan-17-ona: En un matraz secado al fuego, se disolvieron azida (0.28 g, 0.89 mmol) y PPh₃ (0.36 g, 1.37 mmol) en THF (15 mL). La solución se agitó continuamente a temperatura ambiente durante 18 h. Se añadió H₂O (3 ml) y la solución se calentó a reflujo a 80 °C. Después de 1 h, la solución se enfrió a temperatura ambiente. La capa orgánica se recogió, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró bajo presión reducida. El residuo se disolvió en Et₂O (7 ml) y se añadió una solución de HCl (0.89 ml, 2 M) que dio como resultado la formación de precipitado. El precipitado se filtró sobre papel de filtro, se lavó sobre Et₂O y se secó para proporcionar clorhidrato de 3α-amino-5α-androstan-17-ona (0.22 g, 76%) como un sólido blanco. IR (KBr): 3326, 2923, 1737, 1496, 1455, 731 cm⁻¹. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8.42 (ancho, 3H), 3.61 (ancho, 1H), 2.42 (dd, J= 11.1, 8.7 Hz, 1 H), 2.00-2.13 (m, 1H), 1.86-1.94 (m, 2H), 1.76-1.83 (m, 3H), 1.44-1.64 (m, 7H), 1.19-1.38 (m, 6H), 0.95-1.13 (m, 2H), 0.84 (s, 3H), 0.81 (s, 3H).

Ejemplo 14

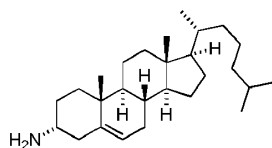
3α-Azidocolest-5-eno



15 3α-Azidocolest-5-eno: Se disolvieron colesterol (7.76 mmol, 3.0 g) y trifetilfosfina (7.76 mmol, 2.04 g) en 77.6 ml de tetrahidrofurano anhidro. Luego se añadió gota a gota azodicarboxilato de diisopropilo (7.76 mmol, 1.5 ml). Después de agitar la mezcla de color naranja durante unos minutos, se añadió gota a gota difenilfosforilazida (7.76 mmol, 1.68 ml). Después de 24 horas, la mezcla de reacción de color amarillo pálido se concentró. La purificación por cromatografía sobre sílica gel (100% de hexanos) proporcionó 3α-azidocolest-5-eno (2,14 g, 67%) como un sólido blanco. mp 110-112 °C; TLC R_f = 0.87 (20% de acetato de etilo/hexanos); IR (película delgada) 2946, 2914, 2845, 2083 cm⁻¹; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 5.42-5.40 (m, 1H), 3.89 (t, 1 H, J= 2.9 Hz), 2.58-2.49 (m, 1H), 2.23-2.16 (m, 1H), 2.16-1.93 (m, 2H), 1.89-1.05 (m, 24H), 1.02 (s, 3H), 0.93 (d, 3H, J= 6.5 Hz), 0.88 (d, 6H, J= 6.6 Hz), 0.69 (s, 3H).

Ejemplo 15

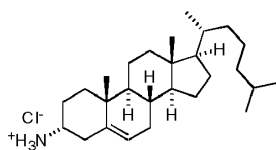
25 3α-Aminocolest-5-eno



30 3α-Aminocolest-5-eno: 3α-Azidocolest-5-eno (4.62 mmol, 1.9 g) se disolvió en 154 ml de dietil éter anhidro. Luego se añadió hidruro de litio y aluminio (46.2 mmol, 1.75 g) en una porción. Después de 30 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta 0°C. A continuación, se añadieron 1.75 ml de agua desionizada gota a gota. Después de agitar durante cinco minutos, se añadieron gota a gota 1.75 ml de NaOH acuoso al 15%. Después de agitar durante otros cinco minutos, se añadieron gota a gota 5.25 ml de agua desionizada. La reacción se agitó entonces hasta que todas las sales se volvieron blancas. Inmediatamente después, la reacción se filtró, se secó (Na₂SO₄) y se concentró para proporcionar 3α-Aminocolest-5-eno (1.57 g, 93%) como un sólido blanco. mp 104-106 °C; IR (película delgada) 3367, 3343, 2931, 1557 cm⁻¹; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 5.37-5.34 (m, 1H), 3.15 (t, 1 H, J= 3.2 Hz), 2.61-2.54 (m, 1H), 2.04-1.74 (m, 6H), 1.63-1.03 (m, 21H), 1.00 (s, 3H), 0.91 (d, 3H, J= 6.5 Hz), 0.86 (d, 6H, J= 6.6 Hz), 0.67 (s, 3H).

Ejemplo 16

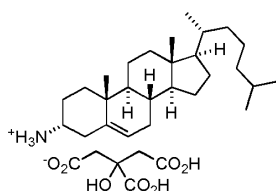
Clorhidrato de 3α-Aminocolest-5-eno



Clorhidrato de 3 α -aminocolalest-5-eno: se disolvió 3 α -aminocolalest-5-eno (1,61 mmol, 0,59 g) en 2 ml de éter dietílico anhidro. Luego se añadió cloruro de hidrógeno (2.0 M en éter dietílico) (3,22 mmol, 1,61 ml). Después de 3 horas, se formó un precipitado blanco. Luego se filtró la reacción y se lavó el sólido con éter dietílico para proporcionar clorhidrato de 3 α -aminocolalest-5-eno (0,31 g, 46%) como un sólido blanco. mp 293-295 °C; IR (película delgada) 2947 cm⁻¹; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 8.25 (s, 3H), 5.52 (d, 1H, *J* = 4.3 Hz), 3.58 (s, 1 H), 2.61 (d, 1H, *J* = 14.6 Hz), 2.36 (d, 1H, *J* = 15.0 Hz), 2.02-1.07 (m, 26H), 1.01 (s, 3H), 0.91 (d, 3H, *J* = 6.3 Hz), 0.86 (d, 6H, *J* = 6.6 Hz), 0.67 (s, 3H).

Ejemplo 17

Citrato de 3 α -Aminocolalest-5-eno



Citrato de 3 α -aminocolalest-5-eno: se disolvió 3 α -aminocolalest-5-eno (0,82 mmol, 300 mg) en 1,64 ml de tetrahidrofurano. El ácido cítrico (0,82 mmol, 158 mg) se disolvió en 0,82 ml de tetrahidrofurano. La solución de ácido cítrico se añadió gota a gota a la solución de colesterol amina. La mezcla se agitó hasta que la solución se volvió muy turbia (aproximadamente 15 minutos). La solución se filtró al vacío. El sólido blanco resultante se lavó con tetrahidrofurano, se recogió y se secó bajo alto vacío durante 12 horas para producir 298 mg del citrato de 3 α -aminocolalest-5-eno con un rendimiento del 63%. mp: 172-174 °C; IR (película delgada): 3469, 2954, 2247, 1714, 1591 cm⁻¹; ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ : 5.53 (d, 1H, *J* = 5.2 Hz), 3.55 (s, 1H), 2.84-2.70 (m, 4H), 2.80-2.70 (m, 1H), 2.19-1.0 (m, 28H), 1.07 (s, 3H), 0.95 (3H, *J* = 6.5 Hz), 0.89 (d, 6H, *J* = 6.6 Hz), 0.73 (s, 3H).

Ejemplo 18

Síntesis e identificación de derivados 3AC con mayor solubilidad y potencia.

La solubilidad de 3AC se evaluó calculando el coeficiente de distribución (CLogD). Este cálculo estima el CLogD para 3AC en 7.17 indicando que la molécula es muy lipofílica. Por lo tanto, los inventores han comenzado a desarrollar nuevos análogos de 3AC con mayor solubilidad acuosa. Uno de estos compuestos, 3A5AS, tiene un CLogD de 3.33. Las reglas de Lipinski (una medida común de la farmacocinética de moléculas pequeñas) recomiendan un ClogD de <5 para aplicaciones in vivo. Las modificaciones químicas realizadas para derivar 3A5AS no han alterado su capacidad de inhibir SHIP1 ya que retiene la misma actividad inhibitoria in vitro (Fig. 6A) y, sorprendentemente, es más potente cuando se usa en células intactas, ya que es sustancialmente más citotóxico para las células de leucemia. (Fig. 6B). 3A5AS también es más potente para inducir números de células MIR in vivo ya que puede inducir un aumento de células MIR comparable a 15 μ M en comparación con 60 μ M 3AC (Fig. 6C, D).

Referencias citadas

La cita de una referencia en este documento no se interpretará como una admisión de que dicha referencia es técnica anterior a la presente invención. Todas las referencias citadas en este documento se incorporan aquí por referencia en su totalidad. A continuación hay una lista de referencias citadas aquí con indicadores de número de referencia:

1. Wang JW, et al. (2002) Influence of SHIP on the NK repertoire and allogeneic bone marrow transplantation. (Translated from eng) *Science* 295(5562):2094-2097 (in eng).
2. Ghansah T, et al. (2004) Expansion of myeloid suppressor cells in SHIP-deficient mice represses allogeneic T cell responses. (Translated from eng) *J Immunol* 173(12):7324-7330 (in eng).
3. Wahle JA, et al. (2006) Cutting edge: dominance by an MHC-independent inhibitory receptor compromises NK killing of complex targets. (Translated from eng) *J Immunol* 176(12):7165-7169 (in eng).
4. Paraiso KH, Ghansah T, Costello A, Engelman RW, & Kerr WG (2007) Induced SHIP deficiency expands myeloid regulatory cells and abrogates graft-versus-host disease. (Translated from eng) *J Immunol* 178(5):2893-2900 (in eng).
5. Kerr WG (2008) A role for SHIP in stem cell biology and transplantation. *Curr Stem Cell Res Ther* 3(2):99-106.

6. Helgason CD, et al. (1998) Targeted disruption of SHIP leads to hemopoietic perturbations, lung pathology, and a shortened life span. *Genes & Development* 12(11):1610-1620.
7. Rauh MJ, et al. (2005) SHIP represses the generation of alternatively activated macrophages. *Immunity* 23(4):361-374.
- 5 8. Takeshita S, et al. (2002) SHIP-deficient mice are severely osteoporotic due to increased numbers of hyper-resorptive osteoclasts. *Nat Med* 8(9):943-949.
9. Franke TF, Kaplan DR, Cantley LC, & Toker A (1997) Direct regulation of the Akt proto-oncogene product by phosphatidylinositol-3,4-bisphosphate [see comments]. *Science* 275(5300):665-668.
- 10 10. Jain SK, et al. (1996) PI 3-kinase activation in BCR/abl-transformed hematopoietic cells does not require interaction of p85 SH2 domains with p210 BCR/abl. (Translated from eng) *Blood* 88(5):1542-1550 (in eng).
11. Ivetac I, et al. (2009) Regulation of PI(3)K/Akt signalling and cellular transformation by inositol polyphosphate 4-phosphatase-1. (Translated from eng) *EMBO Rep* 10(5):487-493 (in eng).

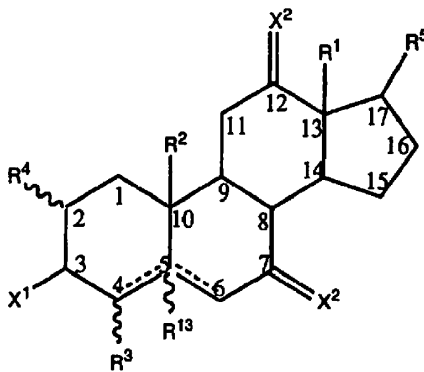
REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende:

un compuesto inhibidor de SHIP de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

un portador farmacéuticamente aceptable;

5 en donde la fórmula (I) es como sigue:



(I)

en donde

R¹ es un alquilo C₁-C₄ de cadena lineal o haloalquilo C₁-C₄;

R² es hidrógeno, metilo o halometilo;

10 R³ es hidrógeno, amino sustituido o no sustituido, alquilo C₁-C₄, haloalquilo C₁-C₄ o alquenilo C₁-C₄;

R⁴ es hidrógeno, amino sustituido o no sustituido, alquilo C₁-C₄ o bencilo;

R⁵ representa un átomo de hidrógeno junto con un grupo alquilo;

R¹³ está ya sea ausente o es hidrógeno;

15 X¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, mercapto alquilitio, arilitio, alquilcarbonamido, arilcarbonamido, ariloxicarbonamido, arilsulfonamido, (alquilo C₁-C₄)carboniloxi, (alcoxi C₁-C₄) carboniloxi, ariloxicarboniloxi, un grupo amino secundario o terciario que incluye al menos un alquilo C₁-C₄, cicloalquilo C₅-C₆, arilo o sustituyente heterocíclico, o combinaciones de los mismos, amino no sustituido y aminoalquilo; y

cada X² individualmente representa dos átomos de hidrógeno;

20 con la condición de que X¹ no pueda ser un grupo amino primario cuando: R¹ y R² son cada uno metilo; X², R³, R⁴ y R¹³ son cada uno hidrógeno; y R⁵ representa un átomo de hidrógeno junto con un grupo 1, 5-dimetilhexil alquilo.

2. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en la que R¹ y R² son cada uno metilo, y R³ y R⁴ son cada uno hidrógeno.

3. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en la que R⁵ representa un átomo de hidrógeno junto con un grupo 1, 5-dimetilhexilo.

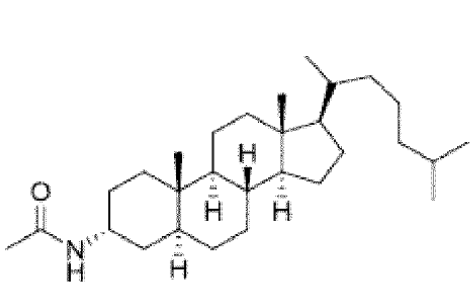
25 4. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en la que R³ y R¹³ son cada uno hidrógeno.

5. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en la que X¹ se selecciona del grupo que consiste en mercapto, alquilitio y arilitio; o X¹ se selecciona del grupo que consiste en alquilcarbonamido, arilcarbonamido y ariloxicarbonamido; o X¹ es acetamido; o X¹ se selecciona del grupo que consiste en alquilsulfonamido y arilsulfonamido; o X¹ se selecciona del grupo que consiste en (alquilo C₁-C₄)carboniloxi, (alcoxi C₁-C₄ carboniloxi y ariloxicarboniloxi; o X¹ es un grupo amino secundario o terciario que incluye al menos un alquilo C₁-C₄, cicloalquilo C₅-C₆, arilo o sustituyente heterocíclico, o combinaciones de los mismos; o X¹ es un grupo aminoalquilo, en el que amino es un amino secundario o terciario no sustituido o sustituido, y n es un entero de 1 a 4.

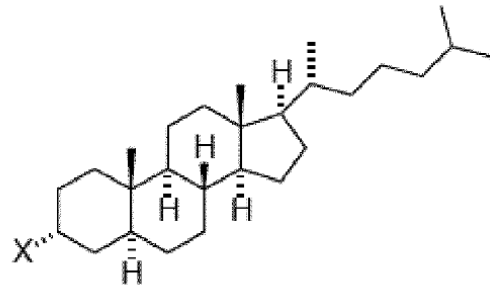
30 6. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5, en la que el grupo amino secundario o terciario incluye al menos una unidad estructural alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido.

7. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en la que X^1 es un grupo amino, excepto cuando: R^1 y R^2 son cada uno metilo; X^2 , R^3 , R^4 y R^{13} son cada uno hidrógeno; y R^5 representa un átomo de hidrógeno junto con un grupo alquilo, donde el grupo alquilo es 1, 5-dimetilhexilo.

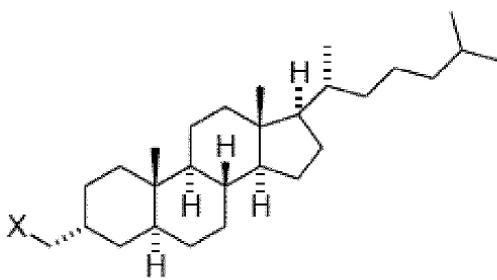
8. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho compuesto de fórmula (I) es un compuesto de una fórmula seleccionada del grupo que consiste en:



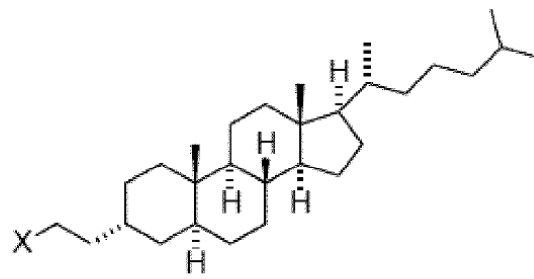
Fórmula 10



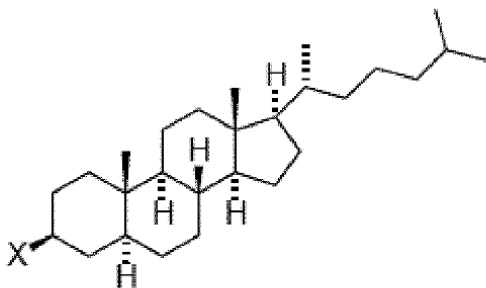
Fórmula 11



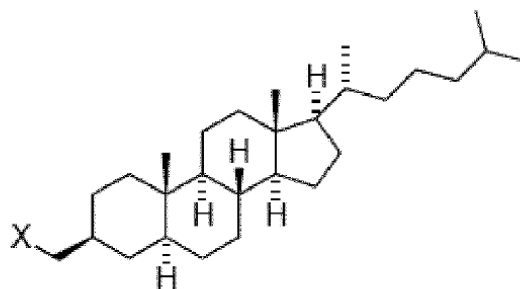
Fórmula 12



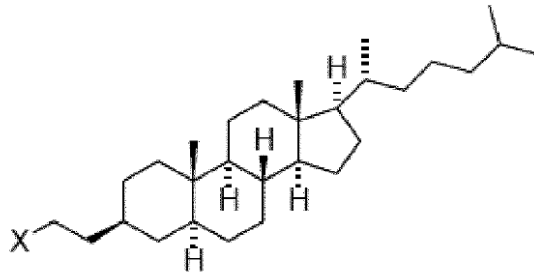
Fórmula 13



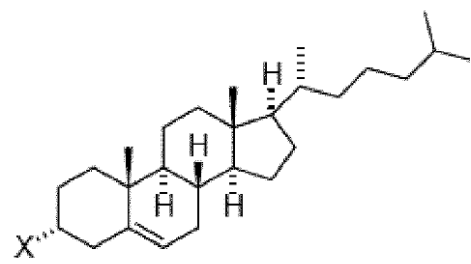
Fórmula 14



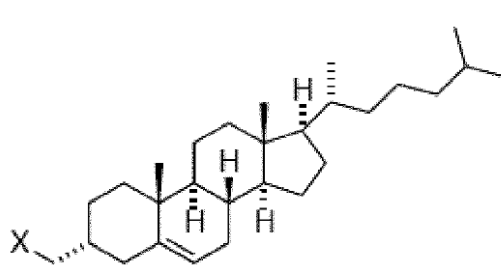
Fórmula 15



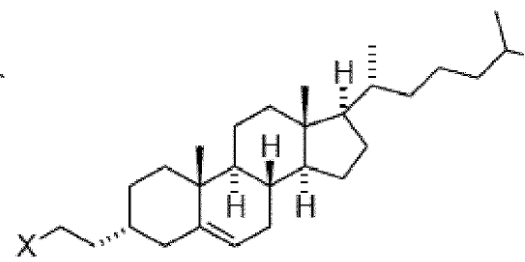
Fórmula 16



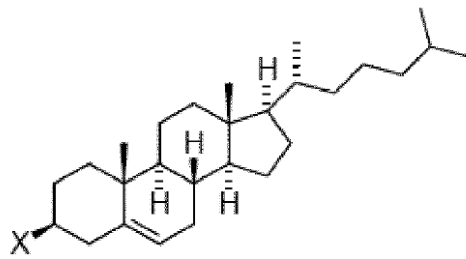
Fórmula 17



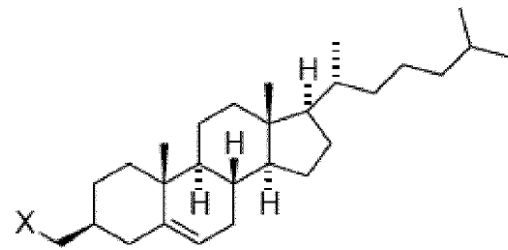
Fórmula 18



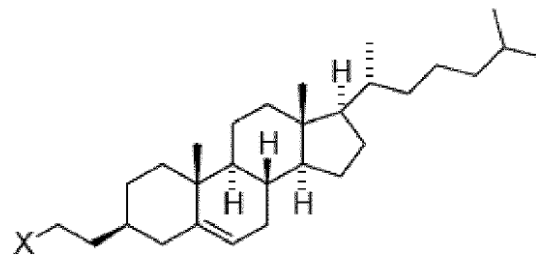
Fórmula 19



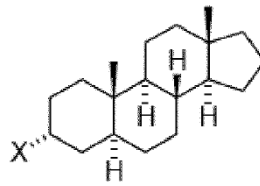
Fórmula 20



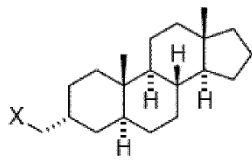
Fórmula 21



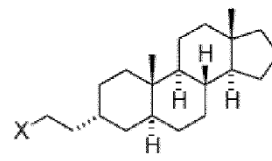
Fórmula 22



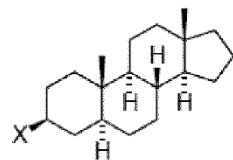
Fórmula 25



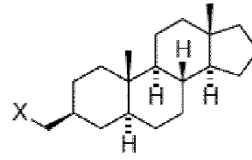
Fórmula 26



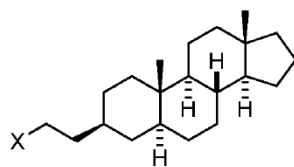
Fórmula 27



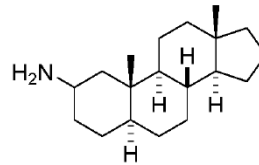
Fórmula 28



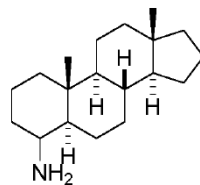
Fórmula 29



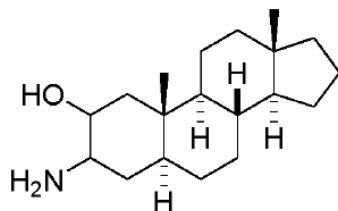
Fórmula 30



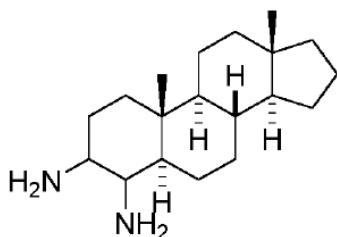
Fórmula 31



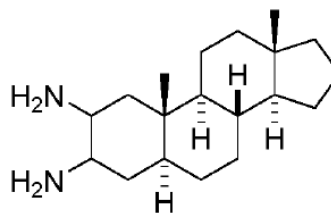
Fórmula 32



Fórmula 34



Fórmula 36



Fórmula 37

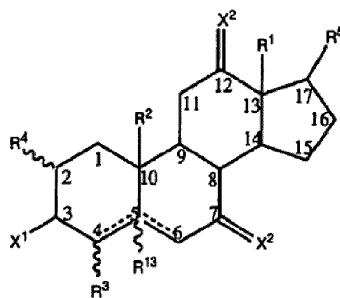
y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde X = NR₂, SR, OCOR, o OCONR₂, y en donde R = H, alquilo, cicloalquilo, arilo o bencilo.

5 9. Una composición farmacéutica para uso en la inhibición de la proteína SHIP1 en un sujeto que la necesita que comprende:

un compuesto inhibidor de SHIP de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

un portador farmacéuticamente aceptable;

en donde la fórmula (I) es como sigue:



(I)

10 en la que

R¹ es un alquilo C₁-C₄ de cadena lineal o haloalquilo C₁-C₄;

R² es hidrógeno, metilo o halometilo;

R³ es hidrógeno, amino sustituido o no sustituido, alquilo C₁-C₄, haloalquilo C₁-C₄ o alquenilo C₁-C₄;

R⁴ es hidrógeno, hidroxilo, amino sustituido o no sustituido, alquilo C₁-C₄ o bencilo;

15 R⁵ representa un oxo átomo divalente, o dos átomos de hidrógeno, o un átomo de hidrógeno junto con un grupo alquilo;

R¹³ está ya sea ausente o es hidrógeno;

X¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, mercapto, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, alquilcarbonamido, alcoxicarbonamido, arilcarbonamido, ariloxicarbonamido, alquilsulfonamido, arilsulfonamido, amino sustituido o no sustituido, y aminoalquilo; y

5 cada X² representa individualmente un oxo átomo divalente o dos átomos de hidrógeno;

con la condición de que X¹ no pueda ser un grupo amino primario cuando: R¹ y R² son cada uno metilo; X², R³, R⁴ y R¹³ son cada uno hidrógeno; y R⁵ representa un átomo de hidrógeno junto con un grupo 1, 5-dimetilhexil alquilo.

10. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9 para uso en el tratamiento o prevención de la enfermedad de injerto contra huésped (GvHD) o rechazo de injerto en un receptor de un trasplante de órgano o tejido.

10 11. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9 para uso en el tratamiento de una malignidad hematológica en un sujeto.

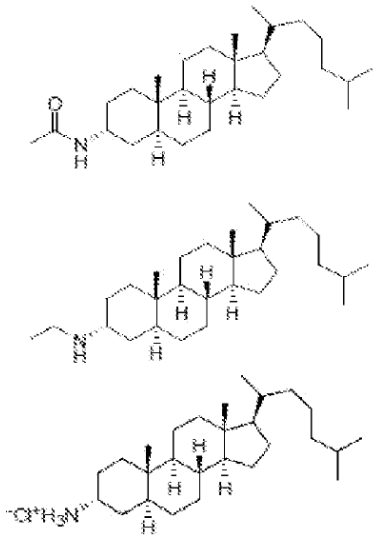
12. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 11, en la que la malignidad hematológica es un mieloma múltiple.

15 13. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 9 para uso en el tratamiento del cáncer de mama.

14. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9 para uso en el tratamiento de mielosupresión en un sujeto.

15. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9 para uso en el tratamiento de la anemia en un sujeto.

20 16. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9 para uso en la potenciación de la producción de uno o más glóbulos blancos, linfocitos, neutrófilos, granulocitos, glóbulos rojos y plaquetas en un sujeto.



VEHÍCULO

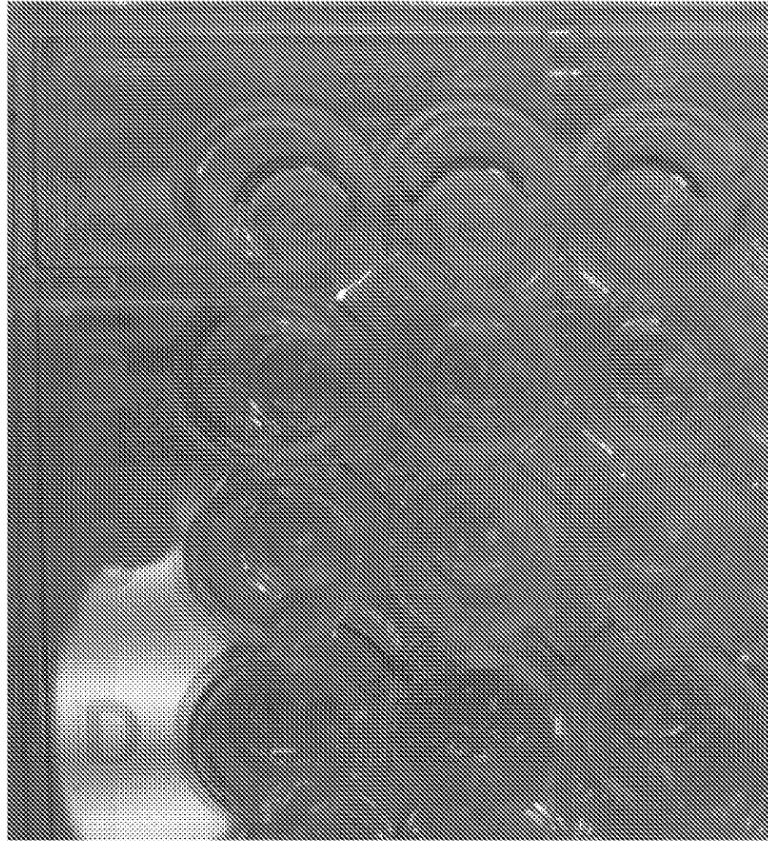


FIG. 1

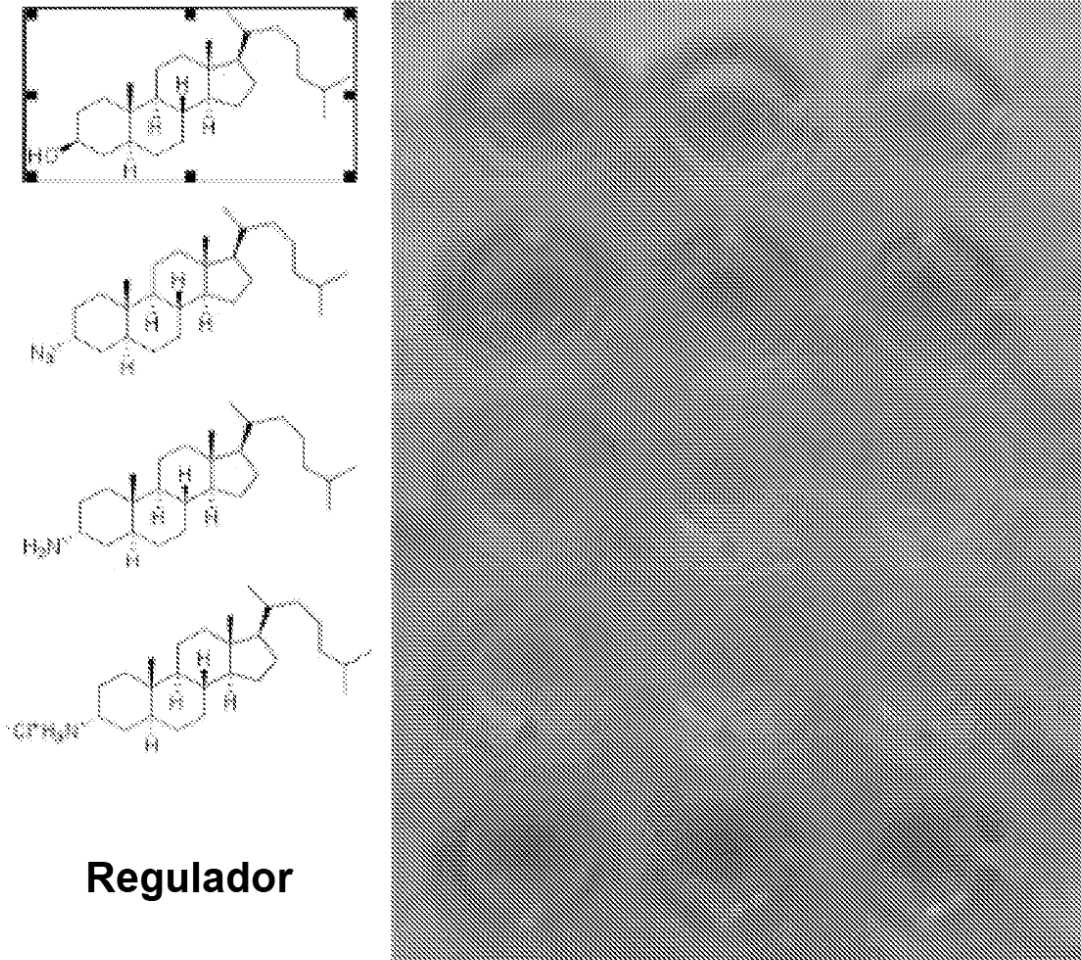


FIG. 2

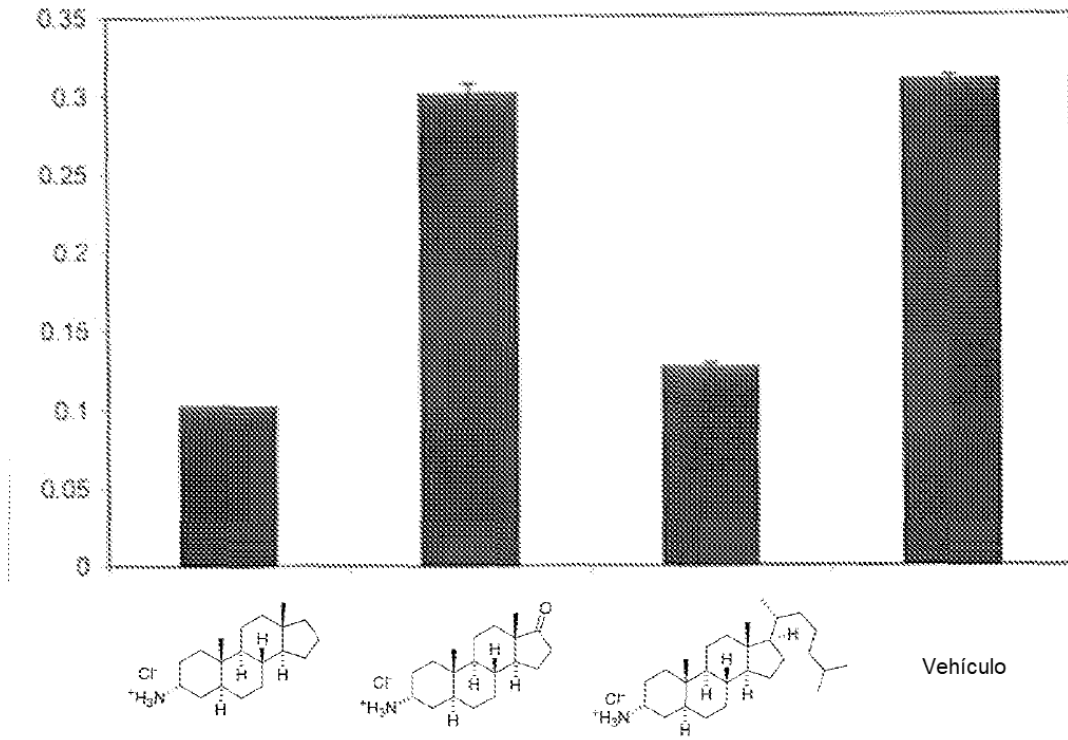


FIG. 3

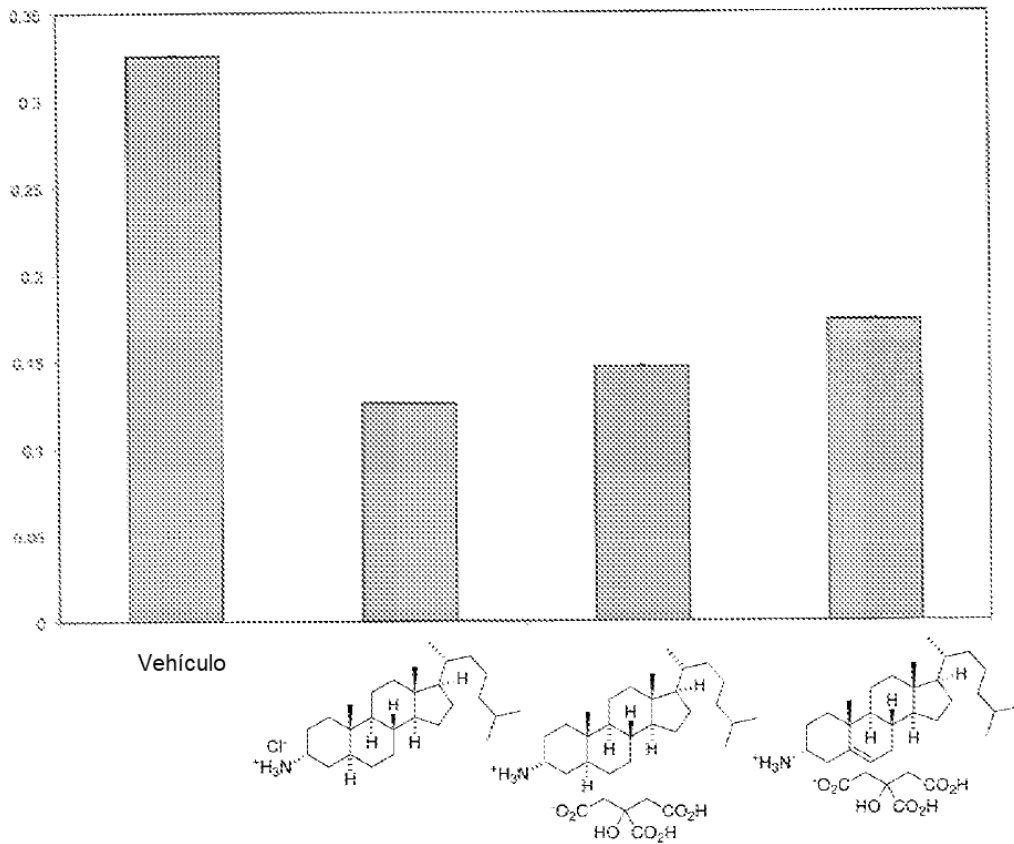
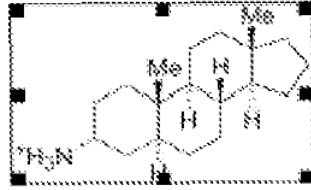


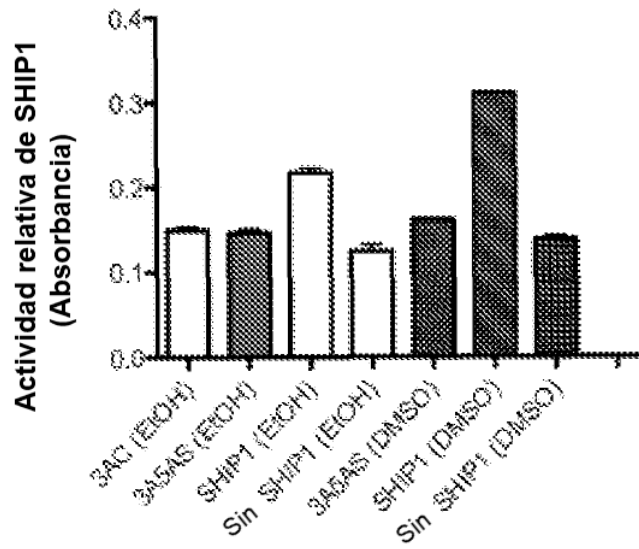
FIG. 4

A



3 α -Amino-5 α -androstano (3A5AS)

B



C

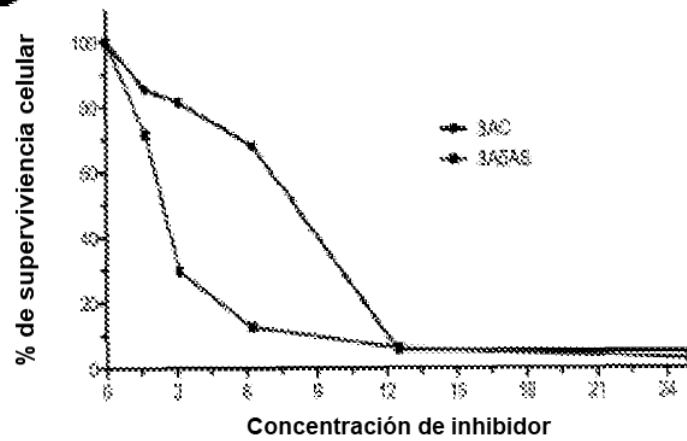


FIG. 5

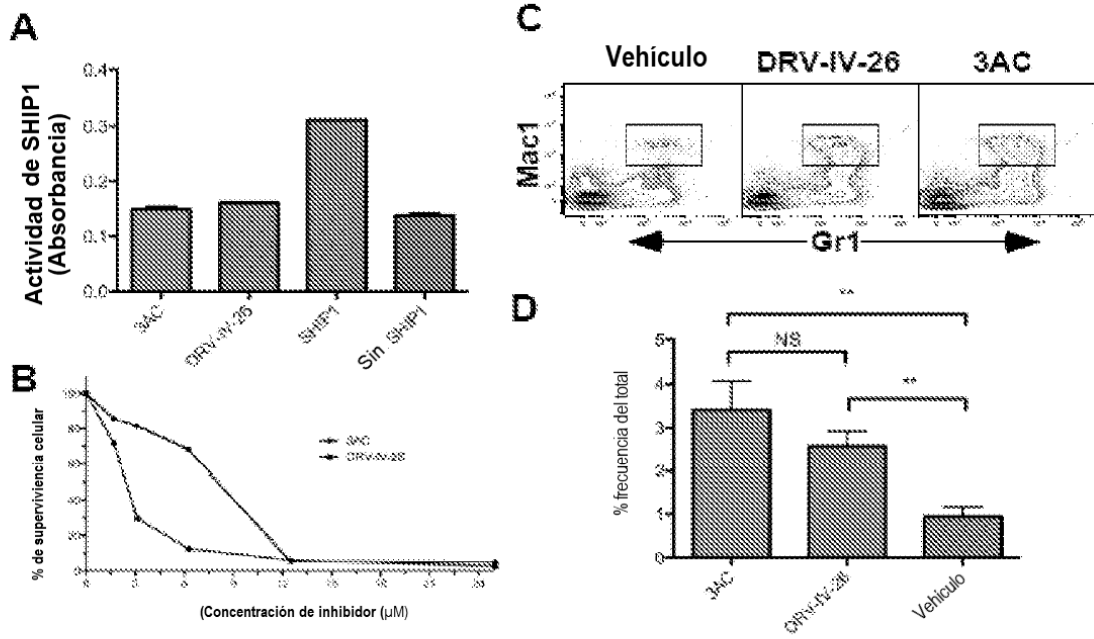


FIG. 6