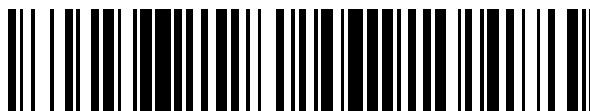


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 774 198**

51 Int. Cl.:

C07J 63/00 (2006.01)

A61K 31/575 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.10.2017** **PCT/EP2017/075042**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.04.2018** **WO18069086**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.10.2017** **E 17790966 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019** **EP 3365351**

54 Título: **Derivados hidroxamatos de triterpenoides**

30 Prioridad:

13.10.2016 EP 16193684

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.07.2020

73 Titular/es:

VIVACELL BIOTECHNOLOGY ESPANA S.L.
(100.0%)

Parque Científico Tecnológico de Córdoba
Rabanales 21 C/ Astrónoma Cecilia Payne
Parcela ID 8.1 Edificio Centauro 1ª Planta
14014 Córdoba, ES

72 Inventor/es:

MUÑOZ BLANCO, EDUARDO;
MINASSI, ALBERTO;
BELLIDO CABELLO DE ALBA, MARÍA LUZ y
APPENDINO, GIOVANNI

74 Agente/Representante:

ILLESCAS TABOADA, Manuel

ES 2 774 198 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados hidroxamatos de triterpenoides

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a nuevos derivados de triterpenoides, y a la síntesis de dichos compuestos. Además, la presente invención se refiere a su uso como medicamento y en terapia, particularmente como estabilizador de las proteínas HIF-1 α e HIF-2 α , activador de la ruta HIF-1 y en el tratamiento de enfermedades y afecciones que responden a la estabilización de HIF-1 α e HIF-2 α . Esta invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos y dichos compuestos o dichas composiciones farmacéuticas para uso como medicamento o en el tratamiento de una afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF.

Antecedentes de la invención

Las células de mamífero necesitan mantener una homeostasis del oxígeno adecuada para ejecutar su metabolismo aerobio y para generar energía. Desde el descubrimiento del factor inducible por hipoxia (HIF)-1, se han estudiado exhaustivamente los mecanismos de señalización subyacentes en la detección de oxígeno mediante factores de transcripción HIF en contextos biológicos (Wang et al., Redox Rep. abril de 1996;2(2):89-96). Los HIF, compuestos por subunidades α , lábiles a oxígeno, y β expresadas constitutivamente, dirigen la transcripción de numerosos genes implicados en diversos procesos celulares incluyendo eritropoyesis, angiogénesis, metabolismo de energía, isquemia, e inflamación (Semenza et al., J. Biol. Chem. 23 de septiembre de 1994;269(38):237357-63 y Eltzschig et al., Nat. Rev. Drug Discov. noviembre de 2014; 13(11):852-69). HIF está presente en las células casi exclusivamente en dos formas: HIF-1 e HIF-2. Son factores de transcripción heterodiméricos que consisten en una subunidad HIF- β , altamente abundante, producida constitutivamente y un compañero HIF-1 α o HIF-2 α , en el caso de HIF-1 e HIF-2, respectivamente, que comparten un 48 % de homología de secuencia (Rabinowitz MH, J. Med. Chem. 12 de diciembre de 2013;56(23):9369-4025). HIF-1 se asocia frecuentemente a respuestas metabólicas y vasculares a la hipoxia, mientras que HIF-2 se asocia a sistemas vasculares pero también algo más a la eritropoyesis (Ratcliffe PJ, J. Clin. Invest. abril de 2007;117(4):862-5).

El mecanismo mediante el cual el oxígeno controla HIF-1 α ha sido descubierto mediante la identificación de prolil hidroxilasas de HIF (PHD) (Bruick y McKnight, Science 9 de noviembre de 2001;294(5545):1337-40). En normoxia, la PHD hidroxila los residuos de prolina en el dominio de degradación dependiente de oxígeno (ODD) de HIF-1 α , permitiendo así su unión a la proteína von Hippel Lindau (pVHL)-elonginaB-elonginaC, que conduce a su ubiquitinación y degradación activa con una semivida de aproximadamente 5 min. Por otro lado, la privación de oxígeno en hipoxia afecta a la hidroxilación de HIF-1 α , por las PHD, dando como resultado una reducción en el volumen de HIF-1 α y de la posterior inducción de transcripción de genes diana (Rabinowitz MH, J. Med. Chem. 12 de diciembre de 2013;56(23):9369-4025). Las PHD pertenecen a la familia de las enzimas dioxigenasas que requieren oxígeno, hierro, y 2-oxiglutarato (2-OG) para su actividad catalítica. Su baja afinidad al oxígeno, que es aproximadamente de 2 a 10 veces mayor a las concentraciones fisiológicas de oxígeno, permite que las enzimas actúen como sensores de oxígeno. Se han identificado tres isoformas de PHD (PHD1, PHD2, y PHD3), y sus sustratos son conocidos por ser bastante diversos y específicos de cada isoforma (Rabinowitz MH, J. Med. Chem. 12 de diciembre de 2013;56(23):9369-4025 y; Eltzschig et al., Nat. Rev. Drug Discov. noviembre de 2014; 13(11):852-69).

La PHD2 es considerada crítica en la regulación de la ruta HIF. Específicamente, una desactivación de PHD2 produjo aumento de la angiogénesis, y un aumento de los niveles del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)-A y de eritropoyetina (EPO) (Takeda et al., Circulation 14 de agosto de 2007;116(7):774-81). Dichas observaciones, junto con la información anterior de que HIF mejoró la liberación de EPO y concomitantemente una eritropoyesis aumentada, implica que la activación de HIF modulando las PHD podría ser beneficiosa para pacientes con anemia y enfermedades relacionadas con isquemia. Por consiguiente, se han seguido enfoques farmacológicos para activar la ruta HIF inhibiendo la actividad de las PHD para tratar enfermedades sistémicas y locales cuyo tratamiento puede beneficiarse de la activación de HIF (Rabinowitz MH, J. Med. Chem. 12 de diciembre de 2013;56(23):9369-4025 y; Eltzschig et al., Nat. Rev. Drug Discov. noviembre de 2014; 13(11):852-69).

La hipoxia y la inflamación están íntimamente relacionadas a muchos niveles y tienen papeles funcionales en muchas enfermedades humanas. De hecho, una amplia variedad de afecciones clínicas se caracteriza por inflamación causada por hipoxia o isquemia o por inflamación asociada a la hipoxia. La acumulación de evidencia muestra que las lesiones inflamatorias se caracterizan por la aparición de hipoxia tisular, que es probablemente resultado de un metabolismo aumentado y un suministro de oxígeno disminuido. Por ejemplo, este es el caso durante la inflamación intestinal observada en pacientes que padecen enfermedad inflamatoria intestinal (IBD), incluyendo la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn (Karhausen et al., J. Clin. Invest. octubre de 2004;114(8):1098-106). Dicha hipoxia inflamatoria está causada por desplazamientos drásticos en la proporción entre el suministro y demanda metabólica. Evidencia emergente indica que la inhibición concomitante de las PHD y la posterior estabilización de HIF durante hipoxia tisular podría funcionar como respuesta adaptativa endógena para contrarrestar inflamación motivada por hipoxia y restaurar funciones celulares normales (Eltzschig et al., Nat. Rev. Drug Discov. noviembre de 2014; 13(11):852-69).

El daño neuronal secundario a lesiones cerebrales tales como la hipoxia cerebral y el proceso neurodegenerativo, es un proceso complejo que implica cambios inflamatorios. La activación de un mecanismo común relacionado con la supervivencia o la muerte celular, mediada por la estabilización y la transactivación de HIF-1 α , ha sido observado en estas afecciones. Las PHD son las guardianas de la degradación dependiente de oxígeno de HIF-1 α y también funcionan como sensores integrados del metabolismo celular (Aragonés et al., Cell Metab. 7 de enero de 2009;9(1):11-22). El fenómeno de que el preconditionamiento hipóxico (HP por sus siglas en inglés) protege contra una anoxia grave posterior fue descubierto hace aproximadamente dos décadas. Posteriormente, los efectos del HP se han estudiado intensivamente en modelos de hipoxia aguda *in vitro* e *in vivo*. Aunque los mecanismos exactos no se han descrito de manera completa, se han postulado los mecanismos moleculares subyacentes. Por ejemplo, el HP activa una gran diversidad de mediadores protectores endógenos, incluyendo la estabilización de HIF-1 α e HIF-2 α que aumenta la capacidad de supervivencia celular en privación de oxígeno grave (Wu et al., 2012, The protective role of hypoxic preconditioning in CNS, Anoxia, Dr. Pamela Padilla (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/27621).

Entre las enfermedades cerebrales en las que se produce hipoxia se incluyen principalmente ictus, parálisis cerebral, lesiones traumáticas, etc. Hasta ahora, no existe ningún fármaco eficaz para proteger el cerebro de estas enfermedades. La divulgación del mecanismo de HP contribuirá al descubrimiento de fármacos para la prevención de dichas enfermedades. Varias respuestas adaptativas celulares a la hipoxia están mediadas por HIF-1 α y la activación de este factor por el HP aumenta la capacidad para tolerar anoxia grave o isquemia. Los genes diana de HIF-1, por un lado, están implicados en la homeostasis de energía, tal como EPO en la regulación de eritropoyesis, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), en la angiogénesis, transmisores de glucosa (GLUT) en la captación de glucosa y enzimas glucolíticas de la glucólisis anaerobia (Speer et al., Free Radio. Biol. Med. septiembre de 2013; 62:23-36). Además, se ha informado que la activación de HIF-1 α en los oligodendrocitos induce EPO, que confiere protección en los oligodendrocitos contra la excitotoxicidad (Sun et al., J. Neurosci. 14 de julio de 2010;30(28):9621-30). En este sentido, el beneficio de la EPO en varias enfermedades, tales como esclerosis múltiple, ictus y lesiones cerebrales traumáticas también ha sido demostrado (Peng et al., J. Neurosurg. septiembre de 2014;121(3):653-64; Ehrenreich et al., Stroke diciembre de 2009;40(12): e647-56; Li et al., Ann. Neurol. diciembre de 2004;56(6):767-77). Además, los agentes hipoximiméticos (es decir, agentes que producen las mismas respuestas biológicas que las producidas cuando se produce hipoxia), tales como desferrioxamina (DFX), protegen de agresiones neuronales inducidas por ácido 3-nitropoiónico (Yang et al., J. Neurochem. mayo de 2005; 96(3):513-25). Por lo tanto, la inhibición de PHD por moléculas hipoximiméticas pequeñas representa una estrategia interesante, así como el desarrollo de terapias neuroprotectoras para la gestión clínica de afecciones en las que está presente hipoxia, tales como ictus, parálisis cerebral, lesiones traumáticas y enfermedades neurodegenerativas, tales como esclerosis múltiple, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson.

Se ha realizado un número sustancial de estudios farmacológicos (generalmente usando inhibidores no específicos de PHD2) en modelos animales, y se han realizado unos pocos estudios clínicos. De hecho, varias empresas están implicadas en el descubrimiento y desarrollo de inhibidores de PHD para anemia y otras indicaciones tales como IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperusión, lesión pulmonar aguda, trasplante de órganos, lesión renal aguda y enfermedades arteriales, áreas en las que los inhibidores de PHD están siendo considerados activamente por numerosos investigadores como un nuevo enfoque terapéutico (Rabinowitz MH, J. Med. Chem. 12 de diciembre de 2013;56(23):9369-4025 y; Eltzschig et al., Nat. Rev. Drug Discov. noviembre de 2014; 13(11):852-69).

La descripción original de PHD selectivas de HIF como reguladoras de la expresión de HIF ha proporcionado una pauta para el desarrollo de herramientas moleculares y terapias basadas en PHD. La inactivación farmacológica de las PHD por análogos de 2-OG es suficiente para estabilizar HIF-1 α , pero esta acción no es específica con respecto a isoformas individuales de PHD y estudios *in vitro* mostraron que la secuencia ODD de HIF1 α se hidroxila más eficazmente por PHD2 (Rabinowitz MH, J. Med. Chem. 12 de diciembre de 2013;56(23):9369-4025). Estas observaciones han generado un considerable interés en la identificación de moléculas pequeñas que sean inhibidores modificadores-enzimáticos. De hecho, se han descrito varias clases de inhibidores de PHD, incluyendo quelantes de hierro, tales como DFX, hidralazina, AKB-4924, FG-2229, TM-6008 y 1-mimosina; desneditadores de CUL2 tales como MLN4924; miméticos de 2-OG tales como ximetiloxalilglicina y *N*-oxalil-d-fenilalanina; bloqueantes de sitio activo de PHD tales como pirazolopiridinas, 8-hidroxiquinolinas, compuesto A, FG-4497 y TM-6089; y sustitutos de Fe²⁺ tales como Co²⁺, Ni²⁺ y Cu²⁺. El mecanismo de acción de estos compuestos se basa en la observación de que la unión del co-sustrato 2-OG al dominio catalítico, que aloja un ión esencial Fe²⁺, es crucial para la actividad enzimática de PHD2. Por lo tanto, los compuestos químicos que imitan estructuralmente 2-OG, tales como *N*-oxalilglicina o su precursor DMOG, inhiben PHD2 bloqueando la entrada del cosustrato (Rabinowitz MH, J. Med. Chem. 12 de diciembre de 2013;56(23):9369-4025 y; Eltzschig et al., Nat. Rev. Drug Discov. noviembre de 2014; 13(11):852-69).

DFX es un derivado de ácido hidroxámico que actúa como quelante metálico y está en uso clínico para el tratamiento de intoxicación aguda por hierro y sobrecarga crónica de hierro debido a anemias dependientes de transfusión. Sin embargo, DFX no está indicado para el tratamiento de enfermedades crónicas y está contraindicado en enfermedades renales graves principalmente porque el riñón excreta el fármaco y el quelato de hierro. Además, DFX solo induce la estabilización y activación de HIF-1 α a concentraciones relativamente altas en las células.

Los triterpenoides están ampliamente distribuidos en plantas comestibles y medicinales y forman parte integral de la dieta humana. Entre ellos, los triterpenoides pentacíclicos se derivan del hidrocarburo lineal escualeno y son altamente

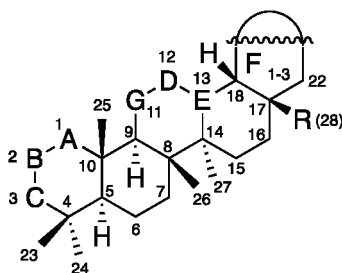
multifuncionales y, por lo tanto, tienen una amplia gama de aplicaciones comerciales en los sectores de agricultura, alimentación, cosmética y farmacéutico, como pesticidas, fármacos, adyuvantes, antimicrobianos, agentes anticancerosos, tensioactivos, conservantes, etc. (Sheng et al., Nat. Prod. Rep. marzo de 2011;28(3):543-93; Yadav et al., Toxins (Basel) octubre de 2010;2(10):2428-66). La función ácida y los grupos hidroxilo (-OH) de los triterpenoides no pueden interactuar con la fase estacionaria, ya que los dos grupos están situados en lados opuestos del compuesto. Existen tres familias principales de triterpenos: triterpenos de oleano, ursano y lupano. Los triterpenoides principales encontrados en la familia del oleano son ácido oleanólico, ácido maslínico, eritrodiol, y β -amirina; en la familia del ursano son ácido ursólico y uvaol; y en la familia del lupano son lupeol, betulina, y ácido betulínico (Yadav et al., Toxins (Basel) octubre de 2010;2(10):2428-66).

Los triterpenoides encontrados en la dieta, tales como ácidos oleanólico, ursólico, betulínico y maslínico, se han estudiado exhaustivamente para determinar bioactividad y aplicación farmacéutica y se han usado ampliamente también como modelos para producir nuevos derivados con bioactividades mejoradas. Se ha mostrado que los triterpenoides inhiben la activación de los factores de transcripción NF- κ B (factor nuclear-kappa B) y STAT3 (transductor de señal y activador de transcripción 3), para modular la ruta Nrf2 (NFE2L2 o factor nuclear (derivado de eritroide 2)-tipo 2), y se unen y activan el receptor biliar TGR5 (Sato et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. 3 de noviembre de 2007;362(4):793-8). Sin embargo, la actividad potencial de los triterpenoides en la inhibición de PDH2 y la estabilización de HIF-1 α no ha sido descrita. Sorprendentemente, los ácidos ursólicos, betulínico y oleanólico, que son precursores de los compuestos II a XIV descritos en el presente documento se unen a PHD2 pero no activan la ruta HIF-1 α . Este resultado condujo a generar derivados de hidroxamato capaces de unirse a PHD2, para quelar Fe²⁺ en su bolsillo activo y, como consecuencia, estos compuestos activan la ruta HIF y estabilizan las proteínas HIF-1 α e HIF-2 α . Los compuestos III, IV, V, VI, VIII, IX, X, XI, y XIV y XV son nuevas entidades químicas mientras que los compuestos II, VII, XII y XIII han sido descritos por tener actividad anticancerosa *in vitro*, no relacionada con activación de HIF-1 α (Wiemann et al., Eur. J. Med. Chem. 1 de diciembre de 2015; 106:194-210; Wiemann et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 1 de febrero de 2016; 26(3):907-9; documento CN102180939 B). De hecho, la inhibición de HIF-1 α por algunos triterpenoides, a diferencia de la activación de HIF-1 α , se ha sugerido como estrategia potencial para terapias anticancerosas (Dasgupta et al., Angiogenesis. julio de 2015; 18(3): 283-99; Jin et al., Arch Pharm Res. abril de 2007; 30(4): 412-8; Dai et al., J Nat Prod. diciembre de 2006; 69(12): 1715-20). Algunos estudios (Mol. Cell. Biochem., 2010, Vol. 340(1-2):15-20; Oncol. Rep 2014, Vol 31(5): 2399-2406, Molecules, 2014, Vol. 19(12): 19892-19906, Br. J. Nutrition, 2013, Vol. 109(2): 210-222 e Int. Biomed. & Biotechnol. J., Zhejiang Univ., 09.09.2016, Vol. 17(9): 672-682) describen compuestos de oleano con un grupo de ácido carboxílico en la posición 28, que inhiben la ruta HIF-1 α , mientras que los compuestos descritos en la presente invención tienen todos un grupo hidroxamato en dicha posición, y son útiles para activar dicha vía metabólica.

Breve descripción

Partiendo de la técnica anterior, el problema de la presente invención es producir nuevos derivados de triterpenoides pentacíclicos (derivados de triterpenoides) que induzcan la estabilización de HIF-1 α e HIF-2 α y activen la ruta HIF.

La presente invención se define por las reivindicaciones 1 a 16 y se refiere a derivados triterpénicos de Fórmula (Ia), o a una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos,

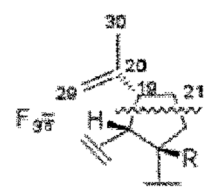
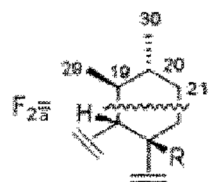
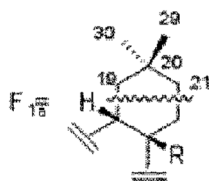


Fórmula (Ia)

en el que, independientemente,

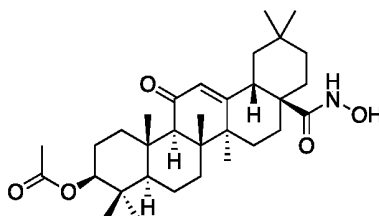
- A-B se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono;
- B se selecciona de entre un metileno (-CH₂-), un metino olefínico (=CH-), un hidroximetino [-CH(OH)-], o un carbono olefínico hidroxilado [-C(OH)=];
- B-C se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono; o es parte de un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno; y en el que dicho anillo heterocíclico es un anillo de cinco miembros que comprende un nitrógeno y un oxígeno;
- C se selecciona de entre un hidroximetino [-CH(OH)-], un aciloximetino [-CH(OCOR')-], un metino olefínico (=CH-), un carbonilo [-C(=O)-], una oxima [-C(=N-OH)-] o una hidrazona [-C(=N-NH₂)-], en el que R' es metilo;
- D-E es un enlace sencillo o doble carbono-carbono;

- F se selecciona de entre F_{1a}, F_{2a} o F_{3a};



- 5 -G se selecciona de entre un metileno (-CH₂-) o un carbonilo [-C(=O)-]; y
-R es un grupo hidroxamato (-CONHOH);
- y en el que,
- 10 - cuando C es un aciloximetino [-CH(OCOR')-], el derivado triterpénico de Fórmula (Ia) es

(V)



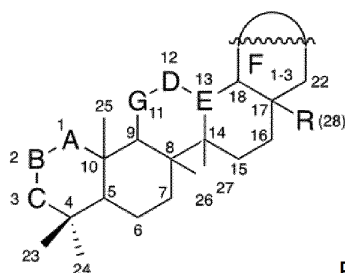
(3β) 3-Acetiloxi-11-oxo-olean-12-en-N-hidroxi-28-amida;

- 15 - cuando B es un metileno (-CH₂-), C es un hidroximetino [-CH(OH)-], D-E es un doble enlace carbono-carbono, G es un metileno (-CH₂-) y R es un hidroxamato (-CONHOH), F es F_{3a};
- cuando B es un metileno (-CH₂-), C es un hidroximetino [-CH(OH)-], D-E es un enlace sencillo carbono-carbono, G es un metileno (-CH₂-) y R es un hidroxamato (-CONHOH), F se selecciona de entre F_{1a} o F_{2a};
- cuando B es un metileno (-CH₂-), C es una oxima [-C(=N-OH)-], D-E es un doble enlace carbono-carbono, G es un metileno (-CH₂-) y R es un hidroxamato (-CONHOH), F se selecciona de entre F_{1a} o F_{3a}.

20 Adicionalmente, la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un derivado triterpénico de Fórmula (Ia), tal como se ha descrito anteriormente en el presente documento, como primer principio activo y que, además, comprenden, al menos un segundo principio activo y/o, al menos un excipiente o vehículo, y opcionalmente comprenden, además, al menos un segundo principio activo

25 Otro aspecto de la presente invención se refiere a un derivado triterpénico de Fórmula (Ia), y a las composiciones farmacéuticas del mismo, tal como se ha descrito anteriormente en el presente documento, para uso como medicamento.

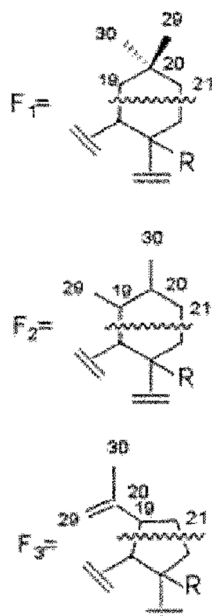
30 La presente invención también se refiere a un derivado triterpénico de Fórmula (I), o a una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo,



Fórmula (I)

en el que, independientemente,

- 5 - A-B se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono;
- B se selecciona de entre un metileno ($-\text{CH}_2-$), un metino olefínico ($=\text{CH}-$), un hidroximetino [$-\text{CH}(\text{OH})-$], o un carbono olefínico hidroxilado [$-\text{C}(\text{OH})=$];
- B-C se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono; o es parte de
- 10 un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno; y en el que dicho anillo heterocíclico es un anillo de cinco miembros que comprende un nitrógeno y un oxígeno;
- C se selecciona de entre un hidroximetino [$-\text{CH}(\text{OH})-$], un aciloximetino [$-\text{CH}(\text{OCOR}')-$], un metino olefínico ($=\text{CH}-$), un carbonilo [$-\text{C}(=\text{O})-$], una oxima [$-\text{C}(=\text{N}-\text{OH})-$] o una hidrazona [$-\text{C}(=\text{N}-\text{NH}_2)-$], en el que R' es metilo;
- D-E es un enlace sencillo o doble carbono-carbono;
- 15 - F se selecciona de entre F_1 , F_2 o F_3 ;



- 20 - G se selecciona de entre un metileno ($-\text{CH}_2-$) o un carbonilo [$-\text{C}(=\text{O})-$]; y
- R es un grupo hidroxamato ($-\text{CONHOH}$);

para uso en el tratamiento de una afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF.

25 La presente invención se refiere, además, a una composición farmacéutica que comprende un derivado triterpénico de Fórmula (I), tal como se ha descrito anteriormente en el presente documento, y al menos un excipiente o vehículo, para uso en el tratamiento de una afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF.

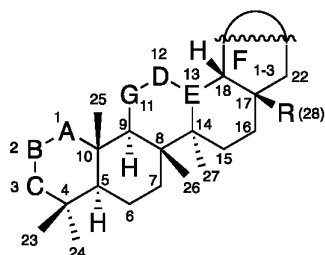
30 Descripción detallada

La presente descripción se refiere a derivados triterpenoides que comprenden un grupo funcional hidroxamato en la posición 28, y a composiciones que comprenden dichos derivados de triterpenoides, que muestran capacidad de unirse a PHD2, estabilizar las proteínas HIF-1 α e HIF-2 α , activar la ruta HIF en diferentes tipos de células, inducir la

35 angiogénesis en células vasculares endoteliales humanas, mostrar actividad neuroprotectora *in vitro* e *in vivo*, actividad antidiabética *in vivo*, y aumentar los niveles en plasma de eritropoyetina *in vivo*.

Dichos derivados triterpenoides también actúan de forma selectiva y no inducen la activación de Nrf2, la inhibición de NF- κ B, la inhibición de STAT3, ni la activación de TGR5, que son actividades conocidas de sus precursores triterpenoides naturales. Dichos derivados triterpenoides son útiles en el tratamiento de afecciones y/o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF. Por lo tanto, la presente invención se refiere a enfermedades, cuyo tratamiento se beneficia o responde a la activación de HIF-1 α e HIF-2 α y, por lo tanto, la presente invención no se refiere a enfermedades o afecciones cuyo tratamiento se beneficia o responde a la inhibición de HIF-1 α .

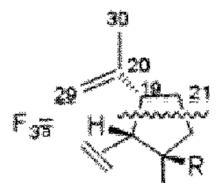
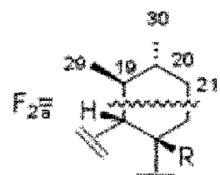
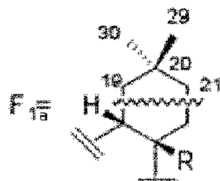
Más específicamente, la presente descripción se refiere a derivados triterpénicos de Fórmula (Ia):



Fórmula (Ia)

donde, independientemente

- A-B se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono;
- B se selecciona de entre un metileno (-CH₂-), un metino olefínico (=CH-), un hidroximetino [-CH(OH)-], o un carbono olefínico hidroxilado [-C(OH)=];
- B-C se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono; o es parte de un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno;
- C se selecciona de entre un hidroximetino [-CH(OH)-], un aciloximetino [-CH(OCOR')-], un metino olefínico (=CH-), un carbonilo [-C(=O)-], una oxima [-C(=N-OH)-] o una hidrazona [-C(=N-NH₂)-], en el que R' es metilo;
- D-E es un enlace sencillo o doble carbono-carbono;
- F se selecciona de entre F_{1a}, F_{2a} y F_{3a};



- G se selecciona de entre un metileno (-CH₂-) o un carbonilo [-C(=O)-]; y
- R es un grupo hidroxamato (-CONHOH); y en el que,
- cuando C es un aciloximetino [-CH(OCOR')-], el derivado triterpénico de fórmula (Ia) es (3 β) 3-acetiloxi-11-oxoolean-12-en-N-hidroxi-28-amida;
- cuando B es un metileno (-CH₂-), C es un hidroximetino [-CH(OH)-], D-E es un doble enlace carbono-carbono, G es un metileno (-CH₂-) y R es un hidroxamato (-CONHOH), F es F_{3a};
- cuando B es un metileno (-CH₂-), C es un hidroximetino [-CH(OH)-], D-E es un enlace sencillo carbono-carbono, G es un metileno (-CH₂-) y R es un hidroxamato (-CONHOH), F se selecciona de entre F_{1a} o F_{2a};

- cuando B es un metileno (-CH₂-), C es una oxima [-C(=N-OH)-], D-E es un doble enlace carbono-carbono, G es un metileno (-CH₂-) y R es un hidroxamato (-CONHOH), F se selecciona de entre F_{1a} o F_{3a}.

En una realización de la presente descripción de los derivados triterpénicos de Fórmula (Ia), tal como se da a conocer en la presente descripción, B-C puede ser parte de un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno, y en el que dicho anillo heterocíclico es un anillo de cinco miembros.

En una realización de la presente descripción de los derivados triterpénicos de Fórmula (Ia), tal como se da a conocer en la presente descripción, B-C puede ser parte de un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno, y en el que dicho anillo heterocíclico es un anillo de cinco miembros que comprende dos átomos de nitrógeno.

En una realización de la presente descripción de los derivados triterpénicos de Fórmula (Ia), tal como se da a conocer en la presente descripción, B-C puede ser parte de un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno, y en el que dicho anillo heterocíclico es un anillo de cinco miembros que comprende un nitrógeno y un oxígeno.

Los derivados triterpénicos de Fórmula (Ia), tal como se dan a conocer en la presente descripción, también comprenden sus análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables.

A efectos de la presente descripción, el término "análogo/s" se refiere a cualquier entidad estructuralmente derivada u homóloga a los compuestos descritos en la presente invención.

En el contexto de la presente descripción, el término "derivado/s" de los compuestos descritos en el presente documento debe interpretarse como cualquier análogo triterpenoide, siempre sustituido en posición 28, de acuerdo con la definición de R en la presente descripción, que proporciona las propiedades farmacológicas descritas en el presente documento para los compuestos triterpenoides, pero también presenta otras sustituciones en otras posiciones de la molécula triterpenoide, diferentes de las sustituciones descritas en el presente documento.

El término "tautómeros" son isómeros constitucionales de compuestos orgánicos que se interconvierten fácilmente mediante un proceso químico (tautomerización).

El término "isómero" se define formalmente por la IUPAC (Unión internacional de química pura y aplicada) como una de las varias especies (o entidades moleculares) que tienen la misma composición atómica (fórmula molecular) pero con diferentes fórmulas o diferentes fórmulas estereoquímicas, mientras que "estereoisómeros" se define formalmente por la IUPAC como compuestos, que tienen una constitución química idéntica, pero se diferencian con respecto a la disposición de sus átomos o grupos en el espacio.

Tal como se usa en el presente documento, "polimorfo" se refiere a formas cristalinas que tienen la misma composición química pero diferentes disposiciones espaciales de las moléculas, átomos, y/o iones que forman el cristal.

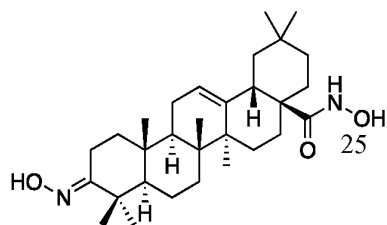
El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquier sal farmacéuticamente aceptable que, tras la administración al paciente, es capaz de proporcionar (directa o indirectamente) un compuesto tal como se describe en el presente documento. Dichas sales son preferiblemente sales de adición de ácidos, con ácidos orgánicos o inorgánicos fisiológicamente aceptables. Los ejemplos de sales de adición de ácidos incluyen sales de adición de ácidos minerales tales como, por ejemplo, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, sulfato, nitrato, fosfato, y sales de adición de ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, acetato, trifluoroacetato, maleato, fumarato, citrato, oxalato, succinato, tartrato, malato, mandelato, metanosulfonato y p-toluenosulfonato. Los ejemplos de sales de adición de álcalis incluyen sales inorgánicas tales como, por ejemplo, sodio, potasio, sales de calcio y amonio, y sales alcalinas orgánicas, tales como, por ejemplo, etilendiamina, etanolamina, N,N-dialquilenetanolamina, trietanolamina y sales de aminoácidos básicos. Sin embargo, se apreciará que las sales no farmacéuticamente aceptables también están dentro del alcance de la invención, ya que pueden ser útiles en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables. Los procedimientos para la formación de sales son convencionales en la técnica.

El término "solvato", de acuerdo con la presente invención, debe entenderse que se refiere a cualquier forma del compuesto activo de acuerdo con la invención, en la que dicho compuesto está unido mediante un enlace no covalente a otra molécula (normalmente un disolvente polar), incluyendo especialmente hidratos y alcoholatos.

En una realización preferida de la presente descripción, los derivados triterpénicos descritos se refieren a los compuestos de Fórmula (III), (IV), (V) y (VI), de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención, al compuesto de Fórmula (VIII), para uso de acuerdo con la presente invención, al compuesto de Fórmula (IX) de la descripción, a los compuestos de Fórmula (X) y (XI) para uso de acuerdo con la presente invención, y a los compuestos de Fórmula (XIV) y (XV), de la presente invención, y para uso de acuerdo con la presente invención, o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o

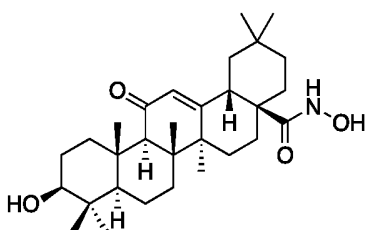
solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

(III)



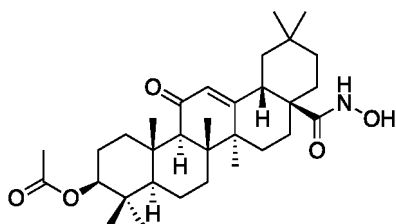
5 **3-Hidroxiimino-*N*-hidroxi-olean-12-en-28-amida**

(IV)



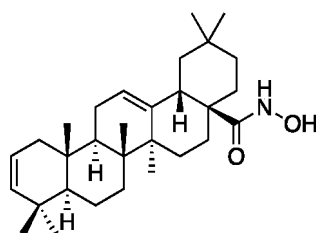
10 **(3β) 3-Hidroxi-11-oxo-olean-12-en-*N*-hidroxi-28-amida**

(V)



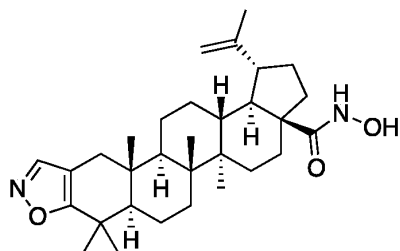
(3β) 3-Acetiloxi-11-oxo-olean-12-en-*N*-hidroxi-28-amida

(VI)



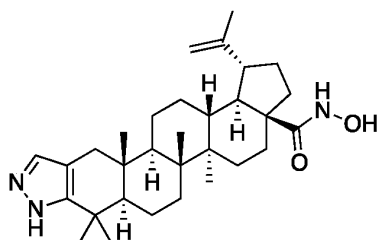
15 **Oleana-2,12-dien-*N*-hidroxi-28-amida**

(VIII)



Lup-2-eno[2,3-d]isoxazol-*N*-hidroxi-28-amida

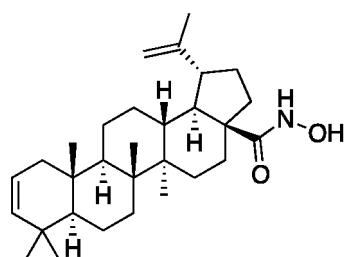
(IX)



5

1'-H-Lup-20(29)-eno[3,2-c]pirazol-*N*-hidroxi-28-amida

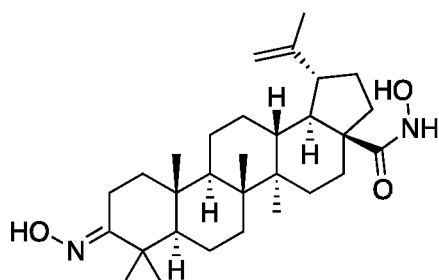
(X)



10

Lupa-2,20(29)-dien-*N*-hidroxi-28-amida

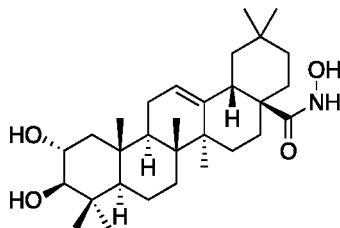
(XI)



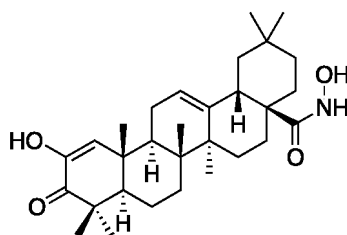
15

3-Oxo-lup-20(29)-en-28-ácido

(XIV)

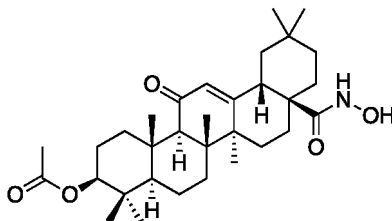
**(2 α ,3 β) 2,3-Dihidroxi-N-hidroxi-olean-12-en-28-amida**

(XV)

**2-Hidroxi-3-oxo-oleana-1,12-dien-N-hidroxi-28-amida**

En una realización preferida de la invención, de los derivados triterpénicos de Fórmula **(Ia)** de la presente invención, cuando C es un aciloximetino [-CH(OCOR')-], el derivado triterpénico de Fórmula **(Ia)** de la presente invención es

(V)

**(3 β) 3-Acetiloxi-11-oxo-olean-12-en-N-hidroxi-28-amida;**

Tal como se muestra en los ejemplos y las figuras de la presente descripción, las modificaciones comprendidas en la Fórmula general **(Ia)**, de la presente descripción, confieren, a los compuestos descritos en el presente documento, la capacidad de unirse a PHD2, estabilizar las proteínas HIF-1 α e HIF-2 α , activar la ruta HIF en diferentes tipos de células, inducir la angiogénesis en células vasculares endoteliales humanas, mostrar actividad neuroprotectora *in vitro* e *in vivo*, actividad antidiabética *in vivo*, y aumentar los niveles en plasma de eritropoyetina *in vivo*. Dichos compuestos de Fórmula **(Ia)** de la presente descripción, o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, actúan de manera selectiva y no inducen la activación de Nrf2, la inhibición de NF- κ B, la inhibición de STAT3, ni la activación de TGR5, que son actividades conocidas de sus precursores triterpenoides naturales.

Una realización de la presente descripción se refiere a composiciones, particularmente composiciones farmacéuticas, que comprenden al menos un compuesto de Fórmula **(Ia)** de la presente descripción, o análogo, derivado, forma tautomérica, isómero, estereoisómero, polimorfo, sal farmacéuticamente aceptable o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se ha descrito anteriormente en el presente documento, y al menos un excipiente o vehículo.

Dicho excipiente o vehículo se refiere, a efectos de la presente descripción, a un ingrediente inerte, tal como, pero sin limitarse a, codisolventes, tensioactivos, aceites, humectantes, emolientes, conservantes, estabilizantes y antioxidantes. Se puede usar cualquier tampón farmacológicamente aceptable, tal como TRIS o cualquier tampón fosfato.

Otra realización de la presente descripción se refiere a composiciones, particularmente composiciones farmacéuticas,

que comprenden al menos un compuesto de Fórmula (Ia) de la presente descripción, o análogo, derivado, forma tautomérica, isómero, estereoisómero, polimorfo, sal farmacéuticamente aceptable o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se ha descrito anteriormente en el presente documento, y al menos un segundo compuesto activo que tiene actividades biológicas aditivas o sinérgicas.

5 A efectos de la presente descripción, los términos "compuesto activo" o "principio activo" deben ser interpretados como sinónimos y se refieren a una entidad química que ejerce efectos terapéuticos cuando es administrada a seres humanos o animales.

10 Una realización adicional de la presente descripción se refiere a los compuestos de Fórmula (Ia) de la presente descripción, o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, para uso como medicamento.

15 Una realización adicional de la presente descripción se refiere a las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente en el presente documento, que comprenden los compuestos de Fórmula (Ia) de la presente descripción, o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, para uso como medicamento.

20 Dichos compuestos de Fórmula (Ia) de la presente descripción, o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, muestran capacidad de unirse a PHD2, estabilizar las proteínas HIF-1 α e HIF-2 α , activar la ruta HIF en diferentes tipos de células, inducir la angiogénesis en células vasculares endoteliales humanas, mostrar actividad neuroprotectora *in vitro* e *in vivo*, actividad antidiabética *in vivo*, y aumentar los niveles en plasma de eritropoyetina *in vivo*. Dichos compuestos de Fórmula (Ia) de la presente descripción, o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, actúan de manera selectiva y no inducen la activación de Nrf2, la inhibición de NF- κ B, la inhibición de STAT3, ni la activación de TGR5, que son actividades conocidas de sus precursores triterpenoides naturales.

30 Dichos derivados de triterpenoides de Fórmula Ia, y las composiciones farmacéuticas de los mismos, tal como se dan a conocer en la presente descripción, son útiles en el tratamiento de afecciones y enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF.

35 Por lo tanto, los derivados triterpénicos de Fórmula (Ia), tal como se dan a conocer en la presente descripción, son útiles en afecciones o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF, en donde, por tanto, el tratamiento de dichas afecciones o enfermedades se beneficia o responde a la activación de la ruta HIF.

40 De acuerdo con la presente descripción, las condiciones y enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF no incluyen tumores sólidos. Este es el caso, dado que los tumores sólidos desarrollan neoangiogénesis, que facilita la diseminación metastásica y, por lo tanto, se están desarrollando inhibidores de HIF-1 como fármacos anticancerosos para bloquear el crecimiento y funcionalidad vascular anormal (Potente et al. Cell. 16 de septiembre de 2011;146(6):873-87).

45 En particular, una realización describe los derivados triterpénicos de Fórmula (Ia) descritos en la presente descripción, y composiciones farmacéuticas de los mismos, para uso en el tratamiento de una serie de afecciones o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF que comprenden, pero sin limitarse a, ictus, parálisis cerebral, lesiones traumáticas y enfermedades neurodegenerativas. Ejemplos de enfermedades neurodegenerativas incluyen, pero sin limitarse a, esclerosis múltiple, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer o enfermedad de Parkinson.

50 A efectos de la presente descripción, un ictus se refiere a un déficit neurológico de causa cerebrovascular. Los ictus se pueden clasificar en dos categorías principales: isquémicos y hemorrágicos. Los ictus isquémicos están causados por la interrupción del suministro sanguíneo al cerebro, mientras que los ictus hemorrágicos son resultado de la ruptura de un vaso sanguíneo o una estructura vascular anómala.

55 A efectos de la presente descripción, la parálisis cerebral se refiere a un grupo de trastornos del movimiento permanentes que aparecen en la infancia temprana y están causados por desarrollo anómalo o por daño en las partes del cerebro que controlan el movimiento, el equilibrio y la postura.

60 A efectos de la presente descripción, lesiones traumáticas se refiere a lesiones físicas de aparición y gravedad repentinas, que requieren atención médica inmediata. Las lesiones traumáticas son el resultado de una gran variedad de mecanismos contundentes, penetrantes o de quemadura. Dichas lesiones traumáticas incluyen colisiones de vehículos motorizados, lesiones deportivas, de caídas, desastres naturales y una multitud de otras lesiones físicas.

65 Otra realización de la presente descripción describe los derivados triterpénicos de Fórmula (Ia) de la presente descripción, y composiciones farmacéuticas de los mismos, para uso en el tratamiento de una diversidad de afecciones o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF, en donde dichas afecciones o enfermedades

comprenden, pero sin limitarse a, IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperfusión, lesión pulmonar aguda, heridas diabéticas y crónicas, trasplante de órganos, lesión renal aguda o enfermedades arteriales. Más preferiblemente dicha afección o enfermedad se selecciona de entre IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperfusión, lesión pulmonar aguda, trasplante de órganos, lesión renal aguda o enfermedades arteriales.

5 A efectos de la presente descripción, IBD se refiere a un grupo de afecciones inflamatorias del colon e intestino delgado. La enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa son los tipos principales de enfermedad intestinal inflamatoria, entre otros.

10 A efectos de la presente descripción, una lesión miocárdica por isquemia-reperfusión se refiere al daño tisular causado cuando el suministro sanguíneo vuelve al tejido después de un periodo de isquemia miocárdica o carencia de oxígeno (anoxia, hipoxia).

15 A efectos de la presente descripción, una lesión pulmonar aguda se refiere a una afección que se caracteriza por hipoxia aguda grave y en la que su diagnóstico se basa en la presencia de edema pulmonar no cardiogénico e de insuficiencia respiratoria, en un paciente críticamente enfermo.

20 A efectos de la presente descripción, las enfermedades infecciosas se refieren a enfermedades causadas por microorganismos patógenos, tales como bacterias, virus, parásitos u hongos, y en las que dichas enfermedades se pueden extender, directa o indirectamente, de una persona a otra.

25 A efectos de la presente descripción, las heridas diabéticas y crónicas se refieren a heridas, que pueden estar causadas por una afección diabética, que no curan en un conjunto ordenado de etapas y en una cantidad predecible de tiempo como la mayoría de las heridas. En general, las heridas que no curan en tres meses se consideran a menudo crónicas

30 A efectos de la presente descripción, una lesión renal aguda se refiere a una pérdida abrupta de la función renal por numerosas causas que se desarrolla dentro de 7 días. Dicha pérdida abrupta de función renal causa lesión en el tejido renal y está causada generalmente por flujo sanguíneo renal disminuido (isquemia renal).

A efectos de la presente descripción, las enfermedades arteriales incluyen una clase de enfermedades que involucran a los vasos sanguíneos.

35 En particular, una realización de la presente descripción divulga los compuestos de Fórmula (Ia) de la presente descripción, y composiciones farmacéuticas de los mismos, para uso en el tratamiento de una afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF, seleccionada de entre IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperfusión, lesión pulmonar aguda, heridas diabéticas y crónicas, trasplante de órganos, lesión renal aguda o enfermedades arteriales. En una realización preferida de la presente descripción, dicha afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF se selecciona de entre IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperfusión, lesión pulmonar aguda, trasplante de órganos, lesión renal aguda o enfermedades arteriales.

45 Una realización de la presente descripción también divulga los compuestos de Fórmula (Ia) de la presente descripción, y composiciones farmacéuticas de los mismos, para uso en el tratamiento de una afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF, en la que dicha afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF es una patología metabólica. En una realización preferida, dicha patología metabólica es diabetes. En otra realización preferida, dicha patología metabólica es un trastorno del metabolismo lipídico. En aún otra realización preferida, dicha patología metabólica es hiperlipidemia. En otra realización preferida, dicha patología metabólica es hipertrigliceridemia. Se ha descrito que los inhibidores de PHD2 mejoran el metabolismo de glucosa y lípidos y protegen contra la obesidad y el síndrome metabólico (Rahtu-Korpela et al. Diabetes. octubre de 2014;63(10):3324-33).

50 El término "patologías metabólicas" se refiere a patologías en las que el proceso metabólico normal se encuentra alterado.

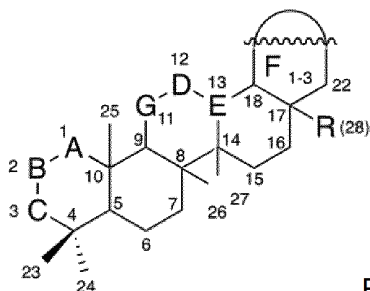
55 El término "diabetes", a efectos de la presente invención, se refiere a un grupo de trastornos metabólicos en los que están presentes niveles sanguíneos de azúcar altos durante un periodo prolongado. La diabetes se debe a una producción de insulina baja en el páncreas o a una respuesta inapropiada del cuerpo a la insulina producida.

60 "Hiperlipidemia" se refiere a una afección en la que el sujeto presenta un nivel anormalmente elevado de cualquiera, o cada uno de, lípidos, o lipoproteínas en la sangre.

"Hipertrigliceridemia" se refiere a una afección en la que el sujeto presenta niveles sanguíneos elevados de triglicéridos. Los niveles elevados de triglicéridos están asociados a aterosclerosis, incluso en ausencia de hipercolesterolemia (niveles elevados de colesterol), y predisponen a enfermedades cardiovasculares. Niveles muy altos de triglicéridos pueden aumentar el riesgo de pancreatitis aguda.

65 Compuestos adicionales, que no forman parte de la presente invención, se refieren a derivados triterpénicos de

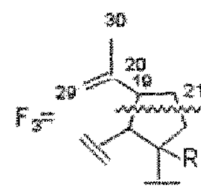
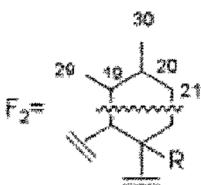
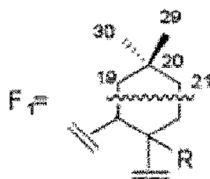
Fórmula (I) de la presente descripción, o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,



Fórmula (I)

en el que, independientemente,

- A-B se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono;
- B se selecciona de entre un metileno (-CH₂-), un metino olefínico (=CH-), un hidroximetino [-CH(OH)-], o un carbono olefínico hidroxilado [-C(OH)=];
- B-C se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono; o es parte de un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno;
- C se selecciona de entre un hidroximetino [-CH(OH)-], un aciloximetino [-CH(OCOR')-], un metino olefínico (=CH-), un carbonilo [-C(=O)-], una oxima [-C(=N-OH)-] o una hidrazona [-C(=N-NH₂)-], en el que R' es metilo;
- D-E es un enlace sencillo o doble carbono-carbono;
- F se selecciona de entre F₁, F₂ o F₃;



- G se selecciona de entre un metileno (-CH₂-) o un carbonilo [-C(=O)-]; y
- R es un grupo hidroxamato (-CONHOH);

para uso en el tratamiento de afecciones o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF.

Por lo tanto, los derivados triterpénicos de Fórmula (I) de la presente descripción son útiles en afecciones o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF, en donde, por tanto, el tratamiento de dichas afecciones o enfermedades se beneficia o responde a la activación de la ruta HIF.

Los derivados triterpénicos de Fórmula (I), tal como se da a conocer en la presente descripción, también comprenden sus análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables, tal como se ha definido anteriormente en el presente documento, a efectos de la presente descripción. En particular, los derivados triterpénicos de Fórmula (I) de la presente descripción, comprenden todos estereoisómeros, y cualquier sal farmacéuticamente aceptables o solvato farmacéuticamente

aceptables de los mismos.

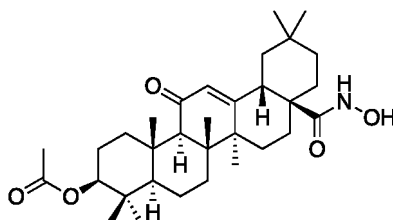
En una realización de la presente descripción, en los derivados triterpénicos de Fórmula (I), tal como se da a conocer en la presente descripción, B-C puede ser parte de un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno, y en el que dicho anillo heterocíclico es un anillo de cinco miembros.

En una realización de la presente descripción, en los derivados triterpénicos de Fórmula (I), tal como se da a conocer en la presente descripción, B-C puede ser parte de un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno, y en el que dicho anillo heterocíclico es un anillo de cinco miembros que comprende dos átomos de nitrógeno.

En una realización de la presente invención, en los derivados triterpénicos de Fórmula (I), como se describen, para uso de acuerdo con la presente invención, B-C puede ser parte de un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno, y en el que dicho anillo heterocíclico es un anillo de cinco miembros que comprende un nitrógeno y un oxígeno.

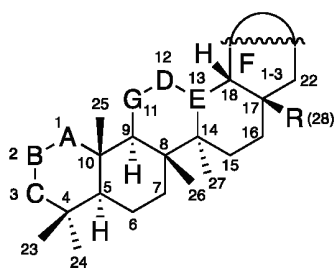
En otra realización de la presente invención, de los derivados triterpénicos de Fórmula (I) descritos para uso de acuerdo con la presente invención, cuando C es un aciloximetino [-CH(OCOR')-], el derivado triterpénico de Fórmula (I) descrito para uso de acuerdo con la presente invención es

(V)



(3β) 3-Acetiloxi-11-oxo-olean-12-en-N-hidroxi-28-amida;

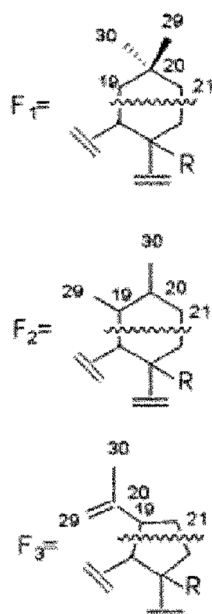
Una realización de la presente descripción, que divulga los derivados triterpénicos de Fórmula (I) de la presente descripción, se refiere al estereoisómero de los mismos de Fórmula (Ia) de la presente descripción:



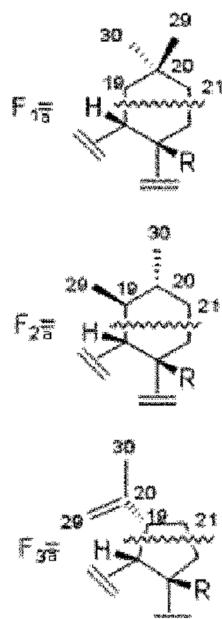
Fórmula (Ia)

donde, independientemente

- A-B se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono;
- B se selecciona de entre un metileno (-CH₂-), un metino olefínico (=CH-), un hidroximetino [-CH(OH)-], o un carbono olefínico hidroxilado [-C(OH)=];
- B-C se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono; o es parte de un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno;
- C se selecciona de entre un hidroximetino [-CH(OH)-], un aciloximetino [-CH(OCOR')-], un metino olefínico (=CH-), un carbonilo [-C(=O)-], una oxima [-C(=N-OH)-] o una hidrazona [-C(=N-NH₂)-], en el que R' es metilo;
- D-E es un enlace sencillo o doble carbono-carbono;
- F se selecciona de entre



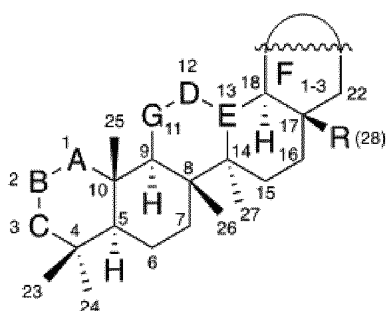
5 y en la que F₁ es F_{1a}, F₂ es F_{2a} y F₃ es F_{3a};



- G se selecciona de entre un metileno (-CH₂-) o un carbonilo [-C(=O)-]; y
- R es un grupo hidroxamato (-CONHOH);

15 para uso en el tratamiento de afecciones o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF.

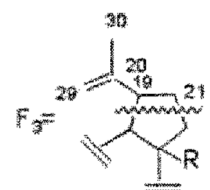
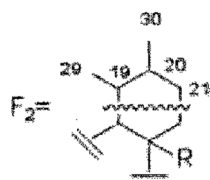
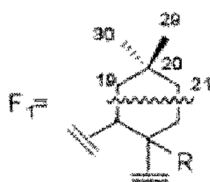
Otra realización de la presente descripción, que divulga los derivados triterpénicos de Fórmula (I) de la presente descripción, se refiere al estereoisómero de los mismos de Fórmula (Ib) de la presente descripción:



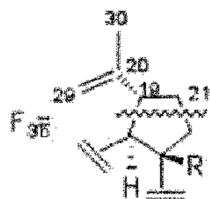
Fórmula (Ib)

en el que, independientemente,

- 5 - A-B se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono;
- B se selecciona de entre un metileno ($-\text{CH}_2-$), un metino olefínico ($=\text{CH}-$), un hidroximetino [$-\text{CH}(\text{OH})-$], o un carbono olefínico hidroxilado [$-\text{C}(\text{OH})=$];
- B-C se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono; o es parte de
- 10 un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno;
- C se selecciona de entre un hidroximetino [$-\text{CH}(\text{OH})-$], un aciloximetino [$-\text{CH}(\text{OCOR}')-$], un metino olefínico ($=\text{CH}-$), un carbonilo [$-\text{C}(=\text{O})-$], una oxima [$-\text{C}(=\text{N}-\text{OH})-$] o una hidrazona [$-\text{C}(=\text{N}-\text{NH}_2)-$], en el que R' es metilo;
- D-E es un enlace sencillo o doble carbono-carbono;
- F se selecciona de entre F_1 , F_2 o F_3 ;



y en el que, cuando F es F_3 , F_3 es F_{3b} :



para uso en el tratamiento de una afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF.

Los compuestos de Fórmula (I) de la presente descripción, o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, divulgados en la presente descripción, muestran capacidad para:

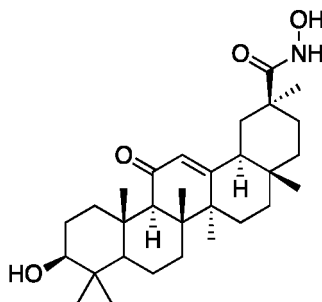
- unirse a PHD2, tal como se muestra en el Ejemplo 2 descrito a continuación en el presente documento,
- estabilizar las proteínas HIF-1 α e HIF-2 α , tal como se muestra en el Ejemplo 4 descrito a continuación en el presente documento,
- activar la ruta HIF en diferentes tipos de células, tal como se muestra en el Ejemplo 3 descrito a continuación en el presente documento,
- inducir la angiogénesis en células vasculares endoteliales humanas, tal como se muestra en el Ejemplo 5 descrito a continuación en el presente documento,
- mostrar actividad neuroprotectora *in vitro* e *in vivo*, tal como se muestra en el Ejemplo 7 descrito a continuación en el presente documento, y
- aumentar los niveles de plasma de eritropoyetina *in vivo*, tal como se muestra en el Ejemplo 6 descrito a continuación en el presente documento;
- mostrar actividad antidiabética y reducir los niveles de lípidos *in vivo*, tal como es muestra en el Ejemplo 9 descrito a continuación en el presente documento.

Dichos derivados triterpenoides también actúan de forma selectiva y no inducen la activación de Nrf2, la inhibición de NF- κ B, la inhibición de STAT3, ni la activación de TGR5, que son actividades conocidas de sus precursores triterpenoides naturales (tal como se muestra en el Ejemplo 3 de la presente descripción).

El Ejemplo 3 de la presente Invención muestra, tal como se ha mencionado anteriormente, cómo los compuestos de Fórmula (I) activan la ruta HIF en diferentes tipos de células. El Ejemplo 3 también evaluó dos compuestos comparativos XX y CDDO-ME.

El compuesto comparativo XX, derivado del ácido glicirretínico, comprende un grupo hidroxamato en la posición 20 y, por lo tanto, no en la posición 28 como los compuestos de la presente Invención.

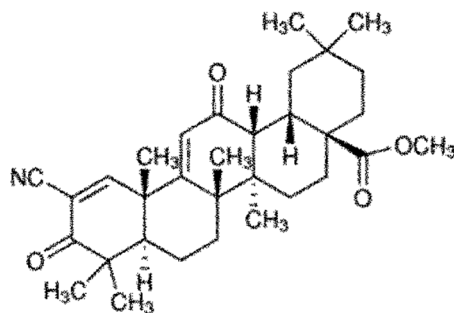
(XX)



(3 β) 3-Hidroxi-11-oxo-olean-12-en-N-hidroxi-29-amida

Los resultados del Ejemplo 3 indican que el cambio de posición del hidroxamato, de la posición 28 presente en los compuestos de la presente invención, da como resultado la ausencia de activación de la ruta HIF.

Por otro lado, el compuesto comparativo CDDO-Me (éster metílico del ácido 2-ciano-3,12-dioxo-oleana-1,9(11)-dien-28-oico, CAS num. 218600-53-4), es un derivado de ácido oleanólico, pero que incluye un grupo ciano en la posición 2 (sustituyente en posición B de la Fórmula I de la presente descripción) que es un sustituyente sustancialmente diferente de los presentados en dicha posición por los compuestos de Fórmula I descritos en la presente descripción.



CDDO-Me

Los resultados del Ejemplo 3 muestran que CDDO-Me no proporcionan activación de la ruta HIF y, por lo tanto, ninguno de los compuestos comparativos XX y CDDO-Me, que no presentan las características estructurales de los compuestos de Fórmula I de la presente descripción, proporcionan la activación de la ruta HIF.

Por lo tanto, los derivados triterpenoides definidos por la Fórmula I, dados a conocer en la presente descripción, son útiles en el tratamiento de afecciones o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF, es decir, afecciones o enfermedades cuyo tratamiento se beneficia de la activación de HIF-1 α e HIF-2 α .

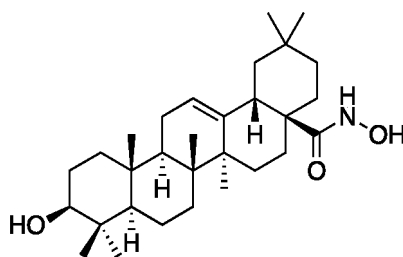
En particular, una realización de la presente descripción divulga los derivados triterpénicos de Fórmula (I) de la presente descripción, descritos anteriormente en el presente documento, para uso en el tratamiento de afecciones o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF, que comprenden, pero sin limitarse a, ictus, parálisis cerebral, lesiones traumáticas y enfermedades neurodegenerativas. Ejemplos de enfermedades neurodegenerativas incluyen, pero sin limitarse a, esclerosis múltiple, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer o enfermedad de Parkinson.

Otra realización de la presente descripción divulga los derivados triterpénicos de Fórmula (I) de la presente descripción, descritos anteriormente en el presente documento, para uso en el tratamiento de afecciones o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF, que comprenden, pero sin limitarse a, IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperusión, lesión pulmonar aguda, heridas diabéticas y crónicas, trasplante de órganos, lesión renal aguda o enfermedades arteriales. Más preferiblemente dicha afección o enfermedad se selecciona de entre IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperusión, lesión pulmonar aguda, trasplante de órganos, lesión renal aguda o enfermedades arteriales.

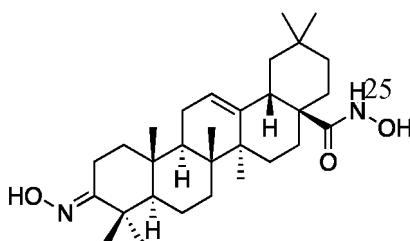
Una realización de la presente descripción también da a conocer los compuestos de Fórmula (I) de la presente descripción para uso en el tratamiento de una afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF, en la que dicha afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF es una patología metabólica. En una realización preferida de la presente descripción, dicha patología metabólica es diabetes. En otra realización preferida de la presente descripción, dicha patología metabólica es un trastorno del metabolismo lipídico. En aún otra realización preferida de la presente descripción, dicha patología metabólica es hiperlipidemia. En otra realización preferida de la presente descripción, dicha patología metabólica es hipertrigliceridemia.

Otra realización divulgada en la presente descripción se refiere a compuestos de Fórmula (I) de la presente descripción, o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, seleccionados de entre: (II), (III), (IV), (V), (VI), (VII), (VIII), (IX), (X), (XI), (XII), (XIII), (XIV) o (XV) de la presente descripción (el compuesto (IX) que no forma parte de la presente invención y compuestos (II), (VII), (VIII), (X), (XI), (XII) y (XIII) que forman parte solamente de la presente invención con respecto a su uso en el tratamiento de afecciones o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF).

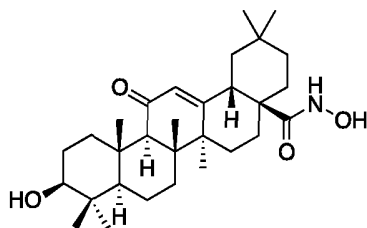
(II)

**(3 β) 3-Hidroxi-N-hidroxi-olean-12-en-28-amida**

(III)

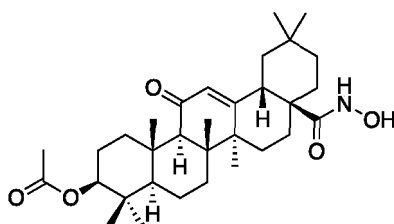
**3-Hidroxiimino-N-hidroxi-olean-12-en-28-amida**

(IV)



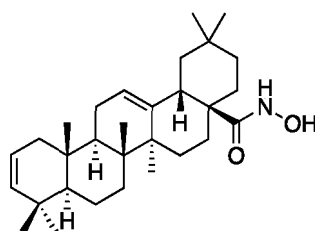
(3 β) 3-Hidroxi-11-oxo-olean-12-en-*N*-hidroxi-28-amida

(V)



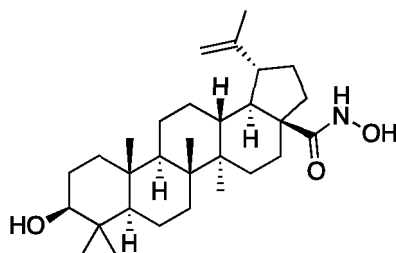
(3 β) 3-Acetiloxi-11-oxo-olean-12-en-*N*-hidroxi-28-amida

(VI)



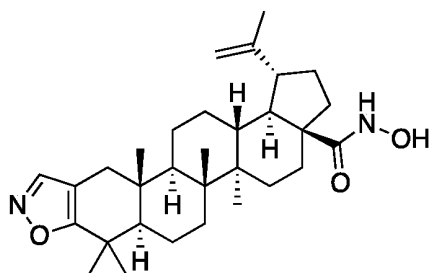
Oleana-2,12-dien-*N*-hidroxi-28-amida

(VII)



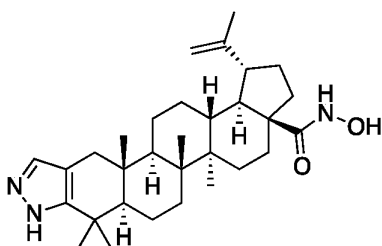
(3 β) 3-Hidroxi-*N*-hidroxi-lup-20(29)-en-28-amida

(VIII)



Lup-2-eno[2,3-d]isoxazol-*N*-hidroxi-28-amida

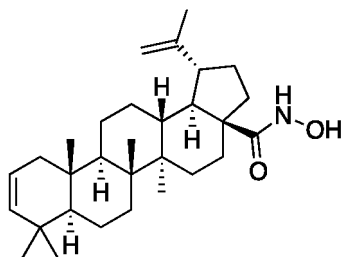
(IX)



5

1'-H-Lup-20(29)-eno[3,2-c]pirazol-*N*-hidroxi-28-amida

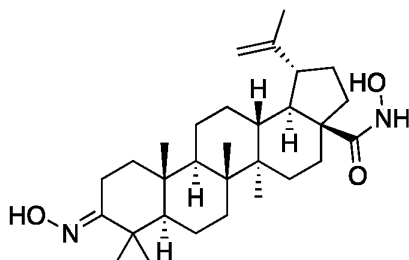
(X)



10

Lupa-2,20(29)-dien-*N*-hidroxi-28-amida

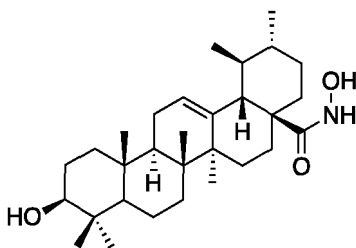
(XI)



15

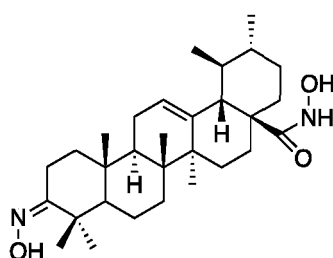
3-Hidroxiimino-*N*-hidroxi-lup-20(29)-en-28-amida

(XII)



(3 β) 3-Hidroxi-*N*-hidroxi-urs-12-en-28-amida

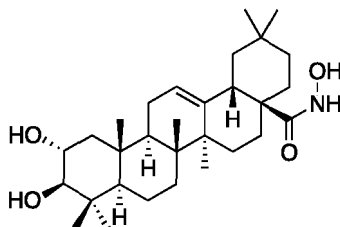
(XIII)



5

3 Hidroxiimino-*N*-hidroxi-urs-12-en-28-amida

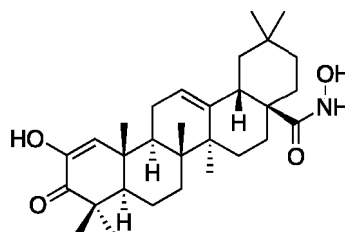
(XIV)



10

(2 α ,3 β) 2,3-Dihidroxi-*N*-hidroxi-olean-12-en-28-amida

(XV)



15

2-Hidroxi-3-oxo-oleana-1,12-dien-*N*-hidroxi-28-amida

para uso en el tratamiento de afecciones o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF.

20

Una realización preferida divulgada en la presente descripción, pero que no forma parte de la presente invención, se refiere a los compuestos de Fórmula (I) de la presente descripción, o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, seleccionados de entre (II), (III), (IV), (V), (VI), (VII), (VIII), (X), (XI), (XII), (XIII), (XIV) o (XV) de la presente descripción para uso en el tratamiento de afecciones o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF. De esta materia,, forman parte de la presente invención: (i) los compuestos de las fórmulas (III), (IV), (V), (VI), (XIV) y (XV) (tanto *per se* como con respecto a su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección que

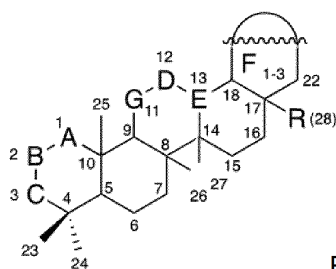
responde a la activación de la ruta HIF) y (ii) los compuestos (II), (VII), (VIII), (X), (XI), (XII) y (XIII), solamente con respecto a su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección que responde a la activación de la ruta HIF.

Los compuestos mencionados anteriormente **II** a **XV** de la presente descripción, o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, divulgados en la presente descripción, muestran capacidad de unirse a PHD2, estabilizar las proteínas HIF-1 α e HIF-2 α , activar la ruta HIF en diferentes tipos de células, inducir la angiogénesis en células vasculares endoteliales humanas, mostrar actividad neuroprotectora *in vitro* e *in vivo*, actividad antidiabética y reducir niveles de lípidos *in vivo*, y aumentar los niveles de plasma de eritropoyetina *in vivo*. Dichos compuestos de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, divulgados en la presente descripción, actúan de manera selectiva y no inducen la activación de Nrf2, la inhibición de NF- κ B, la inhibición de STAT3, ni la activación de TGR5, que son actividades conocidas de sus precursores triterpenoides naturales.

Tal como se muestra en el Ejemplo 1, partiendo de un derivado conocido de un ácido triterpénico natural (ácidos betulínico, oleanólico, ursólico, o maslínico), o de un ácido triterpénico natural en sí mismo, y finalizando con los compuestos de Fórmula general (I) de la presente descripción, se usó una ruta sintética común para convertir el grupo ácido de la posición 28 en el derivado hidroxamato, en la que, dependiendo de la funcionalización del compuesto final de Fórmula (I) de la presente descripción, se realizaron otras etapas sintéticas adicionales, para cada uno de los compuestos específicos de Fórmula (I) de la presente descripción. Los compuestos **III** a **VI** de la presente invención, y para uso de acuerdo con la presente invención, pueden ser sintetizados partiendo de derivados conocidos del ácido oleanólico natural. El compuesto **VIII** para uso de acuerdo con la presente invención, el compuesto **IX** de la presente descripción, y los compuestos **X** y **XI** para uso de acuerdo con la presente descripción, pueden ser sintetizados partiendo de ácido betulínico natural o de un derivado conocido del mismo. Los compuestos **XIV** y **XV** de la presente invención, y para uso de acuerdo con la presente invención, pueden ser sintetizados partiendo de un derivado conocido del ácido maslínico natural.

El Ejemplo 1 también describe el compuesto **XVII** de la presente descripción, el compuesto **XVIII** de la presente invención, y el compuesto **XIX** de la presente invención, que son compuestos intermedios en la síntesis de cada uno de los compuestos **XV** y **XIV** de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención, respectivamente.

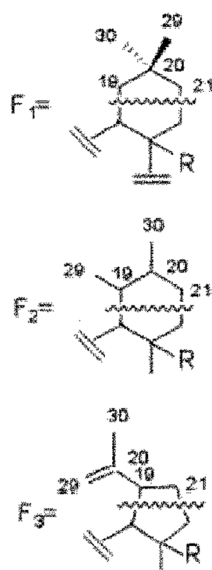
Otra realización divulgada en la presente descripción, pero que no forma parte de la presente invención, se refiere a las composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un derivado triterpénico de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo,



Fórmula (I)

en el que, independientemente,

- A-B se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono;
- B se selecciona de entre un metileno (-CH₂-), un metino olefínico (=CH-), un hidroximetino [-CH(OH)-], o un carbono olefínico hidroxilado [-C(OH)=];
- B-C se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono; o es parte de un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno;
- C se selecciona de entre un hidroximetino [-CH(OH)-], un aciloximetino [-CH(OCOR')-], un metino olefínico (=CH-), un carbonilo [-C(=O)-], una oxima [-C(=N-OH)-] o una hidrazona [-C(=N-NH₂)-], en el que R' es metilo;
- D-E es un enlace sencillo o doble carbono-carbono;
- F se selecciona de entre F₁, F₂ o F₃;



5

- G se selecciona de entre un metileno (-CH₂-) o un carbonilo [-C(=O)-]; y
- R es un grupo hidroxamato (-CONHOH);

10 para uso en el tratamiento de afecciones o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF.

Una realización de la presente descripción, que no forma parte de la presente invención, se refiere a las composiciones farmacéuticas que comprenden los derivados triterpénicos de Fórmula (I), tal como se dan a conocer en la presente descripción, donde B-C puede ser parte de un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno, y en el que dicho anillo heterocíclico es un anillo de cinco miembros.

15

Una realización de la presente descripción, que no forma parte de la presente invención, se refiere a las composiciones farmacéuticas que comprenden los derivados triterpénicos de Fórmula (I), tal como se dan a conocer en la presente descripción, donde B-C puede ser parte de un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno, y en el que dicho anillo heterocíclico es un anillo de cinco miembros que comprende dos átomos de nitrógeno.

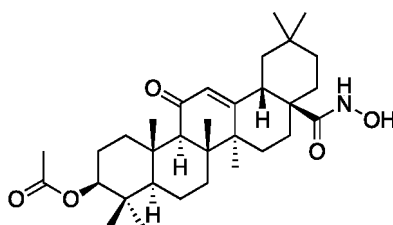
20

Una realización, que no forma parte de la presente invención, se refiere a las composiciones farmacéuticas que comprenden los derivados triterpénicos de Fórmula (I), tal como se describe para uso de acuerdo con la presente invención, donde B-C puede ser parte de un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno, y en el que dicho anillo heterocíclico es un anillo de cinco miembros que comprende un nitrógeno y un oxígeno.

25

30 En una realización de la presente invención, el derivado triterpénico para uso de acuerdo con la presente invención es

(V)



(3β) 3-Acetiloxi-11-oxo-olean-12-en-N-hidroxi-28-amida;

35

Dichas composiciones farmacéuticas, que no forman parte de la presente invención, tal como se dan a conocer en la presente descripción, que comprenden compuestos de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, tal como se dan a conocer en la presente descripción, muestran capacidad de unirse a PHD2, estabilizar las proteínas HIF-1α e HIF-2α, activar la ruta HIF en diferentes tipos de células, inducir la angiogénesis en células vasculares endoteliales humanas, mostrar actividad neuroprotectora *in vitro* e *in vivo*, actividad

40

antidiabética y reducir los niveles de lípidos *in vivo*, y aumentar los niveles de plasma de eritropoyetina *in vivo*. Dichas composiciones que comprenden compuestos de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, tal como se dan a conocer en la presente descripción, actúan de manera selectiva y no inducen la activación de Nrf2, la inhibición de NF-κB, la inhibición de STAT3, ni la activación de TGR5, que son actividades conocidas de sus precursores triterpenoides naturales.

Otra realización divulgada en la presente descripción, y que no forma parte de la presente invención, se refiere a las composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un derivado triterpénico de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, tal como se dan a conocer en la presente descripción, para uso en el tratamiento de afecciones o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF, que comprenden, pero sin limitarse a, ictus, parálisis cerebral, lesiones traumáticas y enfermedades neurodegenerativas; o para uso en el tratamiento de afecciones o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF, que comprenden, pero sin limitarse a, IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperfusión, lesión pulmonar aguda, , heridas diabéticas y crónicas, trasplante de órganos, lesión renal aguda o enfermedades arteriales. Más preferiblemente dicha afección o enfermedad se selecciona de entre IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperfusión, lesión pulmonar aguda, trasplante de órganos, lesión renal aguda o enfermedades arteriales.

Otra realización divulgada en la presente descripción, y que no forma parte de la presente invención, se refiere a las composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un derivado triterpénico de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, tal como se dan a conocer en la presente descripción, para uso en el tratamiento de una afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF, en la que dicha afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF es una patología metabólica. En una realización preferida de la presente descripción, dicha patología metabólica es diabetes. En otra realización preferida de la presente descripción, dicha patología metabólica es un trastorno del metabolismo lipídico. En aún otra realización preferida de la presente descripción, dicha patología metabólica es hiperlipidemia. En otra realización preferida de la presente descripción, dicha patología metabólica es hipertrigliceridemia.

Dichas composiciones pueden comprender, además, otro principio activo que ejerce efectos terapéuticos cuando se administra a seres humanos o animales.

Las composiciones típicas descritas en la presente descripción, y que no forman parte de la presente invención, incluyen compuestos de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, descritos en la presente descripción, junto con excipientes farmacéuticamente aceptables, que pueden ser un vehículo o un diluyente, a modo de ejemplo. Dichas composiciones pueden estar en forma de cápsula, sobrecito, papel, u otro recipiente. En la preparación de las composiciones, se pueden usar técnicas convencionales para la preparación de composiciones farmacéuticas. Por ejemplo, los compuestos de Fórmula (I) descritos anteriormente en el presente documento pueden ser mezclados con un vehículo, o ser diluidos con un vehículo, o estar encapsulados en un vehículo que puede estar en una ampolla, cápsula, sobrecito, papel, u otro recipiente. Cuando el vehículo sirve como diluyente, puede ser un material sólido, semisólido o líquido que actúa como vehículo, excipiente, o medio para el compuesto activo. Los compuestos de Fórmula (I), tal como se describen en la presente descripción, pueden estar adsorbidos sobre un recipiente sólido granular, por ejemplo, en un sobrecito. Algunos ejemplos de vehículos adecuados son agua, soluciones salinas, alcoholes, polietilenglicoles, aceite de ricino polihidroxietoxilado, aceite de cacahuete, aceite de oliva, lactosa, terra alba, sacarosa, ciclodextrina, amilosa, estearato de magnesio, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábiga, ácido esteárico o éteres de alquilo inferiores de celulosa, ácido silícico, ácidos grasos, aminas de ácidos grasos, monoglicéridos y diglicéridos de ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos de pentaeritritol, polioxietileno, hidroximetilcelulosa y polivinilpirrolidona. De forma similar, el vehículo o diluyente puede incluir cualquier material de liberación sostenida conocido en la técnica, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, en solitario o mezclado con una cera. Dichas composiciones también pueden incluir agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes conservantes, agentes edulcorantes o agentes saporíferos. Las composiciones de la invención se pueden formular para que proporcionen liberación rápida, sostenida o retardada de los compuestos de Fórmula (I) dados a conocer en el presente documento, después de su administración al paciente, empleando procedimientos bien conocidos en la técnica.

Las composiciones farmacéuticas pueden ser esterilizadas y mezcladas, si se desea, con agentes auxiliares, emulsionantes, sales para alterar la presión osmótica, tampones y/o sustancias colorantes y similares, que no reaccionen perjudicialmente con los compuestos descritos en el presente documento.

Una realización preferida dada a conocer en la presente descripción y que no forma parte de la presente invención, se refiere a la ruta de administración, que puede ser cualquier ruta que transporte eficazmente el compuesto de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, dados a conocer en la presente descripción, al sitio apropiado o deseado de acción, tal como oral, nasal, tópica, pulmonar, transdérmica o parenteral,

por ejemplo, rectal, subcutánea, intravenosa, intrauretral, intramuscular, intranasal, solución oftálmica o como ungüento.

Para la administración nasal, las composiciones pueden contener el compuesto de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, dados a conocer en la presente descripción, disueltos o suspendidos en un vehículo líquido, en particular, un vehículo acuoso, para aplicación en aerosol. El vehículo puede contener aditivos tales como agentes solubilizantes, por ejemplo, propilenglicol, tensioactivos, potenciadores de la absorción tales como lecitina (fosfatidilcolina) o ciclodextrina, o conservantes tales como parabenos.

Para preparar composiciones tópicas, el compuesto de Fórmula (I) o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, dados a conocer en la presente descripción, se incluye en un vehículo dermatológico tal como los conocidos en la técnica. La cantidad del compuesto de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, que se divulgan en la presente descripción, a administrar, y la concentración del compuesto en formulaciones tópicas, depende del vehículo, sistema de administración o dispositivo seleccionado, la condición clínica del paciente, los efectos secundarios y la estabilidad del compuesto en la formulación. Por lo tanto, el médico emplea la preparación adecuada, que contiene la concentración apropiada del compuesto de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, que se divulgan en la presente descripción, y selecciona la cantidad de formulación administrada, dependiendo de la experiencia clínica con el paciente en cuestión o con pacientes similares.

Para aplicaciones oftálmicas, el compuesto de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, dado a conocer en la presente descripción, se formula en soluciones, suspensiones, y ungüentos apropiados para uso en el ojo. Las concentraciones son habitualmente, las dadas a conocer en la presente descripción para preparaciones locales.

Para la administración oral, se pueden preparar formas de dosificación unitarias sólidas o fluidas. Para preparar composiciones sólidas, tales como comprimidos, el compuesto de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, dado a conocer en la presente descripción, se mezcla en formulaciones con ingredientes convencionales, tales como talco, estearato de magnesio, fosfato dicálcico, silicato de aluminio y magnesio, sulfato de calcio, almidón, lactosa, goma arábiga, metilcelulosa, y materiales funcionalmente similares como diluyentes o vehículos farmacéuticos.

Las cápsulas se preparan mezclando el compuesto de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, divulgados en la presente descripción, con un diluyente farmacéutico inerte, y se carga la mezcla en una cápsula de gelatina dura del tamaño apropiado. Las cápsulas de gelatina blanda se preparan por encapsulación mecanizada de una suspensión del compuesto de Fórmula (I) de la presente descripción con un aceite vegetal aceptable, vaselina líquida ligera u otro aceite inerte. Se pueden preparar formas de dosificación unitaria fluidas para administración oral tales como jarabes, elixires y suspensiones. Las formas solubles en agua se pueden disolver en un vehículo acuoso junto con azúcar, agentes saporíferos aromáticos y conservantes para formar un jarabe. Un elixir se prepara usando un vehículo hidroalcohólico (por ejemplo, etanol) con edulcorantes adecuados, tales como azúcar y sacarina, junto con un agente saporífero aromático. Se pueden preparar suspensiones con un vehículo acuoso con la ayuda de un agente de suspensión, tal como goma arábiga, tragacanto, metilcelulosa y similares.

Composiciones apropiadas para uso parenteral son evidentes para un médico de conocimiento medio en el campo técnico, tal como el uso de soluciones o suspensiones inyectables adecuadas. La composición, que es estéril, es adecuada para diversas rutas tópicas o parenterales, incluyendo intradérmica, intramuscular, intravascular, y subcutánea.

Además del compuesto de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, dado a conocer en la presente descripción, las composiciones pueden incluir, dependiendo de la composición y el modo de administración deseado, vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables, no tóxicos, que incluyen vehículos usados habitualmente para formar composiciones farmacéuticas para administración animal o humana. Los diluyentes se seleccionan de manera que no afecten indebidamente a la actividad biológica de la combinación.

Ejemplos de dichos diluyentes, que son especialmente útiles para formulaciones inyectables, son: agua, diversas soluciones salinas, soluciones de sales orgánicas o inorgánicas, solución de Ringer, solución de dextrosa, y solución de Hank. Además, la composición o formulación farmacéutica puede incluir aditivos, tales como otros vehículos; adyuvantes; o estabilizantes no tóxicos, no terapéuticos, no inmunogénicos y similares.

Además, se pueden incluir excipientes en las composiciones descritas en la presente descripción. Ejemplos incluyen, pero sin limitación, codisolventes, tensioactivos, aceites, humectantes, emolientes, conservantes, estabilizantes y antioxidantes. Se puede usar cualquier tampón farmacológicamente aceptable, tales como, tampones tris o fosfato. Cantidades eficaces de diluyentes, aditivos, y excipientes son cantidades que son eficaces para obtener una formulación farmacéuticamente aceptable en términos de solubilidad, actividad biológica, etc.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, dadas a conocer en la presente descripción pueden ser incorporadas a una microesfera. El compuesto de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, dados a conocer en la presente descripción se puede cargar en microesferas de albúmina, pudiéndose recuperar dichas microesferas en forma de polvo seco para administración nasal. Otros materiales adecuados para la preparación de microesferas incluyen agar, alginato, quitosano, almidón, hidroxietilalmidón, albúmina, agarosa, dextrano, ácido hialurónico, gelatina, colágeno, y caseína. Las microesferas se pueden producir mediante diversos procesos conocidos por el experto en la técnica tal como un proceso de secado por pulverización o en un proceso de emulsión.

Por ejemplo, se pueden preparar microesferas de albúmina añadiendo albúmina de suero de conejo en tampón fosfato a aceite de oliva con agitación para producir una emulsión de agua en aceite. Después, se añade una solución de glutaraldehído a la emulsión y la emulsión se agita para reticular la albúmina. Las microesferas se pueden aislar a continuación por centrifugación, eliminando el aceite, y las esferas se lavan, por ejemplo, con éter de petróleo seguido de etanol. Finalmente, las microesferas pueden tamizarse, recogerse y secarse por filtración.

Se pueden preparar microesferas de almidón añadiendo una solución acuosa de almidón caliente, por ejemplo, de almidón de patata, a una solución de polietilenglicol en agua calentada con agitación para formar una emulsión. Cuando se forma el sistema bifásico (con la solución de almidón como fase interior), la mezcla se enfría a continuación a temperatura ambiente con agitación continua, tras lo cual la fase interna se convierte en partículas de gel. Estas partículas se eliminan a continuación por filtración a temperatura ambiente y se suspenden en un disolvente, tal como etanol, tras de lo cual las partículas se eliminan nuevamente por filtración y se dejan secar al aire. Las microesferas se pueden endurecer mediante procesos de reticulación bien conocidos, tales como tratamiento térmico o usando agentes químicos de reticulación. Agentes adecuados incluyen dialdehídos, incluyendo glicolal, malondialdehído, succinaldehído, adipaldehído, glutaraldehído y ftalaldehído, dicetonas tales como butadiona, epíclorhidrina, polifosfato, y borato. Los dialdehídos se usan para reticular proteínas, tales como albúmina, por interacción con grupos amino, y las dicetonas forman bases de Schiff con grupos amino. La epíclorhidrina activa compuestos con grupos nucleófilos, tales como amino o hidroxilo, con un derivado epóxido.

Otra realización preferida de la descripción, y que no forma parte de la presente invención, es el esquema de dosificación de los compuestos de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, y de las composiciones que comprenden dichos compuestos, dados a conocer en la presente descripción. El término "forma de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos, por ejemplo, sujetos mamíferos, por ejemplo, seres humanos, perros, gatos, y roedores, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo, calculada para producir el efecto farmacéutico deseado junto con el diluyente, portador o vehículo farmacéutico requerido. Las especificaciones para las formas de dosificación unitaria de esta descripción están dictadas por, y dependen de, (a) las características únicas del compuesto de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, divulgados en la presente descripción, y el efecto particular a conseguir y (b) las limitaciones inherentes en la técnica de formación de formulaciones de dicho compuesto de Fórmula (I) para uso en seres humanos y animales. Ejemplos de formas de dosificación unitaria son comprimidos, cápsulas, píldoras, envases de polvo, obleas, supositorios, gránulos, sellos, cucharaditas, cucharadas, goteros, ampollas, viales, aerosoles con descargas medidas, segregados múltiples de cualquiera de los anteriores, y otras formas como se describe en la presente descripción. Las composiciones dadas a conocer en la presente descripción pueden incluirse en kits, que pueden contener una o más formas de dosificación unitaria de la composición e instrucciones para su uso en el tratamiento de una o más de las enfermedades descritas en la presente descripción.

Pueden ser usados, con las composiciones descritas en el presente documento, sistemas de administración de liberación lenta o prolongada, incluyendo cualquiera de una diversidad de biopolímeros (sistemas de base biológica), sistemas que emplean liposomas, coloides, resinas, y otros sistemas de administración poliméricos o recipientes compartimentados, para proporcionar una fuente continua o a largo plazo del compuesto terapéutico. Dichos sistemas de liberación lenta son aplicables a formulaciones para administración a través de las rutas tópica, intraocular, intraocular, oral, y parenteral.

Las composiciones comprenden una cantidad eficaz del compuesto de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, tal como se describe en la presente descripción. La dosificación de

compuestos usada, de acuerdo con la descripción, varía dependiendo del compuesto y de la afección tratada, y por ejemplo, de la edad, el peso, y la condición clínica del paciente receptor. Otros factores incluyen: la vía de administración, el paciente, la historia médica del paciente, la gravedad de la patología, y la potencia del compuesto particular. La dosis sería suficiente para mejorar los síntomas o signos de la enfermedad tratada sin producir toxicidad inaceptable al paciente. En general, una cantidad eficaz del compuesto es la que proporciona un alivio subjetivo de los síntomas o una mejora objetivamente identificable que se aprecia por un médico u otro observador cualificado.

Una realización dada a conocer en la presente descripción, y que no forma parte de la presente invención, se refiere a un método de uso de los compuestos de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, tal como se divulga en la presente descripción, en el tratamiento de afecciones o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF.

Dichos compuestos de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, tal como se divulga en la presente descripción, muestran capacidad de unirse a PHD2, estabilizar las proteínas HIF-1 α e HIF-2 α , activar la ruta HIF en diferentes tipos de células, inducir la angiogénesis en células vasculares endoteliales humanas, mostrar actividad neuroprotectora *in vitro* e *in vivo*, actividad antidiabética y reducir los niveles de lípidos *in vivo*, y aumentar los niveles de plasma de eritropoyetina *in vivo*. Dichos compuestos de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, tal como se divulga en la presente descripción, actúan de manera selectiva y no inducen la activación de Nrf2, la inhibición de NF- κ B, la inhibición de STAT3, ni la activación de TGR5, que son actividades conocidas para sus precursores triterpenoides naturales.

Otra realización divulgada en la presente descripción, y que no forma parte de la presente invención, se refiere a un método de uso de los compuestos de Fórmula (I) de la presente descripción, para tratar enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF, tales como IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperfusión, lesión pulmonar aguda, heridas diabéticas y crónicas, trasplante de órganos, lesión renal aguda o enfermedades arteriales. En una realización preferida descrita en la presente descripción, dichas enfermedades se seleccionan de IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperfusión, lesión pulmonar aguda, trasplante de órganos, lesión renal aguda o enfermedades arteriales.

Otra realización divulgada en la presente descripción, y que no forma parte de la presente invención, se refiere a un método de uso de los compuestos de Fórmula (I) de la presente descripción, en el tratamiento de una afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF, seleccionada de ictus, parálisis cerebral, lesiones traumáticas o enfermedades neurodegenerativas.

Una realización divulgada en la presente descripción, y que no forma parte de la presente invención, se refiere a un método de tratamiento de una afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF seleccionada de entre IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperfusión, lesión pulmonar aguda, heridas diabéticas y crónicas, trasplante de órganos, lesión renal aguda o enfermedades arteriales, comprendiendo dicho método administrar una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, tal como se divulgan en la presente descripción, a un individuo que necesita dicho tratamiento. En una realización preferida divulgada en la presente descripción, dichas enfermedades se seleccionan de entre IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperfusión, lesión pulmonar aguda, trasplante de órganos, lesión renal aguda o enfermedades arteriales.

Otra realización dada a conocer en la presente descripción, y que no forma parte de la presente invención, se refiere a un método de tratamiento de una afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF, comprendiendo dicho método administrar una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o análogos, derivados, formas tautoméricas, isómeros, estereoisómeros, polimorfos, sales farmacéuticamente aceptables o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, tal como se divulga en la presente descripción, a un individuo que necesita dicho tratamiento.

En una realización dada a conocer en la presente descripción, y que no forma parte de la presente invención, las afecciones o enfermedades que responden a la activación de la ruta HIF incluyen, pero sin limitarse a, ictus, parálisis cerebral, lesiones traumáticas y enfermedades neurodegenerativas. Ejemplos de enfermedades neurodegenerativas incluyen, pero sin limitación, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington o esclerosis múltiple.

Breve descripción de las figuras

Figura 1. Conformación de máxima puntuación para el ácido betulínico (Fig. 1 A) y el compuesto VII para uso de acuerdo con la presente invención (Fig. 1B), unidos a PHD2 (PDB 4BQW).

Figura 2. Ensayos de transactivación de HIF-1 α en queratinocitos HaCaT-EPO Luc. Efectos hipoximiméticos de DFX y de los compuestos II a XV, para, uso de acuerdo con la presente invención, en células HaCaT-EPO-Luc.

La concentración de los compuestos ensayados (μM) se muestra en el eje x y el porcentaje de activación de HIF-1 α se muestra en el eje y. Estas figuras muestran el efecto de DFX frente al compuesto II, para uso de acuerdo con la presente invención, los compuestos III, IV, V y VI, de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención, y los compuestos VII y XI, para uso de acuerdo con la presente invención (Fig. 2A), el compuesto VIII, para uso de acuerdo con la presente invención, el compuesto IX, de la presente descripción, los compuestos X, XII y XIII, para uso de acuerdo con la presente invención, y los compuestos XIV y XV, de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención (Fig. 2B), sobre la actividad de EPO-luc, considerando la inducción mediada por DFX (150 μM) como un 100 % de activación sobre células no tratadas.

Figura 3. Estabilización de HIF-1 α en oligodendrocitos.

Estimulación de oligodendrocitos humanos MO13.3 durante 3 horas con 150 μM de DFX o 10 μM de ácido olenolico (OA), del compuesto II, para uso de acuerdo con la presente invención, de los compuestos III, IV, V y VI, de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención (Fig. 3A), del ácido betulínico (BA), de los compuestos VII y VIII, para uso de acuerdo con la presente invención, del compuesto IX, de la presente descripción, de los compuestos X y XI, para uso de acuerdo con la presente invención (Fig. 3B), del ácido ursólico (UA), del ácido maslínico (MA), de los compuestos XII y XIII, para uso de acuerdo con la presente invención, y de los compuestos XIV y XV, de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención (Fig. 3C), para determinar la expresión de HIF-1 α y β -actina por transferencias de Western.

Figura 4. Estabilización de HIF-1 α en células 293T.

Estimulación de células renales embrionarias humanas 293 con concentraciones crecientes del compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, o con DFX (150 μM), durante 3 h. Los niveles de estado estable de las proteínas HIF-1 α , PHD1, PHD2 y β -actina se determinaron por transferencias de Western.

Figura 5. Estabilización de HIF-2 α en hIPC.

Estimulación de células precursoras humanas derivadas de islote (hIPC) con concentraciones crecientes del compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, o con DFX (150 μM), durante 3 h, y la expresión de HIF-2 α , PHD3 y β -actina determinada por transferencias de Western.

Figura 6. El compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, induce la angiogénesis.

Mediciones de la formación de tubos celulares endoteliales como modelo de angiogénesis en células vasculares endoteliales humanas fluorescentes verdes (HUVEC) cultivadas conjuntamente con fibroblastos primarios y estimuladas por separado con el compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención (1 μM), rhFGF (10 ng/ml) y VEGFA (10 ng/ml), durante 7 días. Los valores representan la media $\pm$ SEM (n = 3).

Figura 7. Influencia del compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, en eritropoyetina (EPO) *in vivo*.

EPO en plasma, medido usando un kit ELISA de EPO de ratón, en ratones macho C57BL/6 a los que se administró el compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención (30 mg/kg o 60 mg/kg) o ácido betulínico (BA) (60 mg/kg) por vía intraperitoneal. El grupo de control no recibió tratamiento. Los datos se expresan como la media $\pm$ SEM (n = 3).

Figura 8. El compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, anula la toxicidad de 3-NP en las células del cuerpo estriado Q7 y Q11.

Se pretrataron células del cuerpo estriado Q7 y Q111 con concentraciones crecientes del compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, durante 6 h y después se expusieron a 3-NP (10 mM) durante 24 h más, después de lo cual se usó la tinción de YOYO-1 para evaluar la muerte celular. La muerte celular se determinó usando el software IncuCyte HD y el tratamiento con 3-NP en solitario en células Q111 se consideró como un 100 % de muerte celular.

Figura 9. Puntuación conductual después de intoxicación con 3NP.

Ratones intoxicados con ácido 3-nitropropiónico (3-NP) se sometieron a ensayos de conducta para determinar su estado neurológico después del tratamiento con el compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención (30 mg/kg) y ácido betulínico (BA) (30 mg/kg) frente a un control de ratones no intoxicados. El agarrotamiento de los miembros posteriores, la actividad locomotora, la distonía de los miembros posteriores y la distonía troncal se puntuaron de 0 a 2 basándose en la gravedad: una puntuación de 0 indica generalmente una función normal y 2 gravemente afectada. Los valores se expresan como la media $\pm$ SEM para 6 animales por grupo.

Figura 10. Efecto del compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, sobre la pérdida neuronal.

Ratones intoxicados con ácido 3-nitropropiónico (3-NP) para determinar la degeneración del cuerpo estriado, incluyendo un control (ratones no intoxicados), 3NP, 3NP+BA y 3NP + Compuesto VII). Cuantificación de células Nissl-positivas en el cuerpo estriado de ratón. Se muestra el número promedio total de neuronas (100x de aumento). Los valores se expresan como la media $\pm$ SEM para 6 animales por grupo. Los datos se sometieron a análisis de varianza unidireccional seguido del ensayo Student-Newman-Keuls. ***P < 0,001 cuando se compara el grupo de control con el grupo 3NP y el de control. # P < 0,05 cuando se compara el grupo 3NP con el grupo 3NP + compuesto VII

Figura 11. Efecto del compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, sobre la microgliosis (Iba1⁺) y la astrogliosis (GFAP⁺) inducidas por 3NP

Ratones intoxicados con ácido 3-nitropropiónico (3-NP) para determinar la activación de la microglía y astrogliosis, incluyendo un Control (ratones no intoxicados), 3NP, 3NP+BA y 3NP + Compuesto VII. Se determinaron Iba-1 y la expresión de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) por inmunotinción de secciones cerebrales en los diferentes grupos de ratones, y la cuantificación de los diferentes marcadores se realizó con el software Image J. Se muestra el número promedio total de microglía (Iba1⁺) y astrocitos (GFAP⁺).

Figura 12. El compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, reduce la expresión sobre los ARNm del marcador inflamatorio en el cuerpo estriado.

La expresión génica de marcadores inflamatorios, incluyendo COX-2 (Fig. 12D), IL-1 β (Fig. 12B), IL-6 (Fig. 12A) e iNOS (Fig. 12C), se reguló negativamente en ratones tratados con 3NP+compuesto VII (30 mg/kg) en comparación con ratones tratados con 3NP+Vehículo. El tratamiento con ácido betulínico (BA) (30 mg/kg) también inhibió la expresión de marcadores inflamatorios. Los niveles de expresión se calcularon utilizando el método 2^{- $\Delta\Delta C_t$} . Los valores se expresan como la media $\pm$ SEM para 6 animales por grupo.

Figura 13. Efecto del compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, sobre el peso corporal, masa grasa y adiposidad en ratones sometidos a dieta rica en grasas (animales HFD).

Se alimentaron ratones con HFD durante 13 semanas y se trataron diariamente con el compuesto VII (30 mg/kg), durante 21 días, y el efecto sobre el peso corporal se monitorizó cada 3-4 días (Fig. 13A). El % de masa magra (Fig. 13B) se calcula como la proporción de todo el peso del cuerpo sin la proporción debida a la grasa. El % de masa grasa (Fig. 13C) se calcula como la proporción de grasa con respecto al peso corporal total. La masa grasa y el porcentaje de adiposidad se calcularon en la semana 15. Se evaluó la composición corporal por formación de imágenes por resonancia magnética (MRI). Los valores se expresan como la media $\pm$ SEM para 10 animales por grupo.

Figura 14. El compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, mejora la tolerancia a la glucosa (GTT) en animales HFD.

GTT de los ratones alimentados con HFD después de administración durante 3 semanas de vehículo (Control, CD) o del compuesto VII (30 mg/kg). La suma de las áreas trapezoidales entre los puntos temporales 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 min correspondientes a cada animal se sumaron para obtener el área bajo la curva (AUC). Los valores de área relativa se expresan como porcentaje relativo al AUC media de la cohorte de vehículo, que se define como del 100 %. Los valores se expresan como la media $\pm$ S.E.M (n = 6).

Figura 15. El compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, previene la hipertrigliceridemia en animales HFD.

Los niveles de triglicéridos en plasma en ratones de control y alimentados con HFD después de administración de vehículo de 3 semanas (Control, CD) o compuesto VII (30 mg/kg). Los valores se expresan como la media $\pm$ S.E.M (n = 6).

Ejemplos y ejemplos de referencia

Los ejemplos de la presente invención descritos a continuación, pretenden ilustrar sus realizaciones preferidas sin limitar su alcance de protección.

Ejemplo 1. Síntesis de derivados de triterpenoides de Fórmula (I) de la presente descripción y del compuesto comparativo XX.**Síntesis general de derivados de N-hidroxi-triterpen-28-amida de Fórmula (I) de la presente descripción (formación de hidroxamato):**

A una solución enfriada con hielo de un precursor de ácido triterpénico (1 equiv./mol) en diclorometano seco (DCM), se le añadió gota a gota cloruro de oxalilo (6 equiv./mol), y la mezcla se calentó a 40 °C durante 1,5 horas. El disolvente se eliminó al vacío, el residuo se disolvió en piridina seca o N,N-diisopropiletilamina (DiPEA), y se añadió cloruro de hidroxilamonio (6 equiv./mol). La reacción se calentó a 40 °C durante 3 horas, se interrumpió con una sol. 2 N de H₂SO₄ y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El compuesto en bruto se purificó sobre gel de sílice.

Los compuestos conocidos son identificados, cuando es posible, por medio de su número CAS.

(3 β) 3-Hidroxi-N-hidroxi-olean-12-en-28-amida (compuesto II para uso de acuerdo con la presente invención)

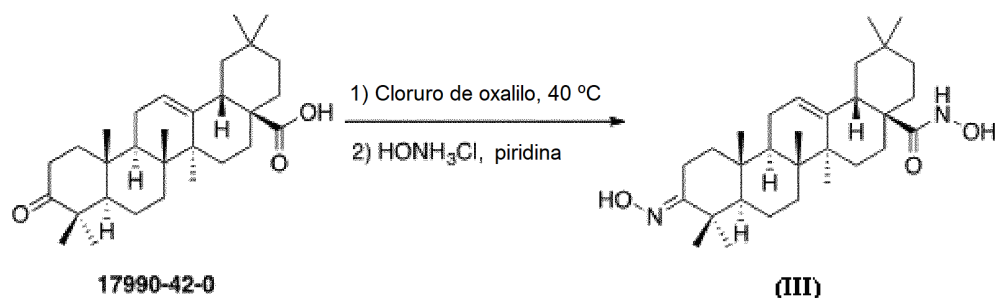
CAS num.: 1854922-22-7

Sólido de color blanquecino (60 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): d: ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): d = 5,41 (t a, 1H, H-12), 3,19 (dd, J = 10,0, 4,89 Hz, 1H), 2,44 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 2,05-1,86 (m, 3H), 1,16 (s, 3H), 0,98 (s, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,90 (s, 3H), 0,88 (s, 3H), 0,81 (s, 3H), 0,78 (s, 3H) (solamente se indican picos de detección automática); ¹³C

RMN (75 MHz, CDCl_3): δ = 176,7, 144,9, 123,9, 78,9, 55,2, 47,6, 46,4, 45,5, 42,0, 40,8, 39,5, 38,8, 38,6, 37,0, 34,0, 32,9, 32,3, 32,0, 30,7, 28,1, 27,3, 27,2, 25,84, 23,7, 23,6, 23,5, 18,3, 16,7, 15,6, 15,4.

3-Hidroxiimino-*N*-hidroxi-olean-12-en-28-amida (compuesto III de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención)

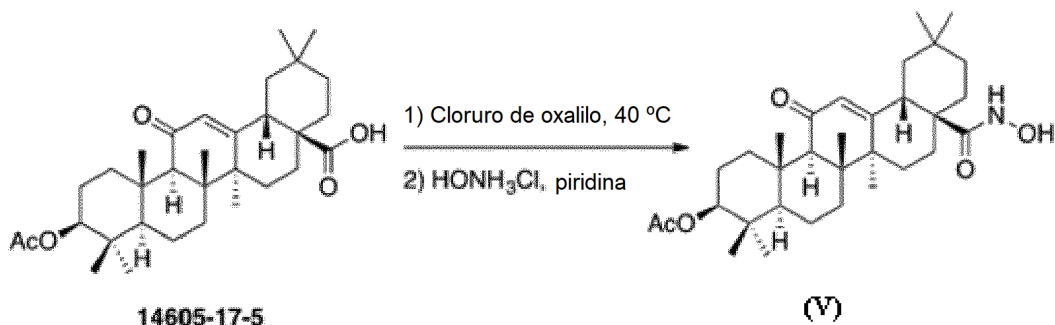
El compuesto III de la presente invención, y para uso de acuerdo con la presente invención, se obtuvo de acuerdo con el esquema sintético general descrito anteriormente en el presente documento (formación de hidroxamato), partiendo del precursor conocido CAS num. 17990-42-0:



Se realizó la formación de oxima presentada en la posición C del compuesto III, de la presente invención, y para uso de acuerdo con la presente invención, así como la formación de hidroxamato durante la misma ruta sintética general. Sólido de color blanquecino (70 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 5,43 (*t* a, 1H), 3,07 (*t* a, J = 14,9, 1H), 2,46 (*m*, 1H), 1,98 (*m*, 3H), 1,13 (*s*, 10H), 1,07 (*s*, 6H), 1,05 (*s*, 3H), 0,86 (*s*, 6H), 0,82 (*s*, 3H) (solamente se indican picos de detección automática); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ = 176,7, 167,5, 144,9, 123,8, 55,7, 47,1, 46,2, 45,5, 42,0, 40,8, 40,3, 39,4, 38,4, 37,0, 33,9, 32,9, 31,9, 30,7, 29,7, 29,2, 27,2, 25,7, 25,5, 23,7, 23,5, 23,4, 19,0, 17,3, 16,7, 14,9.

(3 β) 3-Acetiloxi-11-oxo-olean-12-en-*N*-hidroxi-28-amida (compuesto V de la presente invención, y para uso de acuerdo con la presente invención)

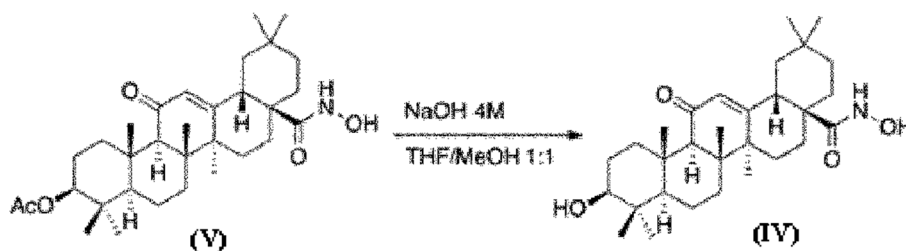
El compuesto V de la presente invención, y para uso de acuerdo con la presente invención, se obtuvo de acuerdo con el esquema sintético general descrito anteriormente en el presente documento (formación de hidroxamato), del precursor conocido CAS num. 14605-17-5:



Sólido de color amarillo pálido (75 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 5,65 (*s*, 1H), 4,47 (*dd*, J = 4,8 J = 11,0 Hz, 1H), 3,31 (*m*, 1H), 2,76 (*t*, J = 12,5 Hz, 2H), 2,32 (*s*, 1H), 2,00 (*s*, 3H), 1,12 (*s*, 3H), 0,91 (*s*, 3H), 0,88 (*s*, 6H), 0,82 (*s*, 9H) (solamente se indican picos de detección automática); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ = 200,5, 174,4, 171,2, 168,4, 127,8, 80,7, 61,9, 55,0, 45,3, 44,8, 43,6, 43,0, 40,7, 38,7, 38,0, 37,1, 33,8, 32,8, 32,6, 32,1, 30,7, 28,1, 27,3, 23,6, 23,5, 23,4, 23,1, 21,3, 19,0, 17,3, 16,7, 16,3.

(3 β) 3-Hidroxi-11-oxo-olean-12-en-*N*-hidroxi-28-amida (compuesto IV de la presente invención, y para uso de acuerdo con la presente invención)

Para obtener el compuesto IV de la presente invención, y para uso de acuerdo con la presente invención, la desacetilación del compuesto V se realizó como se indica a continuación:

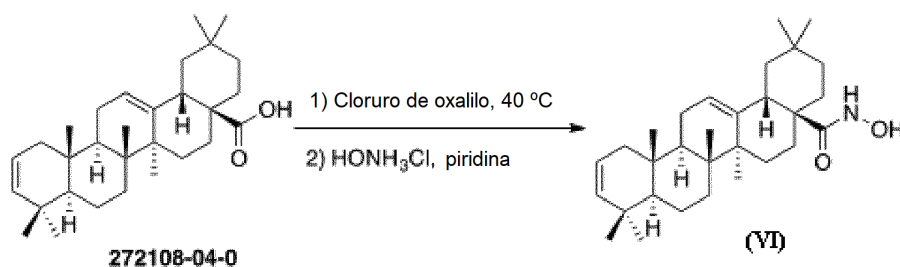


A una solución del compuesto V, (3 β) 3-Acetiloxi-11-oxo-olean-12-en-*N*-hidroxi-28-amida (1 equiv./mol) en 1:1 de THF/MeOH se le añadió NaOH 4 N (50 equiv./mol). La mezcla se calentó a 40 °C durante una noche, se inactivó con una sol. de H₂SO₄ 2 N y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El compuesto en bruto se purificó sobre gel de sílice.

Sólido de color amarillo pálido (65 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): d = 5,67 (s, 1H), 3,20 (t, *J* = 6,1 Hz, 1H), 2,74 (d, *J* = 12,2 Hz, 2H), 2,32 (s, 1H), 2,10-2,02 (*m*, 1H), 1,18 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,90 (s, 9H), 0,77 (s, 3H) (solamente se indican picos de detección automática); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) d = 200,2, 175,8, 167,9, 128,0, 78,8, 62,1, 55,0, 45,2, 44,7, 43,6, 40,9, 39,2, 37,3, 33,7, 32,8, 32,7, 32,1, 30,7, 29,7, 28,1, 27,4, 27,3, 23,7, 23,4, 23,3, 19,0, 17,5, 16,2, 15,6, 14,2.

Oleana-2,12-dien-*N*-hidroxi-28-amida (compuesto VI de la presente invención, y para uso de acuerdo con la presente invención)

El compuesto VI de la presente invención, y para uso de acuerdo con la presente invención, se obtuvo siguiendo el esquema sintético general descrito anteriormente en el presente documento (formación de hidroxamato), partiendo del precursor conocido CAS num. 272108-04-0:



Aceite de color amarillo (48 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): d = 5,43-5,32 (*m*, 3H), 2,44 (*d*, *J* = 11,3 Hz, 1H), 1,14 (s, 3H), 0,97 (s, 6H), 0,87 (s, 12H) (solamente se indican picos de detección automática); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) d = 176,4, 144,5, 138,0, 124,1, 121,3, 51,9, 46,4, 46,1, 45,5, 42,1, 41,0, 40,7, 39,5, 36,1, 34,5, 34,0, 33,0, 31,9, 31,8, 31,6, 30,7, 27,2, 25,9, 25,7, 23,8, 23,5, 22,9, 19,6, 16,3, 15,6.

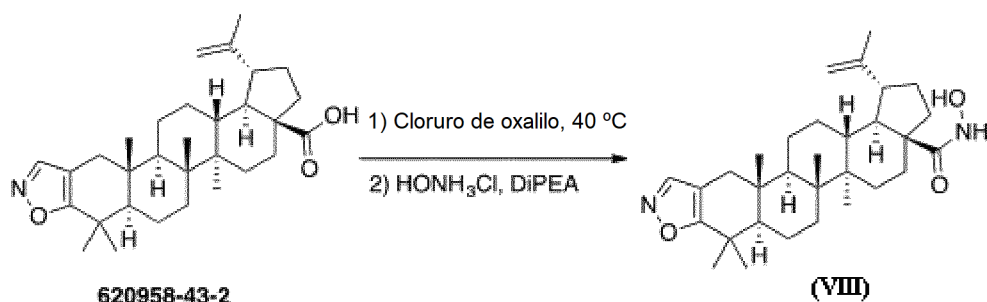
(3 β) 3-Hidroxi-*N*-hidroxi-lup-20(29)-en-28-amida (compuesto VII para uso de acuerdo con la presente invención)

CAS num.: 1822375-07-4

Sólido de color blanquecino (55 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): d: 4,73 (s, 1H), 4,60 (s, 1H), 3,20-3,15 (*m*, 1H), 3,05 (ddd, *J* = 11,4, 6, 4,49 Hz, 1H), 1,67 (s, 3H), 0,95 (s, 6H), 0,92 (s, 3H), 0,80 (s, 3H), 0,74 (s, 3H) (solamente se indican picos de detección automática); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): d: 175,2, 150,9, 108,5, 78,4, 55,7, 54,3, 50,8, 50,7, 46,7, 42,3, 40,7, 38,7, 38,2, 37,8, 37,1, 36,9, 34,3, 32,6, 30,7, 29,3, 27,8, 26,9, 25,5, 20,8, 19,2, 18,2, 16,0, 15,9, 15,2, 14,5.

Lup-2-eno[2,3-*d*]isoxazol-*N*-hidroxi-28-amida (compuesto VIII para uso de acuerdo con la presente invención)

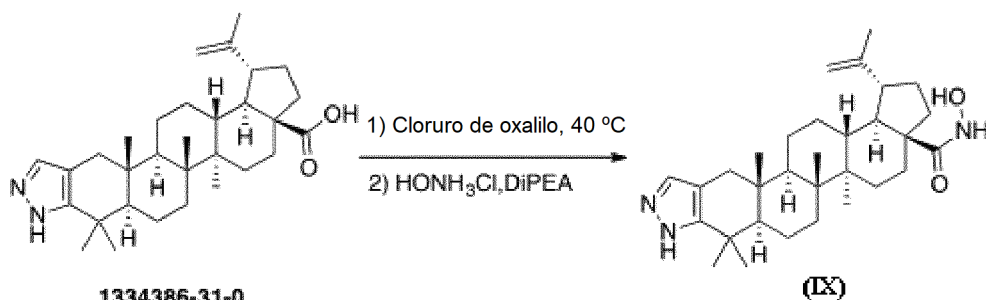
El compuesto VIII para uso de acuerdo con la presente invención, se obtuvo siguiendo el esquema sintético general descrito anteriormente en el presente documento (formación de hidroxamato), partiendo del precursor conocido CAS num. 620958-43-2:



Sólido de color blanco. ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ = 10,36 (s, 1H, NH), 8,32 (s, 1H, OH), 8,26 (s, 1H), 4,67 (s, 1H), 4,55 (s, 1H), 3,00 (t, J = 9,3 Hz, 1H), 2,61 (t, J = 12,0 Hz, 1H), 1,64 (s, 3H), 1,40 (s, 3H), 1,22 (s, 3H), 1,11 (s, 3H), 0,93 (s, 3H), 0,74 (s, 3H) (solamente se indican picos de detección automática); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ = 172,6, 151,3, 151,0, 109,9, 109,4, 54,0, 53,3, 50,6, 49,0, 48,9, 46,7, 42,4, 38,9, 37,3, 35,6, 34,8, 33,4, 32,6, 30,9, 29,0, 25,7, 21,7, 19,5, 18,7, 16,4, 16,2, 14,8.

1'H-Lup-20(29)-eno[3,2-c]pirazol-N-hidroxi-28-amida (compuesto IX de la presente descripción)

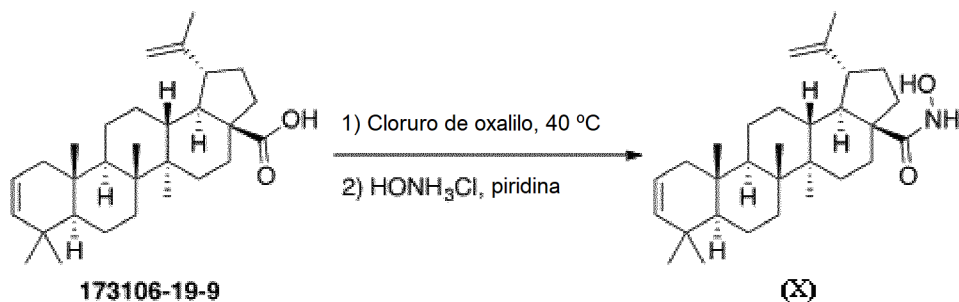
El compuesto **IX** de la presente descripción, se obtuvo de acuerdo con el esquema sintético general descrito anteriormente en el presente documento (formación de hidroxamato), partiendo del precursor conocido CAS num. 1334386-31-0:



Sólido de color amarillo pálido. ^1H RMN (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ = 7,17 (s, 1H), 4,72 (s, 1H), 4,58 (s, 1H), 3,20-3,13 (m, 1H), 2,69-2,61 (m, 1H), 1,69 (s, 3H), 1,28 (s, 3H), 1,18 (s, 3H), 1,02 (s, 3H), 0,98 (s, 3H), 0,80 (s, 3H) (solamente se indican picos de detección automática); ^{13}C RMN (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ = 172,4, 151,0, 149,1, 132,8, 111,9, 109,0, 59,7, 50,0, 53,7, 50,5, 49,2, 46,8, 42,2, 40,7, 38,6, 37,9, 37,7, 36,6, 33,5, 33,4, 32,3, 30,8, 30,6, 25,7, 23,3, 21,4, 19,1, 18,7, 15,6, 14,2, 13,7.

Lupa-2,20(29)-dien-N-hidroxi-28-amida (compuesto X para uso de acuerdo con la presente invención)

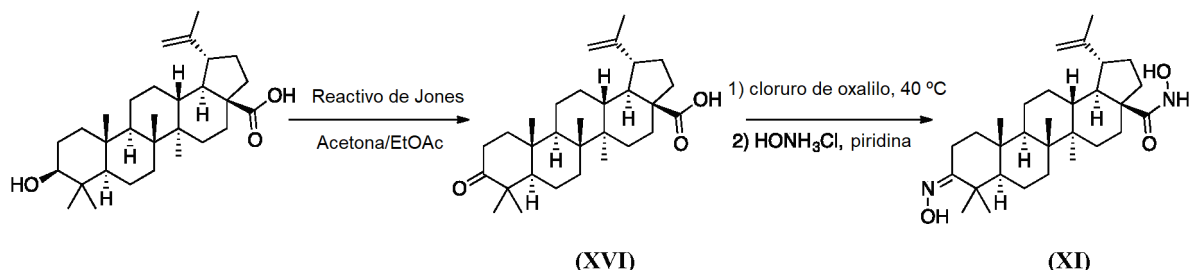
El compuesto **X** para uso de acuerdo con la presente invención, se obtuvo de acuerdo con el esquema sintético general descrito anteriormente en el presente documento (formación de hidroxamato), partiendo del precursor conocido CAS num. 173106-19-9:



Sólido de color amarillo pálido (54 %) ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 5,38-5,28 (m, 2H), 4,69 (s, 1H), 4,56 (s, 1H), 3,01 (t, J = 10,7 Hz, 1H), 2,37 (t, J = 12,1 Hz, 1H), 1,63 (s, 3H), 1,21 (s, 3H), 0,93 (s, 3H), 0,89 (s, 3H), 0,82 (s, 3H), 0,81 (s, 3H) (solamente se indican picos de detección automática); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ = 175,0, 150,5, 137,9, 121,6, 109,65, 54,3, 52,1, 50,4, 49,2, 42,3, 40,8, 38,4, 37,9, 36,4, 34,6, 33,5, 32,8, 31,7, 30,9, 30,8, 29,7, 29,3, 25,6, 22,6, 19,5, 16,4, 15,8, 14,6, 14,5, 14,3.

3-Hidroxiimino-*N*-hidroxi-lup-20(29)-en-28-amida - etapa (b) - (compuesto XI para su uso de acuerdo con la presente invención)

Antes del esquema sintético general descrito anteriormente en el presente documento (formación de hidroxamato), se llevó a cabo la conversión del grupo hidroxilo de la posición C-3 de ácido betulínico en un grupo carbonilo tal como se indica a continuación:



A una solución de ácido betulínico (1 g, 2,19 mmol) en 5:5 de acetona/EtOAc (10 ml) se le añadió reactivo de Jones hasta la desaparición del material de partida (control por TLC). La reacción se lavó con salmuera y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas se secaron sobre Na_2SO_4 y se evaporaron al vacío, y el producto en bruto se purificó sobre gel de sílice (9:1 de EP/EtOAc), 3-Oxo-lup-20(29)-en-28-ácido (compuesto XVI; CAS num.: 4481-62-3) (89 %) en forma de un sólido de color blanquecino.

Después, el compuesto XVI se usó para realizar la formación de hidroxamato siguiendo el esquema sintético general descrito anteriormente en el presente documento para obtener el compuesto XI para uso de acuerdo con la presente invención.

Sólido de color blanquecino (65 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 4,73 (s, 1H), 4,61 (t, J = 6,1 Hz, 1H), 3,04-3,00 (m, 2H), 2,32 (s, 1H), 1,68 (s, 3H), 1,24 (s, 6H), 1,22 (s, 3H), 1,12 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,91 (s, 3H) (solamente se indican picos de detección automática); 177,3, 167,3, 150,5, 109,6, 55,6, 55,0, 50,3, 50,2, 46,8, 42,5, 40,8, 40,2, 38,7, 38,2, 37,9, 37,2, 34,0, 33,3, 30,8, 29,4, 27,4, 25,6, 22,9, 21,5, 21,2, 19,4, 19,1, 16,1, 15,8, 14,6.

(3 β) 3-Hidroxi-*N*-hidroxi-urs-12-en-28-amida (compuesto XII para uso de acuerdo con la presente invención)

CAS num.: 915415-61-1

Sólido de color blanquecino (55 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 5,34 (t a, 1H, H-12), 3,18 (dd, J = 9,5, 3,9 Hz, 1H), 2,09-1,92 (m, 3H), 1,06 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,90 (d, J = 3,2 Hz, 3H), 0,87 (d, J = 7,8 Hz, 3H), 0,80 (s, 3H), 0,78 (s, 3H), 0,75 (s, 3H) (solamente se indican picos de detección automática); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3): δ = 176,8, 140,1, 126,6, 126,6, 79,0, 55,1, 52,2, 47,5, 42,4, 39,5, 39,5, 39,0, 38,8, 36,9, 28,1, 25,7, 23,3, 21,2, 17,2, 16,7, 15,7, 15,5.

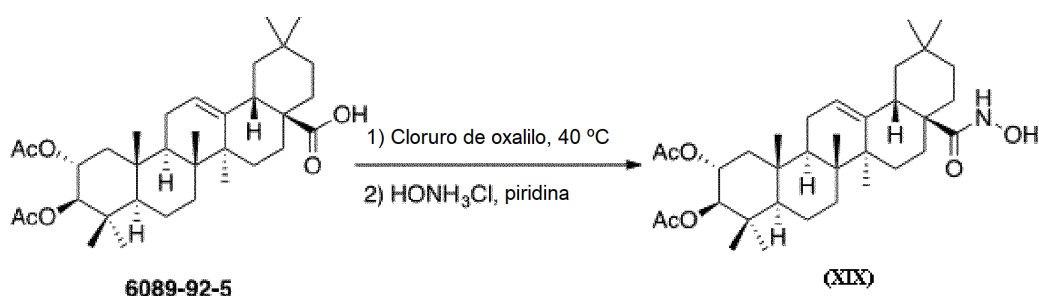
3 Hidroxiimino-*N*-hidroxi-urs-12-en-28-amida (compuesto XIII para uso de acuerdo con la presente invención)

Compuesto descrito en la patente CN102180939. Dicho compuesto se preparó a partir de ácido ursólico realizando una síntesis análoga al compuesto XI, para uso de acuerdo con la presente invención, en el que, en una primera etapa, se lleva a cabo la conversión del hidroxilo C-3 en carbonilo usando reactivo de Jones, seguido de la formación de hidroxamato de acuerdo con el esquema sintético general descrito anteriormente en el presente documento para obtener el compuesto XIII, para uso de acuerdo con la presente invención.

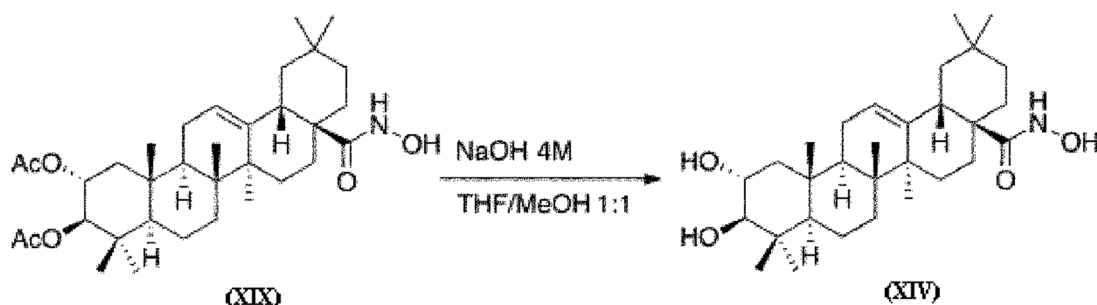
Sólido de color amarillo pálido (70 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 5,40 (t a, 1H), 3,07 (t a, J = 15,6, 1H), 2,12 (m, 1H), 1,24 (s, 3H), 1,15 (s, 3H), 1,08 (s, 3H), 1,06 (s, 3H), 1,03 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,81 (s, 3H) (solamente se indican picos de detección automática); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3): δ = 177,3, 167,7, 140,6, 126,5, 55,7, 52,1, 47,0, 42,5, 40,2, 39,6, 39,4, 39,0, 38,5, 37,0, 36,7, 32,2, 30,6, 29,7, 27,7, 27,4, 24,8, 23,5, 23,4, 23,3, 21,1, 19,0, 17,3, 17,2, 16,8, 15,1.

(2 α ,3 β) 2,3-Dihidroxi-*N*-hidroxi-olean-12-en-28-amida (compuesto XIV de la presente invención, y para uso de acuerdo con la presente invención)

El compuesto XIV de la presente invención, y para uso de acuerdo con la presente invención, se obtuvo de acuerdo con el esquema sintético general descrito anteriormente en el presente documento (formación de hidroxamato), partiendo del precursor conocido CAS num.: 6089-92-5



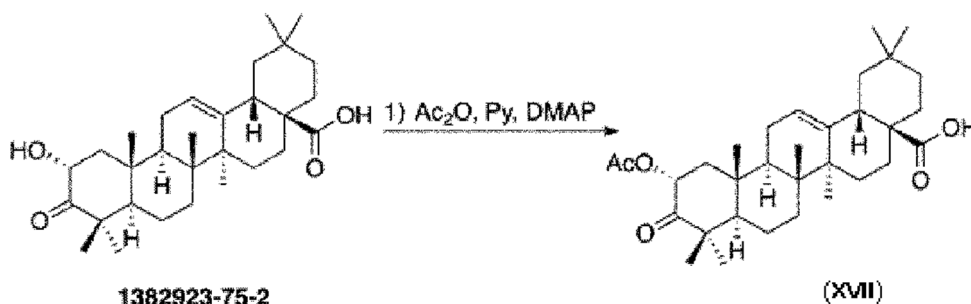
El compuesto **XIX** de la presente invención se desacetiló para obtener el compuesto **XIV** de la presente invención, y para uso de acuerdo con la presente invención:



Sólido de color blanquecino (45 %). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 5,44 (*t* a, 1H), 3,72-3,61 (*m*, 1H), 2,99 (*d*, J = 9,5 Hz, 1H), 2,45 (*d*, J = 12,2 Hz, 1H), 1,15 (*s*, 3H), 1,02 (*s*, 3H), 0,98 (*s*, 3H), 0,90 (*s*, 3H), 0,87 (*s*, 3H), 0,82 (*s*, 3H), 0,78 (*s*, 3H) (solamente se indican picos de detección automática); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3): δ = 175,9, 144,0, 123,6, 83,7, 68,2, 55,0, 47,3, 46,2, 46,1, 45,6, 41,2, 41,0, 39,0, 38,7, 37,8, 33,6, 32,6, 32,4, 32,3, 31,4, 28,5, 27,4, 27,3, 23,2, 23,1, 22,8, 18,6, 16,3, 16,5, 16,1.

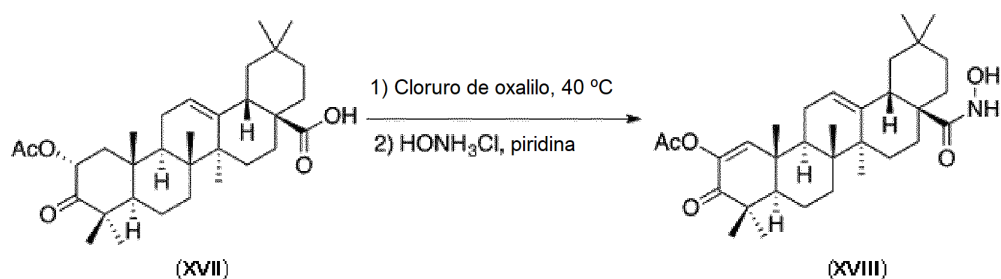
2-Hidroxi-3-oxo-oleana-1,12-dien-*N*-hidroxi-28-amida (compuesto XV de la presente invención, y para uso de acuerdo con la presente invención)

Antes del esquema sintético general descrito anteriormente en el presente documento (formación de hidroxamato), se llevó a cabo la acetilación del grupo hidroxilo de la posición C-2 de un derivado de ácido maslínico conocido con CAS num. 1382923-75-2 de la siguiente manera:

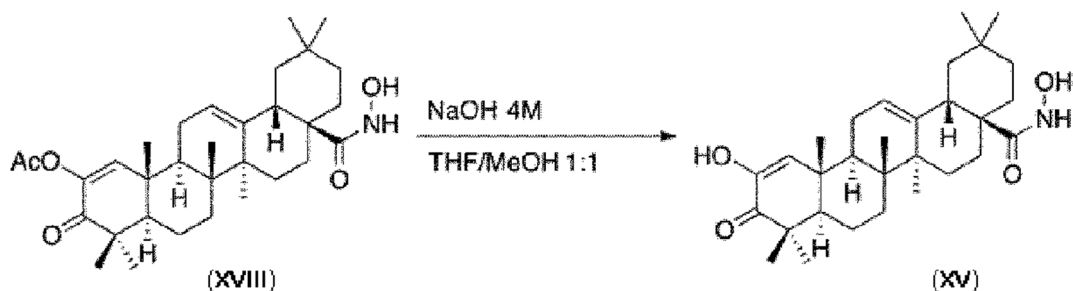


A una solución del derivado de ácido maslínico conocido (1 equiv./mol) en piridina seca (10 ml por g de ácido) se añadieron secuencialmente anhídrido acético (2 equiv./mol) y DMAP (0,1 equiv./mol). La reacción se agitó a temperatura ambiente hasta la desaparición del material de partida (control por TLC), se interrumpió con metanol, se diluyó con una sol. de H_2SO_4 2 N y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se evaporaron al vacío para dar el compuesto **XVII** sin purificación adicional.

Después, se usó el compuesto **XVII** para llevar a cabo la conversión a hidroxamato después del esquema sintético general descrito anteriormente en el presente documento como se indica a continuación:



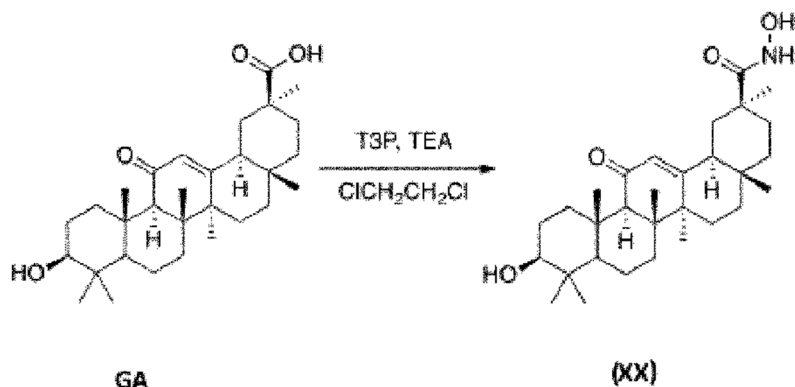
Después, se llevó a cabo la desacetilación del compuesto **XVII** para obtener el compuesto **XV** de la presente invención, y para uso de acuerdo con la presente invención, tal como se indica a continuación:



A una solución del compuesto **XVII** (1 equiv./mol) en 1:1 de THF/MeOH se le añadió NaOH 4 N (50 equiv./mol). La mezcla se calentó a 40 °C durante una noche, se inactivó con una sol. de H₂SO₄ 2 N y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas se lavaron con salmuera, y se secaron sobre Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El compuesto en bruto se purificó sobre gel de sílice.

Sólido de color amarillo pálido (69 %). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 6,31 (s, 1H), 5,47 (t a, 1H), 2,46 (d, J = 11,3 Hz, 1H), 1,20 (s, 3H), 1,19 (s, 3H), 1,13 (s, 3H), 1,10 (s, 3H), 0,88 (s, 3H), 0,86 (s, 6H), (solamente se indican los picos de detección automática); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ = 201,0, 176,4, 145,2, 143,8, 127,8, 123,2, 53,7, 46,1, 45,5, 44,0, 43,1, 42,4, 40,9, 40,1, 38,4, 33,9, 32,9, 32,0, 30,7, 27,1, 27,0, 25,8, 23,6, 23,4, 21,9, 20,8, 19,6, 18,7, 17,1, 14,2.

Ejemplo de referencia: Como compuesto comparativo, se sintetizó el compuesto **XX** a partir de ácido glicirretínico (GA) usando un protocolo T3P/trietilamina sin necesidad de grupos protectores (Ech-Chahad et al., Tetrahedron Letters 2005, 46: 5113-5115).



Ensayos in silico

Ejemplo 2. Cálculo de la afinidad de unión a PHD2 in silico.

Se obtuvieron estructuras moleculares a partir de PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) o se diseñaron con MarvinSketch (ChemAxon, Cambridge, MA). El modelo receptor usado fue la referencia PDB 4BQW. Las propiedades de unión se calcularon usando AutoDock4 (Morris et al., J. Comp. Chem. diciembre de 2009;30(16):2785-91) y el software Vina (Trott y Olson, J. Comp. Chem. 30 de enero de 2010;31(2):455-61) con la herramienta de cribado virtual PyRx (Wolf LK. Chem. & Eng. News 2009, 87) El espacio de búsqueda para el acoplamiento, alrededor de la superficie molecular receptora, se ajustó según los hallazgos anteriores sobre varios sitios de unión para diferentes ligandos PHD2 (Rabinowitz MH, J. Med. Chem. 12 de diciembre de 2013;56(23):9369-4025).

Una vez realizado el análisis, AutoDock Vina proporciona el valor de afinidad de unión estimado, que es la suma de la energía intermolecular, debida a la interacción entre ambas moléculas, y la penalización de energía libre torsional, debida a la conformación adoptada por estas moléculas para ajustar apropiadamente la superficie de interacción. Un valor negativo indica que el enlace es termodinámicamente estable, mientras que un valor positivo significa inestabilidad.

La Tabla I muestra la energía de unión a PHD2 (Kcal/mol) para los compuestos III, IV, V, VI, XIV y XV de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención, para los compuestos II, VII, VIII, X, XI, XII y XIII para uso de acuerdo con la presente invención, para el compuesto IX de la presente descripción y para los compuestos de referencia ácido oleanólico, ácido betulínico, ácido ursólico y ácido maslínico y, también, para los controles positivos (IOX-2) y negativos (ácido glicirretínico). Se muestran los valores medios de AutoDock-Vina usando la estructura 4BQW (del Protein Data Bank). Se muestran los valores promedio de tres experimentos independientes.

Tabla I. Energía de unión de triterpenoides y derivados a PDH2. Energía de unión de PHD2 (Kcal/mol). Se muestran valores medios de *AutoDock/Vina* usando la estructura 4BQW (del *Protein Data Bank*). Se muestran los valores promedio de tres experimentos independientes.

COMPUESTO	B.E. AutoDock (Kcal/mol)
Ácido oleanólico	-6,35
Compuesto II	-6,33
Compuesto III	-3,30
Compuesto IV	-6,41
Compuesto V	-3,35
Compuesto VI	-5,27
Ácido betulínico	-4,76
Compuesto VII	-6,55
Compuesto VIII	-5,77
Compuesto IX	-4,33
Compuesto X	-7,08
Compuesto XI	-6,09
Ácido ursólico	-5,74
Compuesto XII	-6,01
Compuesto XIII	-5,45
Ácido maslínico	-3,20
Compuesto XIV	-4,30
Compuesto XV	-3,57
IOX 2	-9,05
Ácido glicirretínico	-1,24

El espacio de búsqueda se restringió a un volumen de 300 Å alrededor de los residuos H313, D315, H374, R383, Y303, Y310, Y329, 1327, 1256 y M299, propuestos como sitios de unión principales, construyendo una cuadrícula que sobrepasa en 10 Å a los tres ejes (Rabinowitz MH, J. Med. Chem. 12 de diciembre de 2013;56(23):9369-4025) (**Fig. 1**). La energía de unión resultante descubierta para el Compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, fue de -6,55 Kcal/mol, K_i 15,74 μ M (a 298,15 °K), energía intermolecular -7,38 Kcal/mol y desviación del valor cuadrático medio de la posición atómica 0,0 Å, mejorando así las características de unión encontradas para el ácido betulínico, su precursor natural, con una energía de unión de -4,76 Kcal/mol.

Ensayos *in vitro* e *in vivo*

Ejemplo 3. Inducción selectiva de actividad de HIF-1 α

Para investigar las actividades biológicas de los diferentes compuestos, se realizaron ensayos de transactivación de HIF-1 α en células NIH-3T3-EPO-Luc (**Tabla II**) o en células HaCaT-EPO-luc (**Fig. 2**). Las células NIH3T3-EPO-luc y HaCaT-EPO-luc se transfectaron de forma estable con el plásmido Epo-Luc. El plásmido indicador de luciferasa del elemento respuesta a hipoxia (HRE) por EPO contiene tres copias de la secuencia consenso HRE del promotor del gen de eritropoyetina condensado al gen de luciferasa. Las células NIH3T3-EPO-luc se mantuvieron a 37 °C en una atmósfera humidificada que contenía CO₂ al 5 % en DMEM complementado con suero fetal de ternero al 10 % (FBS), y penicilina/estreptomycin al 1 % (v/v). El DFX fue adquirido en Sigma-Aldrich (EE.UU.). Se sembraron células (1x10⁴/pocillo en placas de 96 pocillos) el día antes del ensayo. Al día siguiente, las células se estimularon con concentraciones crecientes de ácido oleanólico (OA), ácido betulínico (BA), ácido ursólico (UA), ácido maslínico (MA), ácido glicirretínico (GA), los compuestos de Fórmula (I), II, VII, VIII, X, XI, XII y XIII, para uso de acuerdo con la presente invención, los compuestos III a VI, y XIV a XV, de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención, el compuesto IX de la presente descripción, o los compuestos comparativos XX y CDDO-Me. Después de seis horas de estimulación, las células se lisaron en Tris-fosfato 25 mM a pH 7,8, MgCl₂ 8 mM, DTT 1 mM, Triton X-100 al 1 %, y glicerol al 7 % durante 15 min a TA en un agitador horizontal. La actividad de luciferasa se midió usando

un luminómetro de microplaca (Berthold) siguiendo las instrucciones del kit de ensayo de luciferasa (Promega, Madison, WI, EE.UU.). Se calcularon las URL y se determinaron los valores de CE₅₀ e IRA (actividad relativa intrínseca) respecto a deferoxamina (DFX) 150 µM usando la siguiente ecuación: Coeficiente de IRA = $(CE_{50-DFX} \times E_{máx}) / (CE_{50} \times E_{máx-DFX})$, donde CE₅₀ y E_{máx} representan CE₅₀ y E_{máx} del agonista, y CE_{50-DFX} y E_{máx-DFX} representan los valores de CE₅₀ y E_{máx} del agonista estándar DFX (**Tabla II**).

Ninguno de los triterpenoides naturales (OA; ácido oleanólico, BA; ácido betulínico; UA, ácido ursólico, y MA; ácido maslínico) usados como plantillas para la síntesis de los compuestos incluidos en la presente invención pudieron activar el promotor de EPO como marcador sustitutivo de la activación de HIF-1α. Por el contrario, todos los derivados de triterpenoides de la presente invención activaron claramente la ruta HIF-1α (**Tabla II**). Además, tal como se muestra en la Tabla II a continuación, el compuesto II, para uso de acuerdo con la presente invención, y los compuestos III a VI, de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención, que son derivados de Fórmula I del ácido oleanólico, proporcionan la activación de la ruta HIF, mientras que, por el contrario, un derivado oleanólico, tal como CDDO-Me que comprende un grupo cianuro en la posición 2 (que corresponde a la posición B de la Fórmula I), no da como resultado la activación de la ruta HIF. Por lo tanto, se puede concluir que las modificaciones químicas introducidas en los compuestos descritos son cruciales para inhibir la actividad enzimática de PHD2, y como consecuencia, activar la ruta HIF, pero no para la unión de los compuestos a la proteína.

La Tabla II también muestra que GA y su compuesto derivado hidroxamato XX, no activan la ruta HIF-1α. Por lo tanto, en particular, se puede concluir que las modificaciones químicas introducidas en la posición 28 del esqueleto definido en la presente invención son cruciales para inhibir la actividad enzimática de PHD2, y como consecuencia, activar la ruta HIF, pero no para la unión de los compuestos a la proteína.

Tabla II. Ensayos de transactivación de HIF-1α en células de fibroblastos NIH-3T3-EPO Luc. La línea celular NIH3T3-EPO-luc se transfectó de forma estable con el plásmido Epo-Luc, que contenía tres copias de la secuencia consenso del elemento de respuesta a hipoxia del promotor del gen de eritropoyetina condensado con el gen de luciferasa. Se muestra la eficacia y potencia para la activación de HIF-1α.

Compuesto	Eficacia de HIF-1α (coeficiente de IRA)	CE ₅₀ de potencia de HIF-1α (µM)
OA		- (>50)
II	0,39	16,37
III	0,43	3,83
IV	0,15	11,39
V	0,16	6,71
VI	0,16	5,00
BA		- (>50)
VII	0,36	4,81
VIII	0,55	2,58
IX	0,34	2,41
X	0,48	3,24
XI	0,31	2,58
UA		- (>50)
XII	0,17	7,69
XIII	0,10	8,93
MA		- (>50)
XIV	0,10	7,10
XV	0,06	11,22
GA		- (>50)
XX		- (>50)
CDDO-Me		- (>50)

A continuación, se estudió la actividad del compuesto en otro tipo de célula, tal como la línea celular de queratinocitos HaCaT-EPO-Luc. Las células se mantuvieron a 37 °C en una atmósfera humidificada que contenía CO₂ al 5 % en DMEM complementado con suero fetal de ternera al 10 % (FBS), y penicilina/estreptomicina al 1 % (v/v). Las células (1x10⁵/pocillos en placas de 24 pocillos) se sembraron el día antes del ensayo y después se estimularon con DFX (150 µM) o con concentraciones crecientes de los compuestos II, VII, VIII, X, XI, XII y XIII, para uso de acuerdo con la presente invención, de los compuestos III a VI, y XIV a XV, de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención, y del compuesto IX de la presente descripción, durante 6 h. Después, las células se lisaron en Tris-fosfato 25 mM a pH 7,8, MgCl₂ 8 mM, DTT 1 mM, Triton X-100 al 1 %, y glicerol al 7 %. La actividad de luciferasa se midió en el lisado celular usando un lector de microplaca multimodal TriStar LB 941 (Berthold) siguiendo las instrucciones del kit de ensayo de luciferasa (Promega, Madison, WI, EE.UU.). El ensayo anterior se ilustra en la Fig. 2, que muestra los efectos hipoximiméticos de DFX y de los compuestos II, VII, VIII, X, XI y XII y XIII, para uso de acuerdo con la presente invención, de los compuestos III a VI, y XIV a XV, de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención, y del compuesto IX de la presente descripción, en células HaCaT-EPO-Luc. Los datos se dan como porcentaje de activación considerando DFX (150 µM) como el 100 % de inducción sobre células sin tratar. Se observó un aumento significativo en la actividad de luciferasa con todos los derivados de triterpenoides

en comparación con células sin tratar.

Para estudiar, además, la selectividad diana de los compuestos escritos en la presente invención se analizó el efecto de triterpenoides naturales (OA; BA, UA, y MA), de los compuestos **II, VII, VIII, X, XI, XII y XIII**, para uso de acuerdo con la presente invención, de los compuestos **III a VI**, y **XIV a XV**, de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención, y del compuesto **IX** de la presente descripción, de Fórmula (I), para uso de acuerdo con la presente invención, y del compuesto comparativo CDDO-Me, sobre la inhibición de NF- κ B, la inhibición de STAT-3, la activación de Nrf2 y la activación de TGR5. Para este estudio, se usaron las líneas celulares NIH-3T3-KBF-Luc, HeLa-STAT3-Luc, HaCaT-ARE-Luc y CHO-TGR5-CRE-luc, respectivamente. La línea celular NIH3T3-KBF-Luc se transfectó de forma estable con el plásmido KBF-Luc, que contenía tres copias del sitio de unión a NF- κ B (del promotor del complejo principal de histocompatibilidad), condensado con un promotor 40 del virus de simio mínimo que conducía al gen de luciferasa. Las células (1×10^4 /pocillo) se sembraron en placas de 96 pocillos, se trataron con concentraciones crecientes de los compuestos **II, VII, VIII, X, XI, XII y XIII**, para uso de acuerdo con la presente invención, de los compuestos **III a VI**, y **XIV a XV**, de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención, y del compuesto **IX** de la presente descripción, durante 15 min y después se estimularon con 30 ng/ml de TNF α . Después de 6 h, la actividad de luciferasa en los lisados celulares se midió tal como se ha indicado anteriormente. La URL fue calculada, y los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición de la actividad de NF- κ B inducida por TNF α (100 % de activación) (**Tabla III**).

Tabla III. Efectos sobre las rutas NF- κ B, STAT-3, Nrf2 y TGR5.

Compuesto	CI ₅₀ de NF- κ B (μ M)	CI ₅₀ de STAT3 (μ M)	CE ₅₀ de NRF2 (μ M)	CI ₅₀ de NRF2 (μ M)	CE ₅₀ de TGR5 (μ M)
OA	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)	18,90
II	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)
III	- (>50)	- (>50)	23,93	- (>50)	- (>50)
IV	- (>50)	- (>50)	10,04	- (>50)	- (>50)
V	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)
VI	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)
BA	- (>50)	- (>50)	9,02	- (>50)	22,15
VII	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)
VIII	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)	9,62
XI	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)	17,50
X	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)
XI	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)	17,50
UA	- (>50)	- (>50)	38,36	- (>50)	11,46
XII	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)	5,91
XIII	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)
MA	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)	10,19
XIV	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)	- (>50)
XV	(>50)	(>50)	(>50)	(>50)	(>50)
CDDO-Me	1,20	2,38	40,94	0,06	(>50)

Efecto de los compuestos **II, VII, VIII, X, XI, XII y XIII**, para uso de acuerdo con la presente invención, de los compuestos **III a VI**, y **XIV a XV**, de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención, y del compuesto **IX** de la presente descripción, de OA; BA, UA, MA y del compuesto comparativo CDDO-Me, sobre la inhibición de NF- κ B (CI₅₀), la inhibición de STAT-3 (CI₅₀), la activación (CE₅₀) y la inhibición (CI₅₀) de Nrf2 y la activación de TGR5 (CE₅₀), se usaron las líneas celulares NIH-3T3-KBF-Luc, HeLa-STAT3-Luc, HaCaT-ARE-Luc y CHO-TGR5-CRE-luc respectivamente. Se muestran los datos de CI₅₀ y CE₅₀.

Las células HeLa-STAT3-luc se transfectaron de forma estable con el plásmido 4xM67 pTATA TK-Luc. Las células (20×10^3 células/ml) se sembraron en placas de 96 pocillos, se trataron con concentraciones crecientes de los compuestos **II, VII, VIII, X, XI, XII y XIII**, para uso de acuerdo con la presente invención, **III a VI**, y **XIV**, de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención, del compuesto **IX** de la presente descripción, y del compuesto comparativo CDDO-Me, durante 15 min y después se estimularon con 25 IU/ml de IFN- γ . Después de 6 h, la actividad de luciferasa en los lisados celulares se midió como se ha indicado anteriormente. Se calculó la URL, y los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición de la actividad de STAT3 inducida por IFN- γ (100 % de activación) (**Tabla III**). La línea celular HaCaT-ARE-Luc contiene el plásmido indicador del elemento de respuesta a antioxidante Nqo1 (ARE)-Luc. ARE se activa por todos los miembros de la familia CNC de los factores (Nrf1, Nrf2, Nrf3 y p45 NF-E2). Las células se cultivaron en placas de 96 pocillos a la concentración de 25×10^3 células/pocillo en una incubadora de CO₂ a 37 °C. Para la inducción de la activación de Nrf2, las células se trataron con concentraciones crecientes de los compuestos **II, VII, VIII, X, XI, XII y XIII**, para uso de acuerdo con la presente invención, de los compuestos **III a VI**, y **XIV a XV**, de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención, del compuesto **IX** de la presente descripción, y del compuesto comparativo CDDO-Me, durante 6 h. Como control positivo, las células se trataron con 0,02 mM del antioxidante *tert*-butil-hidroquinona (TBHQ). La actividad de luciferasa en los lisados celulares se midió tal como se ha indicado anteriormente y la CE₅₀ se calculó (**Tabla III**). Las células CHO-TGR5-CRE-Luc se transfectaron de forma estable con pTGR5 y CRE-Luc. La construcción de luciferasa sensible a CRE codifica el gen

indicador de luciferasa de luciérnaga bajo el control de un promotor mínimo (m)CMV y el tándem repite el elemento de respuesta transcripcional (TRE) de CRE y es útil para monitorizar las rutas de señalización de AMPc activadas por agonistas de TGR5. Las células (1×10^4 /pocillo) se sembraron en placas de 96 pocillos, y se trataron con concentraciones crecientes de los compuestos **II**, **VII**, **VIII**, **X**, **XI**, **XII** y **XIII**, para uso de acuerdo con la presente invención, de los compuestos **III** a **VI**, y **XIV** a **XV**, de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención, del compuesto **IX** de la presente descripción, y de CDDO-Me, durante 6 h. Como control positivo, las células se trataron con 10 μ M de LCA (ácido litocólico). La actividad de luciferasa en los lisados celulares se midió tal como se ha indicado anteriormente y fue calculada la CE50 (Tabla III).

Ninguno de los compuestos inhibió las rutas NF- κ B y STAT3 inducidas por TNF α e IFN γ respectivamente. Además, ninguno de los compuestos activó la ruta Nrf2, y, solamente los compuestos **VIII**, **XI** y **XII**, para uso de acuerdo con la presente invención, mostraron actividad agonista de TGR5 (Tabla III). Por el contrario, CDDO-Me inhibió claramente las rutas de señalización NF- κ B y STAT-3 y activó la ruta Nrf2. Este resultado demostró, además, que el grupo cianuro es crucial para algunas actividades biológicas, pero no se requiere para activar la ruta HIF-1 α (Tabla III).

Ejemplo 4. Los derivados de triterpenoides estabilizan HIF-1 α e HIF-2 α

Para adquirir información sobre la regulación de la estabilización de HIF-1 α por los compuestos descritos en la presente invención se investigó el efecto en la expresión de HIF-1 α en diferentes tipos de células. Se estimularon oligodendrocitos humanos MO13.3 durante 3 h con DFX 150 μ M o 10 μ M de ácido olenolico (OA), del compuesto **II**, para uso de acuerdo con la presente invención, de los compuestos **III**, **IV**, **V** y **VI**, de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención (Fig. 3A), del ácido betulínico (BA), de los compuestos **VII** y **VIII**, para uso de acuerdo con la presente invención, del compuesto **IX** de la presente descripción, de los compuestos **X**, y **XI**, para uso de acuerdo con la presente invención (Fig. 3B), del ácido ursólico (UA), del ácido maslínico (MA), de los compuestos **XII** y **XIII**, para uso de acuerdo con la presente invención, y de los compuestos **XIV** y **XV**, de la presente invención y para uso de acuerdo con la presente invención (Fig. 3C). Después de eso, las células se lavaron con PBS y se incubaron en 50 μ l de tampón NP-40 (Tris-HCl 50 mM a pH 7,5, NaCl 150 mM, glicerol al 10 % y NP-40 al 1 %) complementado con NaF 10 mM, Na₃VO₄ 1 mM, 10 μ g/ml de leupeptina, 1 μ g/ml de pepstatina y aprotinina, y 1 μ l/ml de PMSF saturado. Después de la centrifugación, los sobrenadantes se mezclaron con tampón de muestra SDS y se hirvieron a 95 °C. Las proteínas se sometieron a electroforesis en gel de dodecilsulfato sódico poliacrilamida al 8-10 % (SDS-PAGE) y se transfirieron a membranas de difluoruro de polivinilideno (20 V y 30 min por membrana). Después del bloqueo con leche desnatada o BSA en tampón TBST, se añadieron anticuerpos primarios. Las membranas lavadas se incubaron con anticuerpos secundarios apropiados acoplados a peroxidasa de rábano picante que fueron detectados por un sistema de quimioluminiscencia potenciada (USB). El anticuerpo contra HIF-1 α (610959) era de BD Biosciences, y el anticuerpo anti- β -actina (AC-74) se adquirieron en Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, EE.UU.).

Todos los compuestos descritos en la presente invención elevaron el nivel de proteína HIF-1 α en condiciones de normoxia (21 % de O₂). El grado de inducción fue comparable al de desferrioxamina (DFX), un quelante de hierro conocido para estabilizar HIF-1 α (Fig. 3A, 3B y 3C).

A continuación, se estimularon las células renales embrionarias humanas 293 (293T) con concentraciones crecientes de compuesto **VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, o con DFX (150 μ M), durante 3 h. Después de esto, se llevó a cabo el aislamiento de proteínas y las transferencias de western como en la Fig. 3. El anticuerpo contra HIF-1 α (610959) usado fue de BD Biosciences (EE.UU.), los anticuerpos anti-PHD1 (ab80361) y anti-PHD2 (ab109088) de Abcam (Cambridge, RU), y el anticuerpo anti- β -actina (AC-74) se adquirió en Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, EE.UU.).

Los resultados muestran claramente que el compuesto **VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, como representante de los compuestos descritos para uso de acuerdo con la presente invención, estabilizó la expresión de HIF-1 α sin afectar a la expresión de PDH1 y PDH2 (Fig. 4).

Dado que PDH2 y PDH3 también regulan la expresión de HIF-2 α , se investigó el efecto del compuesto **VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, sobre la estabilización de HIF-2 α en células precursoras humanas derivadas de islote (hIPC) obtenidas en Innoprot SL (España) (referencia p10472). Las hIPC se estimularon con concentraciones crecientes del compuesto **VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, o con DFX (150 μ M), durante 3 h. A continuación, se llevó a cabo el aislamiento de proteínas y las transferencias de western como en la Fig. 3. Los anticuerpos contra HIF-2 α (ab8365) y PHD3 (ab30782) fueron de Abcam (Cambridge, RU), y el anticuerpo anti- β -actina (AC-74) se adquirió en Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, EE.UU.). (Fig. 5).

Los resultados muestran claramente que el compuesto **VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, como representante de los compuestos descritos en la presente invención, estabilizó la expresión de HIF-2 α sin afectar a la expresión de PHD3 (Fig. 5).

En conjunto, los resultados indican que el compuesto **VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, se une a PDH2 inhibiendo su actividad, y como consecuencia, los niveles de proteínas HIF-1 α e HIF-2 α se estabilizan.

Ejemplo 5. El compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, induce la angiogénesis.

Para ensayar las consecuencias funcionales del compuesto **VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, se midió la formación de tubos celulares endoteliales en un modelo fisiológico, como modelo de angiogénesis. Se suministró CellPlayer™ GFP AngioKit-96 (Essen BioScience Inc., Welwyn Garden City, RU) como cocultivos de crecimiento de matriz humana (fibroblasto dérmico humano normal, NHDF) y células endoteliales (HUVEC) en las etapas más tempranas de formación de túbulos. Se realizó un ensayo de angiogénesis cinético de 96 pocillos CellPlayer según el protocolo del fabricante. En resumen, se cocultivaron HUVEC de proteína fluorescente verde infectada por lentivirus (GFP) con fibroblastos dérmicos humanos normales en una microplaca de 96 pocillos. La placa se puso en IncuCyte, y se adquirieron automáticamente imágenes, tanto en fase, como en fluorescencia cada 6 horas durante 7 días. El día 1, el compuesto **VII** (1 y 2,5 μ M) o VEGF (10 ng/ml) fueron añadidos a las redes de tubos endoteliales y se mantuvieron durante todo el experimento. La formación de tubos durante el ensayo de 7 días se cuantificó usando el módulo de análisis Essen BioScience Angiogenesis. Este módulo proporciona métricas de ensayos múltiples, incluyendo la longitud de tubo y la formación de puntos de ramificación, que son usadas para evaluar efectos angiogénicos en la formación de redes. En resumen, las imágenes fluorescentes se analizaron para generar una máscara de segmentación que recuerda mucho a la red *in vitro*. Después, la máscara se refinó para identificar especialmente sucesos formadores de tubos, y la respuesta cinética se representó usando el software IncuCyte y GraphPad Prism (La Jolla, CA).

En la **Fig. 6** se muestra que el compuesto **VII** 1 μ M, así como los controles positivos (rFGF; 10 ng/ml y VEGFA; 10 ng/ml) aumentaron significativamente la longitud de red en células HUVEC.

Ejemplo 6. El compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, aumenta los niveles plasmáticos de eritropoyetina (EPO).

La eritropoyetina (EPO) es uno de los genes diana de HIF más sensibles y descritos más tempranamente; regulándose positivamente a nivel de transcripción. Aquí, se examinó la capacidad del compuesto **VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, para regular los niveles de EPO *in vivo*. Se trataron ratones macho C57BL/6 de 16 semanas por vía intraperitoneal (i.p.) con ácido betulínico (60 mg/kg) o compuesto **VII** (30 mg/kg o 60 mg/kg). Se tomaron muestras de sangre, con anestesia general, 4 horas después del tratamiento y se cualificaron los niveles circulantes de EPO en plasma usando un kit ELISA de EPO de ratón (R&D Systems) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los valores de EPO representan la media $\pm$ SEM (n = 3).

Tal como se muestra en la **Fig. 7**, la administración *in vivo* del compuesto **VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, como representante de los compuestos descritos para uso de acuerdo con la presente invención, en ratones (30 y 60 mg/kg/día) aumentó fuertemente los niveles plasmáticos de EPO en circulación. Por el contrario, el ácido betulínico (BA), precursor del compuesto **VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, no influyó en los niveles plasmáticos de EPO.

Ejemplo 7. Efecto del compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, sobre la citotoxicidad inducida por 3-NP en células del cuerpo estriado, y en la prevención de la enfermedad de Huntington inducida por 3-NP en ratones.**7.1: Efecto del compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, sobre la citotoxicidad inducida por 3-NP en células del cuerpo estriado**

Para investigar si la activación de HIF en células Q7 y Q111 del cuerpo estriado es suficiente para proteger neuronas del cuerpo estriado (proporcionan neuroprotección), se investigó el efecto del compuesto **VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, sobre la muerte inducida por 3-NP. En particular, se estudió el efecto del pretratamiento durante 6 h con el compuesto **VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, sobre 24 h de exposición a ácido 3-nitropropiónico (3-NP) en células *STHdh*^{Q7/Q7} (Q7 del cuerpo estriado) y *STHdh*^{Q111/Q111} (Q111 del cuerpo estriado).

Las células *STHdh*^{Q111/Q111} expresan una forma mutada de la proteína huntingtina y las células *STHdh*^{Q7/Q7} expresan la forma de tipo silvestre de esta proteína. Las líneas celulares del cuerpo estriado clonales establecidas de células estriadas primordiales E14 de crías de camada de ratones dotados genéticamente de células *Hdh*^{Q111/Q111} (mutante) y *Hdh*^{Q7/Q7} (de tipo silvestre) usando un retrovirus de replicación defectuoso que transducía el antígeno T grande tsA58/U19 (Trettel F. et al., Hum Mol Genet. 2000; 9:2799-2809). Células Q7 y Q111 del cuerpo estriado se mantuvieron en medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) conteniendo D-glucosa 25 mM, L-glutamina 1 mM, suero fetal bovino al 10 % (FBS), piruvato de sodio 1 mM, y 400 μ g/ml de Geneticina y se incubaron a 33 °C con CO₂ al 5 %.

El ácido 3-nitropropiónico (3-NP) es un inhibidor potente e irreversible de la enzima del complejo II mitocondrial y conduce a una disfunción mitocondrial y estrés oxidativo.

Las células *STHdh*^{Q7/Q7} y *STHdh*^{Q111/Q111} (10⁴ células/pocillo en placas de 96 pocillos) se incubaron con YOYO-1 (Life Technologies) y después se trataron con 3-NP (10 mM) y/o DFX (50 μ M) como control positivo para la inhibición de

PHD. YOYO-1 se diluye en el medio de cultivo celular y añadido a una concentración final de 0,1 μ M, tanto en pocillos experimentales como de control. YOYO-1 es una tinción de cianina impermeable para ácido nucleico dimérico celular que solo puede entrar en las células por una membrana plasmática comprometida y teñir de forma fluorescente el ADN nuclear. La captación de YOYO-1 por las células dañadas se correlaciona con el aumento de la fluorescencia de YOYO-1. Las células tratadas se colocan en un sistema de imagen Incucyte FLR, y la fluorescencia de YOYO-1 se mide después de 24 h de tratamiento con 3-NP. Después del periodo de incubación, el análisis de recuento de objetos se realizó utilizando el software Incucyte FLR para calcular el número total de células positivas para fluorescencia YOYO-1 y el total de objetos que contenían ADN (punto final). El índice de citotoxicidad se calcula dividiendo el número de objetos positivos para fluorescencia YOYO-1 por el número total de objetos que contenían ADN para cada grupo de tratamiento y se convirtió en el porcentaje de muerte celular.

Las células *STHdh^{Q111/Q111}* fueron más sensibles que las células *STHdh^{Q7/Q7}* a la exposición a 3-NP y el compuesto **VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, claramente proporcionó un nivel significativo de neuroprotección contra la citotoxicidad inducida por 3-NP (**Fig. 8**). Aunque en menor medida, DFX también protegió a las células de la actividad citotóxica de 3-NP.

7.2: Prevención de la enfermedad de Huntington inducida por 3-NP en ratones

La intoxicación de ratones con ácido 3-nitropropiónico (3-NP) da como resultado una miríada de efectos neurológicos, bioquímicos e histológicos que recuerdan a algunos aspectos de la patología de la enfermedad de Huntington (HD). Los ratones tratados con 3NP exhibieron altas puntuaciones en el agarrotamiento de las extremidades posteriores, distonía, cifosis y en general la actividad locomotora en comparación con los animales de control (no intoxicados con 3-NP).

Se indujo neurodegeneración estriada en ratones macho C57BL/6 de 16 semanas de edad (Harlan Ibérica, Barcelona, España) mediante seis inyecciones intraperitoneales (i.p.) de ácido 3-nitropropiónico (3NP) (30 mg/kg; una inyección cada vez cada 12 h preparada en PBS). Los animales tratados con 3NP y el grupo de control no lesionado (inyectado con PBS) fueron usados para estudios farmacológicos con ácido betulínico (30 mg/kg) y el compuesto **VII** (30 mg/kg), para uso de acuerdo con la presente invención. Los tratamientos consistieron en 5 inyecciones i.p. cada 24 h con 50 mg/kg de los compuestos de ensayo o vehículo (DMSO al 10 % más Tween 20 al 6,2 % en tampón de solución salina), con una primera inyección 24 h antes de la primera inyección de 3NP y el resto de las dosis 30 min antes de las inyecciones de 3NP. Los ratones se sometieron a pruebas de comportamiento para determinar su estado neurológico. Se evaluó la actividad locomotora general, el agarrotamiento y la distonía de las extremidades posteriores, y la distonía del tronco. Todas las pruebas conductuales se realizaron antes de las inyecciones del fármaco para evitar efectos agudos de los compuestos en investigación. Todas las pruebas de comportamiento se realizaron antes de las inyecciones del fármaco para evitar efectos agudos de los compuestos en investigación, y todos los animales se sacrificaron 12 h después de la última inyección de 3NP. Una vez sacrificados, los animales fueron diseccionados y sus cerebros fueron extraídos rápidamente. El hemisferio derecho se utilizó para diseccionar el cuerpo estriado, que se congeló rápidamente en RNAlater (Sigma-Aldrich, Alemania) para analizar los marcadores inflamatorios mediante PCR en tiempo real. El hemisferio izquierdo se fijó en paraformaldehído recién preparado al 4 % (en una solución salina tamponada con fosfato 0,1 M) durante 48 horas a 4 °C y se incluyó en cera de parafina para su análisis histológico.

La **Fig. 9** muestra que el **compuesto VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, alivió claramente los síntomas clínicos inducidos por la intoxicación por 3-NP. El ácido betulínico (BA) también mostró cierta actividad neuroprotectora, aunque en menor medida.

A continuación, también se usó el parénquima del cuerpo estriado de ratones lesionados con 3NP para el análisis de algunos marcadores histológicos y moleculares relacionados con la inflamación y la neurodegeneración, que se ven afectados en este modelo experimental. El parénquima del cuerpo estriado de estos animales tratados con 3NP mostró una reducción importante en las células teñidas con Nissl, lo cual indica un grado importante de muerte neuronal causada por 3NP, que fue evitada claramente por el tratamiento con el compuesto **VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, pero no por ácido betulínico (BA) (**Fig. 10**).

Además, la neuroprotección mediada por el compuesto **VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, se asoció con microgliosis y astrogliosis inducidas por 3NP reducidas, según lo determinado por la inmunohistoquímica de Iba1 y GFAP (**Fig. 11**). Para este ensayo, se usaron ratones intoxicados con ácido 3-nitropropiónico (3-NP) para determinar la activación de la microglía y la astrogliosis, incluyendo un control con ratones no intoxicados (3NP, 3NP+BA y 3NP+Compuesto **VII**). Iba-1 y la expresión de la proteína ácida glial fibrilar (GFAP) se determinaron mediante inmunotinción de secciones del cerebro a través de diferentes grupos de ratones. La cuantificación de los diferentes marcadores se realizó con el software Image J. El número promedio total de microglía (Iba1⁺) y astrocitos (GFAP⁺) se muestra en la **Fig. 11**.

Finalmente, la expresión de las enzimas inflamatorias COX-2 e iNOs se reguló positivamente de forma significativa en ratones lesionados con 3NP en paralelo al aumento de la expresión de las citocinas proinflamatorias IL-1 β e IL-6. La expresión de ARNm para COX-2 (**Fig. 12D**), IL-1 β (**Fig. 12B**), IL-6 (**Fig. 12A**) e iNOS (**Fig. 12C**), se reguló

negativamente en ratones tratados con 3NP+compuesto **VII** (30 mg/kg) en comparación con ratones tratados con 3NP+vehículo. El tratamiento con ácido betulínico (BA) (30 mg/kg) también inhibió la expresión de marcadores inflamatorios (tal como se muestra en la **Fig. 12**). Los niveles de expresión se calcularon utilizando el método $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Los valores se expresan como medias $\pm$ SEM para 6 animales por grupo

Ejemplo 8. PCR cuantitativa en tiempo real utilizada en la invención (ejemplo 7).

El ARN total se aisló a partir del cuerpo estriado (modelo 3NP) usando el mini kit de tejidos lipídicos RNeasy (Qiagen, GmbH). La cantidad total de ARN extraído se cuantificó por espectrometría a 260 nm y su pureza a partir de la relación entre los valores de absorbancia a 260 y 280 nm. Se eliminó el ADN genómico para eliminar la contaminación por ADN. El ADN complementario monocatenario se sintetizó a partir de hasta 1 μ g de ARN total (grupo de al menos 3 animales por grupo) usando el kit de síntesis de ADNc iScript™ (Bio-Rad, Hercules, CA, EE.UU.). La mezcla de reacción se mantuvo congelada a -20 °C hasta la amplificación enzimática. La supermezcla SYBR verde iQ™ (Bio-Rad) se usó para cuantificar los niveles de ARNm para COX-2, IL-6, IL-1 β , e iNOS. La PCR en tiempo real se realizó utilizando un sistema de detección de PCR en tiempo real CFX96 (Bio-Rad). El gen constitutivo GAPDH se utilizó para estandarizar los niveles de expresión de ARNm en cada muestra. Los niveles de expresión se calcularon utilizando el método $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Las secuencias de cebadores oligonucleotídicos se dan en la **Tabla IV**.

Tabla IV. Listado de secuencias de cebadores de ratón utilizadas en la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa.

Gen	Directo	Inverso
IL-6	5'-GAACAACGATGATGCACTTGC-3'	5'-TCCAGGTAGCTATGGTACTCC-3
iNOS	5'-AACGGAGAACGTTGGATTTG-3'	5'-CAGCACAAGGGGTTTTCTTC-3'
COX-2	5'-TGAGCAACTATTCCAAACCAGC-3'	5'-GCACGTAGTCTTCGATCACTATC-3'
IL-1 β	5'-CTCCACCTCAATGGACAGAA-3'	5'-GCCGTCTTTCATTACACAGG-3'
GAPDH	5'-TGGCAAAGTGGAGATTGTTGCC-3'	5'-AAGATGGTGATGGGCTTCCCG-3'

Los presentes resultados corroboran el uso terapéutico de los compuestos descritos en las presentes invenciones, para la gestión clínica de afecciones y enfermedades cuyo tratamiento responde a la activación de HIF, tal como ictus, parálisis cerebral, lesiones traumáticas, enfermedades neurodegenerativas, tales como esclerosis múltiple, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson, IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperusión, lesión pulmonar aguda, trasplante de órganos, lesión renal aguda y enfermedades arteriales.

Ejemplo 9. Efecto del compuesto VII, para uso de acuerdo con la presente invención, sobre un modelo de dieta rica en grasas (HFD) de diabetes y patologías metabólicas.

Un ratón alimentado con dieta rica en grasas es un modelo ampliamente utilizado para determinar alteraciones a la tolerancia a la glucosa (IGT por sus siglas en inglés) y la diabetes tipo 2. Se utilizaron ratones C57BL/6 macho de ocho semanas de edad (Charles River-Francia) para los experimentos. Los ratones se mantuvieron en condiciones controladas [ciclo de luz/oscuridad de 12 h; temperatura 20 °C ($\pm$ 2 °C) y el 40-50 % de humedad relativa] con acceso libre al agua del grifo y a comida estándar para roedores a voluntad. Después de 1 semana de aclimatación, los ratones se dividieron en dos grupos y se alimentaron a voluntad con una dieta estándar -CD- (Código U8220G10R, SAFE Diets, Augy, Francia) o una dieta rica en grasas – HFD, por sus siglas en inglés - (D12451; Research Diets, New Brunswick, NJ) para inducir obesidad durante 15 semanas (obesidad inducida por la dieta, DIO por sus siglas en inglés). Para evaluar los posibles efectos metabólicos beneficiosos del compuesto **VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, en este modelo de DIO, la administración farmacológica del compuesto (30 mg/kg de peso corporal) se realizó mediante inyección intraperitoneal (i.p.) cada 24 h de 12 a 15 semanas de exposición a la dieta. Los animales de control recibieron inyecciones de vehículo correspondientes (1:1:18 de etanol:Cremophor:solución salina).

Para garantizar la eficacia del régimen de alimentación de HFD y evaluar la eficacia de los compuestos en términos de mejora del fenotipo metabólico, se realizaron análisis de composición corporal de masas grasas y magras por QMR (resonancia magnética cuantitativa) usando el analizador EchoMRI™ 700 (Houston, TX, software v.2.0). En este sentido, se realizaron exploraciones por RM en tres puntos de tiempo durante el periodo experimental: antes de comenzar la exposición a la dieta, después de 12 semanas de régimen de alimentación (coincidiendo con el inicio del tratamiento) y al final de los procedimientos experimentales (en la semana 15 de exposición a la dieta). Adicionalmente, cinco días antes del sacrificio, se realizó la prueba de tolerancia a la glucosa (GTT por sus siglas en inglés) en ratones privados de alimento durante una noche. Con este fin, los ratones se inyectaron por vía intraperitoneal con 2 mg de glucosa/g de peso corporal y la glucosa en sangre se midió antes y 30, 60 y 120 min después de la inyección utilizando un glucómetro Accu-Chek Advantage® (Roche). Al final del experimento, se sacrificaron los ratones y se recogieron muestras de sangre usando tubos recubiertos con EDTA y plasma almacenado a -80 °C. Los triglicéridos plasmáticos se midieron usando un kit colorimétrico enzimático (QCA, Barcelona, España).

Se encontró que el compuesto **VII**, para uso de acuerdo con la presente invención, alivió el aumento de peso (**Fig. 13A**), el aumento de la masa grasa (**Fig. 13B**) y la adiposidad (**Fig. 13C**). Además, el compuesto **VII**, para uso de

acuerdo con la presente invención, mejoró la tolerancia a la glucosa (**Fig. 14**) y normalizó los niveles plasmáticos de triglicéridos (**Fig. 15**) en ratones en HFD. Estos resultados están en consonancia con el informe anterior que muestra que los inhibidores de PDH mejoran el metabolismo de la glucosa y los lípidos en modelos murinos de obesidad y diabetes inducida por HFD (Rahtu-Korpela et al., Diabetes. octubre de 2014;63(10):3324-33). Por lo tanto, dichos resultados indican que los compuestos descritos en el presente documento son útiles en el tratamiento de la diabetes u otras patologías metabólicas relacionadas, tales como la hipertrigliceridemia.

LISTADO DE SECUENCIAS

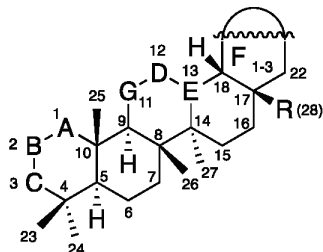
10	<110> VivaCell Biotechnology España S.L.	
	<120> Derivados de triterpenoides	
	<130> PCT-07664	
15	<150> EP16193684.4	
	<151> 13-10-2016	
20	<160> 10	
	<170> BiSSAP 1.3.6	
	<210> 1	
25	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Cebador IL-6 directo	
	<400> 1	
	gaacaacgat gatgcacttg c	21
35	<210> 2	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Cebador IL-6 inverso	
	<400> 2	
45	tccaggtagc tatgttactc c	21
	<210> 3	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
50	<220>	
	<223> Cebador iNOS directo	
	<400> 3	
55	aacggagaac gttggatttg	20
	<210> 4	
	<211> 20	
	<212> ADN	
60	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Cebador iNOS inverso	
65	<400> 4	
	cagcacaagg ggttttcttc	20

ES 2 774 198 T3

5	<210> 5 <211> 22 <212> ADN <213> Secuencia artificial <220> <223> Cebador COX-2 directo	
10	<400> 5 tgagcaacta ttccaaacca gc	22
15	<210> 6 <211> 23 <212> ADN <213> Secuencia artificial <220> <223> Cebador COX-2 inverso	
20	<400> 6 gcacgtagtc ttcgatcact atc	23
25	<210> 7 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial <220> <223> Cebador IL-IBeta directo	
30	<400> 7 ctccacctca atggacagaa	20
35	<210> 8 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial <220> <223> Cebador IL-IBeta inverso	
40	<400> 8 gccgtcttcc attacacagg	20
45	<210> 9 <211> 22 <212> ADN <213> Secuencia artificial <220> <223> Cebador GAPDH directo	
50	<400> 9 tggcaaagtg gagattgttg cc	22
55	<210> 10 <211> 21 <212> ADN <213> Secuencia artificial <220> <223> Cebador GAPDH inverso	
60	<400> 10 aagatggtga tgggcttccc g	21

REIVINDICACIONES

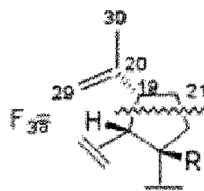
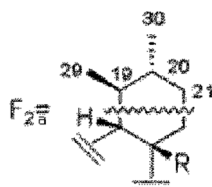
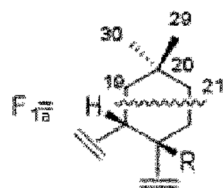
1. Un derivado triterpénico de Fórmula (Ia), o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo,



Fórmula (Ia)

en el que, independientemente,

- A-B se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono;
- B se selecciona de entre un metileno (-CH₂-), un metino olefínico (=CH-), un hidroximetino [-CH(OH)-], o un carbono olefínico hidroxilado [-C(OH)=];
- B-C se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono; o es parte de un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno; y en la que dicho anillo heterocíclico es un anillo de cinco miembros que comprende un nitrógeno y un oxígeno;
- C se selecciona de entre un hidroximetino [-CH(OH)-], un aciloximetino [-CH(OCOR')-], un metino olefínico (=CH-), un carbonilo [-C(=O)-], una oxima [-C(=N-OH)-] o una hidrazona [-C(=N-NH₂)-], en el que R' es metilo;
- D-E es un enlace sencillo o doble carbono-carbono;
- F se selecciona de entre F_{1a}, F_{2a} o F_{3a};

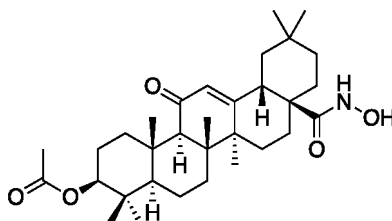


- G se selecciona de entre un metileno (-CH₂-) o un carbonilo [-C(=O)-]; y
- R es un grupo hidroxamato (-CONHOH);

y en la que,

- cuando C es un aciloximetino [-CH(OCOR')-], el derivado triterpénico de Fórmula (Ia) es

(V)



(3 β) 3-Acetiloxi-11-oxo-olean-12-en-N-hidroxi-28-amida;

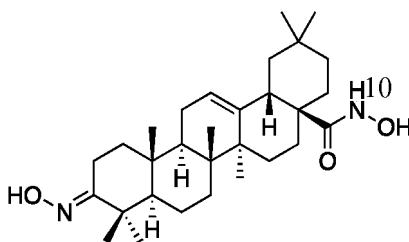
- cuando B es un metileno (-CH₂-), C es un hidroximetino [-CH(OH)-], D-E es un doble enlace carbono-carbono, G es un metileno (-CH₂-) y R es un hidroxamato (-CONHOH), F es F_{3a};

- cuando B es un metileno (-CH₂-), C es un hidroximetino [-CH(OH)-], D-E es un enlace sencillo carbono-carbono, G es un metileno (-CH₂-) y R es un hidroxamato (-CONHOH), F se selecciona de entre F_{1a} o F_{2a};

- cuando B es un metileno (-CH₂-), C es una oxima [-C(=N-OH)-], D-E es un doble enlace carbono-carbono, G es un metileno (-CH₂-) y R es un hidroxamato (-CONHOH), F se selecciona de entre F_{1a} o F_{3a}.

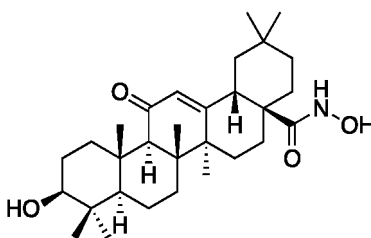
2. Un derivado triterpénico de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho derivado triterpénico se selecciona de entre (III), (IV), (V), (VI), (XIV) o (XV):

(III)



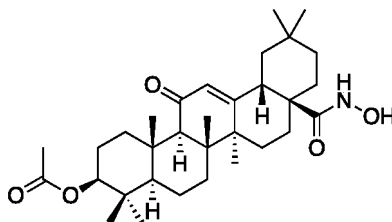
3-Hidroxiimino-N-hidroxi-olean-12-en-28-amida

(IV)



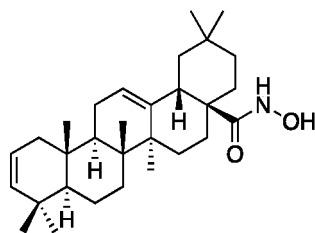
(3 β) 3-Hidroxi-11-oxo-olean-12-en-N-hidroxi-28-amida

(V)



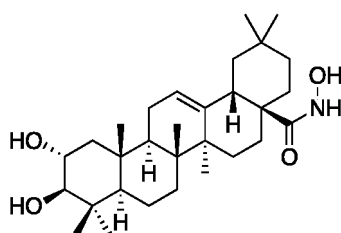
(3 β) 3-Acetiloxi-11-oxo-olean-12-en-N-hidroxi-28-amida

(VI)



Oleana-2,12-dien-*N*-hidroxi-28-amida

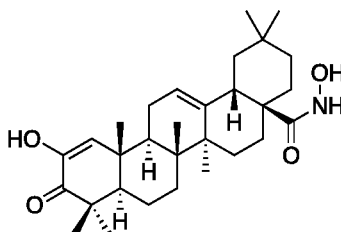
(XIV)



5

(2α,3β) 2,3-Dihidroxi-*N*-hidroxi-olean-12-en-28-amida

(XV)

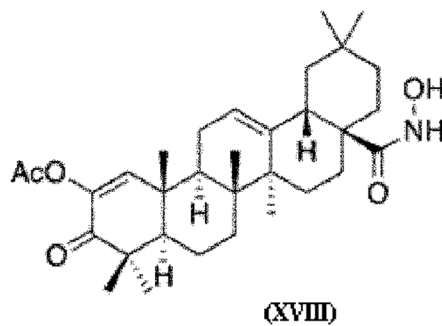


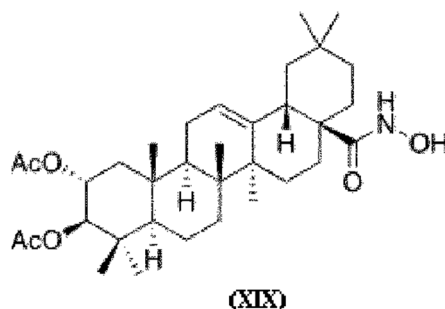
10

2-Hidroxi-3-oxo-oleana-1,12-dien-*N*-hidroxi-28-amida.

3. Compuesto intermedio en la síntesis de compuestos de cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 seleccionado de entre **XVIII** o **XIX**:

15





4. Un derivado triterpénico de Fórmula (Ia), de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 para uso como medicamento.

5. Un derivado triterpénico de Fórmula (Ia), de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, para uso en el tratamiento de una afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF.

6. Un derivado triterpénico de Fórmula (Ia) para uso, de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF se selecciona de entre: ictus, parálisis cerebral, lesiones traumáticas, enfermedades neurodegenerativas, IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperfusión, lesión pulmonar aguda, heridas diabéticas y crónicas, trasplante de órganos, lesión renal aguda, enfermedades arteriales, diabetes, hiperlipidemia o hipertrigliceridemia.

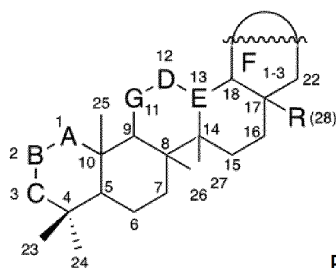
7. Una composición farmacéutica que comprende al menos un derivado triterpénico de Fórmula (Ia) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2 como un primer principio activo, y que comprende, además, al menos un segundo principio activo y/o al menos un excipiente o vehículo.

8. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 7 para uso como medicamento.

9. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 7 para uso en el tratamiento de una afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF.

10. Una composición farmacéutica para uso, de acuerdo con la reivindicación 9, en el que la afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF se selecciona de entre: ictus, parálisis cerebral, lesiones traumáticas, enfermedades neurodegenerativas, IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperfusión, lesión pulmonar aguda, heridas diabéticas y crónicas, trasplante de órganos, lesión renal aguda, enfermedades arteriales, diabetes, hiperlipidemia o hipertrigliceridemia.

11. Un derivado triterpénico de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo,

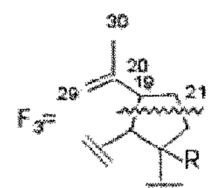
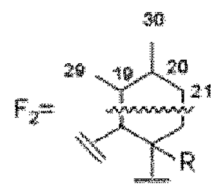
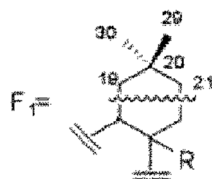


Fórmula (I)

en el que, independientemente,

- A-B se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono;
- B se selecciona de entre un metileno (-CH₂-), un metino olefínico (=CH-), un hidroximetino [-CH(OH)-], o un carbono olefínico hidroxilado [-C(OH)=];
- B-C se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono; o es parte de un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno; y en el que dicho anillo heterocíclico es un anillo de cinco miembros que comprende un nitrógeno y un oxígeno;
- C se selecciona de entre un hidroximetino [-CH(OH)-], un aciloximetino [-CH(OCOR')-], un metino olefínico (=CH-), un carbonilo [-C(=O)-], una oxima [-C(=N-OH)-] o una hidrazona [-C(=N-NH₂)-], en el que R' es metilo;
- D-E es un enlace sencillo o doble carbono-carbono;

- F se selecciona de entre F₁, F₂ o F₃;

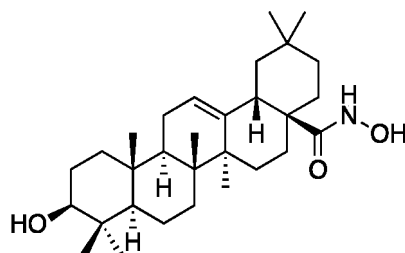


- G se selecciona de entre un metileno (-CH₂-) o un carbonilo [-C(=O)-]; y
- R es un grupo hidroxamato (-CONHOH);

para uso en el tratamiento de una afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF.

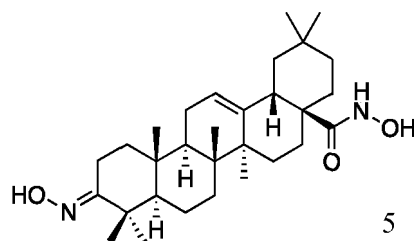
12. Un derivado triterpénico para uso, de acuerdo con la reivindicación 11, en el que dicho derivado triterpénico se selecciona de entre (II), (III), (IV), (V), (VI), (VII), (VIII), (X), (XI), (XII), (XIII), (XIV) o (XV)

(II)



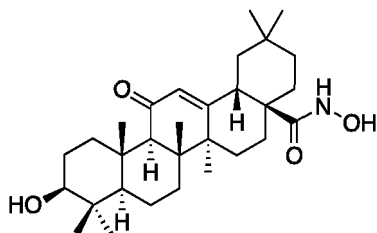
(3β) 3-Hidroxi-N-hidroxi-olean-12-en-28-amida

(III)



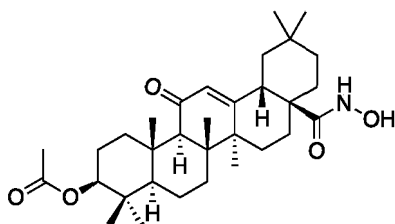
3-Hidroxiimino-N-hidroxi-olean-12-en-28-amida

(IV)



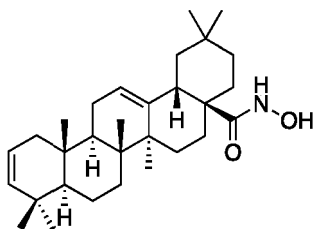
(3 β) 3-Hidroxi-11-oxo-olean-12-en-*N*-hidroxi-28-amida

(V)



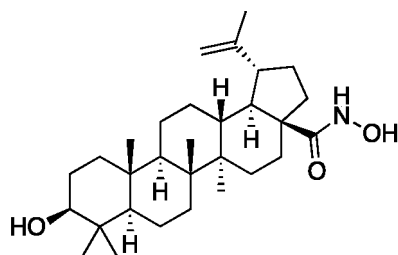
(3 β) 3-Acetiloxi-11-oxo-olean-12-en-*N*-hidroxi-28-amida

(VI)



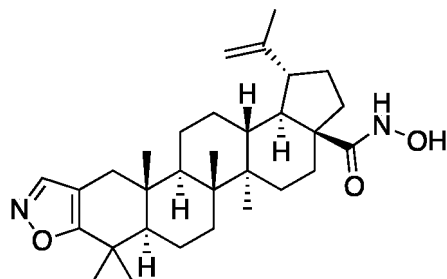
Oleana-2,12-dien-*N*-hidroxi-28-amida

(VII)



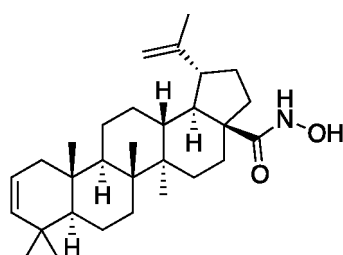
(3 β) 3-Hidroxi-*N*-hidroxi-lup-20(29)-en-28-amida

(VIII)



Lup-2-eno[2,3-d]isoxazol-*N*-hidroxi-28-amida

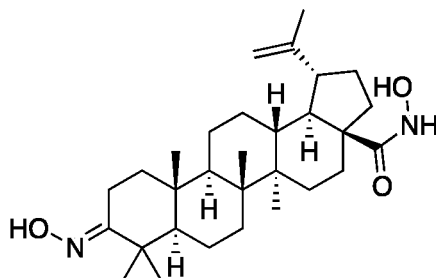
(X)



5

Lupa-2,20(29)-dien-*N*-hidroxi-28-amida

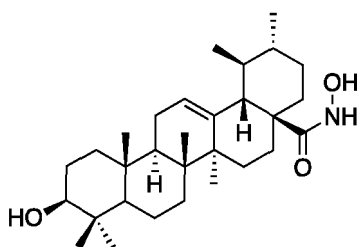
(XI)



10

3-Hidroxiimino-*N*-hidroxi-lup-20(29)-en-28-amida

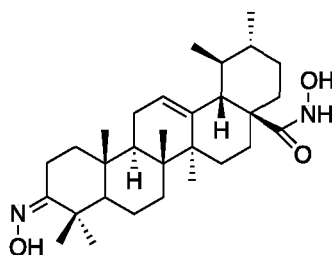
(XII)



15

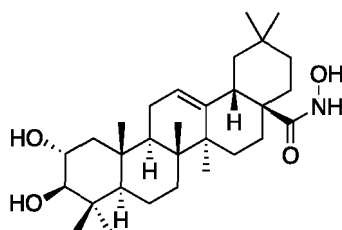
(3 β) 3-Hidroxi-*N*-hidroxi-urs-12-en-28-amida

(XIII)



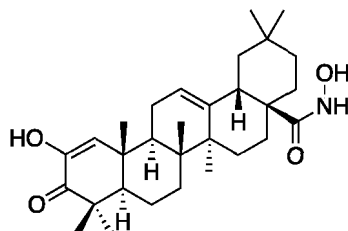
3 Hidroxiimino-*N*-hidroxi-urs-12-en-28-amida

(XIV)



(2 α ,3 β) 2,3-Dihidroxi-*N*-hidroxi-olean-12-en-28-amida

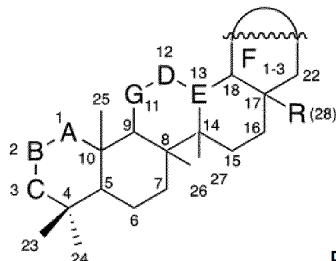
(XV)



2-Hidroxi-3-oxo-oleana-1,12-dien-*N*-hidroxi-28-amida.

13. Un derivado triterpénico para uso, de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 o 12, en el que dicha afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF se selecciona de entre: ictus, parálisis cerebral, lesiones traumáticas, enfermedades neurodegenerativas, IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperfusión, lesión pulmonar aguda, heridas diabéticas y crónicas, trasplante de órganos, lesión renal aguda, enfermedades arteriales, diabetes, hiperlipidemia o hipertrigliceridemia.

14. Una composición farmacéutica que comprende al menos un derivado triterpénico de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo,

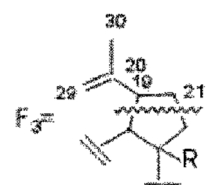
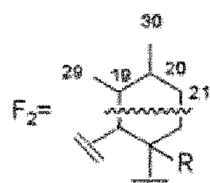
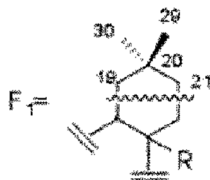


Fórmula (I)

en el que, independientemente,

- A-B se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono;
- B se selecciona de entre un metileno (-CH₂-), un metino olefínico (=CH-), un hidroximetino [-CH(OH)-], o un carbono olefínico hidroxilado [-C(OH)=];

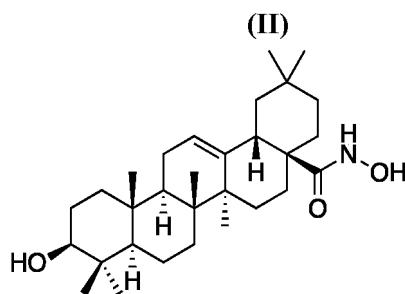
- B-C se selecciona de entre un enlace sencillo carbono-carbono o un doble enlace carbono-carbono; o es parte de un anillo heterocíclico que comprende uno o más heteroátomos, en el que al menos uno de dichos heteroátomos es nitrógeno; y en el que dicho anillo heterocíclico es un anillo de cinco miembros que comprende un nitrógeno y un oxígeno;
- C se selecciona de entre un hidroximetino [-CH(OH)-], un aciloximetino [-CH(OCOR')-], un metino olefínico (=CH-), un carbonilo [-C(=O)-], una oxima [-C(=N-OH)-] o una hidrazona [-C(=N-NH₂)-], en el que R' es metilo;
- D-E es un enlace sencillo o doble carbono-carbono;
- F se selecciona de entre F₁, F₂ o F₃;



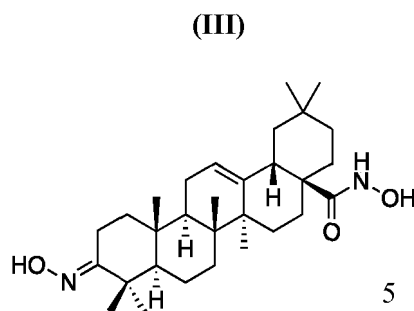
- G se selecciona de entre un metileno (-CH₂-) o un carbonilo [-C(=O)-]; y
- R es un grupo hidroxamato (-CONHOH);

y al menos un excipiente o vehículo; para uso en el tratamiento de una afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF.

15. Una composición farmacéutica para uso, de acuerdo con la reivindicación 14, en la que dicho al menos un derivado triterpénico se selecciona de entre (II), (III), (IV), (V), (VI), (VII), (VIII), (X), (XI), (XII), (XIII), (XIV) y (XV):

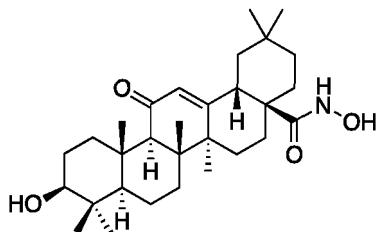


(3β) 3-Hidroxi-N-hidroxi-olean-12-en-28-amida



3-Hidroxiimino-*N*-hidroxi-olean-12-en-28-amida

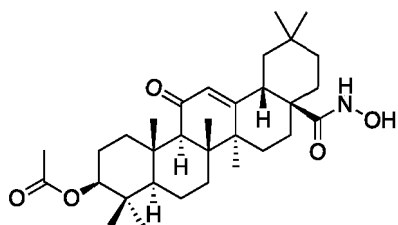
(IV)



5

(3 β) 3-Hidroxi-11-oxo-olean-12-en-*N*-hidroxi-28-amida

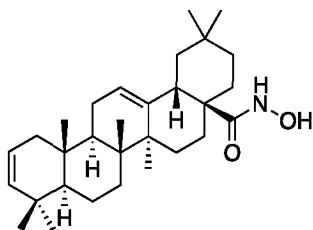
(V)



10

(3 β) 3-Acetiloxi-11-oxo-olean-12-en-*N*-hidroxi-28-amida

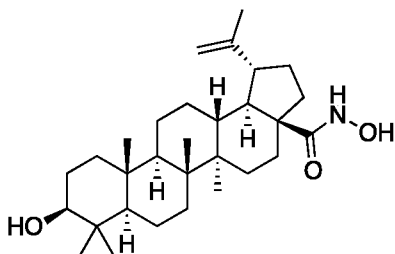
(VI)



15

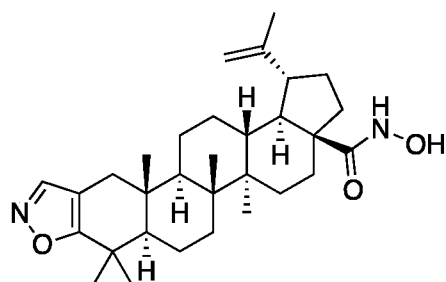
Oleana-2,12-dien-*N*-hidroxi-28-amida

(VII)



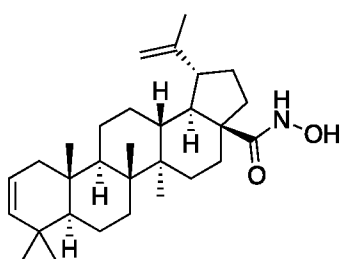
(3 β) 3-Hidroxi-*N*-hidroxi-lup-20(29)-en-28-amida

(VIII)



Lup-2-eno[2,3-d]isoxazol-*N*-hidroxi-28-amida

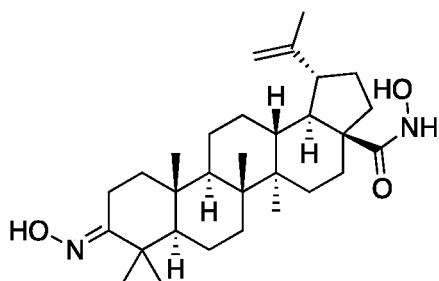
(X)



5

Lupa-2,20(29)-dien-*N*-hidroxi-28-amida

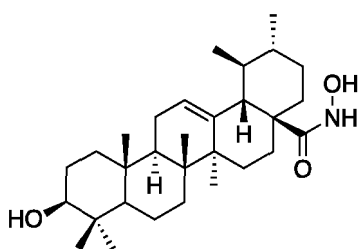
(XI)



10

3-Hidroxiimino-*N*-hidroxi-lup-20(29)-en-28-amida

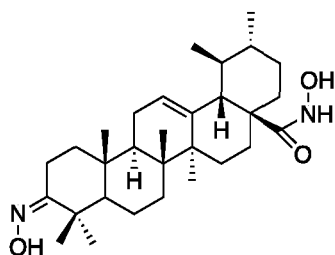
(XII)



15

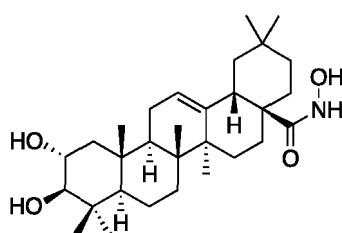
(3 β) 3-Hidroxi-*N*-hidroxi-urs-12-en-28-amida

(XIII)



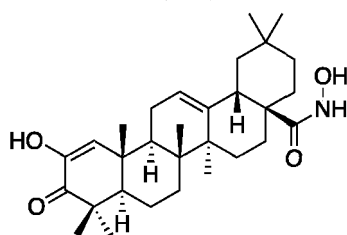
3 Hidroxiimino-N-hidroxi-urs-12-en-28-amida

(XIV)



(2 α ,3 β) 2,3-Dihidroxi-N-hidroxi-olean-12-en-28-amida

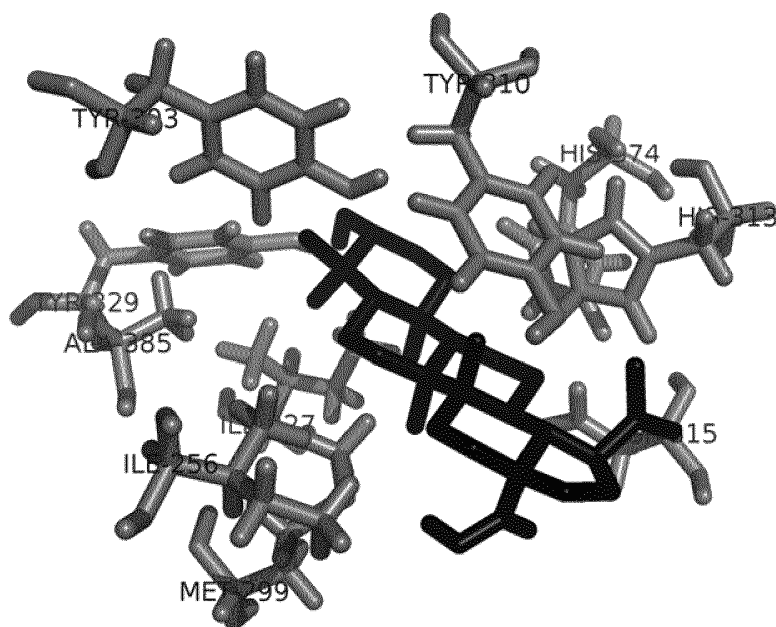
(XV)



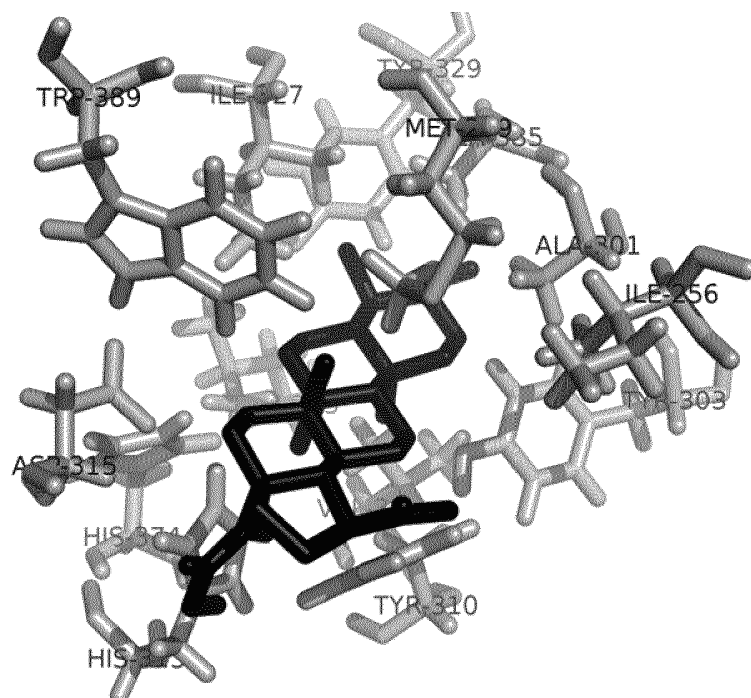
2-Hidroxi-3-oxo-oleana-1,12-dien-N-hidroxi-28-amida.

16. Una composición farmacéutica para uso, de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 14 o 15, en el que dicha afección o enfermedad que responde a la activación de la ruta HIF se selecciona de entre ictus, parálisis cerebral, lesiones traumáticas, enfermedades neurodegenerativas, IBD, lesión miocárdica por isquemia-reperfusión, lesión pulmonar aguda, heridas diabéticas y crónicas, trasplante de órganos, lesión renal aguda, enfermedades arteriales, diabetes, hiperlipidemia o hipertrigliceridemia.

FIGURA 1



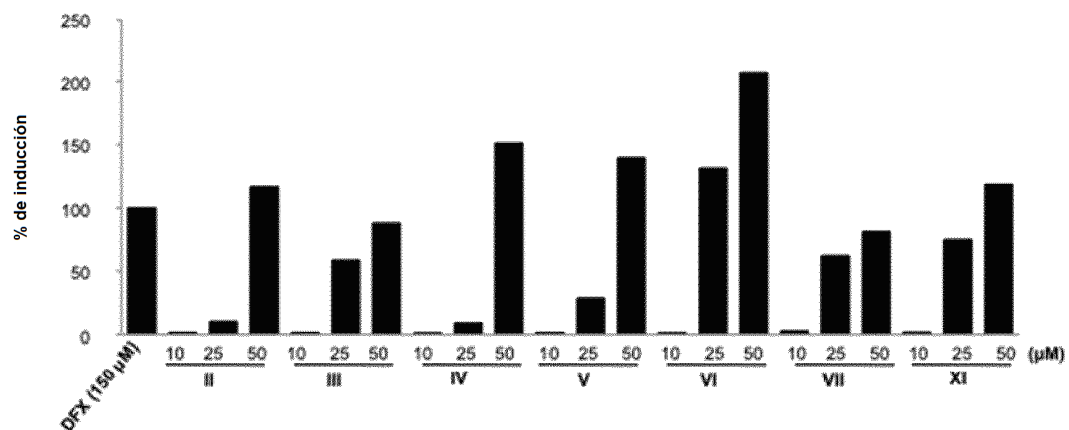
1A



1B

FIGURA 2

2A



2B

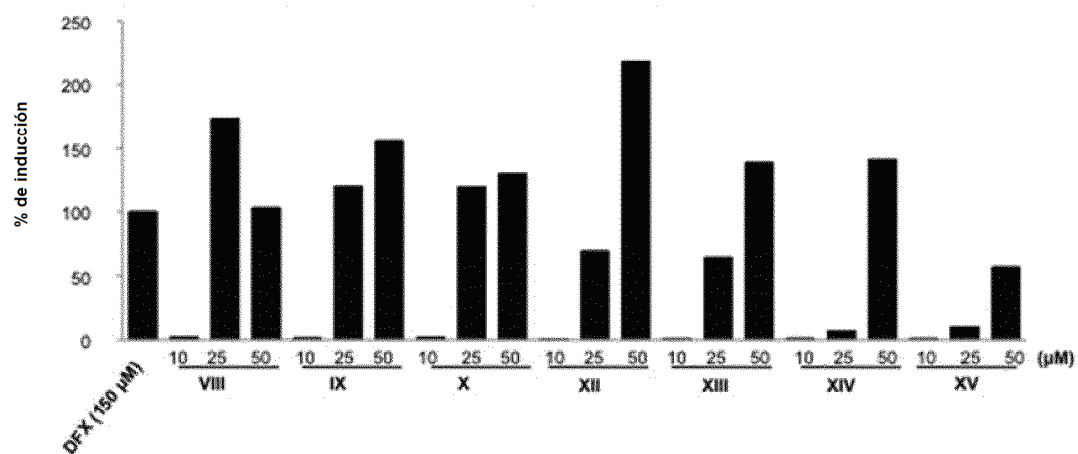
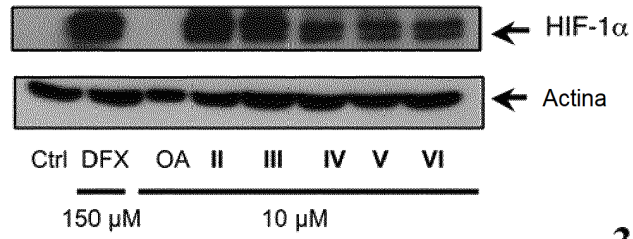
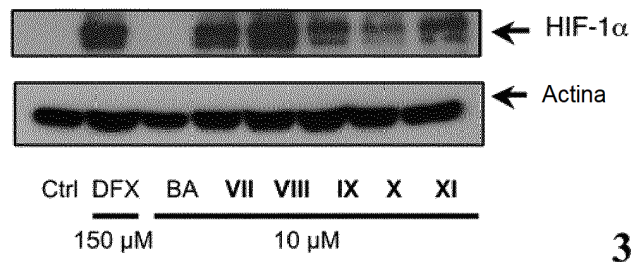


FIGURA 3

3A



3B



3C

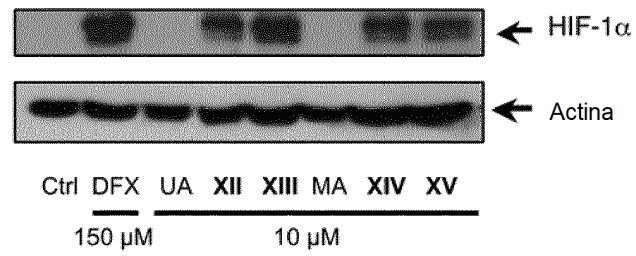


FIGURA 4

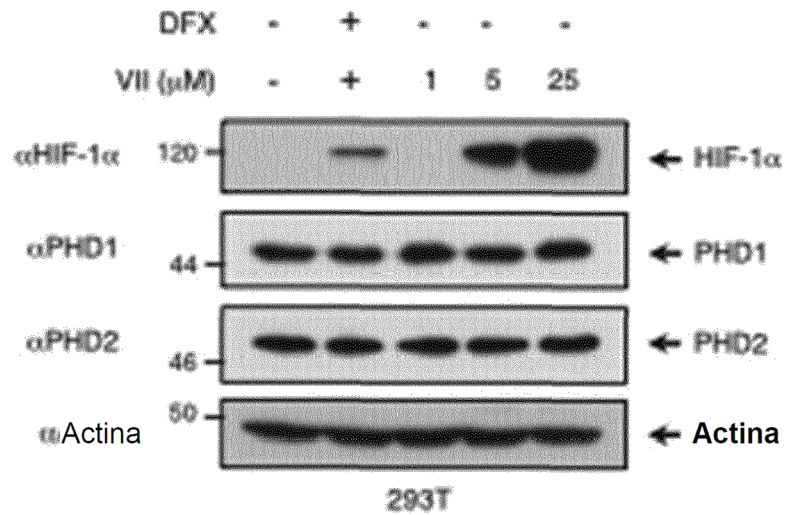


FIGURA 5

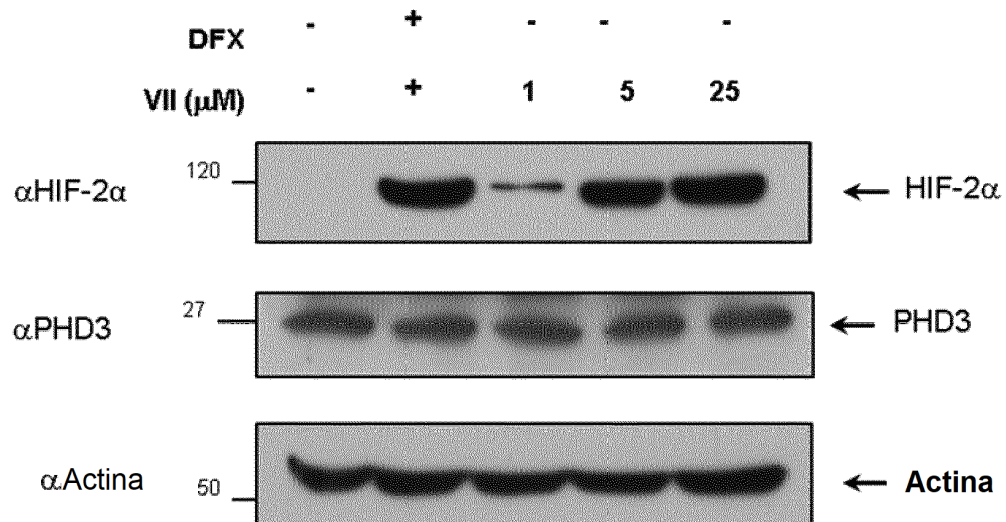


FIGURA 6

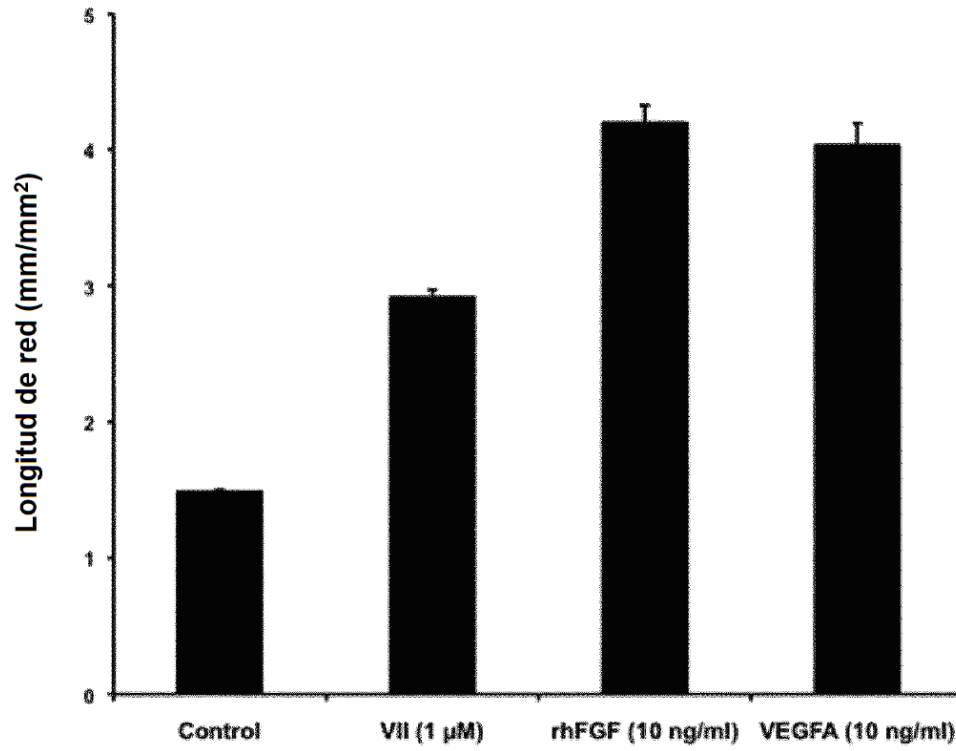


FIGURA 7

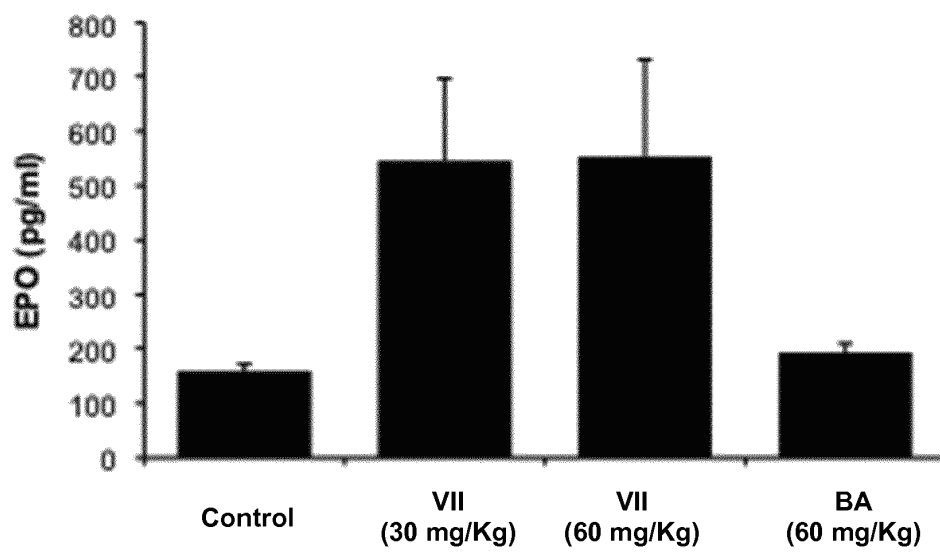


FIGURA 8

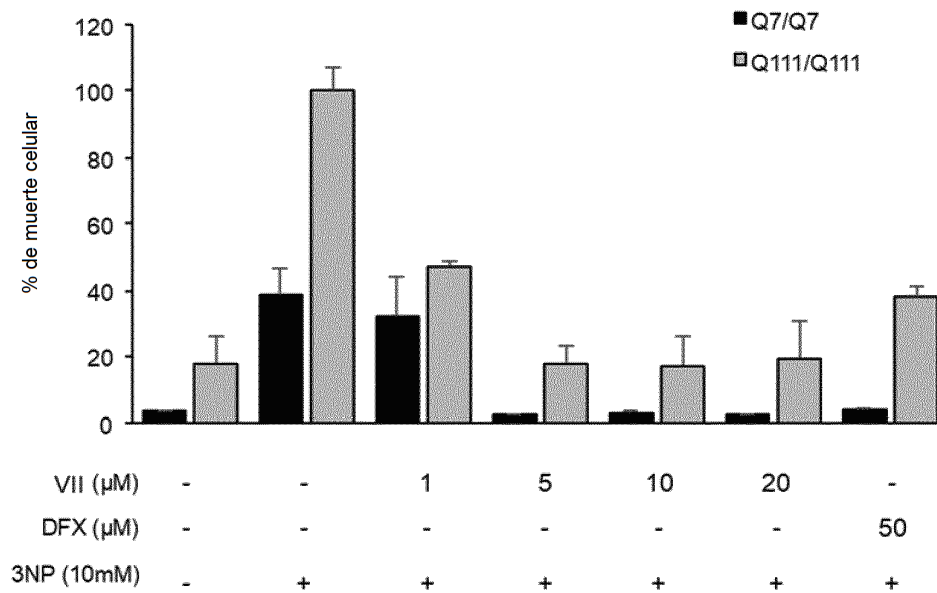


FIGURA 9

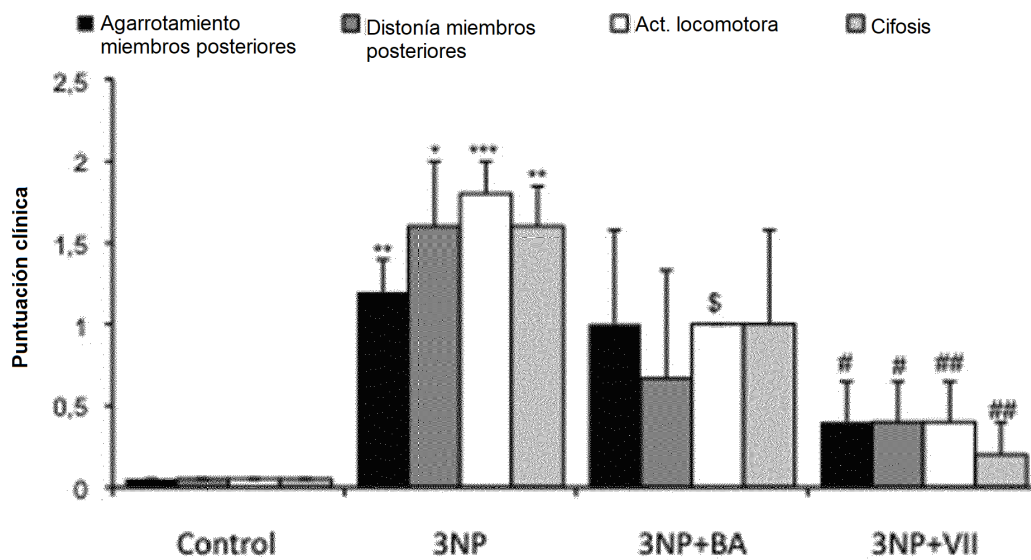


FIGURA 10

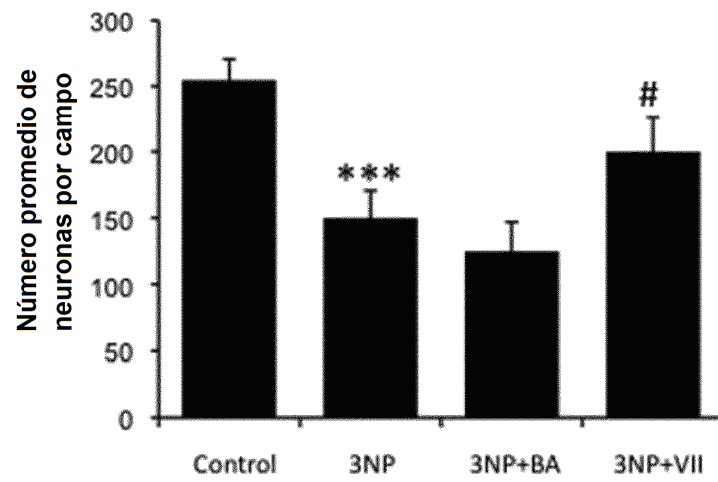


FIGURA 11

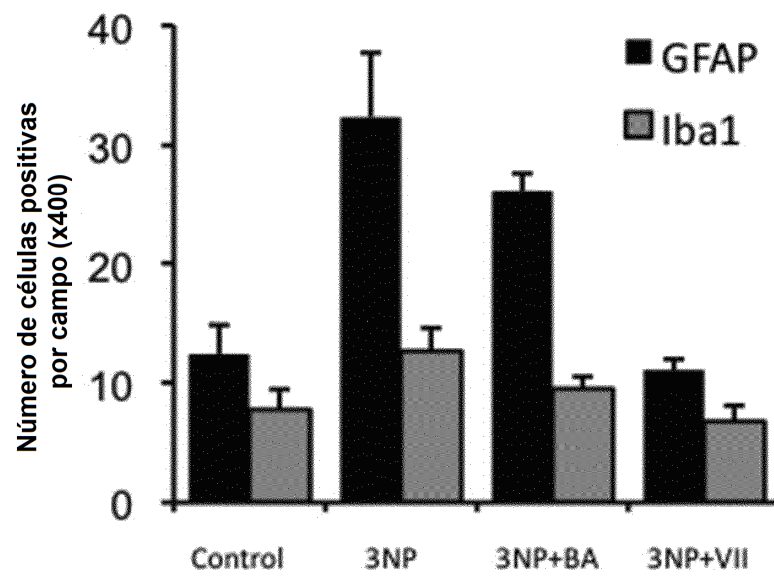
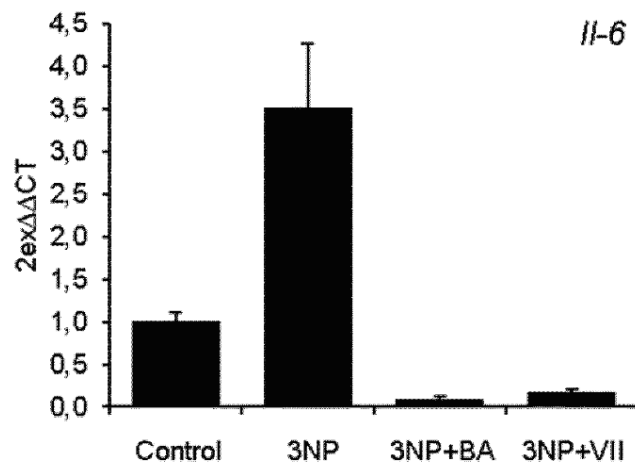


FIGURA 12

12A



12B

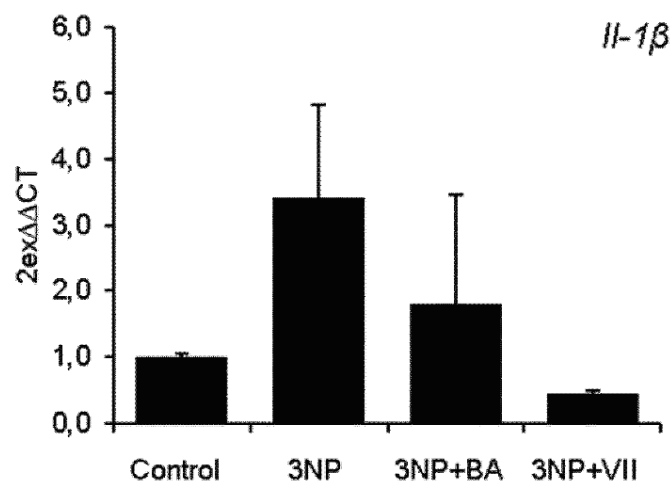
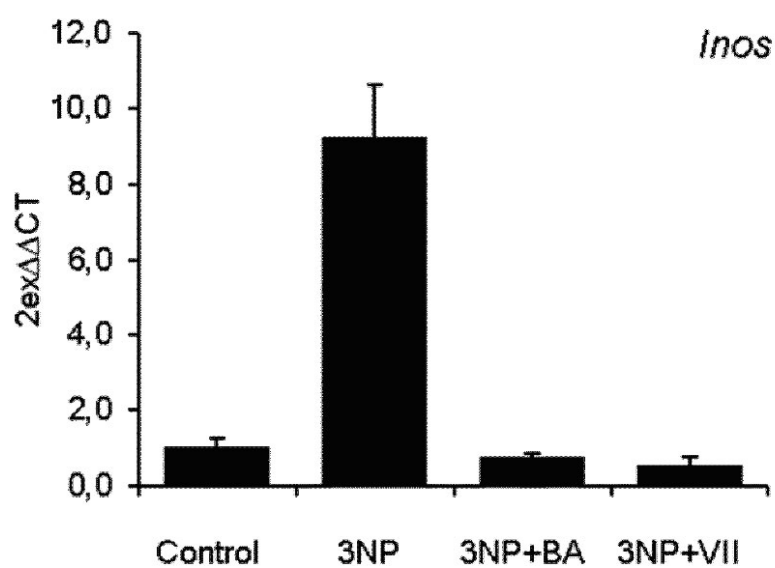


FIGURA 12 (cont.)

12C



12D

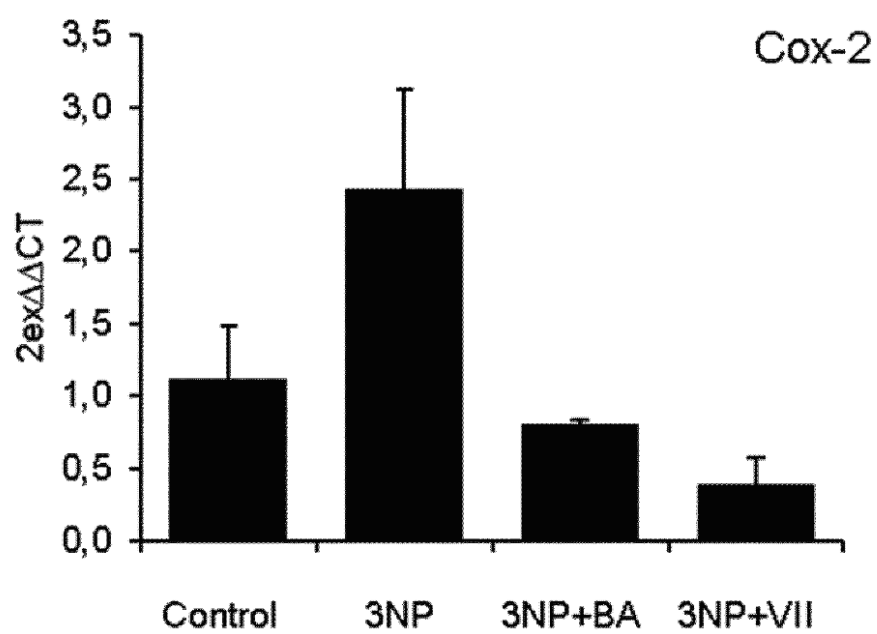
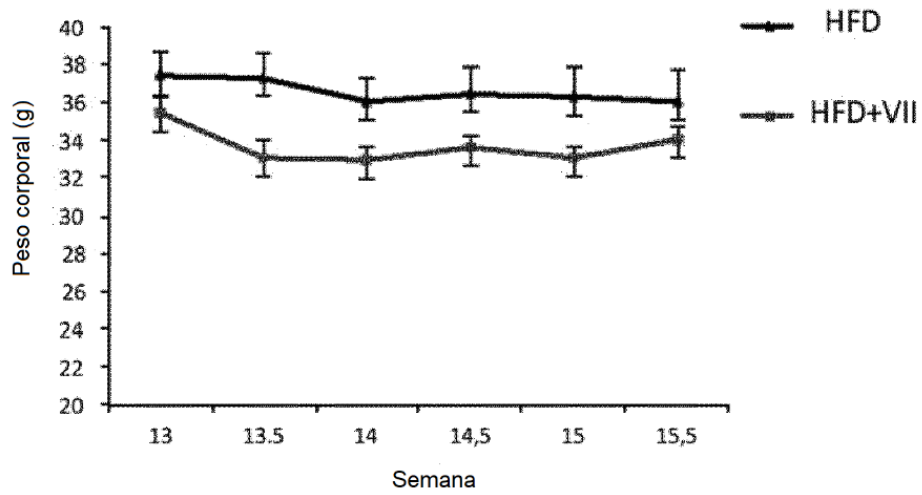
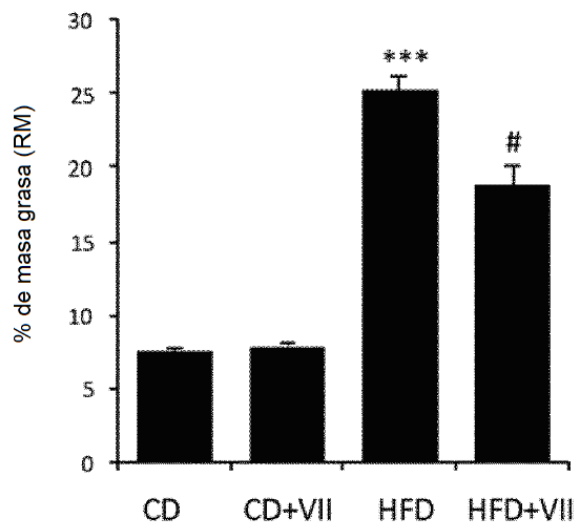


FIGURA 13

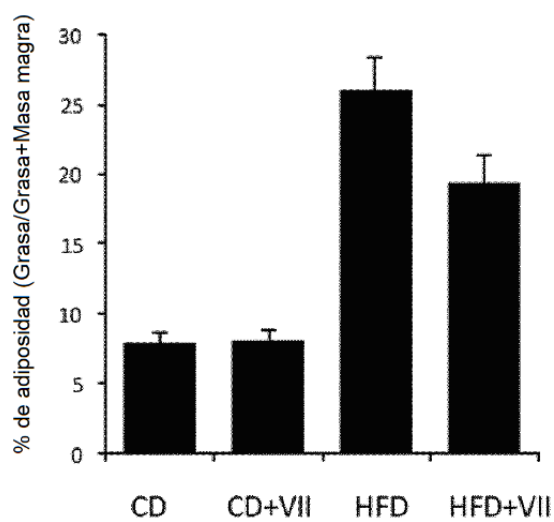


13A



13B

FIGURA 13 (cont.)



13C

FIGURA 14

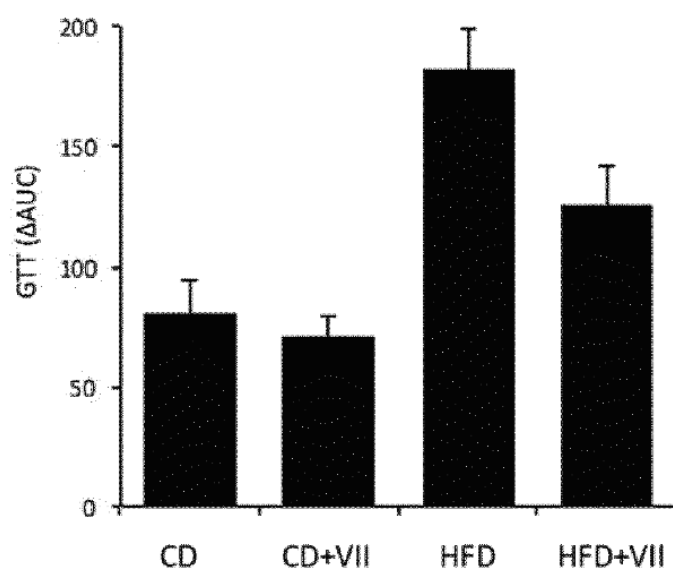
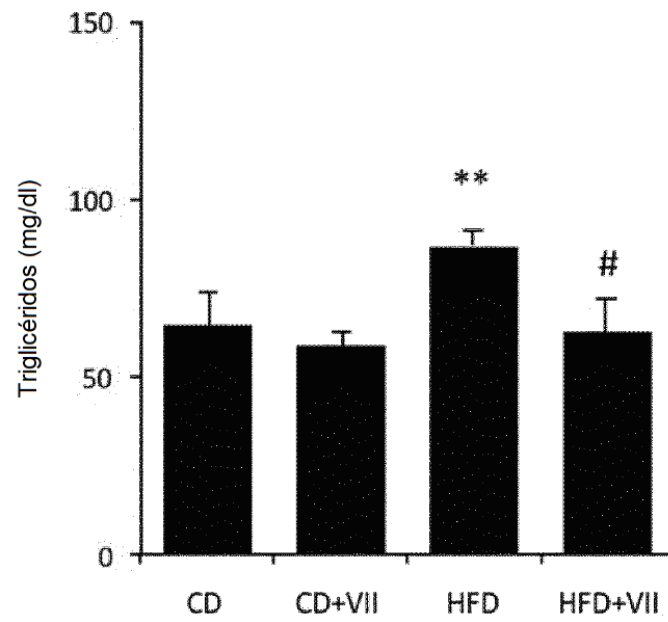


FIGURA 15



REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

La lista de referencias citadas por el solicitante es, únicamente, para conveniencia del lector. No forma parte del documento de patente europea. Si bien se ha tenido gran cuidado al compilar las referencias, no pueden excluirse errores u omisiones y la OEP declina toda responsabilidad a este respecto.

Documentos de patente citados en la descripción

- CN 102180939 B [0012]
- CN 102180939 [0148]
- EP 16193684 [0198]

10 Literatura no patente citada en la descripción

- WANG et al. *Redox Rep.*, April 1996, vol. 2 (2), 89-96 [0002]
- SEMENZA et al. *J. Biol. Chem.*, 23 September 1994, vol. 269 (38), 237357-63 [0002]
- ELTZSCHIG et al. *Nat. Rev. Drug Discov.*, November 2014, vol. 13 (11), 852-69 [0002] [0003] [0004] [0005] [0008] [0009]
- RABINOWITZ MH. *J. Med. Chem.*, 12 December 2013, vol. 56 (23), 9369-4025 [0002] [0003] [0004] [0008] [0009] [0159] [0162]
- RATCLIFFE PJ. *J. Clin. Invest.*, April 2007, vol. 117 (4), 862-5 [0002]
- BRUICK ; MCKNIGHT. *Science*, 09 November 2001, vol. 294 (5545), 1337-40 [0003]
- TAKEDA et al. *Circulation*, 14 August 2007, vol. 116 (7), 774-81 [0004]
- KARHAUSEN et al. *J. Clin. Invest.*, October 2004, vol. 114 (8), 1098-106 [0005]
- ARAGONÉS et al. *Cell Metab.*, 07 January 2009, vol. 9 (1), 11-22 [0006]
- WU et al. The protective role of hypoxic preconditioning in CNS, Anoxia. InTech, 2012 [0006]
- SPEER et al. *Free Radio. Biol. Med.*, September 2013, vol. 62, 23-36 [0007]
- SUN et al. *J. Neurosci.*, 14 July 2010, vol. 30 (28), 9621-30 [0007]
- PENG et al. *J. Neurosurg.*, September 2014, vol. 121 (3), 653-64 [0007]
- EHRENREICH et al. *Stroke*, December 2009, vol. 40 (12), e647-56 [0007]
- LI et al. *Ann. Neurol.*, December 2004, vol. 56 (6), 767-77 [0007]
- YANG et al. *J. Neurochem.*, May 2005, vol. 96 (3), 513-25 [0007]
- SHENG et al. *Nat. Prod. Rep.*, March 2011, vol. 28 (3), 543-93 [0011]
- YADAV et al. *Toxins (Basel)*, October 2010, vol. 2 (10), 2428-66 [0011]
- SATO et al. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 03 November 2007, vol. 362 (4), 793-8 [0012]
- WIEMANN et al. *Eur. J. Med. Chem.*, 01 December 2015, vol. 106, 194-210 [0012]
- WIEMANN et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 01 February 2016, vol. 26 (3), 907-9 [0012]
- DASGUPTA et al. *Angiogenesis.*, July 2015, vol. 18 (3), 283-99 [0012]
- JIN et al. *Arch Pharm Res.*, April 2007, vol. 30 (4), 412-8 [0012]
- DAI et al. *J Nat Prod.*, December 2006, vol. 69 (12), 1715-20 [0012]
- *Mol. Cell. Biochem.*, 2010, vol. 340 (1-2), 15-20 [0012]
- *Oncol. Rep.*, 2014, vol. 31 (5), 2399-2406 [0012]
- *Molecules*, 2014, vol. 19 (12), 19892-19906 [0012]
- *Br. J. Nutrition*, 2013, vol. 109 (2), 210-222 [0012]
- *Int. Biomed. & Biotechnol. J. Zhejiang Univ.*, 09 September 2016, vol. 17, 672-682 [0012]
- POTENTE et al. *Cell.*, 16 September 2011, vol. 146 (6), 873-87 [0045]
- RAHTU-KORPELA et al. *Diabetes.*, October 2014, vol. 63 (10), 3324-33 [0059] [0197]
- CHEMICAL ABSTRACTS, 218600-53-4 [0078]
- CHEMICAL ABSTRACTS, 1854922-22-7 [0127]
- CHEMICAL ABSTRACTS, 17990-42-0 [0128]
- CHEMICAL ABSTRACTS, 14605-17-5 [0130]
- CHEMICAL ABSTRACTS, 272108-04-0 [0134]
- CHEMICAL ABSTRACTS, 1822375-07-4 [0136]
- CHEMICAL ABSTRACTS, 620958-43-2 [0137]
- CHEMICAL ABSTRACTS, 1334386-31-0 [0139]
- CHEMICAL ABSTRACTS, 173106-19-9 [0141]
- CHEMICAL ABSTRACTS, 4481-62-3 [0144]
- CHEMICAL ABSTRACTS, 915415-61-1 [0147]
- CHEMICAL ABSTRACTS, 6089-92-5 [0149]
- CHEMICAL ABSTRACTS, 1382923-75-2 [0152]
- ECH-CHAHAD et al. *Tetrahedron Letters*, 2005, vol. 46, 5113-5115 [0158]
- MORRIS et al. *J. Comp. Chem.*, December 2009, vol. 30 (16), 2785-91 [0159]
- TROTT ; OLSON. *J. Comp. Chem.*, 30 January 2010, vol. 31 (2), 455-61 [0159]
- WOLF LK. *Chem. & Eng. News*, 2009, 87 [0159]
- TRETTEL F. et al. *Hum Mol Genet.*, 2000, vol. 9, 2799-2809 [0183]