

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 808 978**

51 Int. Cl.:

C07D 417/14 (2006.01)

A61K 31/4045 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

C07D 403/12 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

C07D 417/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.01.2015 E 18156929 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2020 EP 3348556**

54 Título: **Heteroarilamidas como inhibidores de la agregación de proteínas**

30 Prioridad:

29.01.2014 US 201461933246 P

12.11.2014 US 201462078895 P

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

02.03.2021

73 Titular/es:

UCB BIOPHARMA SPRL (100.0%)

Allée de la Recherche 60

1070 Brussels, BE

72 Inventor/es:

STOCKING, EMILY M. y

WRASIDLO, WOLFGANG

74 Agente/Representante:

FLORES DREOSTI, Lucas

ES 2 808 978 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

Heteroarilamidas como inhibidores de la agregación de proteínas

Campo técnico

5 Se describen aquí determinados derivados de heteroarilamida, las composiciones farmacéuticas que las contienen, y métodos para utilizarlas, incluidos métodos para prevenir, revertir, ralentizar o inhibir la agregación de proteínas, y métodos para tratar enfermedades que están asociadas a la agregación de proteínas, incluidas enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la demencia con cuerpos de Lewy, la enfermedad de Parkinson con demencia, la demencia frontotemporal, la enfermedad de Huntington, la esclerosis lateral amiotrófica, y la atrofia multisistémica, y el cáncer.

10 Antecedentes

15 Los trastornos neurodegenerativos de la población envejecida como la enfermedad de Alzheimer (EA), la enfermedad de Parkinson (EP), y la demencia frontotemporal (DFT) afectan a más de 20 millones de personas solo en Estados Unidos y en la Unión Europea y se encuentran entre las principales causas de muerte en los ancianos. Una característica común entre estos trastornos neurológicos es la acumulación crónica de proteínas en agregados neurotóxicos. Cada enfermedad se caracteriza por las poblaciones neuronales específicas que están afectadas, los agregados de proteínas concretos que están implicados, y las características clínicas que resultan de la degeneración neuronal.

20 Los estudios sugieren que las fases iniciales de la agregación de proteínas implican una mutación o una modificación postraduccional (p. ej., nitrosilación, oxidación) de la proteína diana, que posteriormente adopta una conformación anormal que facilita las interacciones con las proteínas mal plegadas de manera similar. Las proteínas anormales se agregan entonces para formar dímeros, trímeros y multímeros de orden superior, también llamados «oligómeros solubles», que podrían alterar la función sináptica. Adicionalmente, los agregados podrían entonces anclarse en la membrana celular y formar oligómeros globulares (que a su vez pueden formar poros en la membrana) y/o protofibrillas o fibrillas. Estas fibrillas más grandes e insolubles pueden funcionar como depósitos de los oligómeros bioactivos.

25

Diversas líneas de evidencia apuntan a la idea de que la acumulación progresiva de agregados de proteínas tiene una relación causal en la patogénesis de enfermedades neurodegenerativas. Se pueden acumular una serie de proteínas en los cerebros de los pacientes con enfermedad neurodegenerativas, como alfa-sinucleína, proteína Aβ, proteína Tau y TDP-43. El deterioro cognitivo de estos pacientes está estrechamente relacionado con la pérdida sináptica en el neocórtex y en los sistemas límbicos, y unos mayores niveles de agregados proteicos puede contribuir a esta pérdida sináptica. Gran parte de las investigaciones se centran en detallar los mecanismos a través de los cuales la acumulación de alfa-sinucleína y otros metabolitos de proteínas precursoras amiloides contribuye al daño sináptico y a la neurodegeneración. Diversos estudios respaldan la hipótesis de que la formación de pequeños agregados, también denominados oligómeros, desempeñan una importante función en la neurotoxicidad. Estos oligómeros peptídicos se pueden organizar en dímeros, trímeros, tetrámeros, pentámeros, y otros conjuntos de orden superior que pueden formar estructuras anulares. Unos niveles altos de tales oligómeros son indicativos de son síntoma/pueden indicar demencia y pérdida sináptica en pacientes. Debido a que las pruebas indican que las especies tóxicas son los oligómeros en lugar de las fibrillas precursoras más pequeñas, los compuestos que se dirigieran a estos procesos de agregación temprana de una forma concreta resultarían útiles como nuevas potenciales terapias para tratar la PD, AD y enfermedades relacionadas.

30

35

40

Diversas enfermedades neurodegenerativas implican la acumulación de agregados ´neurotóxicos a base de proteínas. En la enfermedad de Parkinson idiopática (EPI), la demencia de cuerpos de Lewy (DCL), la demencia por EP (DEP), y la atrofia multisistémica (AMS), los agregados neurotóxicos están compuestos por α-sinucleína (SYN), que es una proteína sináptica que es intracelular en condiciones normales. En la DFT y en la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), los agregados neurotóxicos se originan a partir de otras proteínas intracelulares como la tau, la TDP-43, o la SOD1. En el caso de determinadas enfermedades, como la EA, la SYN se agrega con la proteína primaria (p. ej., Aβ proteína). En la enfermedad de Huntington, los agregados se forman a partir de los productos de desdoblamiento de proteínas Htt.

45

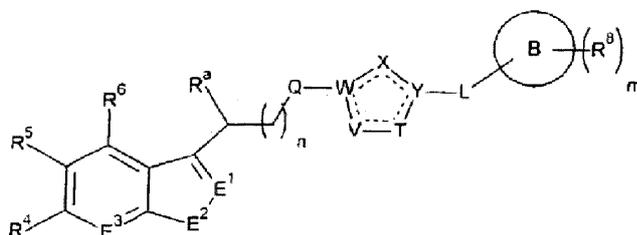
La acumulación de α -sinucleína también se ha relacionado con el cáncer, en concreto, con las células cancerosas de melanoma. Pan et al., PLoS One 2012, 7(9), e45183. Por consiguiente, compuestos que inhiban esta acumulación podrían resultar útiles para el tratamiento de diversos tipos de cáncer, incluido el melanoma.

- 5 Dos mecanismos están implicados en estos procesos neurodegenerativos. En el primero, las proteínas mal plegadas y/o agregadas se anclan a las diferentes estructuras de la membrana celular. La unión de las moléculas mal plegadas o agregadas a la membrana plasmática o a las membranas de los orgánulos (p. ej. las mitocondrias o los lisosomas) podría interferir en la transcripción de proteínas, la autofagia, las funciones mitocondriales y la formación de poros. A título de ejemplo, la SYN neurotóxica se agrega e interactúa con los lípidos de las membranas celulares, por una parte específica de la región c-terminal de la proteína sinucleína. Los compuestos
10 que se unen a esta región pueden inhibir las interacciones proteína-proteína o proteína-lípido, y por tanto pueden utilizarse para bloquear la oligomerización neurotóxica de la SYN u otras proteínas y las interacciones con las membranas. En el segundo proceso, la proteína agregada se libera de la subunidad anclada y se propaga a células adyacentes. Esta propagación célula a célula de los agregados de proteínas tóxicas podría ser la base del avance anatómico de la enfermedad neurodegenerativa y del empeoramiento de los síntomas. Los medicamentos
15 micromoleculares que interactúan con las proteínas diana podrían limitar la liberación y/o la propagación, y por tanto reducir, los efectos neurotóxicos de las proteínas agregadas.

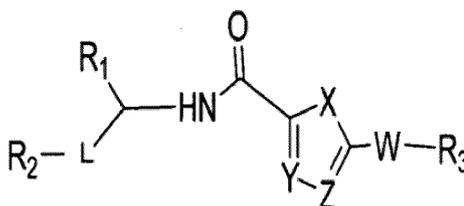
En las publicaciones PCT n.o WO2011/084642, WO2013/148365, WO2013/134371, y la solicitud PCT n.º PCT/US2013/050719 se describen compuestos que son inhibidores de la agregación de proteínas.

- 20 Sigue existiendo la necesidad de inhibidores de la agregación de proteínas con propiedades farmacéuticas deseables. Se ha descubierto en el contexto de la presente invención que determinados compuestos de heteroarilamida aquí descritos tienen una actividad moduladora en la agregación de proteínas.

- El documento WO 2010/142801 A1 (Katholieke Univesiteit Leuven - 16 diciembre 2010) describe determinados derivados de indolamida de la siguiente fórmula, que supuestamente resultan útiles en la prevención y tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como aquellas caracterizadas por amiloidogénesis de α -sinucleína
25 citotóxica.

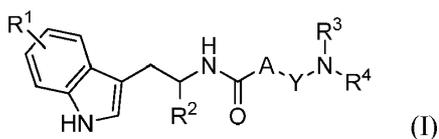


El documento WO 2011/084642 A1 (Neuropore Therapies, Inc.; 14 julio 2011) describe determinados compuestos de la siguiente fórmula que son útiles para la prevención y/o tratamiento de sinucleopatías.



- 30 Sumario de la invención

Un primer aspecto de la invención es un compuesto de Fórmula (I):



donde:

R¹ es H, halo, C₁₋₄alquilo, o CF₃;

R² es -CF₃, o C₁₋₄alquilo no sustituido o sustituido con halo o -CF₃;

5 A es un anillo heteroarílico de 5 miembros;

Y está ausente o es C₁₋₄alquileno;

donde Y está ausente:

R³ y R⁴ tomados conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados forman un anillo heterocicloalquilo monocíclico, no sustituido o sustituido con C₁₋₄alquilo; y

10 donde Y es C₁₋₄alquileno:

R³ y R⁴ tomados conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados forman un anillo heterocicloalquilo monocíclico, no sustituido o sustituido con C₁₋₄alquilo; o

R³ y Y tomados conjuntamente con el nitrógeno al que R³ está conectado forman un anillo heterocicloalquilo monocíclico, y R⁴ es H o C₁₋₄alquilo;

15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una forma de realización:

R¹ es H, fluoro, cloro, bromo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo o tert-butilo; o

R¹ es H o fluoro.

En una forma de realización:

20 R² es -CF₃; o

R² es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, o tert-butilo, cada uno no sustituido o sustituido con fluoro, cloro, bromo o -CF₃; o

R² es C₁₋₄alquilo opcionalmente sustituido con halo o -CF₃; o

R² es C₃₋₄alquilo, no sustituido o sustituido con fluoro o -CF₃; o

25 R² es butilo; o

R² es propilo sustituido con -CF₃.

En una forma de realización:

A es un anillo heteroarilo de 5 miembros con dos o tres átomos de anillo heteroatómico; o

A es un anillo heteroarilo de 5 miembros con dos átomos de anillo heteroatómico no adyacentes; o

A es tiazol, tiadiazol, oxazol, imidazol o triazol; o

A es tiazol o tiadiazol; o

5 A es tiazol.

En una forma de realización:

Y está ausente; o

Y es $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-(\text{CH}_2)_3-$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$, $-(\text{CH}_2)_4-$, $-\text{CH}((\text{CH}_2)_2\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}(\text{CH}(\text{CH}_3)_2)-$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_2-$, o $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$; o

10 Y es $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, o $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$; o

Y es $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$.

En una forma de realización:

R^3 y R^4 se toman conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados y forman un anillo heterocicloalquilo monocíclico, no sustituido o sustituido con C_{1-4} alquilo; o

15 R^3 y R^4 tomados conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados y forman azetidina, pirrolidina, piperidina, azepina, piperazina, morfolina, tiomorfolina, o 1,1-dioxo-tiomorfolina, cada una no sustituida o sustituida con C_{1-4} alquilo; o

R^3 y R^4 tomados conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados forman piperazina, morfolina o pirrolidina, cada una no sustituida o sustituida con C_{1-4} alquilo; o

20 R^3 y R^4 tomados conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados forman piperazina o morfolina, cada una no sustituida o sustituida con C_{1-4} alquilo; o

R^3 y R^4 tomados conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados forman piperazina, no sustituida o sustituida con C_{1-4} alquilo; o

25 R^3 y R^4 tomados conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados forman piperazina o 4-metil-piperazina.

En una forma de realización:

Y es C_{1-4} alquileo, R^3 y Y tomados conjuntamente con el nitrógeno al que R^3 está conectado forman un anillo heterocicloalquilo monocíclico, y R^4 es H o C_{1-4} alquilo; o

30 Y es C_{1-4} alquileo, R^3 y Y tomados conjuntamente con el nitrógeno al que R^3 está conectado forman pirrolidina o piperidina.

En una forma de realización, R^4 es H o metilo.

En una forma de realización:

R¹ es H,

R² es C₁₋₄alquilo,

A es tiazol,

Y está ausente o es etileno, y

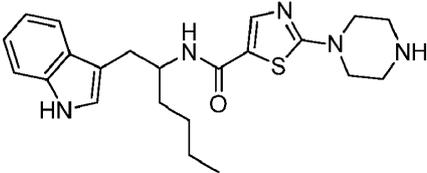
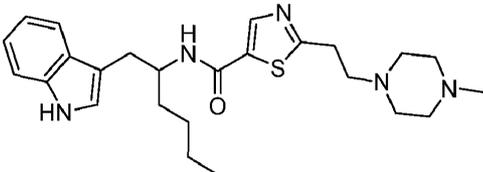
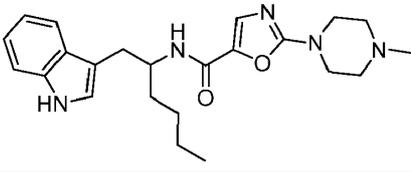
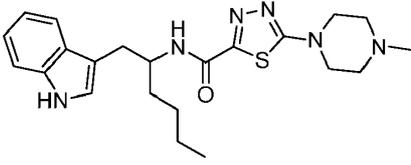
5 R³ y R⁴ tomados conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados forman N-metilpiperazina.

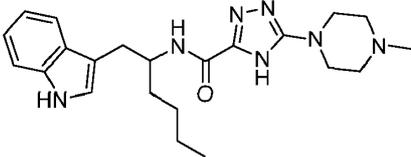
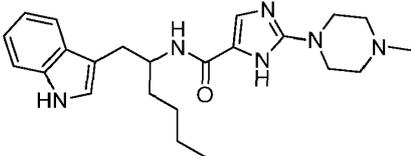
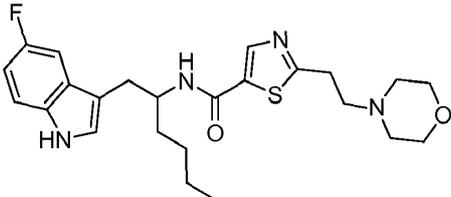
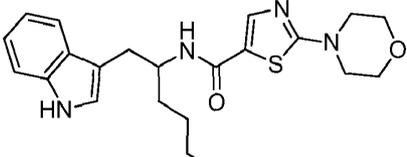
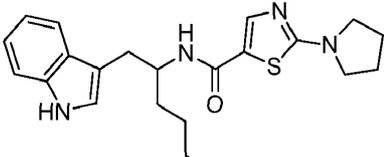
En una forma de realización:

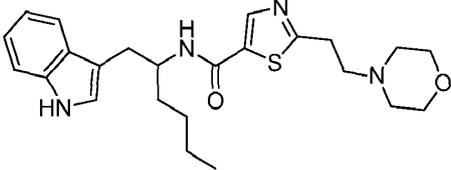
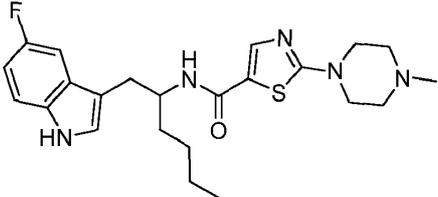
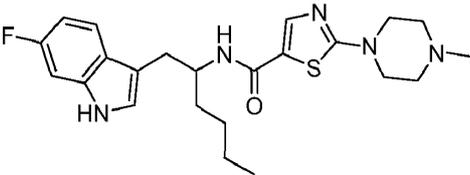
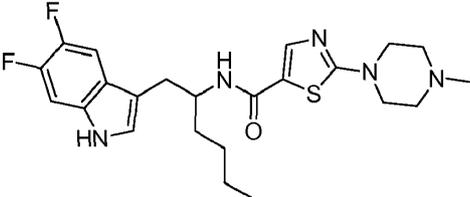
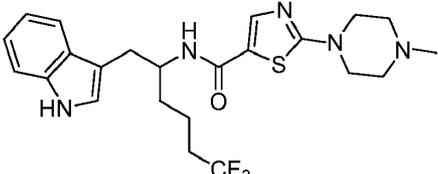
R² está en la configuración estereoquímica de «R»; o

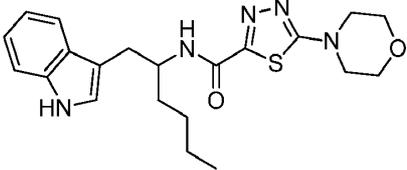
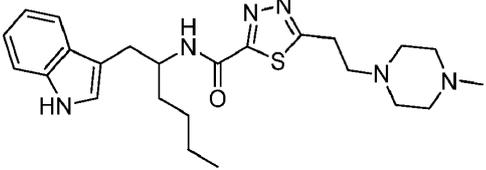
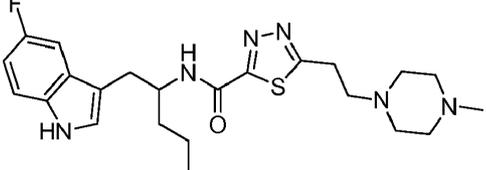
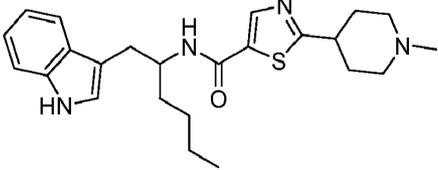
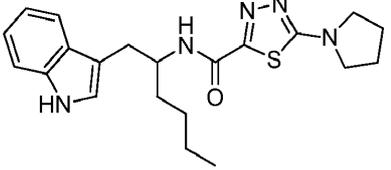
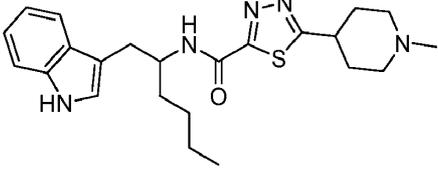
R² está en la configuración estereoquímica de «S».

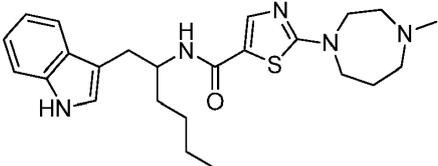
10 En una forma de realización, el compuesto es seleccionado entre los compuestos de las siguientes fórmulas, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos:

(1)		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-2-(piperazin-1-yl)thiazol-5-carboxamida	(Ej. 3),
(2)		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-2-(2-(4-metilpiperazin-1-yl)etil)thiazol-5-carboxamida	(Ej. 5),
(3)		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-2-(4-metilpiperazin-1-yl)thiazol-5-carboxamida	(Ej. 6),
(4)		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-5-(4-metilpiperazin-1-yl)-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida	(Ej. 7),

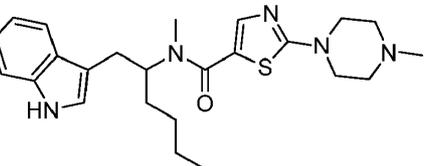
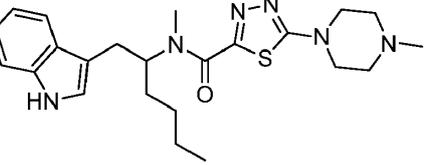
(5)		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-5-(4-metilpiperazin-1-il)-4H-1,2,4-triazol-3-carboxamida	(Ej. 8),
(6)		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-2-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-imidazol-5-carboxamida	(Ej. 9),
(7)		N-(1-(5-fluoro-1H-indol-3-il)hexan-2-yl)-2-(2-morfolinoetil)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 10),
(8)		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-yl)-2-morfolinotiazol-5-carboxamida	(Ej. 11),
(9)		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-yl)-2-(pirrolidin-1-il)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 12),
(10)		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-yl)-2-(2-morfolinoetil)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 13,

			
(11)		N-(1-(5-fluoro-1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 14),
(12)		N-(1-(6-fluoro-1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 16),
(13)		N-(1-(5,6-difluoro-1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 17),
(14)		2-(4-metilpiperazin-1-il)-N-(6,6,6-trifluoro-1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 18),
(15)		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-5-morfolino-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida	(Ej. 19),

			
(16)		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-5-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etil)-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida	(Ej. 20),
(17)		N-(1-(5-fluoro-1H-indol-3-il)hexan-2-il)-5-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etil)-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida	(Ej. 21),
(18)		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(1-metilpiperidin-4-il)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 22),
(19)		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-5-(pirrolidin-1-il)-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida	(Ej. 23),
(20)		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-5-(1-metilpiperidin-4-il)-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida	(Ej. 25),

(21)		<p>N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)tiazol-5-carboxamida</p>	(Ej. 26).
------	---	--	-----------

En una forma de realización, el compuesto es seleccionado entre los compuestos de las siguientes fórmulas, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos:

(1)		<p>N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-N-metil-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida</p>	(Ej. 15),
(2)		<p>N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-N-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida</p>	(Ej. 24).

- 5 Un segundo aspecto de la invención es una composición farmacéutica que comprende (a) al menos un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con el primer aspecto; y (b) un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Un tercer aspecto de la invención es una composición farmacéutica que comprende (a) al menos un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con el primer aspecto; y (b) un excipiente farmacéuticamente aceptable, donde R² está considerablemente en una configuración estereoquímica de «R» o de «S».

Un cuarto aspecto de la invención es un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable según el primer aspecto o una composición farmacéutica según el segundo o tercer aspecto para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección médica relacionada con la agregación de proteínas.

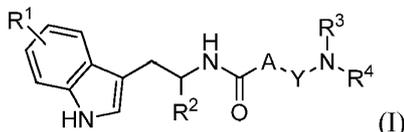
- 15 En una forma de realización, la enfermedad o afección médica es la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la demencia frontotemporal, la demencia con cuerpos de Lewy (enfermedad de cuerpos de Lewy), la enfermedad de Parkinson con demencia, la atrofia multisistémica, la esclerosis lateral amiotrófica, la enfermedad de Huntington, cáncer, melanoma, o una enfermedad inflamatoria.

- 20 Un quinto aspecto de la invención es un método de interferir con la acumulación de agregados de proteínas o péptidos en una célula, o de prevenir, ralentizar, revertir, o inhibir la agregación de proteínas o péptidos en una

célula, que comprende poner en contacto la célula con una cantidad eficaz de al menos un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable según el primer aspecto o una composición farmacéutica según el segundo o tercer aspecto, donde el contacto se realiza *in vitro* o *ex vivo*.

Descripción

5 En el presente documento se describe una entidad química de la siguiente Fórmula (I):



donde

R¹ es H, halo, C₁₋₄alquilo, o CF₃;

R² es -CF₃, o C₁₋₄alquilo no sustituido o sustituido con halo o -CF₃;

10 A es un anillo heteroarílico de 5 miembros;

Y está ausente o es C₁₋₄ alquileno;

15 R³ y R⁴ tomados junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocicloalquilo monocíclico, no sustituido o sustituido con C₁₋₄alquilo; o donde Y es C₁₋₄alquileno, R³ y Y tomados conjuntamente con el nitrógeno al que R³ está conectado forman un anillo heterocicloalquilo monocíclico, y R⁴ es H o C₁₋₄alquilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En determinadas formas de realización, el compuesto de la Fórmula (I) es un compuesto seleccionado de entre aquellas especies que se describen o ejemplifican a continuación en la descripción detallada.

20 En el presente documento se describe también una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de este. Las composiciones farmacéuticas que se describen en el presente documento pueden comprender además un excipiente farmacéuticamente aceptable. Asimismo, se describe aquí un compuesto de la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de este para su uso como un medicamento.

25 También se describe en el presente documento un método para tratar una enfermedad neurodegenerativa o una afección relacionada con la agregación de proteínas o péptidos que comprende la administración a un sujeto que necesita dicho tratamiento de una cantidad efectiva de al menos un compuesto de la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

30 En el presente documento se describe también un método para tratar una enfermedad o afección médica relacionada con la agregación de proteínas o péptidos, que comprende la administración a un sujeto que necesita dicho tratamiento de una cantidad efectiva de al menos un compuesto de la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En el presente documento se describe también el uso de un compuesto de la Fórmula (I) en la preparación de un medicamento para el tratamiento de dichas enfermedades y afecciones médicas, y el uso de dichos compuestos y sales para el tratamiento de tales enfermedades y afecciones médicas.

35 En el presente documento también se describe un método para interferir en la acumulación de agregados de proteínas o péptidos en una célula, o para prevenir, ralentizar, revertir, o inhibir la agregación de proteínas o péptidos en una célula, que comprende poner en contacto la célula con una cantidad eficaz de al menos un compuesto de la Fórmula (I) o una sal del mismo, y/o con al menos una composición farmacéutica descrita en el presente documento, donde el contacto sea *in vitro*, *ex vivo*, o *in vivo*.

A partir de la siguiente descripción detallada y a través de la práctica de la invención se podrán apreciar formas de realización, características y ventajas adicionales de la invención.

Breve descripción de las figuras

5 La figura 1 muestra los resultados del Ejemplo biológico 3. En la figura 1A, el eje Y (I/I₀) es la proporción de la intensidad de señal de espectroscopia de correlación heteronuclear cuántica simple (HSQC) para ASYN (media de residuos 3-23) en presencia (I) o ausencia (I₀) de membranas lipídicas. En la figura 1B, la media de la proporción I/I₀ de los residuos de ASYN 3-23 se planeó como una función de la concentración del Ejemplo 1 añadido.

10 La figura 2 muestra la cuantificación de imágenes microscópicas de electrones de oligómeros de ASYN en ausencia y presencia del Ejemplo 1 según se describe en el Ejemplo biológico 4.

En la figura 3 se muestra el efecto del Ejemplo 1 en la acumulación de ASYN en células de neuroblastoma B103 que expresan ASYN humana marcada con GFP según se describe en el Ejemplo biológico 5.

La figura 4 muestra los resultados del ejemplo biológico 6A y los efectos del Ejemplo 1 a dosis de 1 mg/kg y 5 mg/kg en ratones transgénicos en el modelo Round Beam Task.

15 La figura 5 muestra los resultados del análisis dot blot del Ejemplo biológico 6A y los homogeneizados cerebrales e hipocampales del cerebro empleando el anticuerpo A11.

20 La figura 6 muestra los resultados del Ejemplo biológico 6B y los efectos del Ejemplo 1 en el inmunomarcaje de cuerpos celulares neuronales y del neuropilo cortical en ratones transgénicos de ASYN de línea 61. La figura 6A representa el brazo/miembro neuropilo de ASYN, y la figura 6B representa el brazo/miembro del cuerpo celular neuronal de la investigación.

La figura 7 muestra los resultados del Ejemplo biológico 6B y los efectos del Ejemplo 1 en el inmunomarcaje de marcadores relacionados con la neurodegeneración, incluidos la tirosina hidroxilasa (Fig. 7A), NeuN (Fig. 7B), y la proteína ácida fibrilar glial (GFAP; Fig. 7C).

25 La figura 8 muestra los resultados del Ejemplo biológico 6B y los efectos del Ejemplo 1 en el deterioro sensoriomotor en ratones transgénicos de la Línea 61 de ASYN utilizando el ensayo Round Beam Motor Performance.

La figura 9 muestra los resultados del Ejemplo biológico 7A y los efectos del Ejemplo 1 en los recuentos de bolos fecales en ratones transgénicos de la Línea 61 de ASYN.

30 La figura 10 muestra los resultados del Ejemplo biológico 7B y los efectos del Ejemplo 1 en los niveles cardíacos de ASYN en la línea 61 de ASYN en ratones transgénicos.

La figura 11 muestra los resultados del Ejemplo biológico 7C y los efectos del Ejemplo 1 en el porcentaje de áreas de imagen con ASYN-GFP en las retinas de ratones transgénicos PDNG78.

La figura 12 muestra los resultados del Ejemplo biológico 7C y los efectos del Ejemplo 1 en el marcaje con GFP perivascular y del terminal nervioso en ratones transgénicos PDNG78.

35 Descripción detallada

Antes de describir la presente invención, ha de entenderse que esta invención no se limita a las formas de realización específicos descritos, dado que estos pueden variar, por supuesto. También ha de entenderse que la terminología utilizada en el presente documento se emplea con el propósito de describir únicamente las formas de realización concretas.

A menos que se definan de otra forma, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el entendido comúnmente por un experto en la materia a la que pertenece la presente invención.

5 Debe señalarse que tal como se entiende en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares «un», «una», «el» y «la» incluyen referentes plurales a menos que el contexto dicte claramente otra cosa. Nótese además que las reivindicaciones pueden estar redactadas para excluir cualquier elemento opcional. Por tanto, el propósito de esta afirmación es servir como antecedente para el uso de dicha terminología exclusiva como «solamente», «únicamente» y similares en relación con la recitación de elementos reivindicados, o el uso de una limitación «negativa».

10 Tal como se entiende en el presente documento, los términos «incluir», «comprender» y «contener» se utilizan en su sentido abierto y no limitativo.

15 Para proporcionar una descripción más concisa, algunas de las expresiones cuantitativas que se indican en el presente documento no están calificadas con el término «aproximadamente». Se entiende que, aunque el término «aproximadamente» se utilice o no de manera explícita, cada cantidad que se indica en el presente documento tiene como objetivo hacer referencia al valor indicado real, y también tiene como objetivo hacer referencia a la aproximación de dicho valor que se deducirá razonablemente basándose en la técnica corriente, incluidos equivalentes y aproximaciones debido a las condiciones experimentales y/o de medida para dicho valor indicado. Cuando un rendimiento se exprese en porcentajes, dicho rendimiento se refiere a una masa de la entidad para la que se indica el rendimiento con respecto a la cantidad máxima de la misma entidad que podría obtenerse en las condiciones estequiométricas concretas. Las concentraciones que se expresen en porcentajes hacen referencia a la relación másica, a menos que se indique de otra manera.

25 A menos que se definan de otra forma, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el entendido comúnmente por un experto en la materia a la que pertenece la presente invención. Aunque en la práctica o en el ensayo de la presente invención se puede utilizar cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento, se describirán a continuación los métodos y los materiales preferidos. Todas las publicaciones mencionadas en el presente documento están citadas para dar a conocer y describir los métodos y/o están citados los materiales en relación con las publicaciones.

30 A menos que se indique lo contrario, los métodos y las técnicas de las presentes formas de realización por lo general se llevan a cabo según los métodos convencionales que se conocen bien en la técnica y tal y como se describen en varias referencias generales y más específicas que se citan y se examinan a lo largo de la presente memoria. Véase, p. ej., Loudon, *Organic Chemistry, Fourth Edition*, New York: Oxford University Press, 2002, pp. 360-361, 1084-1085; Smith and March, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, Quinta Edición, Wiley-Interscience, 2001.

35 La nomenclatura utilizada en el presente documento para nombrar los compuestos de la invención se ilustra en los Ejemplos del presente documento. Esta nomenclatura por lo general se ha derivado mediante la utilización del software AutoNom disponible en el mercado (MDL, San Leandro, Calif.), versión 12.0.2.

40 Se considera que determinadas características, que, para mayor claridad, se describen en el contexto de las diferentes formas de realización, también pueden proporcionarse combinadas en una única forma de realización. Por el contrario, varias características, que, para mayor concisión, se describen en el contexto de una única forma de realización, también pueden proporcionarse de manera separada o en cualquier subcombinación adecuada. Todas las combinaciones de las formas de realización correspondientes a los grupos químicos representados por las variables están específicamente abarcados por la presente invención y expuestos en el presente documento como si todas y cada una de las combinaciones estuviese expuesta de manera individual y explícita, en la medida que dichas combinaciones abarcan los compuestos que son compuestos estables (es decir, compuestos que pueden aislarse, caracterizarse, y analizarse para la actividad biológica). Además, todas las subcombinaciones de los grupos químicos indicados en las formas de realización que describen dichas variables también están abarcados específicamente y se dan a conocer en el presente documento como si todas y cada una de dichas subcombinaciones de grupos químicos estuviese expuesta en el presente documento de manera individual y explícita.

50 Formas de realización representativas

En algunas formas de realización de la Fórmula (I), R¹ es fluoro, cloro, bromo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo o tert-butilo. En otras formas de realización, R¹ es fluoro.

5 En algunas formas de realización, R² es -CF₃, o es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, o tert-butilo, cada uno no sustituido o sustituido con fluoro, cloro, bromo o -CF₃. En otras formas de realización, R² es -CF₃ o es C₁₋₄alquilo opcionalmente sustituido con halo o -CF₃. En otras formas de realización, R² es C₃₋₄alquilo, no sustituido o sustituido con fluoro o -CF₃. En otras formas de realización, R² es butilo. En otras formas de realización, R² es propilo sustituido con -CF₃.

10 En algunas formas de realización, R² está en la configuración estereoquímica de «R». En otras formas de realización, R² está en la configuración estereoquímica de «S». En otras formas de realización, los compuestos de la Fórmula (I) son mezclas estereoquímicas en la posición R². En todavía otras formas de realización, R² está considerablemente en la configuración estereoquímica de «R» o de «S».

15 En algunas formas de realización, A es un anillo heteroarilo de 5 miembros con dos o tres átomos de anillo heteroatómico. En otras formas de realización, A es un anillo heteroarilo de 5 miembros con dos átomos de anillo heteroatómico no adyacentes. En todavía otras formas de realización, A es tiazol, tiadiazol, oxazol, imidazol o triazol. En todavía otras formas de realización, A es tiazol o tiadiazol. En todavía otras formas de realización, A es tiazol.

20 En algunas formas de realización, Y está ausente. En otras formas de realización, Y es -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH(CH₃)-, -(CH₂)₃-, -C(CH₃)₂-, -(CH₂)₄-, -CH((CH₂)₂CH₃)-, -CH(CH(CH₃)₂)-, -CH(CH₂CH₃)CH₂-, -CH(CH₃)CH(CH₃)-, -CH(CH₃)(CH₂)₂-, o -CH₂CH(CH₃)CH₂-. En otras formas de realización, Y es -CH₂-, -CH₂CH₂-, o -CH(CH₃)-. En todavía otras formas de realización, Y es -CH₂CH₂-.

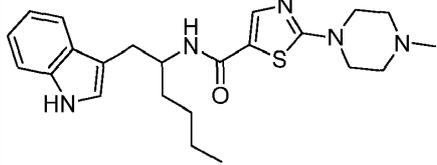
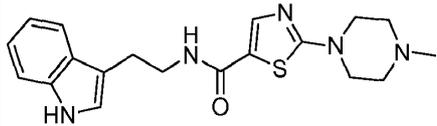
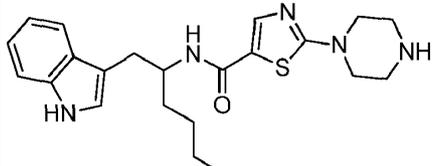
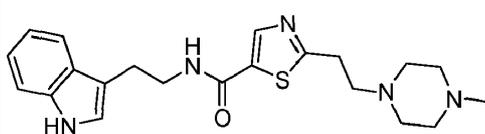
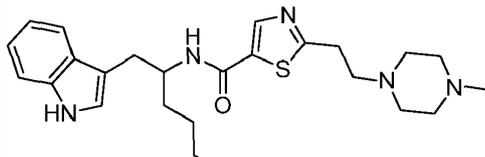
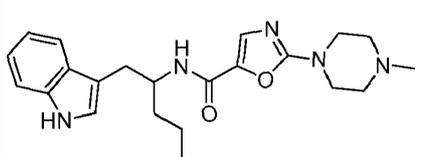
25 En algunas formas de realización, R³ y R⁴ se toman conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados y forman un anillo heterocicloalquilo monocíclico, no sustituido o sustituido con C₁₋₄alquilo. En otras formas de realización, R³ y R⁴ se toman conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados y forman azetidina, pirrolidina, piperidina, azepina, piperazina, morfolina, tiomorfolina, o 1,1-dioxo-tiomorfolina, cada una no sustituida o sustituida con C₁₋₄alquilo. En otras formas de realización, R³ y R⁴ se toman conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados y forman piperazina, morfolina o pirrolidina, cada una no sustituida o sustituida con C₁₋₄alquilo. En algunas formas de realización, R³ y R⁴ se toman conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados y forman piperazina o morfolina, cada una no sustituida o sustituida con C₁₋₄alquilo. En algunas formas de realización, R³ y R⁴ se toman conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados y forman piperazina, no sustituida o sustituida con C₁₋₄alquilo. En todavía otras formas de realización, R³ y R⁴ se toman conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados y forman piperazina o 4-metil-piperazina.

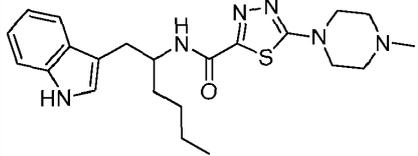
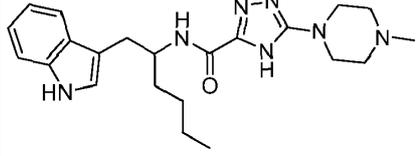
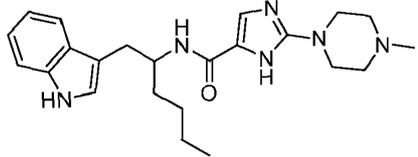
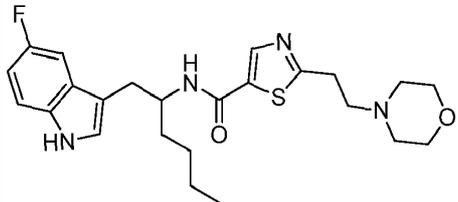
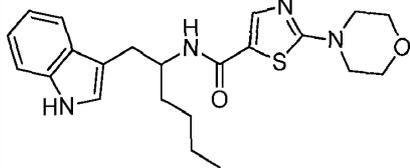
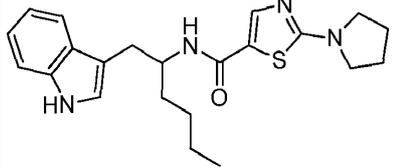
35 En otras formas de realización, donde Y es C₁₋₄alquilenilo, R³ y Y se toman conjuntamente con el nitrógeno al que R³ está conectado y forman un anillo heterocicloalquilo monocíclico, y R⁴ es H o C₁₋₄alquilo. En otras formas de realización, Y y R³ se toman conjuntamente con el nitrógeno al que R³ está conectado y forman pirrolidina o piperidina. En otras formas de realización, R⁴ es H o metilo.

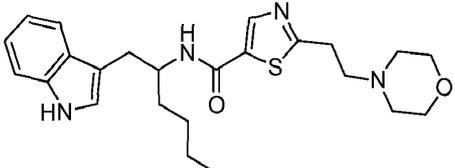
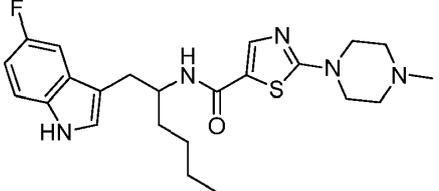
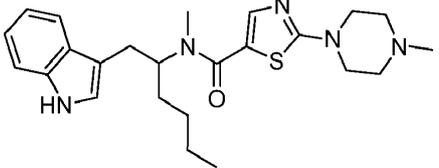
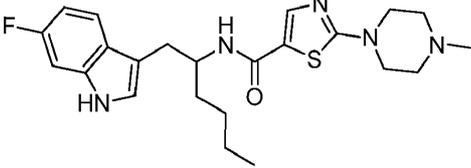
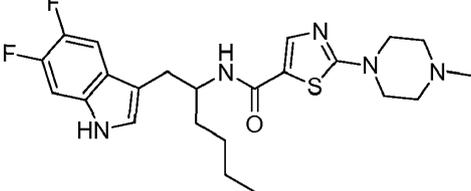
En algunas formas de realización, R¹ es H, R² es C₁₋₄alquilo (o es es C₃₋₄alquilo), A es tiazol, Y está ausente o es etileno (o está ausente, o es etileno), y R³ y R⁴ tomados conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados forman N-metilpiperazina.

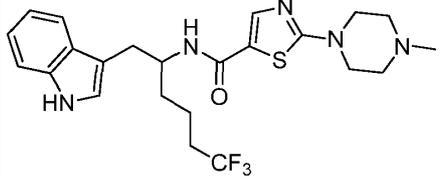
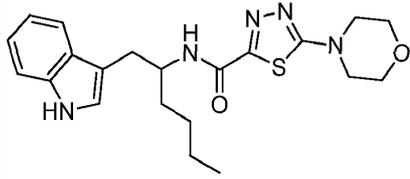
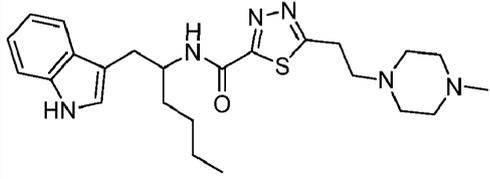
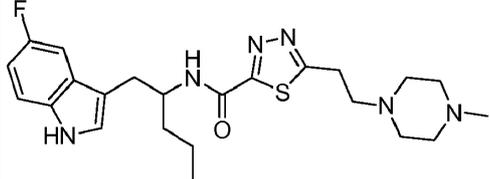
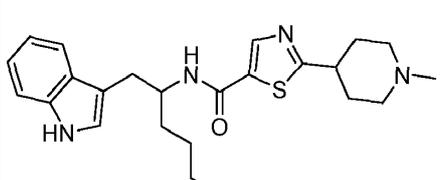
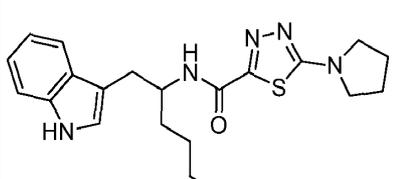
40 En otras formas de realización, el compuesto de la Fórmula (I) se selecciona de entre el grupo que consiste en (donde (#) indica un compuesto de referencia):

Ej.	Estructura	Nombre químico
1		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida

		
2 (#)		N-(2-(1H-indol-3-yl)etil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida
3		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(piperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida
4 (#)		N-(2-(1H-indol-3-il)etil)-2-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etil)tiazol-5-carboxamida
5		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etil)tiazol-5-carboxamida
6		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)oxazol-5-carboxamida
7		N-(1-(1 H-indol-3-il)hexan-2-il)-5-(4-metilpiperazin-1-il)-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida

		
8		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-5-(4-metilpiperazin-1-il)-4H-1,2,4-triazol-3-carboxamida
9		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-2-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-imidazol-5-carboxamida
10		N-(1-(5-fluoro-1H-indol-3-il)hexan-2-yl)-2-(2-morfolinoetil)tiazol-5-carboxamida
11		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-2-morfolinotiazol-5-carboxamida
12		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-2-(pirrolidin-1-il)tiazol-5-carboxamida

13		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(2-morfolinoetil)tiazol-5-carboxamida
14		N-(1-(5-fluoro-1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida
15		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-N-metil-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida
16		N-(1-(6-fluoro-1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida
17		N-(1-(5,6-difluoro-1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida
18		2-(4-metilpiperazin-1-il)-N-(6,6,6-trifluoro-1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)tiazol-5-carboxamida

		
19		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-5-morfolino-1,3,4-tiazol-2-carboxamida
20		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-5-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etil)-1,3,4-tiazol-2-carboxamida
21		N-(1-(5-fluoro-1H-indol-3-il)hexan-2-il)-5-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etil)-1,3,4-tiazol-2-carboxamida
22		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(1-metilpiperidin-4-il)tiazol-5-carboxamida
23		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-5-(pirrolidin-1-il)-1,3,4-tiazol-2-carboxamida

24		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-N-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida
25		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-5-(1-metilpiperidin-4-il)-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida
26		N-(1-(1 H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)tiazol-5-carboxamida

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En otras formas de realización, el compuesto de la Fórmula (I) se selecciona de entre el grupo que consiste en:

Ej.	Estructura	Nombre químico
27		(S)-N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida
28		(R)- N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida;

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Cualquier fórmula proporcionada en el presente documento también pretende representar formas de los compuestos sin marcar, así como formas marcadas isotópicamente. Los compuestos marcados isotópicamente poseen estructuras representadas por las fórmulas proporcionadas en el presente documento, excepto que uno o más átomos están sustituidos por un átomo que tiene una masa atómica o un número de masa seleccionado. Entre los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos que se describen en el presente documento se incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor, cloro, y yodo, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , y ^{125}I , respectivamente. Dichos compuestos marcados isotópicamente son útiles en estudios metabólicos (preferiblemente con ^{14}C), estudios de cinética de reacción (con, por ejemplo, ^2H o ^3H), las técnicas de detección o de imagen [como la tomografía por emisión de positrones (PET, por sus siglas en inglés) o la tomografía computarizada de emisión monofotónica (SPECT)] que incluyen ensayos sobre la distribución de los fármacos o los sustratos en los tejidos, o en el tratamiento radiactivo de pacientes. En particular, un compuesto marcado con ^{18}F o ^{11}C puede preferirse particularmente para estudios con PET o con SPECT. Se pueden llevar a cabo estudios con PET o con SPECT según se ha descrito, por ejemplo, en Brooks, D.J., "Positron Emission Tomography and Single-Photon Emission Computed Tomography in Central Nervous System Drug Development," *NeuroRx* 2005, 2(2), 226-236, y en las referencias citadas en ese documento. Además, la sustitución con isótopos más pesados, como el deuterio (es decir, ^2H) podría ofrecer determinadas ventajas terapéuticas como consecuencia de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, el aumento de la vida media in vivo o una necesidad de una dosis reducida. Los compuestos marcados isotópicamente que se describen en el presente documento pueden prepararse por lo general llevando a cabo los procedimientos expuestos en los esquemas o en los ejemplos y las preparaciones descritas a continuación sustituyendo un reactivo marcado isotópicamente fácil de conseguir por un reactivo no marcado isotópicamente.

La nomenclatura «C_{i-j}» con $j > i$, cuando se aplica en el presente documento a una clase de sustituyentes, pretende hacer referencia a las formas de realización aquí descritas para las que cada uno de los elementos de carbono, de i a j , incluidos i y j , se obtiene de manera independiente. A título de ejemplo, el término C₁₋₃ hace referencia independientemente a las formas de realización que tienen un miembro de carbono (C₁), formas de realización que tienen dos miembros de carbono (C₂), y formas de realización que tienen tres miembros de carbono (C₃).

Cualquier disustituyente al que se haga referencia en el presente documento pretende abarcar las varias fijaciones posibles cuando esté permitida más de una de dichas posibilidades. Por ejemplo, una referencia al disustituyente -A-B, donde $A \neq B$ se refiere en el presente documento a dicho disustituyente con A unido a un primer miembro sustituido, y B unido a un segundo miembro sustituido, y también se refiere a dicho disustituyente con A unido al segundo miembro sustituido y B unido al primer miembro sustituido.

En el presente documento se describen también sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos representados por la Fórmula (I), preferentemente de aquellos descritos anteriormente y de los compuestos específicos ejemplificados en el presente documento, y composiciones farmacéuticas que comprenden dichas sales, y métodos para utilizar dichas sales.

Una «sal farmacéuticamente aceptable» pretende hacer referencia a una sal de un ácido libre o una base de un compuesto representado en el presente documento que no sea tóxica, que sea biológicamente tolerable, o biológicamente adecuada para su administración al sujeto. Véase, generalmente, S.M. Berge, et al., «Pharmaceutical Salts», *J. Pharm. Sci.*, 1977, 66, 1-19. Las sales farmacéuticamente aceptables preferidas son aquellas que son farmacológicamente efectivas y adecuadas para el contacto con los tejidos de los sujetos sin ser demasiado tóxicos, o sin que provoquen demasiada irritación o reacción alérgica. Un compuesto descrito en el presente documento puede poseer un grupo suficientemente ácido, un grupo suficientemente básico, ambos tipos de grupos funcionales, o más de uno de cada tipo, y reaccionar en consecuencia con un número de bases inorgánicas u orgánicas, y de ácidos inorgánicos y orgánicos, para formar una sal farmacéuticamente aceptable.

Algunos ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen sulfatos, piro-sulfatos, bisulfatos, sulfitos, bisulfitos, fosfatos, monohidrogenofosfatos, dihidrogenofosfatos, metafosfatos, pirofosfatos, cloruros, bromuros, yoduros, acetatos, propionatos, decanoatos, caprilatos, acrilatos, formiatos, isobutiratos, caproatos, heptanoatos, propiolatos, oxalatos, malonatos, succinatos, suberatos, sebacos, fumaratos, maleatos, butino-1,4- dioatos, hexino-1,6-dioatos, benzoatos, clorobenzoatos, metilbenzoatos, dinitrobenzoatos, hidroxibenzoatos, metoxibenzoatos, ftalatos, sulfonatos, metilsulfonatos, propilsulfonatos, besilatos, xilenosulfonatos, naftaleno-1-sulfonatos, naftaleno-2-sulfonatos, fenilacetatos, fenilpropionatos, fenilbutiratos, citratos, lactatos, γ -hidroxibutiratos, glicolatos, tartratos y mandelatos. Se pueden encontrar listas de otras sales farmacéuticamente aceptables adecuadas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17^a Edición, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985.

Para un compuesto de la Fórmula (I) que contenga un nitrógeno básico, una sal farmacéuticamente aceptable puede prepararse con cualquier método apropiado disponible en la técnica, por ejemplo, el tratamiento de la base libre con un ácido inorgánico, como el ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido sulfámico, ácido nítrico, ácido bórico, ácido fosfórico, y demás, o con un ácido orgánico, como el ácido acético, ácido fenilacético, ácido propiónico, ácido esteárico, ácido láctico, ácido ascórbico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido isetiónico, ácido succínico, ácido valérico, ácido fumárico, ácido malónico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido glicólico, ácido salicílico, ácido oleico, ácido palmítico, ácido láurico, un ácido piranosídílico, como el ácido glucurónico o ácido galacturónico, un ácido alfa-hidroxiácido, como el mandelic acid, el ácido cítrico o el ácido tartárico, un aminoácido, como el ácido aspártico o el ácido glutámico, un ácido aromático, como el ácido benzoico, ácido 2-acetoxibenzoico, ácido naftoico o ácido cinámico, un ácido sulfónico, como el ácido laurilsulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico o ácido etanosulfónico, o cualquier mezcla de ácidos compatible como los ejemplos proporcionados en el presente documento, y cualquier otro ácido y mezcla de los mismos que se consideren equivalentes o sustitutos aceptables en función del nivel normal de conocimiento práctico en esta tecnología.

En el presente documento también se describen profármacos farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la Fórmula (I), y métodos de tratamiento que emplean dichos profármacos farmacéuticamente aceptables. El término "profármaco" hace referencia a un precursor de un compuesto especificado que, tras su administración a un sujeto, produce el compuesto in vivo a través de un proceso químico o fisiológico como la solvólisis o la escisión enzimática, o en condiciones fisiológicas (p. ej., al llevar un profármaco a pH fisiológico se convierte en el compuesto de la Fórmula (I)). Un "profármaco farmacéuticamente aceptable" es un profármaco que no es tóxico, que es biológicamente tolerable, o biológicamente adecuado para su administración al sujeto. En "Design of Prodrugs", ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985, por ejemplo, se describen procedimientos ilustrativos para la selección y preparación de derivados de profármacos adecuados.

También se describen en el presente documento metabolitos farmacéuticamente activos de los compuestos de la Fórmula (I), y los usos de dichos metabolitos en los métodos que se describen en el presente documento. Un «metabolito farmacéuticamente aceptable» hace referencia a un producto farmacéuticamente activo del metabolismo del cuerpo de un compuesto de la Fórmula (I) o de una sal del mismo. Los profármacos y los metabolitos activos de un compuesto se pueden determinar utilizando técnicas rutinarias conocidas o disponibles en la técnica. Véase, p. ej., Bertolini et al., J. Med. Chem. 1997, 40, 2011-2016; Shan et al., J. Pharm. Sci. 1997, 86 (7), 765-767; Bagshawe, Drug Dev. Res. 1995, 34, 220-230; Bodor, Adv. Drug Res. 1984, 13, 255-331; Bundgaard, Design of Prodrugs (Elsevier Press, 1985); y Larsen, Design and Application of Prodrugs, Drug Design and Development (Krogsgaard-Larsen et al., eds., Harwood Academic Publishers, 1991).

Composiciones farmacéuticas

Para fines de tratamiento, las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos descritos en el presente documento pueden comprender además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Un excipiente farmacéuticamente aceptable es una sustancia que no es tóxica, sino que es biológicamente adecuada para su administración a un sujeto. Dichos excipientes facilitan la administración de los compuestos descritos en el presente documento y son compatibles con el ingrediente activo. Entre los ejemplos de excipientes farmacéuticamente aceptables se incluyen estabilizadores, lubricantes, tensioactivos, diluyentes, antioxidantes, aglutinantes, agentes colorantes, agentes de carga, emulsionantes o agentes que modifiquen el sabor. En las formas de realización preferidas, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento son composiciones estériles. Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar empleando técnicas para su composición conocidas o que estén disponibles para los expertos en la materia.

También se contemplan composiciones estériles, incluidas las composiciones que estén en consonancia con las normas nacionales y locales que rijan dichas composiciones.

Las composiciones farmacéuticas y los compuestos descritos en el presente documento pueden formularse como soluciones, emulsiones, suspensiones o dispersiones en solventes o portadores farmacéuticos adecuados, o en forma de pastillas, comprimidos, pastillas para chupar, supositorios, sobres, grageas, gránulos, polvos, polvos para su reconstitución, o cápsulas junto con portadores sólidos según los métodos convencionales conocidos en la técnica para la preparación de diversas formas galénicas. Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se pueden administrar por una vía de administración adecuada, como por vía oral, parenteral, rectal, nasal, tópica, ocular, o por inhalación. Preferentemente, las composiciones se formulan para su administración intravenosa u oral.

- Para su administración oral, los compuestos aquí descritos se pueden proporcionar en forma sólida, como en una pastilla o cápsula, o como una solución, emulsión, o suspensión. Para preparar las composiciones orales, los compuestos aquí descritos pueden formularse para producir una dosis de, p. ej., desde aproximadamente 0,01 hasta aproximadamente 50 mg/kg al día, o desde aproximadamente 0,05 hasta aproximadamente 20 mg/kg al día, o desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 10 mg/kg al día. Otras dosis incluyen desde aproximadamente 0,1 mg al día hasta 1 g al día, desde aproximadamente 1 mg al día hasta aproximadamente 10 mg al día, desde aproximadamente 10 mg al día hasta aproximadamente 50 mg al día, desde aproximadamente 50 mg al día hasta aproximadamente 250 mg al día, o desde aproximadamente 250 mg al día a 1 g al día. Los comprimidos orales pueden incluir el/los ingrediente(s) activo(s) mezclado(s) con excipientes farmacéuticamente aceptables compatibles, tales como diluyentes, agentes desintegrantes, agentes aglutinantes, agentes lubricantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes. Los productos inertes adecuados incluyen carbonato de sodio y de calcio, fosfato de sodio y de calcio, lactosa, almidón, azúcar, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, manitol, sorbitol, y similares. Entre los ejemplos de excipientes orales líquidos se incluyen etanol, glicerol, agua y similares. El almidón, la polivinil-pirrolidona (PVP), el almidón glicolato sódico, la celulosa microcristalina y el ácido algínico son ejemplos de agentes desintegrantes. Los agentes aglutinantes pueden incluir almidón y gelatina. El agente lubricante, si está presente, puede ser estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Si se desea, los comprimidos se pueden recubrir con un material como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo para retrasar la absorción en el tracto gastrointestinal, o se pueden recubrir con un recubrimiento entérico.
- 20 Las cápsulas para la administración oral incluyen cápsulas de gelatina dura y blanda. Para preparar cápsulas de gelatina dura, el o los ingrediente(s) activo(s) se puede(n) mezclar con un diluyente sólido, semisólido o líquido. Las cápsulas de gelatina blanda se pueden preparar mezclando el ingrediente activo con agua, un aceite como el aceite de cacahuate o aceite de oliva, parafina líquida, una mezcla de mono y diglicéridos de ácidos grasos de cadena corta, polietilenglicol 400, o propilenglicol.
- 25 Los líquidos para la administración oral pueden estar en forma de suspensiones, soluciones, emulsiones o jarabes, o se pueden liofilizar o presentar en forma de un producto seco para su reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Tales composiciones líquidas pueden contener de manera opcional: excipientes farmacéuticamente aceptables como agentes suspensores (por ejemplo, sorbitol, metilcelulosa, alginato sódico, gelatina, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa, gel de estearato de aluminio y similares); vehículos no acuosos, p. ej., aceite (por ejemplo, aceite de almendra o aceite de coco fraccionado), propilenglicol, alcohol etílico, o agua; conservantes (por ejemplo, p-hidroxibenzoato de metilo o de propilo o ácido sórbico); agentes humectantes tales como lecitina; y, si se desea, agentes aromatizantes o colorantes.

- 35 Las composiciones de la invención se pueden formular para su administración rectal en forma de supositorio. Para su uso parenteral, incluyendo las vías intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intranasal o subcutánea, los agentes que se describen en el presente documento se pueden proporcionar en soluciones o suspensiones acuosas estériles, tamponadas a un pH e isotonicidad o en un aceite parenteralmente aceptable. Entre los vehículos acuosos adecuados se incluye solución de Ringer y cloruro de sodio isotónico. Tales formas pueden presentarse en forma de monodosis como ampollas o dispositivos de inyección desechables, en formas multidosis como viales de los que se puede sacar la dosis apropiada, o en una forma sólida o preconcentrada que puede utilizarse para preparar una formulación inyectable. Las dosis de infusión ilustrativas oscilan desde aproximadamente 1 hasta 1000 µg/kg/minuto de un agente mezclado con un portador farmacéutico durante un período que oscila desde varios minutos hasta varios días.

Para la administración nasal, inhalada u oral, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse utilizando, por ejemplo, una formulación en spray que también contenga un portador adecuado.

- 45 Para aplicaciones tópicas, los compuestos aquí descritos se formulan preferiblemente en forma de cremas o ungüentos o en un vehículo similar adecuado para la administración tópica. Para la administración tópica, los compuestos de la invención pueden mezclarse con un portador farmacéutico a una concentración de aproximadamente un 0,1 % a aproximadamente un 10 % de fármaco con respecto al vehículo. Otro modo de administrar los agentes aquí descritos puede utilizar una formulación en parche para llevar a cabo la liberación transdérmica.

Según se utiliza en el presente documento, los términos «tratar» o «tratamiento» abarcan tanto los tratamientos «preventivos» como los «curativos». Se pretende que un tratamiento «preventivo» indique un retraso del desarrollo de una enfermedad, un síntoma de una enfermedad, o una afección médica, suprimir los síntomas que puedan aparecer, o reducir el riesgo de desarrollo o recurrencia de una enfermedad o síntoma. Un tratamiento «curativo»

incluye reducir la gravedad o suprimir el empeoramiento de una enfermedad, un síntoma, o una afección existente. Por consiguiente, el tratamiento incluye mejorar o prevenir el empeoramiento de los síntomas existentes de una enfermedad, prevenir que aparezcan síntomas adicionales, mejorar o prevenir las causas sistémicas subyacentes de los síntomas, inhibir la enfermedad o trastorno, p. ej., parar el desarrollo del trastorno o enfermedad, aliviar el trastorno o enfermedad, provocar la regresión del trastorno o enfermedad, aliviar una afección provocada por la enfermedad o trastorno, o parar los síntomas de la enfermedad o trastorno.

El término «sujeto» hace referencia un paciente mamífero que necesita dicho tratamiento, como un ser humano.

Entre los ejemplos de enfermedades neurodegenerativas que se caracterizan por la agregación de proteínas se incluyen la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la demencia frontotemporal, la demencia con cuerpos de Lewy (enfermedad de cuerpos de Lewy), la enfermedad de Parkinson con demencia, la atrofia multisistémica, la esclerosis lateral amiotrófica, la enfermedad de Huntington, así como cánceres y enfermedades inflamatorias.

En un caso, los compuestos y composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se dirigen específicamente a la α -sinucleína, β -amiloide, y/o agregados de la proteína tau. Por consiguiente, estos compuestos y composiciones farmacéuticas pueden utilizarse para prevenir, revertir, ralentizar o inhibir la agregación de α -sinucleína, β -amiloide, y/o proteínas tau, y se utilizan en los métodos descritos en el presente documento para tratar enfermedades neurológicas degenerativas relacionadas con o causadas por la agregación, p. ej., como la agregación de α -sinucleína, β -amiloide, y/o proteínas tau. Preferiblemente, los métodos descritos en el presente documento se dirigen a enfermedades neurodegenerativas asociadas a la agregación de α -sinucleína, β -amiloide, y/o proteínas tau. En las formas de realización preferidas, los métodos de tratamiento están dirigidos a la enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, enfermedad con cuerpos de Lewy, o atrofia multisistémica. En otras formas de realización, los métodos están dirigidos al cáncer o melanoma. Los compuestos, composiciones, y método descritos en el presente documento también se utilizan para atenuar los efectos perjudiciales que son secundarios a la agregación de proteínas, como la muerte de células neuronales.

En algunos casos, los compuestos, composiciones y métodos descritos en el presente documento se utilizan para dirigirse a la agregación de α -sinucleína (SYN). En casos alternativos, los compuestos, composiciones y métodos descritos en el presente documento se utilizan para dirigirse a la agregación de A β .

En los métodos inhibidores descritos en el presente documento, una «cantidad eficaz» hace referencia a una cantidad suficiente para reducir, ralentizar el avance, o revertir la agregación de proteínas o péptidos. La medición de la cantidad de agregación puede llevarse a cabo con métodos analíticos rutinarios, como los que se describen a continuación. Dicha modulación es útil en diversos entornos, incluyendo ensayos in vitro. En dichos métodos, la célula es preferiblemente una célula nerviosa.

En los métodos de tratamiento descritos en el presente documento, una «cantidad eficaz» hace referencia a una cantidad o dosis suficiente para conseguir generalmente el beneficio terapéutico deseado en sujetos que necesiten dicho tratamiento. Las cantidades o dosis efectivas de los compuestos descritos en el presente documento se pueden determinar mediante métodos rutinarios, tales como modelado, escalada de dosis, o pruebas clínicas, teniendo en cuenta factores rutinarios, p. ej., el modo o vía de administración o liberación del fármaco, la farmacocinética del agente, la gravedad y el transcurso de la infección, el estado de salud, la condición y el peso del sujeto, y el criterio del médico encargado. Un ejemplo de dosis oscila entre aproximadamente 1 μ g y 2 mg de agente activo por kilogramo de peso corporal del sujeto por día, preferiblemente aproximadamente de 0,05 a 100 mg/kg/día, o aproximadamente de 1 a 35 mg/kg/día, o aproximadamente de 0,1 a 10 mg/kg/día. En formas de realización alternativas, un ejemplo de dosis oscila entre aproximadamente 1 mg y aproximadamente 1 g por día, o aproximadamente 1-500, 1-250, 1-100, 1-50, 50-500, o 250-500 mg por día. La dosis total puede administrarse en una única unidad de dosificación o en unidades de dosificación divididas (p. ej., BID, TID, QID).

Una vez ha ocurrido una mejora de la enfermedad del paciente, la dosis se puede ajustar para un tratamiento preventivo o de mantenimiento. Por ejemplo, la dosificación o la frecuencia de administración, o ambas, se pueden reducir en función de los síntomas, a un nivel al que se mantenga el efecto terapéutico o profiláctico deseado. Evidentemente, si los síntomas se han aliviado hasta un nivel apropiado, el tratamiento puede cesar. No obstante, los pacientes pueden necesitar tratamiento intermitente a largo plazo tras cualquier reaparición de los síntomas. Los pacientes también pueden necesitar tratamiento crónico a largo plazo.

Combinaciones farmacológicas

Los compuestos de la invención descritos en el presente documento se pueden utilizar en métodos o composiciones farmacéuticas en combinación con uno o más ingredientes activos adicionales para el tratamiento de trastornos neurodegenerativos. Otros ingredientes activos adicionales para aplicaciones en cáncer incluyen otra terapéutica de cáncer o agentes que mitiguen los efectos adversos de los agentes quimioterapéuticos en el cáncer.

5 Dichas combinaciones pueden servir para aumentar la eficacia, mejorar otros síntomas de la enfermedad, reducir uno o más efectos secundarios, o reducir la dosis necesaria de un compuesto de la invención. Los ingredientes activos adicionales pueden administrarse en una composición farmacéutica separada de un compuesto descrito en el presente documento o pueden incluirse con un compuesto descrito en el presente documento en una única composición farmacéutica. Los ingredientes activos adicionales se pueden administrar simultáneamente con, antes de, o después de la administración de un compuesto descrito en el presente documento.

Los agentes de combinación incluyen ingredientes activos adicionales son aquellos que se sabe o se descubre que son efectivos en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, incluyendo aquellos activos contra otro objetivo asociado a la enfermedad, tales como, pero sin limitarse a, a) compuestos dirigidos all plegamiento anómalo de las proteínas (como fármacos que reduzcan la producción de estas proteínas, que aumenten su eliminación o que alteren su agregación y/o propagación); b) compuestos que traten los síntomas de dichos trastornos (p. ej., terapias de reemplazo de la dopamina); y c) fármacos que actúen como neuroprotectores mediante mecanismos complementarios (p. ej., los que combaten la autofagia, los que son antioxidantes, y los que actúan mediante otros mecanismos, como los antagonistas de la adenosina A2A).

Por ejemplo, las composiciones y formulaciones descritas en el presente documento, así como los métodos de tratamiento, también pueden comprender otros fármacos o medicamentos, p. ej., otros agentes activos útiles para tratar o paliar una enfermedad neurológica degenerativa relacionada con o causada por la agregación de proteínas, p. ej., la agregación de sinucleína, de beta-amiloide y/o de proteína tau, p. ej., la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer (EA), la demencia de cuerpos de Lewy (DCL), y la atrofia multisistémica (AMS), o síntomas o afecciones relacionadas. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden comprender además uno o más de dichos agentes activos, y los métodos de tratamiento pueden comprender además la administración de una cantidad efectiva de uno o más de dichos agentes activos. En determinadas formas de realización, los agentes activos adicionales pueden ser antibióticos (p. ej., péptidos o proteínas antibacterianas o bacteriostáticas), p. ej., aquellos que son efectivos contra bacterias grampositivas o negativas, fluidos, citoquinas, agentes inmunorreguladores, agentes antiinflamatorios, agentes activadores complementarios, como péptidos o proteínas que comprenden dominios similares al colágeno o dominios similares al fibrinógeno (p. ej., una ficolina), dominios de unión a carbohidratos y similares, y combinaciones de los mismos. Los agentes activos adicionales incluyen aquellos que son útiles en dichas composiciones y los métodos incluyen medicamentos basados en la dopamina, inhibidores de la catecol-O-metiltransferasa (COMT), inhibidores de las monoamino oxidasas, potenciadores cognitivos (como los inhibidores de la acetilcolinesterasa o la memantina), antagonistas de los receptores de la adenosina 2A, inhibidores de la beta-secretasa, o inhibidores de la gamma-secretasa. En modos de realización particulares, al menos un compuesto aquí descrito puede combinarse en una composición farmacéutica o un método de tratamiento con uno o más fármacos seleccionados del grupo que consisten en: tacrina (Cognex), donepezilo (Aricept), rivastigmina (Exelon) galantamina (Reminyl), fisostigmina, neostigmina, Icopezilo (CP-118954, 5,7-dihidro-3-[2-[1-(fenilmetil)-4-piperidinil]etil]-6H-pirrol-[4,5-f]-1,2-benzisoxazol-6-un maleato), ER-127528 (4-[(5,6-dimetoxi-2-fluoro-1-indanon)-2-il]metil-1-(3-fluorobencil)clorhidrato de piperidina), zanapexilo (TAK-147; fumarato de 3-[1-(fenilmetil)piperidin-4-il]-1-(2,3,4,5-tetrahidro-1H-1-benzazepin-8-il)-1-propano), Metrifonato (T-588; clorhidrato de (-)-R-alfa-[[2-(dimetilamino)etoxi]metil] benzo[b]tiofeno-5-metanol), FK-960 (N-(4-acetil-1-piperazinil)-p-fluorobenzamida-hidrato), TCH-346 (N-metil-N-2-piropinildibenz[b,f]oxepina-10-metanamina), SDZ-220-581 (ácido (S)-alfa-amino-5-(fosfonometil)-[1,1'-bifenilo]-3-propiónico), memantina (Namenda/Exiba) y 1,3,3,5,5-pentametilciclohexano-1-amina (Neramexana) tarenflurbil (Flurizan), tramiprosato (Alzhemed), cloquinol, PBT-2 (un derivado de la 8-hidroxiquinoleína, 1-(2-(2-naftil)etil)-4-(3-trifluorometilfenil)-1, 2,3,6-tetrahidropiridina, Huperzina A, posatirelina, leuprolida o derivados de la misma, ispronclina, ácido (3-aminopropil)(n-butyl)fosfínico (SGS-742), N-metil-5-(3-(5-isopropoxipiridinil))-4-penten-2-amine (ispronclina), 1-decanaminio, N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-N-metil-N-octil-, sal interna (zt-1), salicilatos, aspirina, amoxiciprina, benorilato, salicilato de colina y magnesio, diflunisal, faislamina, salicilato de metilo, salicilato de magnesio, salicilato de salicilo, diclofenaco, aceclofenaco, acemetacina, bromfenac, etodolac, indometacina, nabumetona, sulindaco, tolmetina, ibuprofeno, carprofeno, fenbufeno, fenopropeno, ketoprofeno, ketorolaco, loxoprofeno, naproxeno, ácido tiaprofénico, suprofen, ácido mefenámico, ácido meclofenámico, fenilbutazona, azapropazona, metamizol, oxifenbutazona, sulfinpirazona, piroxicam, lornoxicam, meloxicam, tenoxicam, celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib, parecoxib, rofecoxib, valdecoxib, nimesulida, ácidos arilalcanoicos, ácidos aril-2-propiónicos (profenos), ácidos N-arilantranílicos (ácidos fenámicos), derivados del pirazolidino, oxicano, inhibidores del COX-2, sulfonamida, ácidos grasos esenciales, Minozac (hidrato de diclorhidrato de 2-(4-(4-metil-6-fenilpiridazin-3-il)piperazin-1-il)pirimidina), o una combinación de los mismos.

Entre los agentes de combinación potenciales utilizados para las terapias de cáncer se pueden incluir, por ejemplo, inhibidores de la proteína y el lípido quinasa (p. ej., PI3K, B-raf, BCR/ABL), potenciadores de la radioterapia, ligadores de microtúbulos (p. ej., taxol, vinblastina), inhibidores del metabolismo celular, intercaladores de ADN, inhibidores de la topoisomerasa (p. ej., doxorubicina), y agentes alquilantes de ADN.

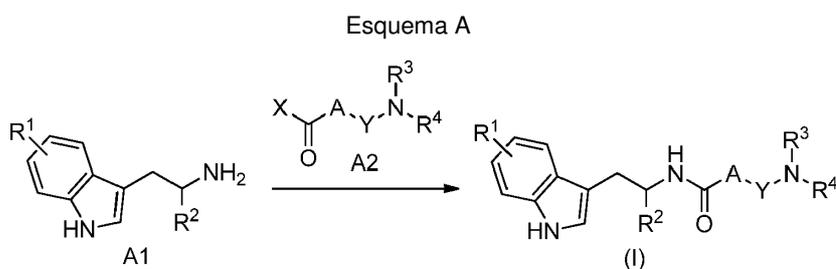
5 Ensayos

Los compuestos descritos en el presente documento se pueden utilizar en aplicaciones de investigación, incluidos sistemas experimentales in vitro, in vivo o ex vivo. Los sistemas experimentales pueden incluir, sin carácter limitativo, muestras de células, muestras de tejidos, componentes celulares o mezclas de componentes celulares, órganos enteros o incompletos, u organismos. Entre las aplicaciones de investigación se incluyen, sin carácter limitativo, su uso como reactivos de ensayo, la elucidación de rutas bioquímicas, o la evaluación de los efectos de otros agentes en el sistema experimental en presencia o ausencia de uno o más compuestos descritos en el presente documento.

Los compuestos que se describen en el presente documento se pueden utilizar también en ensayos bioquímicos. En algunas formas de realización, un compuesto descrito en el presente documento se puede incubar con una muestra de tejido o de célula de un sujeto para evaluar la respuesta potencial del sujeto ante la administración del compuesto, o para determinar qué compuesto descrito en el presente documento produce el efecto óptimo en un sujeto específico o en un conjunto de sujetos. Un tal ensayo implicaría (a) obtener una muestra celular o una muestra de tejido de un sujeto en el que se pueda analizar la modulación de uno o más biomarcadores; (b) administrar uno o más compuestos descritos en el presente documento a una muestra celular o a una muestra de tejido; y (c) determinar la cantidad de modulación de uno o más biomarcadores tras la administración del compuesto, en comparación con el estado del biomarcador antes de la administración del compuesto. De forma opcional, tras la etapa (c), el ensayo implicaría una etapa adicional (d) seleccionar un compuesto para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección médica asociada a la agregación de proteínas con base en la cantidad de modulación determinada en la etapa (c).

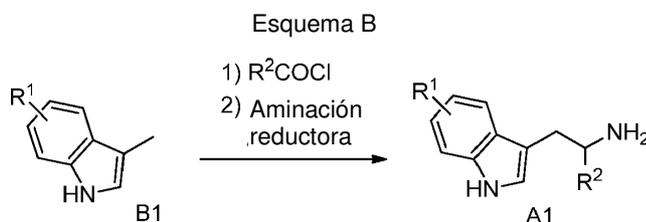
25 Síntesis química

A continuación, se describirán ejemplos de las entidades químicas útiles en los métodos descritos en el presente documento haciendo referencia a los esquemas sintéticos ilustrativos para su preparación general que figuran más adelante y los ejemplos específicos que se indican a continuación. Los expertos reconocerán que, para obtener los diferentes compuestos del presente documento, los materiales de partida pueden seleccionarse adecuadamente de forma que los sustituyentes deseados en última instancia sean transportados a través del esquema de reacción con o sin protección según sea apropiado para obtener el producto deseado. De forma alternativa, puede ser necesario o deseable emplear, en lugar del sustituyente deseado en última instancia, un grupo adecuado que pueda transportarse a través del esquema de reacción y reemplazarse según sea apropiado con el sustituyente deseado. Además, un experto en la materia reconocerá que las transformaciones que se muestran en los siguientes esquemas pueden llevarse a cabo en cualquier orden que sea compatible con la funcionalidad de los grupos pendientes particulares. Cada una de las reacciones representadas en los esquemas generales se realiza preferentemente a una temperatura desde aproximadamente 0 °C hasta la temperatura de reflujo del solvente orgánico utilizado. A menos que se especifique lo contrario, las variables se definen como anteriormente en referencia a la Fórmula (I). Los compuestos marcados isotópicamente según se describen en el presente documento se preparan de acuerdo con los métodos descritos a continuación, utilizando materiales de partida marcados de forma adecuada. Por lo general, dichos materiales se encuentran disponibles a través de proveedores comerciales de reactivos químicos radiomarcados.

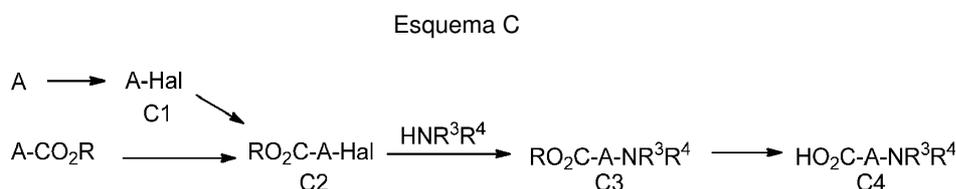


Los compuestos de la Fórmula (I) se preparan según se representa en el Esquema A. Los derivados A1 de aminoetil indol se encuentran disponibles comercialmente o se preparan de acuerdo con el Esquema B. Los compuestos A1 se unen a los compuestos de acilo activado A2, donde X es, por ejemplo, -OH o -Cl, en condiciones habituales de formación de amida para producir los compuestos de la Fórmula (I).

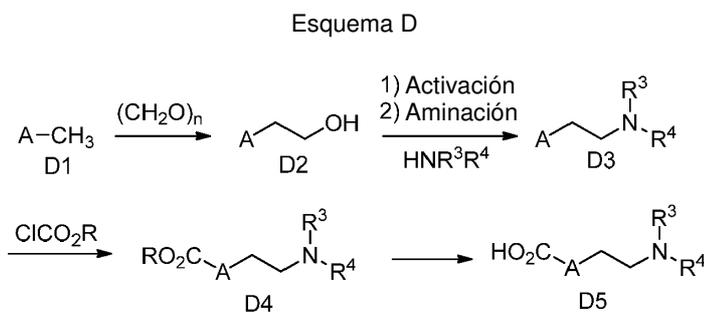
5



Según se muestra en el Esquema B, los indoles sustituidos A1 se preparan a partir de metilindoles B1 mediante la acilación seguida de la aminación reductora.



- 10 Los compuestos heterocíclicos C4 se preparan de acuerdo con el Esquema C. Ciertos compuestos A, C1, A-CO₂R (donde R es H o C₁₋₄alquilo), y C2 están disponibles comercialmente. En algunas formas de realización, los heterociclos A están halogenados para formar compuestos halo C1 y a continuación se acila para formar compuestos C2 bifuncionalizados. En otras formas de realización, los compuestos A-CO₂R se halogenan para formar compuestos C2. La unión con aminas HNR³R⁴ en condiciones habituales de unión de amidas proporciona compuestos C3. La hidrólisis de ésteres C3 produce aminoácidos C4 que se pueden utilizar en las reacciones de unión según se representa en el Esquema A.
- 15

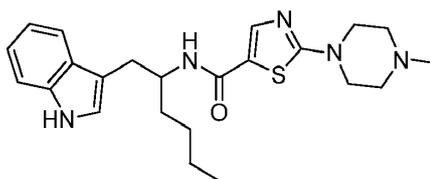


- 20 Según se muestra en el Esquema D, los compuestos metilo heterocíclicos D1 se homologan con, por ejemplo, paraformaldehído, para proporcionar compuestos hidroxietílicos D2. La activación del grupo hidroxilo como, por ejemplo, un haluro o tosilato, y el desplazamiento con HNR³R⁴, produce compuestos amino D3. La acilación del anillo heterocíclico proporciona ésteres D4, y la hidrólisis genera aminoácidos D5.

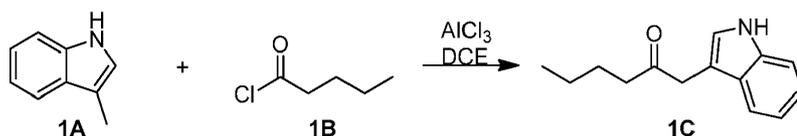
Ejemplos

- 25 Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar y no para limitar la invención. Un experto en la materia reconocerá que las siguientes reacciones sintéticas y esquemas se pueden modificar eligiendo materiales de partida y reactivos adecuados con el objetivo de acceder a otros compuestos de la Fórmula (I).

Ejemplo 1: N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida

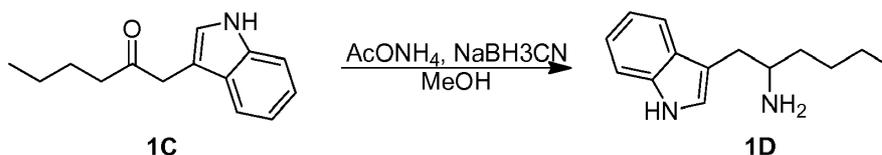


Paso 1.



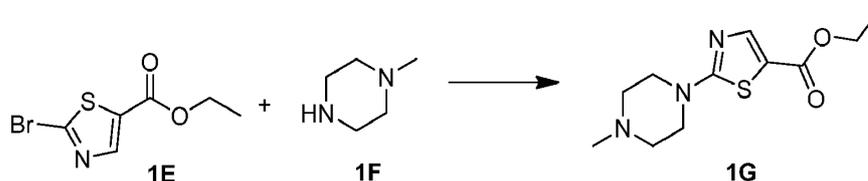
- 5 A una solución de compuesto 1A (6g, 45,8 mmol) en 1,2-dicloroetano seco (80 ml) se le añadió AlCl_3 (18,3 g, 137,4 mmol) a 0 °C. La mezcla se calentó a 25 °C y se agitó durante 30 min. La mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió el compuesto 1B (6,2 g, 51,3 mmol) gota a gota. La mezcla se agitó a 25 °C durante 48 h. La mezcla de reacción se virtió lentamente en agua helada y se extrajo con diclorometano (DCM, tres veces (3x)). La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El residuo se purificó mediante columna (20:1 éter de petróleo/EtOAc) para proporcionar un compuesto 1C (4,8 g, 49 %) como un sólido amarillo. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8,16 (br s, 1H), 7,39 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,37 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,23 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,15 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,15 (s, 1H), 3,83 (s, 2H), 2,50 (t, $J = 8,8$ Hz, 2H), 1,54-1,63 (m, 2H), 1,24-1,29 (m, 2H), 0,86 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H).

Paso 2.



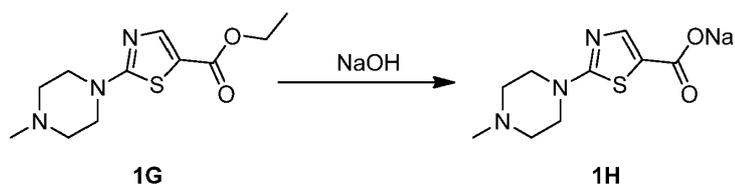
- 15 A una mezcla de compuesto 1C (4,8 g, 22,3 mmol) en MeOH (150 ml) se le añadió AcONH_4 (3,35 g, 44,6 mmol) y NaBH_3CN (2,8 g, 44,6 mmol). La mezcla se refluxó durante 24 h. La mezcla se concentró, y el residuo se disolvió en DCM (150 ml), se lavó con salmuera (3x), se secó sobre Na_2SO_4 , y se concentró para proporcionar un compuesto crudo 1D (2,4 g, 50 %) como un sólido amarillo. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8,09 (s, 1H), 7,54 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,29 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,03-7,18 (m, 2H), 6,98 (s, 1H), 3,01-3,03 (m, 1H), 2,89 (dd, $J = 14,0, 4,0$ Hz, 1H), 2,52 (dd, $J = 14,0, 8,8$ Hz, 1H), 1,18-1,50 (m, 8H), 0,85 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H).

Paso 3.



- 25 Se agitó una mezcla de compuesto 1E (2,2 g, 10,0 mmol), N-metilpiperazina (1,1 g, 11,0 mmol), y K_2CO_3 (3,4 g, 24,9 mmol) en acetonitrilo (70 ml) a 80 °C durante 24 h. La mezcla se concentró y se diluyó con H_2O y se extrajo con EtOAc (3x). Las fases orgánicas se secaron y se concentraron a continuación para proporcionar el compuesto 1G (2,5 g, >100 %) como un sólido de color marrón. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,85 (s, 1H), 4,28 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H) 3,58 (t, $J = 5,6$ Hz, 4H), 2,50 (t, $J = 5,6$ Hz, 4H), 2,33 (s, 3H), 1,32 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H).

Paso 4.



5 A una mezcla de compuesto 1G (2,0 g, 8,3 mmol) en THF (20 mL) se le añadió una solución de NaOH (1,33 g, 33,2 mmol) en H₂O (40 ml). La mezcla se agitó durante 24 h a 80 °C. La mezcla se concentró para eliminar el THF y se extrajo con n-BuOH. La fase orgánica se secó, y se concentró para dar el compuesto 1H (1,38 g, 66,7 %) como un sólido de color blanco. RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) δ 7,55 (s, 1H), 3,49-3,52 (m, 4H), 2,53-2,56 (m, 4H), 2,36 (s, 3H).

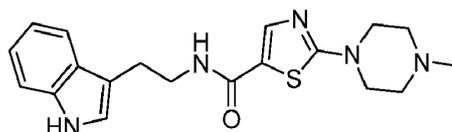
10 Paso 5. A una mezcla de compuesto 1H (1,1 g, 5,1 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) y THF (5 ml) se le añadió el compuesto 1D (2 g, 8,09 mmol), y después hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxitripirrolidinofosfonio (PyBOP, 3,18 g, 6,12 mmol) y DIPEA (2,6 g, 20,4 mmol). Tras 24 h a 25 °C en N₂, la mezcla se diluyó con H₂O (40 ml) y se extrajo con DCM (3x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron y se purificó el residuo mediante HPLC preparativa (HPLC preparativa de Shimadzu LC-8A, columna Luna(2) C18, 26 % - 56 % acetonitrilo en NH₄OAc durante 20 min a 80 ml/min) para dar el Ejemplo 1 (576 mg, 27 %) como un sólido de color blanco. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,23 (s, 1H), 7,39 (1H, s), 7,38 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,22 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,07-7,21 (m, 2H), 7,06 (s, 1H), 5,50 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,40-4,46 (m, 1H), 3,56 (t, J = 5,2 Hz, 4H), 3,0-3,1 (m, 2H), 2,52 (t, J = 4,8 Hz, 4H), 2,36 (s, 3H), 1,26-1,60 (m, 6H), 0,88 (t, J = 7,2 Hz, 3H). LCMS: 100 % (M+1⁺): 426,2.

15

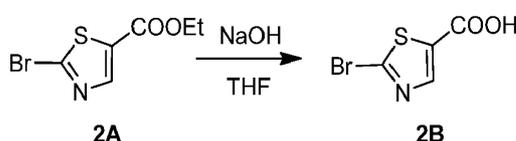
Síntesis alternativa

20 A una mezcla de compuesto 3A (400 g, 0,98 mol, ver abajo) y K₂CO₃ (340 g, 2,5 mol) en CH₃CN (3 l) se le añadió el compuesto 1F (197 g, 1,97 mol). La mezcla se agitó durante 12 h a 80 °C en atmósfera N₂. La mezcla se diluyó con agua (4 l) y se extrajo con DCM (4 l x 3). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, y se concentraron. El residuo se lavó con éter de petróleo/acetato de etilo 1:1 para proporcionar el Ejemplo 1 (200 g, 44 %) como un sólido de color blanco. Se añadieron 4 M de HCl en acetato de etilo (235 ml) a una solución del Ejemplo 1 (200 g, 0,47 mol) en DCM (2 l). La mezcla se agitó durante 1 h a temperatura ambiente, el solvente se concentró, y el residuo se recristalizó de metilo-t-butilo (1 l). El sólido resultante se recogió mediante filtración y se secó a una presión reducida a 50 °C para proporcionar la sal de HCl del Ejemplo 1 (210 g, 92 %).

25 Ejemplo de referencia 2: N-(2-(1H-indol-3-il)etil)-2-(4-metilpiperazin-1-il)thiazol-5-carboxamida

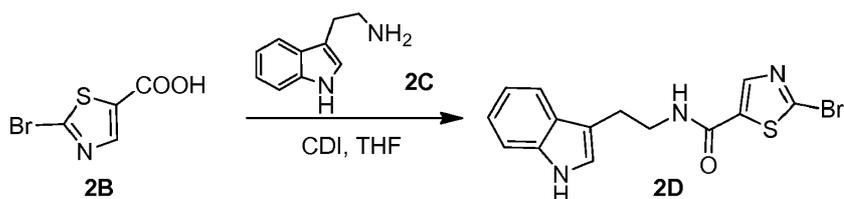


Paso 1.



30 Se añadió una solución de NaOH (4,1 g, 102 mmol) en H₂O (100 ml) gota a gota a una solución de compuesto 2A (20 g, 84,7 mmol) en tetrahydrofurano (THF, 100 ml) a 0 °C. La mezcla se agitó a 10 °C durante 1 h. La mezcla se neutralizó con HCl (6 M) y se extrajo con EtOAc (3x). La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró para proporcionar el compuesto 2B (17,7 g, 100 %) como un sólido de color amarillo. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,21 (s, 1H).

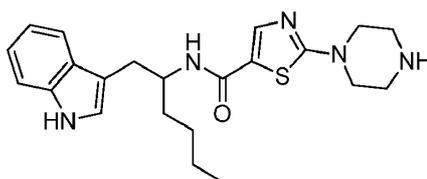
Paso 2.



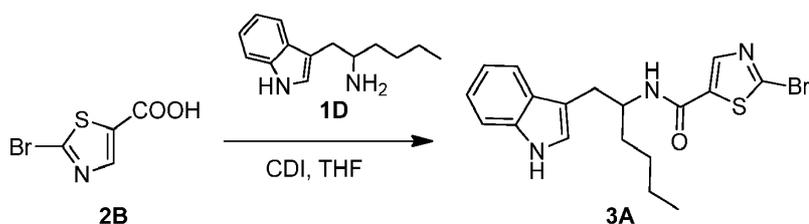
- 5 Se añadió 1,1-Carbonil-diimidazol (2,06 g, 12,75 mmol) a una mezcla del compuesto 2B (2,6 g, 12,5 mmol) en THF (16 ml). La mezcla se agitó durante 1 h a temperatura ambiente, y a continuación se trató con trietilamina (TEA, 2,53 g, 25 mmol) y compuesto 2C (2g, 12,5 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con 1M de HCl (2x) y salmuera, y después se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró para proporcionar el compuesto 2D (4,41 g, >100 %) como un sólido de color amarillo.

- 10 Paso 3. A una mezcla de compuesto 2D (1 g, 5,7 mmol) y K₂CO₃ (1,0 g, 7,2 mmol) en CH₃CN (3 l) se le añadió N-metilpiperazina (0,6 g, 5,7 mmol). La mezcla se agitó durante 12 h a 80 °C en atmósfera N₂. Se añadió agua y la mezcla se extrajo con DCM (5x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, y se concentraron para proporcionar un sólido de color amarillo (0,8 g), que se lavó con éter de metilo terciario butilo (5 ml) para dar el Ejemplo 2 (0,3 g, 29 %) como un sólido de color blanco. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,37 (m, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,56 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,40 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,38-7,35 (m, 2H), 7,16 (s, 1H), 7,07 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 6,98 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 3,48-3,44 (m, 6H), 2,90 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,42-2,39 (m, 2H), 2,22 (s, 3H). MS: (M+H⁺): 370.

- 15 Ejemplo 3: N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(piperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida

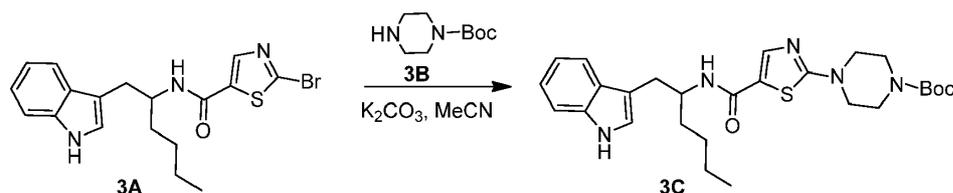


Paso 1.



- 20 Se añadió 1,1-Carbonil-diimidazol (4,04 g, 24,96 mmol) a una mezcla del compuesto 2B (5,19 g, 24,96 mmol) en THF (40 ml). La mezcla se agitó durante 1 h a temperatura ambiente, y a continuación se trató con TEA (7,56 g, 74,88 mmol) y compuesto 1D (5,4 g, 24,96 mmol). Tras 12 h a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó sucesivamente con 1M de HCl (2x) y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró para proporcionar el compuesto 3A (7,74 g, 76%) como un sólido de color amarillo. RMN de ¹H (400 MHz, MeOD-d₄) δ 8,36 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,97 (s, 1H), 7,56 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,30 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,06 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 7,05 (s, 1H), 6,95 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 4,31-4,28 (m, 1H), 3,0-2,97 (m, 1H), 1,75-1,50 (m, 2H), 1,45-1,25 (m, 4H), 2,22 (t, J = 6.8 Hz, 3H). MS: (M+H⁺): 406, 408.

Paso 2.

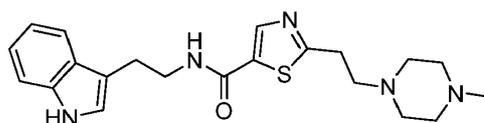


5 A una mezcla de compuesto 3A (2 g, 5,7 mmol) y K_2CO_3 (1,77 g, 12,8 mmol) en CH_3CN (12 ml) se le añadió el compuesto 3B (0,92 g, 4,9 mmol). Tras 12 h a 80 °C en atmósfera N_2 , se añadió agua (30 ml) y se extrajo la mezcla con EtOAc (3x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , se concentraron y se purificaron por cromatografía en columna (de 10 a 67% EtOAc/éter de petróleo) para proporcionar un compuesto 3C (2 g, 79%) como un sólido amarillo. Este compuesto fue utilizado directamente en el siguiente paso sin caracterización.

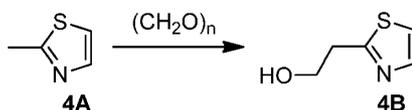
10 Paso 3. Se trató una solución de compuesto 3C (1 g, 2,0 mmol) en metanol (10 ml) con HCl (10 ml, 4 M en metanol). Tras remover a temperatura ambiente durante 3 h, se eliminó el solvente y el residuo se virtió en agua helada (20 ml), se ajustó el pH a 9 con $NaHCO_3$, y se extrajo con EtOAc (2x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , y se concentraron para proporcionar un sólido amarillo (0,45 g). La purificación mediante cromatografía en columna (éter de petróleo/DCM/MeOH 50/50/0 a 0/90/10) proporcionó el Ejemplo 3 (0,32 g, 39 %)

15 MS: (M+H⁺): 412.

Ejemplo de referencia 4: N-(2-(1H-indol-3-il)etil)-2-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etil)tiazol-5-carboxamida

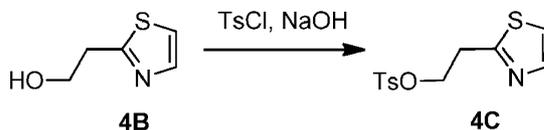


Paso 1.



20 Se agitó una mezcla de compuesto 4A (50 g, 0,5 mol) y paraformaldehído (50 g) en un tubo sellado a 140 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía en columna (50 % de DCM/EtOAc) para proporcionar el compuesto 4B (27 g, 41 %) como un aceite de color amarillo. RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,62 (s, 1H), 7,16 (s, 1H), 3,91-3,98 (m, 2H), 3,23-3,28 (m, 2H).

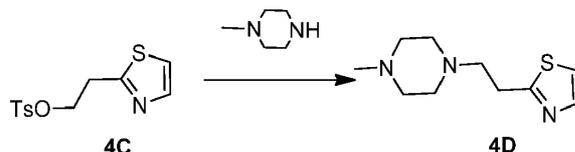
Paso 2.



25

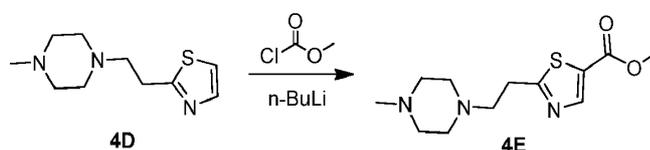
30 A una solución del compuesto 4B (27 g, 0,2 mmol) en THF (100 ml) se le añadió una solución de NaOH (16,7 g, 0,4 mol) en agua (100 ml) a 0 °C. Tras agitar durante 10 min, se añadió cloruro de 4-metilbenzeno-1-sulfonil (59,5 g, 0,3 mol) en porciones. Se dejó calentar la mezcla hasta la temperatura ambiente y se agitó durante un total de 2 h. La mezcla se extrajo con EtOAc (3x). La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se concentró, y se purificó mediante cromatografía en columna (hexano/EtOAc = 2:1) para dar el compuesto 4C (32 g, 54 %) como un aceite incoloro. RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,75 (2H, d, J = 8 Hz, 2H), 7,65 (1H, d, J = 4 Hz, 1H), 7,32 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,22 (d, J = 4 Hz, 1H), 4,40 (t, J = 8 Hz, 2H), 3,80 (t, J = 8 Hz, 2H), 2,45 (s, 3H).

Paso 3.



5 A una solución del compuesto 4C (32 g, 0,11 mol) en acetonitrilo (300 ml) se le añadió N-metilpiperazina (16,9 g, 0,16 mol) y Cs₂CO₃ (55 g, 0,16 mol). La mezcla se agitó a 60 °C durante la noche, y después se filtró la mezcla y se concentró el filtrado, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (DCM/MeOH = 10:1) para dar el compuesto 4D (14 g, 47 %) como un aceite de color amarillo claro. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,67 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 7,19 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 3,21 (t, J = 8,0 Hz, 2H), 2,79 (t, J = 8,0 Hz, 2H), 2,59 (s, 4H), 2,50 (s, 4H), 2,31 (s, 3H).

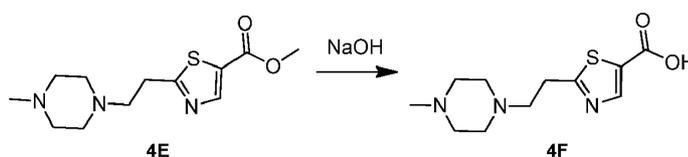
Paso 4.



10

15 A una solución del compuesto 4D (14 g, 66 mmol) en THF anhidro (70 mL) se le añadió gota a gota n-BuLi (32 ml, 80 mmol) a -78 °C. La mezcla se agitó a esta temperatura durante 30 min, después se añadió clorocarbonato de metilo (7,52 g, 80 mmol) gota a gota a la solución a la misma temperatura. La mezcla se agitó durante 4 h, calentándose hasta la temperatura ambiente durante ese proceso. La mezcla se diluyó con NH₄Cl saturado acuoso (50 ml), se extrajo con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró para dar el compuesto 4E (14 g, 78 %). Este producto crudo se puede utilizar directamente en el siguiente paso sin purificación posterior. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,26 (s, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,19 (t, J = 8,0 Hz, 2H), 2,77 (t, J = 8,0 Hz, 2H), 2,58 (s, 4H), 2,49 (s, 4H), 2,17 (s, 3H).

Paso 5.



20

25 A una solución del compuesto 4E (14 g, 52 mmol) en MeOH (100 ml) se le añadió una solución de NaOH (3,12 ml, 78 mmol) en agua (39 ml). Tras 3 h a temperatura ambiente, la mezcla se concentró y se lavó con EtOAc (30 ml). La fase acuosa se ajustó a pH = 5-6 con 1 N de HCl y se extrajo con EtOAc (3x). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, y se concentraron para dar el compuesto 4F como un sólido de color naranja (12 g, 92 %). Este producto crudo se puede utilizar directamente en el siguiente paso sin purificación posterior.

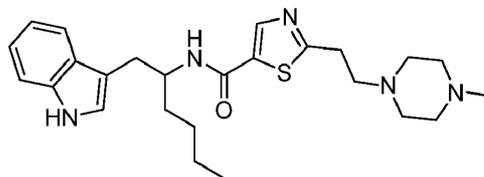
Paso 6.

30 Una solución del compuesto 4F (0,8 g, 3,1 mmol) en DCM (2 ml) y THF (10 ml) se trató con yoduro de 2-cloro-1-metil-piridinio (reactivo de Mukaiyama, 1,0 g, 3,8 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (DIPEA, 1,5 g, 16 mmol) y después se agitó durante 10 min. A continuación, la mezcla se trató con 2-(1H-indol-3-il)etanamina (0,5 g, 3,1 mmol) y la mezcla se agitó a 50 °C durante 3 h. El precipitado resultante se filtró y el filtrado se concentró en vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con agua (10 ml) y salmuera (10 ml), se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (Shimadzu LC-8A, Gemini C-18, 12-42 % de CH₃CN en 0,04 % de NH₄OH acuoso durante 20 min a 80 ml/min) para proporcionar el Ejemplo 4 (200 mg, 16 %) como un sólido de color amarillo. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,10 (s, 1H), 7,81 (1H, s, 1H), 7,65 (d, J = 8 Hz, 1H),

35

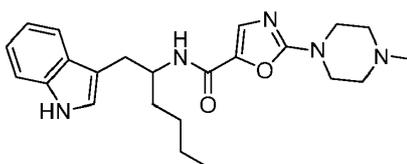
7,40 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,21 (t, J = 8 Hz, 1H), 7,08 (s, 1H), 5,99 (br s, 1H), 3,77 (q, J = 6,2 Hz, 2H), 3,16 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 3,10 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 2,75 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,58 (br s, 4H), 2,49 (br s, 4H), 2,32 (s, 3H).

Ejemplo 5: N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etil)tiazol-5-carboxamida

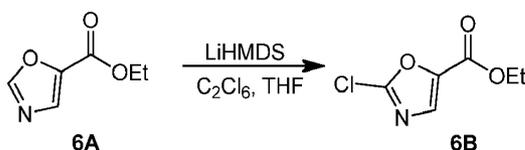


- 5 Una solución del compuesto 4F (1,2 g, 5 mmol) en DCM (2 ml) y THF (10 ml) se trató con el reactivo de Mukaiyama (1,65 g, 6,5 mmol) y DIPEA (1,9 g, 20 mmol) y se agitó después durante 10 min. La mezcla se trató a continuación con el compuesto 1D (1,2 g, 5 mmol) y se agitó a 50 °C durante 3 h. El precipitado resultante se filtró y el filtrado se concentró en vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo (30 ml), se lavó con agua (10 ml) y salmuera (10 ml), se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró. La purificación mediante HPLC preparativa (Shimadzu LC-8A, Gemini C-18, 25-55 % de CH₃CN en 0,04 % de NH₄OH acuoso durante 20 min a 80 ml/min) proporcionó el Ejemplo 5 (250 mg, 14 %) como un sólido de color blanco. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,10 (s, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,64 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,38 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,19-7,21 (m, 1H), 7,13-7,14 (m, 1H), 5,13 (br s, 1H), 4,41-4,45 (m, 1H), 3,13-3,18 (m, 1H), 3,05-3,09 (m, 1H), 2,74-2,77 (m, 1H), 2,58 (br s, 4H), 2,49 (br s, 4H), 2,32 (s, 3H), 1,63-1,70 (m, 1H), 1,49-1,54 (m, 1H), 1,34-1,39 (m, 4H), 0,89 (t, J = 4 Hz, 3H).

15 Ejemplo 6: N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)oxazol-5-carboxamida

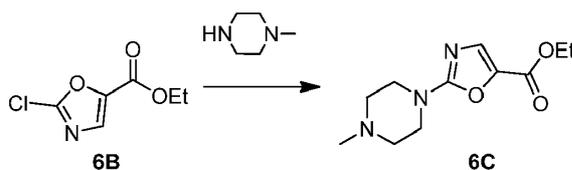


Paso 1.



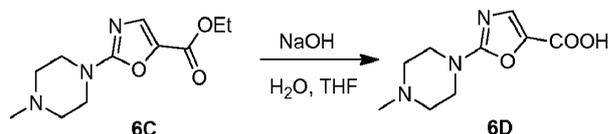
- 20 A una solución de compuesto 6A (15,0 g, 106 mmol) en THF (150 ml) se le añadió gota a gota hexametil disilazida de litio (178 ml, 170 mmol) a -60 °C. La solución se agitó a -50 °C durante 1 h. A continuación, se añadió hexacloroetano (37,8 g, 160 mmol) a la solución. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. La reacción se detuvo mediante una solución acuosa de NH₄Cl saturado (50 ml) y se extrajo con EtOAc (50 ml). La fase orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄, se concentró al vacío y el residuo se purificó con cromatografía en columna para proporcionar el compuesto 6B (10 g, 56 %) como un aceite incoloro. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,71 (s, 1H), 3,39 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 1,38 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

Paso 2.



Una mezcla de compuesto 6B (5,5 g, 31,3 mmol), N-metilpiperazina (9,4 g, 94 mmol), y K_2CO_3 (17,3 g, 125,2 mmol) en acetonitrilo (80 ml) se calentó a reflujo a 80 °C durante 2 h. La mezcla se diluyó con H_2O y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se separó, se secó sobre Na_2SO_4 , y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto 6C (7 g, 94 %) como un aceite de color marrón. RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,52 (s, 1H), 4,32 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 3,66 (t, J = 4,8 Hz, 4H), 2,48 (q, J = 4,8 Hz, 4H), 2,34 (s, 3H), 1,34 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

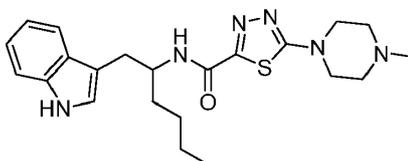
Paso 3.



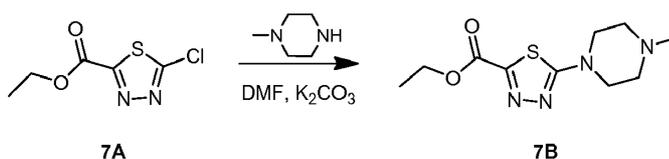
Una mezcla de compuesto 6C (2,0 g, 8,4 mmol) y NaOH (0,33 g, 8,4 mmol) en THF (10 ml) y H_2O (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se concentró al vacío para proporcionar el compuesto 6D (3,0 g, crudo) como un sólido amarillo. RMN de 1H (400 MHz, D_2O) δ 7,26 (s, 1H), 3,51 (s, 4H), 2,49 (s, 4H), 2,23 (s, 3H).

Paso 4. Una mezcla de compuesto 6D (2,0 g, 9,5 mmol), compuesto 1D (1,64 g, 7,6 mmol), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC, 3,63 g, 19 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (HOBT, 2,57 g, 19 mmol), y TEA (1,92 g, 19 mmol) en DMF (30 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se separó, se lavó con agua (3x), salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , y se concentró al vacío. El residuo se purificó con cromatografía en columna (2 a 10 % de MeOH/DCM) para proporcionar el Ejemplo 6 (220 mg, 6 %) como un sólido de color blanco. RMN de 1H (400 MHz $CDCl_3$) δ 8,16 (s, 1H), 7,63 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,39 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,18 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,10 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,08 (s, 1H), 5,69 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 4,47 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 3,47 (d, J = 2,0 Hz, 4H), 3,08-2,98 (m, 2H), 2,49 (t, J = 4,4 Hz, 4H), 2,36 (s, 3H), 1,66-1,51 (m, 1H), 1,51-1,49 (m, 1H), 1,39-1,27 (m, 4H), 0,90 (d, J = 7,2 Hz, 3H).

20 Ejemplo 7: N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-5-(4-metilpiperazin-1-il)-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida

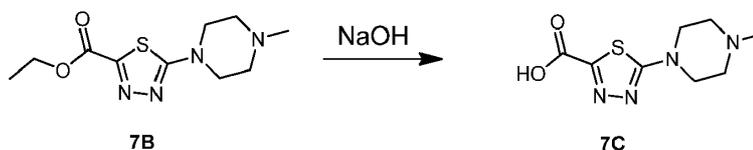


Paso 1.



Se agitó una solución de compuesto 7A (60 g, 0,313 mol), K_2CO_3 (130 g, 0,94 mol), y metilpiperazina en DMF (300 ml) a 40 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre Na_2SO_4 , y se concentró para proporcionar el compuesto 7B (58,5 g, 73 %) como un sólido de color amarillo. RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,37-4,47 (m, 2H), 3,60-3,71 (m, 4H), 2,47-2,60 (m, 4H), 2,34 (s, 3H), 1,35-1,47 (m, 3H).

Paso 2.

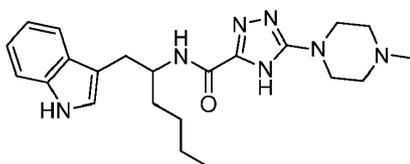


30

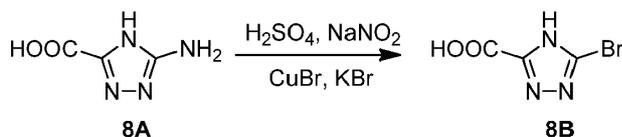
A una solución de compuesto 7B (5,0 g, 19,53 mmol) en THF (30 ml) se le añadió 1 N de NaOH acuoso (30 ml) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó durante 3 h. La mezcla se concentró para eliminar el THF, y se ajustó a pH 8 con 1 N de HCl acuoso, y a continuación se liofilizó para proporcionar en crudo el ácido 7C (5,25 g, 100 %) como un sólido amarillo (incluido NaCl), que se utilizó para el siguiente paso sin ninguna purificación. RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) δ 3,68 (m, 4H), 2,91 (m, 4H), 2,57 (s, 3H).

Paso 3. A una solución de compuesto 7C (450 mg, 2 mmol) en DMF (15 ml) y DCM (5 ml) se le añadió EDC (400 mg, 2 mmol) y HOBt (310 mg, 2 mol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 min. El compuesto 1D (500 mg, 2 mmol) se añadió a 0 °C. La mezcla se agitó durante toda la noche a 40 °C. La mezcla se diluyó con H₂O y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para proporcionar un producto crudo que se purificó mediante cromatografía en columna (éter de petróleo/DCM/MeOH 50/50/0 a 0/10/1) y recristalización (MeOH) para proporcionar el Ejemplo 7 (230 g, 15 %, 2 lotes) como un sólido amarillento. RMN de ¹H: (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,74 (s, 1H), 8,61 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,56 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,30 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,09 (s, 1H), 7,05-7,02 (m, 1H), 6,96-6,93 (m, 1H), 4,14 (s, 1H), 3,50 (s, 4H), 2,99-2,84 (m, 2H), 2,42 (s, 4H), 2,21 (s, 3H), 1,57 (s, 2H), 1,25-1,21 (m, 4H), 0,80 (s, 3H).

15 Ejemplo 8: N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-5-(4-metilpiperazin-1-il)-4H-1,2,4-triazol-3-carboxamida

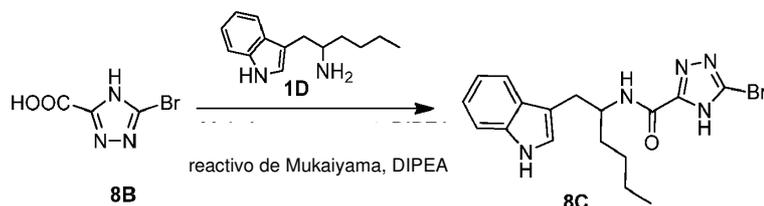


Paso 1.



A una mezcla agitada de compuesto 8A (4,5 g, 35 mmol) en 1 M de ácido sulfúrico (70 ml, 70 mmol) se le añadió una solución de nitrito de sodio (2,41 g, 52,5 mmol) en agua (20 ml) gota a gota a 0 °C, seguida de más agua (35 ml). Tras 25 min, se añadió una solución de KBr (8,33 g, 70 mmol) y bromuro de cobre(I) (4,51 g, 10,5 mmol) en agua (35 ml). La mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 3 h y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3x) y los extractos combinados se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, y se concentraron hasta secarse para proporcionar el compuesto 8B (2,9 g, 43 %) como un sólido blanco. ES-API hallado: 191,9, 189,9.

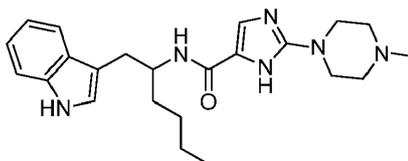
25 Paso 2.



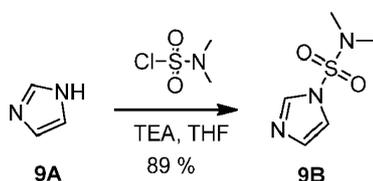
A una solución de compuesto 8B (2,9 g, 15 mmol) en una mezcla de DCM (5 ml) y THF (15 ml) se le añadió reactivo de Mukaiyama (5 g, 19,5 mmol) y DIPEA (5,8 ml). Tras agitar durante 10 min, se añadió 1-(1H-indol-3-il)hexan-2-amina 1D (3,3 g, 15 mmol) a la mezcla. La mezcla se agitó a 50 °C durante 3 h. La mezcla se diluyó con DCM y se lavó con agua. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (20:1 DCM/MeOH) para proporcionar el compuesto 8C (2,7 g, 47 %) como un sólido de color amarillo claro. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,96 (br s, 1H), 7,54 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,23 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,07-7,11 (m, 2H), 7,01-7,04 (m, 1H), 6,96 (br s, 1H), 4,38 (d, J = 4 Hz, 1H), 2,95 (d, J = 4 Hz, 1H), 1,61 (br s, 1H), 1,39-1,46 (m, 1H), 1,19-1,28 (m, 4H), 0,78 (s, 3H).

- Paso 3. Una mezcla de compuesto 8C (778 mg, 2 mmol) y N-metilpiperazina (1 g, 10 mmol) se agitó en un tubo sellado a 120 °C durante toda la noche. Se añadió acetato de etilo (20 ml) y se filtró el sólido precipitado. El filtrado se lavó con agua y salmuera. La solución se secó sobre Na₂SO₄, se concentró, y se purificó mediante TLC preparativa (10:1 DCM/MeOH) para proporcionar el Ejemplo 8 (184 mg, 18 %) como un sólido amarillo. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,43 (br s, 1H), 7,54 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,26 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,19 (s, 1H), 7,05 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 6,96-7,00 (m, 3H), 4,32 (d, J = 4 Hz, 1H), 3,42 (s, 4H), 2,28-2,29 (m, 2H), 2,50 (s, 4H), 2,28 (s, 3H), 1,56-1,62 (m, 1H), 1,41-1,46 (m, 1H), 1,22-1,33 (m, 4H), 0,79 (t, J = 8,0 Hz, 3H).

Ejemplo 9: N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-imidazol-5-carboxamida

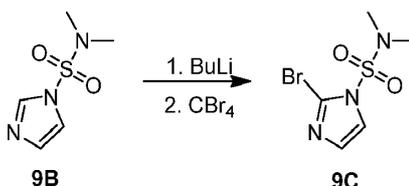


- 10 Paso 1.



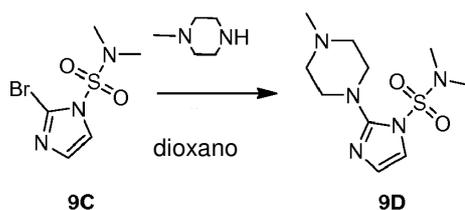
- 15 A una solución de imidazol 9A (20 g, 294 mmol) en THF (200 ml) y TEA (40 g, 400 mmol) se le añadió cloruro de dimetilsulfamoil (55 g, 383 mmol) lentamente a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla de reacción se vertió en 300 ml de agua y se extrajo con acetato de etilo (3x). La solución se lavó con agua y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y después se concentró hasta secarse para proporcionar el compuesto 9B (42 g, 89 %) como un aceite incoloro, que se solidificó tras permanecer a temperatura ambiente durante 1 h. El material sólido se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación posterior. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,86 (s, 1H), 7,23 (s, 1H), 7,11 (s, 1H), 2,82 (s, 6H).

Paso 2.



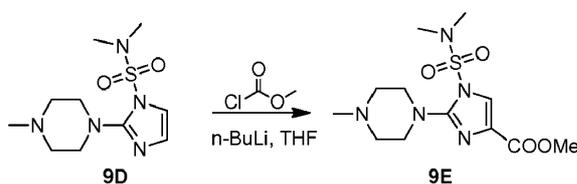
- 20
25 A una solución de compuesto 9B (10 g, 57 mmol) en THF anhidro (100 ml) se le añadió n-BuLi (27,3 ml, 68 mmol) gota a gota a -78 °C. La solución se agitó a esta temperatura durante 30 min. A continuación, se añadió perbromometano (20,5 g, 62,7 mmol) a -78 °C y se permitió que la mezcla aumentase hasta la temperatura ambiente durante un período de 3 h, seguido por una agitación continua a temperatura ambiente (25 °C) durante toda la noche. La mezcla se diluyó con NH₄Cl saturado acuoso (50 ml) y se extrajo con DCM (3x). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, y se concentraron, y el residuo se purificó mediante MPLC (hexano/DCM 1:1) para dar el compuesto 9C (8,4 g, 57 %) como un aceite ligero. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,41 (s, 1H), 7,00 (s, 1H), 3,01 (s, 6H).

Paso 3.



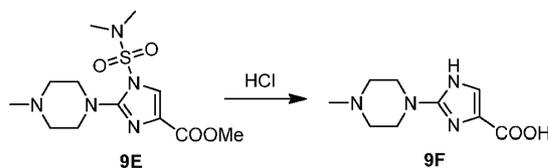
- 5 Una mezcla de compuesto 9C (10 g, 39 mmol) y N-metilpiperazina (12 g, 118 mmol) en dioxano (100 ml) se agitó a 90 °C durante toda la noche. La solución se vertió en agua y se extrajo con DCM (3x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron y el residuo se purificó mediante cromatografía en columnay (10:1 DCM/MeOH 10:1) para proporcionar el compuesto 9D (3,6 g, 34 %) como un sólido marrón. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,27 (s, 1H), 6,84 (s, 1H), 3,43 (m, 8H), 2,97 (s, 3H), 2,91 (s, 6H).

Paso 4.



- 10 A una solución de compuesto 9D (3,6 g, 13 mmol) en THF anhidro (40 ml) se le añadió n-BuLi (6,3 ml, 16 mmol) gota a gota a -78 °C. La solución se agitó a esta temperatura durante 30 min, y a continuación se añadió clorocarbonato de metilo (1,48 g, 16 mmol). La mezcla se agitó durante 3 h a -78 °C, y después se dejó calentar hasta la temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con NH₄Cl saturado acuoso (50 ml) y se extrajo con DCM (3x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (60:1 DCM/MeOH) para proporcionar el compuesto 9E (1,5 g, 54 %) como un aceite espeso de color marrón. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,29 (s, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,50 (m, 4H), 2,77 (s, 6H), 2,51 (m, 4H), 2,28 (s, 3H).
- 15

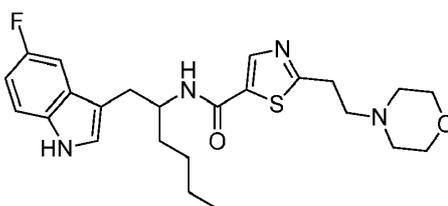
Paso 5.



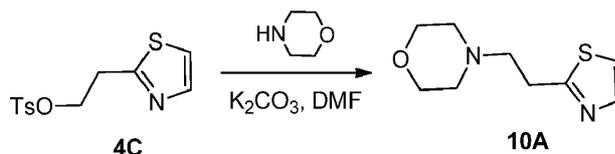
- 20 Una mezcla de compuesto 9E (1,5 g, 4,5 mmol) y HCl concentrado (7,5 ml) se agitó a 60 °C durante toda la noche. La mezcla se concentró al vacío y el residuo se trató con MeOH (10 ml). El sólido blanco que precipitó se recogió mediante filtración y se secó al vacío para proporcionar el compuesto 9F (800 mg, 84 %) como una sal de hidrocioruro. RMN de ¹H (400 MHz, D₂O) δ 7,53 (s, 1H), 4,09 (d, J = 14 Hz, 2H), 3,67 (t, J = 12,4 Hz, 2H), 3,59 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 3,31 (t, J = 12,4 Hz, 2H), 2,97 (s, 3H).

- 25 Paso 6. A la solución de compuesto 9F (1,05 g, 5 mmol) en DCM (2 ml) y THF (10 ml) se le añadió reactivo de Mukaiyama (1,65 g, 6,5 mmol) y DIPEA (1,9 g, 20 mmol). Tras agitar durante 10 min, se añadió 1-(1H-indol-3-il)hexan-2-amina 1D (1,1 g, 5 mmol) y la mezcla se agitó a 50 °C durante 3 h. El solvente se eliminó al vacío y el residuo se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró. El residuo se purificó dos veces mediante TLC preparativa (10:1 DCM/MeOH) para proporcionar el Ejemplo 9 (200 mg, 8,3 %) como un sólido de color amarillo claro. RMN de ¹H (400 MHz, MeOD-d₄) δ 7,59 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,30 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,29 (s, 1H), 7,08-7,04 (m, 1H), 7,07 (s, 1H), 6,98-6,94 (m, 1H), 4,33-4,26 (m, 1H), 3,40-3,35 (m, 4H), 2,99-2,97 (m, 2H), 2,70-2,68 (m, 4H), 2,44 (s, 3H), 1,68-1,60 (m, 1H), 1,55-1,45 (m, 1H) 1,38-1,28 (m, 4H), 0,86 (t, J = 7 Hz, 3H).
- 30

Ejemplo 10: N-(1-(5-fluoro-1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(2-morfolinoetil)tiazol-5-carboxamida

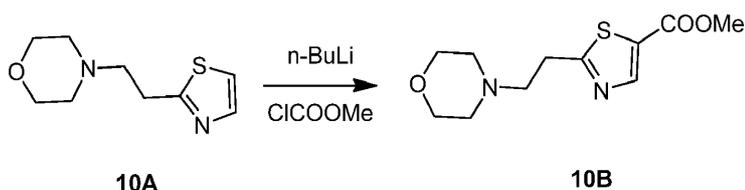


Paso 1.



- 5 Una solución de compuesto 4C (12,7 g, 44,8 mmol) en acetonitrilo (127 ml) se trató con morfolino (5,6 g, 65 mmol) y Cs_2CO_3 (21,3 g, 65 mmol) y se agitó a 50 °C durante toda la noche. La mezcla se filtró, el filtrado se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 10:1$) para proporcionar el compuesto 10A (5,6 g, 63 %) como un aceite amarillo ligero. RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) δ 7,66 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 7,19 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 3,72 (m, 4H), 3,22 (m, 2H), 2,77 (m, 2H), 2,52 (m, 4H).

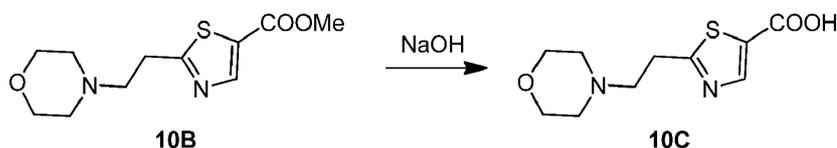
Paso 2.



10

- 15 A una solución de compuesto 10A (5,6 g, 28 mmol) en THF anhidro (56 ml) se le añadió n-BuLi (13,6 ml, 17 mmol) gota a gota a -78 °C. La mezcla se agitó a esta temperatura durante 30 min y después se añadió clorocarbonato de metilo (32 g, 17 mmol) gota a gota a la solución a -78 °C. La mezcla se agitó durante 3 h. Durante este período, se dejó que la temperatura aumentase hasta la temperatura ambiente (25 °C). Se añadió la solución acuosa de NH_4Cl saturado (50 ml) para detener la reacción. La mezcla se extrajo con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para proporcionar el compuesto 10B (4,0 g, 60 %). Este producto crudo se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación posterior. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,27 (s, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,72-3,76 (m, 4H), 3,21 (t, $J = 8,0$ Hz, 2H), 2,77 (t, $J = 8,0$ Hz, 2H), 2,54 (s, 4H).

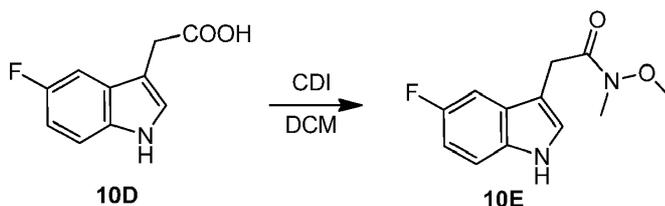
Paso 3.



20

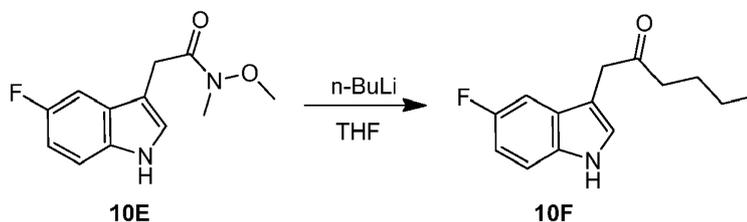
- 25 A una solución de compuesto 10B (3 g, 11,7 mmol) en MeOH (30 ml) se le añadió NaOH (0,7 g, 17 mmol) en agua (9 ml). La mezcla se agitó a 25 °C durante 3 h. Se eliminó el MeOH al vacío y la solución se lavó con EtOAc (30 ml). La fase de agua se ajustó a un pH = 5-6 con 1 N de HCl y se extrajo con EtOAc (50 ml x 3). La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró hasta secarse para proporcionar el compuesto 10C como un sólido naranja (3 g, 100 %). Este producto crudo se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación posterior.

Paso 4.



5 A una solución de compuesto 10D (3,5 g, 18 mmol) en CH_2Cl_2 (35 ml) se le añadió CDI (3,52 g, 21,8 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y a continuación se añadió clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina (2,3 g, 26 mmol) a la mezcla. La mezcla se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con EtOAc (50 ml x 2). La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se concentró para proporcionar el compuesto 10E (4,5 g, 100 %) como un aceite marrón. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,33 (s, 1H), 7,15-7,30 (m, 3H), 6,90-6,92 (m, 1H), 3,87 (s, 2H), 3,73 (s, 3H), 3,28 (s, 3H).

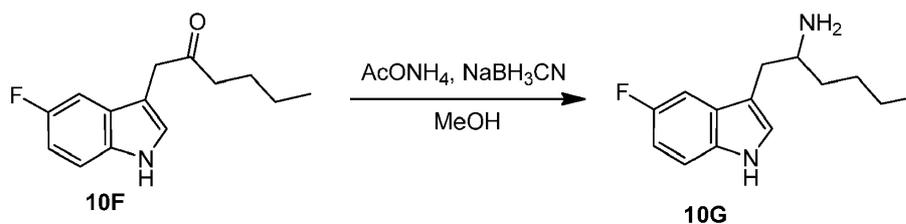
Paso 5.



10

15 A una solución de compuesto 10E (3,57 g, 15 mmol) en THF anhidro (72 ml) se le añadió gota a gota n-BuLi (46 ml, 91 mmol) a -78 °C. La mezcla se agitó a esta temperatura durante 10 min. Se añadió HCl acuoso (1 M, 30 ml) para detener la reacción. La mezcla se extrajo con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para proporcionar el compuesto 10F (3,5 g, 70 %). Este producto crudo se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación posterior.

Paso 6.



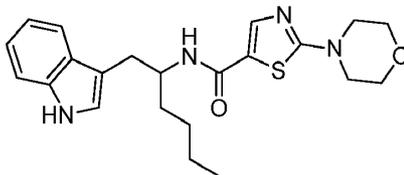
20 A una solución de AcONH_4 (46 g, 0,6 mol) y NaBH_3CN (9,5 g, 0,15 mol) en MeOH (140 ml) y THF (30 ml) se le añadió el compuesto 10F (3,5 g, 15 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. Se eliminaron el MeOH y el THF al vacío y se añadió NaHCO_3 saturado al residuo. La solución se extrajo con EtOAc (100 ml x 2). La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para proporcionar el compuesto 10G (4,0 g, 100 %) como un aceite marrón. Este producto crudo se utilizó directamente en el siguiente paso sin purificación posterior.

25 Paso 7. A una solución de compuesto 10C (1,6 g, 6,6 mmol) en diclorometano (6,4 ml) y THF (16 ml) se le añadió reactivo de Mukaiyama (2,2 g, 8,6 mmol) y DIPEA (1,6 g, 6,6 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 10 min. Se añadió el compuesto 10G (1,6 g, 6,8 mmol) y la mezcla se agitó a 40 °C durante 2 h. El precipitado resultante se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo (30 ml), se lavó con agua (10 ml) y salmuera (10 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (HPLC preparativa de Shimadzu LC-8A, columna C18 de Luna(2), 25 %-55 % de acetonitrilo en 10 mM de NH_4HCO_3 acuoso durante 20 min a 80 ml/min) para proporcionar el Ejemplo 10 (300 mg, 9,8 %) como un sólido blanco. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,38 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,16 (t, $J = 4,4$ Hz, 1H), 7,01 (s, 1H), 6,81-6,86

30

(m, 1H), 5,80 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 4,33 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 3,63 (s, 4H), 3,05 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,89-2,94 (m, 2H), 2,64-2,66 (m, 2H), 2,43 (s, 4H), 1,55-1,58 (m, 1H), 1,42-1,44 (m, 1H), 1,22-1,31 (m, 4H), 0,80 (t, J = 6,8 Hz, 3H).

Ejemplo 11: N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-morfolinotiazol-5-carboxamida

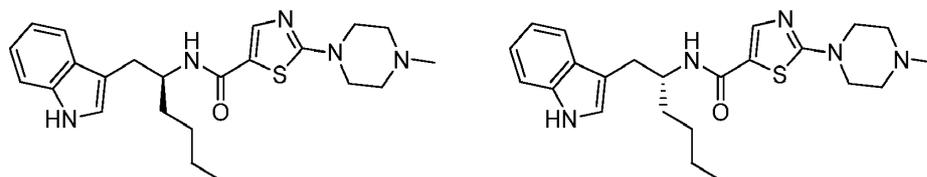


- 5 A una mezcla de compuesto 3A (200 mg, 0,49 mmol) y DIPEA (171 μ l, 0,98 mmol) en THF (2 ml) se le añadió morfolino (42 μ l, 0,49 mmol). La mezcla se agitó durante 1,5 h a 170 °C en un reactor de presión sellado Q-tube. Se añadió morfolino adicional (42 μ l, 0,49 mmol) y la mezcla se calentó durante 0,5 h a 170 °C en un reactor de presión sellado Q-tube. La mezcla se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (0-5 % de MeOH/DCM) para proporcionar el compuesto del Ejemplo 11 (148 mg, 73 %). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3)
- 10 δ 8,08 (br s, 1H), 7,64 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,39 (s, 1H), 7,37 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,19 (dd, J = 7,5 Hz, 1H), 7,12 (dd, J = 7,5 Hz, 1H), 7,05 (d, J = 2 Hz, 1H), 5,57 (d, J = 8 Hz, 1H), 4,39-4,42 (m, 1H), 3,80 (t, J = 4,5 Hz, 4H), 3,51 (t, J = 4,5 Hz, 4H), 3,06 (dd, J = 14,5, 5,5 Hz, 1H), 3,01 (dd, J = 14,5, 5,5 Hz, 1H), 1,26-1,64 (m, 6H), 0,87 (t, J = 7 Hz, 3H). ESMS+: 413,6 [M+1].

Los ejemplos 12-26 se pueden preparar de acuerdo con los métodos descritos anteriormente.

- 15 Ejemplo 27: (S)-N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida y

Ejemplo 28: (R)-N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida;



- Se separaron los enantiómeros en una SFC preparativa THAR 80 utilizando una columna Chiralpak AD-H (250x30 mm; 5 μ M id). El racemato se disolvió en metanol (50 mg/ml) y se cargaron 45 mg de racemato por inyección. La separación se logró utilizando una fase móvil de 40 % de 2-propanol (aditivo: 0,05 % de $\text{NH}_3\text{H}_2\text{O}$) en CO_2 a un flujo de 70g/min y una contrapresión del sistema de 100 bar. La temperatura de la columna se mantuvo a 40 °C y se detectaron máximos a 220 nm. La duración total del ciclo fue de 6 minutos. Ejemplo 27 ((S)-N-(1-(1H-Indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida): LCMS (Xtimate C18, 2,1X30 mm, 3 μ M id): RT Máximo 1: 2,036 (100 %) MS: 426,2; Rotación óptica (polarizador Dichrom, 589 nM) -0,143 (sd = 0,0004); control de pureza de Chiral (OJ-H, 40 % de MeOH (0,05 % de DEA)) RT Máximo 1: 3,61 (99,87 %), RT Máximo 2: 5,3 (0,13 %).
- 25 Ejemplo 28 ((R)-N-(1-(1H-Indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida): LCMS (Xtimate C18, 2,1X30 mm, 3 μ M id): RT Máximo 1: 2,035 (98,77%) MS: 426,2. RT Máximo 2: 2,373 (1,23%) MS: 427,2; Rotación óptica (polarizador Dichrom, 589 nM) +0,160 (sd = 0,0003); control de pureza de Chiral (OJ-H, 40 % de MeOH (0,05 % de DEA)) RT Máximo 1: 3,6 (0,18%), RT Máximo 2: 5,23 (99,82%).

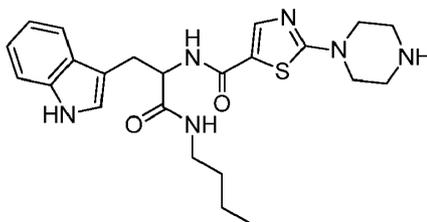
- 30 Ejemplo biológico 1: Ensayo de polarización fluorescente in vitro con fragmento peptídico de alfa-sinucleína (4F).

- El ensayo de polarización fluorescente evalúa la capacidad de compuestos para inhibir la autoagregación de fragmentos peptídicos de α -sinucleína. Los péptidos se incubaron durante 60 min a temperatura ambiente en presencia o ausencia de compuestos de ensayo (las concentraciones del compuesto oscilaron entre 33,3 y 0,3 μ M). Las muestras se leyeron en un lector de placas BMG Pherastar en modo polarización fluorescente utilizando excitación a 485 nm y emisión a 520 nm. Los datos se analizaron empleando un ajuste logístico de cuatro parámetros (XLFit, software IDBS. El péptido 4F (CTGFVKKDQLGK (SEQ ID N.º 1)) fue preparado por American Peptide. Las muestras recientes de péptido se reconstituyeron en agua purificada a 5 mM y se diluyeron en 50 mM
- 35

de HEPES en pH 7,4 con 50 mM de NaCl para 100 nM de concentración final. Los compuestos sólidos se disolvieron en DMSO (10 mM), y después se diluyeron en tampón.

Los datos de los compuestos analizados se presentan en la Tabla 1. Los compuestos comparativos A y B también fueron analizados.

5 Comparador A:



Comparador B:

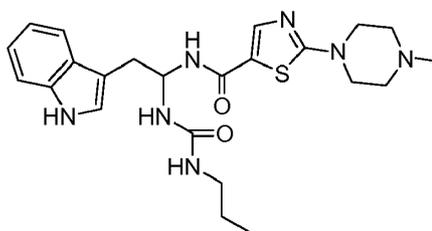


Tabla 1.

Ej.	IC50 (μM)*
Comp. A	>30 [§]
Comp. B	6,35
1	3,33±1,9 [¥]
2 (#)	3,55
3	0,27
4 (#)	5,9
5	1,3
6	0,39
7	0,37

8	0,77
9	8,5
27	0,4 ± 0,3 [§]
28	0,7 ± 0,4 [§]

*n= 1 a no ser que se indique otra cosa

§n = 2

¥n = 3 ± SEM

(#) indica un compuesto de referencia

Ejemplo biológico 2: Ensayos farmacocinéticos in vivo

5 La farmacocinética y la distribución cerebral de los compuestos descritos en el presente documento se determinó en ratones macho C57BL/6 tras una única administración intravenosa o una dosis oral. Un grupo de 54 ratones macho se dividió en dos grupos de 27 ratones. Los animales del Grupo 1 (i.v.) y del Grupo 2 (p.o.) recibieron una dosis con los compuestos de ensayo de 10 mg/kg (i.v.) o 2 mg/kg (p.o.). Las muestras de sangre se recogieron antes de la administración de la dosis y 0,08, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8 y 24 h después de la dosis (i.v.), y antes de la administración de la dosis y 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, y 24 h después de la dosis (p.o.). Se recogió sangre de conjuntos de tres ratones en cada punto temporal en tubos de microcentrifugación marcados que contenían K₂EDTA como anticoagulante. Las muestras de plasma se separaron mediante centrifugación de sangre entera y se almacenaron por debajo de -70 °C hasta el bioanálisis. Tras recoger las muestras de sangre, los ratones se sometieron a eutanasia mediante asfixia con CO₂ y el cerebro se recogió en los mismos puntos temporales. Tras la recogida, las muestras de cerebro se lavaron en tampón fosfato salino helado (pH 7,4), se secaron cuidadosamente en papel de filtro, se pesaron y se colocaron en tubos de polipropileno. Posteriormente, las muestras de cerebro se homogeneizaron utilizando tampón fosfato salino con pH 7,4 y el volumen total del homogeneizado era tres veces superior al peso del cerebro. Las muestras se almacenaron a continuación por debajo de -70 °C hasta el bioanálisis. Todas las muestras se procesaron para su análisis mediante precipitación de proteínas utilizando acetonitrilo y se analizaron por el adecuado método LC/MS/MS (LLOQ: 1,01 ng/ml de plasma y cerebro). Los parámetros farmacocinéticos se calcularon por medio de la herramienta de análisis no compartimental de Phoenix WinNonlin (Versión 6.3).

Los datos obtenidos en el ensayo se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2.

Ej.	Estabilidad en SGF	Estabilidad del plasma	Biodisponibilidad oral*	Depuración de PK* (ml/min/kg)	Proporción B:P* (IV/PO)
Comp. A	estable	35 % @ 60 min	NC	71	NC/0,05

Comp. B	inestable	89% @ 60 min	14%	258	0,1/0,08
1	estable	1 00% @ 120 min	53%	81	2,0/0,4
4 (#)	estable	25% @ 120 min	100%	95	0,4/0,1
5	estable	1 00% @ 120 min	79%	24	0,18/0,05
10	ND	ND	13%	75**	0,8**/0,15
27	ND	ND	57%	37	1,4/0,3
28	ND	ND	14%	69	2,1/0,4

* a 10 mg/kg

** a 2 mg/kg

NC = Compuesto no detectado (por debajo del límite de detección)

ND = No determinado

(#) indica un compuesto de referencia

Ejemplo biológico 3: Ensayo RMN para determinar el efecto de los compuestos de ensayo en la interacción de alfa-sinucleína con membranas lipídicas

- 5 Para medir la interacción de los compuestos de ensayo con ASYN de longitud completa en presencia de membranas lipídicas, se puede llevar a cabo un ensayo RMN. Las mediciones de RMN se pueden realizar en 20 mM de fosfato, pH = 7,4, 100 mM de NaCl en los espectrómetros Varian Direct Drive de 600 MHz y Varian Inova de 800 MHz con un 10 % de D₂O como solvente de cierre. Los espectros se procesaron utilizando NMRPipe (véase F. Delaglio, S. Grzesiek, G. W. Vuister, G. Zhu, J. Pfeifer, A. Bax, J Biomol NMR 1995, 6, 277-293). Se empleó α -sinucleína a 0,12 mM mientras se añadían liposomas de 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol (POPG) a 0,8 mg/ml cuando estén presentes. Todos los espectros de correlación ¹H-¹⁵N se grabaron con una secuencia de pulsos SOFAST (véase P. Schanda, E. Kupce, B. Brutscher, J Biomol NMR 2005, 33, 199-211). La asignación de la resonancia en condiciones casi fisiológicas se encontraba fácilmente disponible a partir de una publicación anterior (BMRB ID 16300; véase J. N. Rao, Y.E. Kim, L. S. Park, T. S. Ulmer, J Mol Biol 2009, 390, 516-529). Para la titulación de ligandos, se añadió paso a paso el Ejemplo 1 a la mezcla de liposoma/ASYN. Los espectros de correlación ¹⁵N-¹H se grabaron para cada paso y las intensidades de señal se referenciaron a la forma libre de ASYN mientras que constituyen los efectos de dilución. Para reducir el ruido en los datos disponibles, la proporción de intensidad de las diversas posiciones de amida de ASYN se promedió en las dos regiones escogidas para que se correspondieran con los modos de unión SL1 y SL2 observados anteriormente (véase C. R. Bodner, A. S. Maltsev, C. M. Dobson, A. Bax, Biochemistry 2010, 49, 862-871).
- 10
- 15
- 20

Como se muestra en la figura 1, la intensidad de señal de ASYN en la espectroscopia de correlación heteronuclear cuántica simple (HSQC) se atenuó cuando ASYN se integró en las membranas lipídicas. Esta atenuación inducida por lípidos de la señal de HSQC se revirtió mediante el Ejemplo 1, mostrando así la capacidad del compuesto de ensayo para interrumpir la asociación de ASYN con membranas lipídicas. La Fig. 1A muestra la atenuación de la señal en función de los residuos de ASYN en presencia de liposomas de POPG. El eje Y (I/I₀) es la proporción de las intensidades de señal en espectroscopia de HSQC de ASYN en presencia (I) o ausencia (I₀) de membranas lipídicas. En la figura 1B, la media de la proporción I/I₀ de los residuos de ASYN 3-23 se planeó como una función de la concentración del Ejemplo 1 añadido. Esta representación muestra que el Ejemplo 1 invirtió la interacción de ASYN con liposomas de 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol (POPG) (0,8 mg/ml) de manera que dependa de la concentración. Se obtuvieron resultados similares al analizar los residuos de ASYN 66-76.

Ejemplo biológico 4: Efecto de los compuestos de ensayo sobre oligómeros anulares en membranas lipídicas

Se empleó microscopía electrónica para observar directamente el efecto de los compuestos de ensayo en la formación de oligómeros de ASYN en membranas lipídicas. Las redes formvar con la monocapa lipídica se contrarrestaron con una solución saturada de acetato de uranilo en 50 % de ETOH durante 25 minutos. Se dejaron flotar las redes en una gota de 2 % de subnitrato de bismuto durante 10 min, y se aclararon de nuevo cuidadosamente con agua doblemente destilada tres veces y se dejaron secar completamente. Las redes se visualizaron utilizando un microscopio electrónico de transmisión Zeiss EM10. A partir de cada red de muestra, se obtuvieron 5-10 micrógrafos de electrón a un aumento de 10.000x y 5-10 imágenes a 40.000x. Los mejores negativos se escanearon y se analizaron con el programa ImageJ 1.43 para calcular el número de oligómeros anulares por campo de poder mayor (100 x 100 nm) (Rasband, W.S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2014).

En este estudio, se constató que el Ejemplo 1 reducía drásticamente la acumulación de las formas oligoméricas anulares y de tipo anillo de ASYN en una membrana lipídica, mientras que los agregados pequeños no anulares se podían seguir observando. La figura 2A muestra las imágenes del microscopio electrónico de oligómeros de ASYN formados en redes Formvar cubiertas de lípidos en ausencia y presencia del Ejemplo 1. La figura 2B es un gráfico que refleja la cuantificación de las imágenes del microscopio electrónico. El Ejemplo 1 redujo la cantidad de oligómeros de ASYN anulares detectados en las redes Formvar en concentraciones tan bajas como de 10 nM (medias \pm SEM por 20 mediciones). El Ejemplo 1 consiguió estos efectos en concentraciones subestequiométricas en relación con ASYN. Estos hallazgos eran coherentes con los modelos de dinámica molecular que muestran que el Ejemplo 1 estabiliza las conformaciones de ASYN que son menos propensas a formar oligómeros similares a anillos en las membranas lipídicas.

Estos resultados sugieren que el Ejemplo 1 interactúa con las formas oligoméricas y de unión a lípidos de ASYN de forma que reduce la afinidad de los oligómeros de ASYN con la membrana lipídica. El Ejemplo 1 fue capaz de interferir en la oligomerización de ASYN, en la unión de ASYN a las membranas lipídicas, y en la formación de oligómeros anulares de tipo anillo («poros») en estas membranas. Estos resultados sugieren también que el Ejemplo 1 altera la agregación de ASYN e impide la formación de estructuras oligoméricas específicas que se cree que contribuyen a la neurotoxicidad de ASYN mal plegado y oligomerizado en la enfermedad de Parkinson.

Ejemplo biológico 5: Efecto de los compuestos de ensayo en la alfa-sinucleína en las células

Se estudió el efecto del Ejemplo 1 en la acumulación de ASYN en células de neuroblastoma B103 que sobreexpresan ASYN humano. Se utilizó un sistema de expresión lentiviral para expresar ASYN dirigido a GFP en estas células. Transcurridas cuarenta y ocho horas tras el inicio de la expresión, se añadió el vehículo o Ejemplo 1 (0,1 0 1,0 μ M) durante 24 horas más. A continuación, se observó la cantidad de GFP-ASYN acumulado. Como se muestra en la Fig. 3, el Ejemplo 1 redujo la intensidad de la fluorescencia de GFP en estas células a 1,0 μ M (*p <0,05 frente al grupo de control del vehículo). Por consiguiente, se constató que el Ejemplo 1 reducía las concentraciones de ASYN-GFP en células que sobreexpresan ASYN.

Ejemplo biológico 6: Estudios de eficacia in vivo

La enfermedad de Parkinson (PD) se caracteriza por la acumulación aberrante de formas oligoméricas de alfa-sinucleína (ASYN). Existen hipótesis de que estas formas tóxicas de ASYN contribuyen al mal funcionamiento neuronal y a la muerte celular observada en PD y en otras sinucleinopatías, en parte, a pesar de la formación de estructuras porosas en membranas celulares. Los compuestos que se describen en el presente documento se

diseñaron para mejorar la patología y los síntomas asociados a la PD bloqueando de forma selectiva la formación y la acumulación de estas especies tóxicas de ASYN.

A) Modelo de ratón transgénico de la enfermedad de Parkinson

5 El Ejemplo 1 se evaluó en un modelo de ratón transgénico de PD que sobreexpresaba la ASYN natural humana con el promotor Thy-1 (también denominado ratón transgénico de la línea 61 de ASYN), administrando el Ejemplo 1 a 0, 1, o 5 mg/kg (i.p.) una vez al día (cinco días por semana) durante tres meses y evaluando después el rendimiento sensoriomotriz, alteraciones bioquímicas y cambios neuropatológicos relevantes en la PD en ASYN y sus proteínas asociadas.

10 Se utilizó el Round Beam Task para evaluar el deterioro sensoriomotriz, utilizando el número de resbalones como medida de resultado primaria (Fig. 4). Para confirmar la viabilidad del modelo de ratón transgénico, se analizaron ratones con ASYN transgénica y no transgénica, y el número de resbalones en los sujetos transgénicos tratados con el vehículo fue, desde el punto de vista estadístico, significativamente superior al del grupo de control no transgénico tratado con el vehículo (****p<0.0001). Los ratones transgénicos tratados con el Ejemplo 1 con ambas dosis de prueba presentaron, desde el punto de vista estadístico, reducciones significativas en comparación con los ratones transgénicos tratados con el vehículo (#p <0,05 y ##p <0,01 frente a ratones con ASYN transgénico tratados con el vehículo).

20 El análisis de Western blot de homogenados cerebrales de corteza cerebral y de hipocampo manifestaron reducciones significativas desde el punto de vista estadístico en los niveles de proteína ASYN transgénica. Se llevaron a cabo evaluaciones bioquímicas de proteínas oligoméricas utilizando métodos dot blot de anticuerpo A11 (incluyendo ASYN) en homogenados corticales. Se verificó el modelo de ratón transgénico, ya que la evaluación dot blot del anticuerpo A11 de oligómeros en homogenados corticales mostró un incremento estadísticamente significativo en el inmunomarcaje de A11 en la fracción citosólica de la corteza frontal en ratones con ASYN transgénico tratados con el vehículo con respecto a los ratones de control no transgénicos tratados con el vehículo (Figura 5; *p<0.05). El tratamiento con el Ejemplo 1 (5 mg/kg) dio como resultado un descenso estadísticamente significativo de los oligómeros en la fracción citosólica de la región de la corteza frontal de los ratones con respecto a los ratones con ASYN transgénico tratados con el vehículo (Fig. 5; ###p <0,001).

B) Modelos de ratón con ASYN transgénico de la línea 61

30 Estudios de inmunomarcaje previos llevados a cabo por Masliah y compañeros han mostrado incrementos estadísticamente significativos en el inmunomarcaje de ASYN en el neuropilo cortical en los ratones con ASYN transgénico de la línea 61 (Masliah E. et al., Science, 2000, 287(5456):1265-9). Estos hallazgos neuropatológicos se corroboraron en el presente estudio utilizando los métodos descritos por Masliah y compañeros. La administración del Ejemplo 1 (en dosis de 1 y 5 mg/kg) produjo descensos estadísticamente significativos en los niveles de ASYN según lo determinado por los efectos en el inmunomarcaje de ASYN (figuras 6 y 7). Se produjo un incremento estadísticamente significativo en el inmunomarcaje de ASYN con el anticuerpo anti-alfa-sinucleína Millipore en el neuropilo cortical (****p <0,0001) (Fig. 6A) y en los cuerpos celulares neuronales de ratones con ASYN transgénica (**p <0,01) (Fig. 6B) en relación con los controles de vehículo/no transgénicos. La administración del Ejemplo 1 (1 y 5 mg/kg) produjo descensos estadísticamente significativos en el inmunomarcaje de alfa-sinucleína en el neuropilo cortical (Figura 6A) (####p <0,0001 frente a ratones con ASYN transgénica tratados con el vehículo), así como un descenso no estadísticamente significativo en el número de cuerpos celulares neuronales inmunomarcados con ASYN a 5 mg/kg (Fig. 6B).

Asimismo, se observó una normalización de los marcadores asociados a la neurodegeneración, incluidas la tirosina hidroxilasa, NeuN y GFAP.

45 Como se muestra en la Fig. 8, se estudió el efecto del Ejemplo 1 a 0,5 mg/kg y 1 mg/kg en el deterioro sensoriomotriz en ratones con ASYN transgénica de la Línea 61, utilizando el ensayo de rendimiento Round Beam Motor descrito anteriormente. Se observó un incremento estadísticamente significativo en el número de resbalones en ratones de control con ASYN transgénica tratados con el vehículo en comparación con los sujetos de control no transgénicos tratados con el vehículo (****p <0,0001). A 1 mg/kg, el tratamiento del Ejemplo 1 produjo una mejora estadísticamente significativa (reducción de resbalones) en ratones con ASYN transgénica con respecto a ratones con ASYN transgénica tratados con el vehículo (##p <0,01). A 0,5 mg/kg, el Ejemplo 1 produjo un descenso no estadísticamente significativo de los resbalones.

En conjunto, estos resultados muestran que el Ejemplo 1 mejora significativamente los resultados sensoriales, bioquímicos y neuropatológicos en un modelo de ratón transgénico. Estos hallazgos confirmaron que la administración del Ejemplo 1 produce mejoras en las mediciones bioquímicas, neuropatológicas y de comportamiento en un modelo de ratón transgénico de la enfermedad de Parkinson/Demencia con cuerpos de Lewy (PD/DLB).

Ejemplo biológico 7: Desarrollo de marcadores biológicos

A) Conteos de bolos fecales

Con el objetivo de desarrollar biomarcadores traducibles funcionales y bioquímicos, se llevaron a cabo evaluaciones adicionales, incluyendo una evaluación de los conteos de bolos fecales producidos en un nuevo entorno y los niveles cardíacos post mortem de ASYN.

El estreñimiento crónico en los pacientes con Parkinson presenta una prevalencia del 50-80 %, y puede preceder al diagnóstico por más de 20 años (Awad, R.A. World J. Gastroenterol. 2011, 17(46), 5035-5048; Kim, J.S. et al., J. Neurol. Sci. 2011, 310(1-2), 144-151). Entre los síntomas asociados se incluyen el descenso de los tiempos de tránsito y anomalías EMG (reflejos inhibitorios esfinterianos rectoanales), y vienen acompañados por descubrimientos patológicos clave incluidos los cuerpos de Lewy y los núcleos y nervios parasimpáticos, y un descenso de las neuronas dopaminérgicas. Esta disfunción intestinal se agrava por la reducción de los niveles de actividad, los cambios en la dieta (comida y agua), y los efectos de los medicamentos para el Parkinson.

Un estudio publicado anteriormente incluía un informe acerca de que los ratones con ASYN transgénica de la Línea 61 presentaban un descenso de la motilidad colónica, la producción fecal y el peso (Wang, L. et al. Neurogastroenterol. Motil. 2012, 24(9), e425-436). Para el presente estudio, se llevó a cabo una evaluación de los conteos de bolos fecales junto con una sesión de prueba de la actividad locomotora espontánea. Al terminar una sesión de prueba de cinco minutos de duración, el investigador contó el número de bolos fecales presentes en la cámara de prueba, y los resultados se presentan en la Fig. 9. Los ratones con ASYN transgénica tratados con el vehículo presentaban reducciones estadísticamente significativas de bolos fecales producidos en un nuevo entorno en relación con los ratones de control no transgénicos tratados con el vehículo (* $p < 0,05$). El Ejemplo 1 no presentó ningún efecto en el número de bolos producidos en ratones no transgénicos, pero restableció la función en ratones con ASYN transgénica a 0,5 mg/kg (# $p < 0,05$ frente a ratones con ASYN transgénica tratados con el vehículo) y 1 mg/kg (### $p < 0,001$ frente a ratones con ASYN transgénica tratados con el vehículo).

B) Función cardíaca

Al igual que la disfunción intestinal, las alteraciones en la bioquímica y la función cardíaca pueden preceder al diagnóstico de la enfermedad de Parkinson en 20 años o más. Las alteraciones funcionales bien caracterizadas en pacientes PD incluyen la variabilidad alterada del ritmo cardíaco y la hipotensión ortostática (Kaufmann, H. et al., Handbook Clin. Neurol. 2013, 117, 259-278; Jain, S. et al., Neurobiol. Dis. 2012, 46(3), 572-580; Senard, J.M. et al., Rev. Neurol. (Paris) 2010, 166(10), 779-784; Post, K.K. et al., Parkinsonism Relat. Disord. 2008, 14(7), 524-531). Estos cambios funcionales vinieron acompañados por descubrimientos patológicos de pérdida de la inervación noradrenérgica miocárdica y presencia de agregados de ASYN en nervios autónomos cardíacos (Jellinger, K.A., J. Neurol. Sci. 2011, 310(1-2), 107-111). La caracterización previa de la función y bioquímica cardíaca en ratones con ASYN transgénico de la Línea 61 han mostrado la presencia de hASYN en las paredes ventriculares y atriales del corazón localizadas en las fibras noradrenérgicas (Fleming, S.M., J. Parkinsons Dis. 2011, 1(4), 321-327). En el caso del presente estudio, se llevaron a cabo las evaluaciones post-mortem de Western blot de ASYN cardíaco mediante análisis Western blot para confirmar la presencia en tejido cardíaco de ASYN transgénica y para evaluar los efectos del Ejemplo 1 en los niveles cardíacos transgénicos de ASYN (Fig. 10). Se produjo un incremento estadísticamente significativo en los niveles cardíacos detectados de ASYN en ratones con ASYN transgénica tratados con el vehículo con respecto a los ratones de control no transgénicos tratados con el vehículo (** $p < 0,001$). Se produjeron normalizaciones estadísticamente significativas de los niveles de ASYN en ratones con ASYN transgénica tratados con 0,5 o 1 mg/kg del Ejemplo 1 en relación con los ratones con ASYN transgénica tratados con el vehículo (#### $p < 0,0001$).

C) Imágenes retinianas

Existen hipótesis acerca de que la acumulación anormal de una proteína alfa-sinucleína neuronal (ASYN) pueda fundamentar la muerte de células neuronales y el mal funcionamiento sináptico en la enfermedad de Parkinson

(PD) y en la demencia con cuerpos de Lewy (DLB). Los compuestos que interfieren de manera selectiva con la dinámica de plegamiento de proteínas de la alfa-sinucleína y que impiden la formación de dímeros de propagación se han desarrollado y evaluado posteriormente en modelos animales. En algunos pacientes con Párkinson, se presentan alteraciones en la función visual (Botha, H. et al., *Parkinsonism Relat. Disord.* 2012, 18(6), 742-747; Bodis-Wollner, I. et al., *Behav. Neurosci.* 2013, 127(2), 139-150; Bodis-Wollner, I., *Parkinsonism Relat. Disord.* 2013, 19(1), 1-14; Javaid, M.A. et al., *Parkinsonism Relat. Disord.* 2012, 18(Suppl. 1), S100-3) e informes recientes han presentado potenciales cambios patológicos en la retina en PD. Estudios de tomografía de coherencia óptica (OCT, por sus siglas en inglés) han demostrado una reducción de la capa de fibra nerviosa de la retina en los pacientes con Párkinson (Yu, J.G. et al., *PLoS One* 2014, 9(1), e85718). En evaluaciones post mortem se han descubierto depósitos de ASYN en la retina en PD (Bodis-Wollner, I. et al., *Ann. Neurol.* 2014, 75(6), 964-6).

Anteriormente, se demostró la viabilidad de las evaluaciones repetidas de imágenes retinianas longitudinales de e-GFP-ASYN en el modelo de ratón transgénico PDNG78 de DLB/PD como un método para evaluar y supervisar la progresión de cambios neurodegenerativos en modelos animales de la enfermedad de Parkinson (Rockenstein et al., "Retinal scanning evaluations of alpha-synuclein-eGFP deposition in a transgenic mouse model of PD/DLB," Society for Neurosciences, Annual Meeting, 2013, Abstract N.º 329.06). Se mostraron las características patológicas progresivas en la retina de PDNG78 en una enfermedad espejo del SNC, proporcionando así un medio para evaluar de forma repetida y no invasiva las intervenciones terapéuticas potenciales en un modelo de ratón transgénico de PD/DLB.

Este estudio se llevó a cabo para determinar el efecto del Ejemplo 1 (3 meses de administración i.p. a 0 & 5 mg/kg) en presencia y la progresión de la patología retiniana de alfa-sinucleína (ASYN) en un estudio de imágenes retinianas longitudinales en un modelo de ratón transgénico de enfermedad de Parkinson/demencia con cuerpos de Lewy (PD/DLB). Los sujetos de ratón transgénico sobreexpresan la alfa-sinucleína-GFP fusionada (proteína fluorescente verde) con el promotor PDGF-beta y normalmente se hace referencia a estos como ratones transgénicos PDNG78 (Rockenstein, E. et al., *J. Neurosci. Res.* 2005, 80, 247-259). El ratón transgénico PDNG78 expresa ASYN-GFP fusionada a niveles de plegamiento 2-5 superiores a los niveles de los ratones de control no transgénicos. Los niveles de expresión en SNC de ASYN son los más elevados en el sistema límbico, incluidas las regiones del neocórtex y del hipocampo, de ratones transgénicos PDNG78. Las distribuciones celulares de características espejo relevantes para la sinucleinopatía de ASYN-GFP incluían las acumulaciones en cuerpos celulares neuronales, la tinción difusa del neurópilo, la tinción punteada sináptica, y los depósitos perivasculares.

Se llevaron a cabo un total de cuatro sesiones de imágenes, incluyendo una sesión de referencia con anterioridad al comienzo de los tratamientos y tres sesiones de imágenes posteriores a intervalos de aproximadamente un mes. El análisis de imágenes retinianas para el porcentaje de imagen con ASYN-GFP (Fig. 11) mostró incrementos estadísticamente significativos en el porcentaje de áreas de imagen con ASYN-GFP en la retina de ratones transgénicos como referencia con anterioridad al inicio de los tratamientos (**p <0,01 frente a ratones no transgénicos tratados con el vehículo) y para cada escáner posterior (*p <0,05 y ***p <0,001 frente a ratones no transgénicos tratados con el vehículo). El porcentaje de área positiva de ASYN-GFP se redujo en ratones transgénicos tratados con el Ejemplo 1 (5 mg/kg) tras aproximadamente 60 días de tratamiento y se prosiguió durante el punto temporal de 90 días de imágenes (###p <0,001 frente a ratones con ASYN transgénico tratados con el vehículo).

El análisis de los conteos de partículas positivas de ASYN-GFP (Fig. 12) reveló un aumento y constancia del marcaje de proteína fluorescente verde (GFP, por sus siglas en inglés) terminal nerviosa y perivascular en ratones transgénicos, pero no en ratones no transgénicos. Se produjeron incrementos estadísticamente significativos en los conteos totales de partículas ASYN-GFP en la retina de ratones transgénicos en la referencia con anterioridad al inicio de los tratamientos (*p <0,05 frente a ratones no transgénicos tratados con el vehículo) y para los escáneres que comenzaban aproximadamente tras 60 días de tratamiento (**p <0,01 frente a ratones no transgénicos tratados con el vehículo). El número de partículas positivas de ASYN-GFP se redujo en los ratones con ASYN transgénica tratados con el Ejemplo 1 (5 mg/kg) tras aproximadamente 60 días de tratamiento y persistió a través de los 90 días de punto temporal de imágenes (##p <0,01 frente a ratones con ASYN transgénica tratados con el vehículo).

Los hallazgos de este estudio muestran que la administración del Ejemplo 1 (5 mg/kg por día; durante 3 meses) produce cambios beneficiosos en patologías retinianas de ASYN de ratones transgénicos que sobreexpresan ASYN como un modelo de PD/DLB. Estos datos también proporcionan una medida de prueba adicional de los efectos beneficiosos del Ejemplo 1 mediante un método de imágenes potencialmente traducible.

ES 2 808 978 T3

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Neuropore Therapies, Inc.

<120> Heteroarilamidas como inhibidores de la agregación de proteínas

<130> WJW/FP7345556

5 <140> EP

< 141> 2015-01-28

<150> EP 15705417.2

< 151> 2015-01-28

10

<150> PCT/US2015/013263

< 151> 2015-01-28

<150> US 61/933,246

15

< 151> 2014-01-29

<150> US 62/078,895

< 151> 2014-11-12

<160> 1

20 <170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

<210> 1

<211> 12

<212> PRT

25

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Constructo sintético

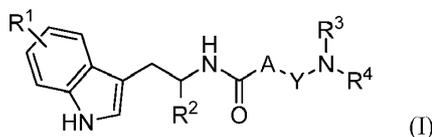
<400> 1

30

Cys Thr Gly Phe Val Lys Lys Asp Gln Leu Gly Lys
1 5 10

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de una Fórmula (I):



donde:

5

R¹ es H, halo, C₁₋₄alquilo, o CF₃;

R² es -CF₃, o C₁₋₄alquilo no sustituido o sustituido con halo o -CF₃;

A es un anillo heteroarílico de 5 miembros;

Y está ausente o es C₁₋₄alquileno;

10

donde Y está ausente:

R³ y R⁴ tomados conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados forman un anillo heterocicloalquilo monocíclico, no sustituido o sustituido con C₁₋₄alquilo; y

donde Y es C₁₋₄alquileno:

15

R³ y R⁴ tomados conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados forman un anillo heterocicloalquilo monocíclico, no sustituido o sustituido con C₁₋₄alquilo; o

R³ y Y tomados conjuntamente con el nitrógeno al que R³ está conectado forman un anillo heterocicloalquilo monocíclico, y R⁴ es H o C₁₋₄alquilo;

20

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde:

R¹ es H, fluoro, cloro, bromo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo o tert-butilo; o

R¹ es H o fluoro.

25

3. Un compuesto según las reivindicaciones 1 o 2, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde:

R² es -CF₃; o

R² es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, o tert-butilo, cada uno no sustituido o sustituido con fluoro, cloro, bromo o -CF₃; o

30

R² es C₁₋₄alquilo opcionalmente sustituido con halo o -CF₃; o

R² es C₃₋₄alquilo, no sustituido o sustituido con fluoro o -CF₃; o

R² es butilo; o

R² es propilo sustituido con -CF₃.

35

4. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde:

A es un anillo heteroarilo de 5 miembros con dos o tres átomos de anillo heteroatómico; o

A es un anillo heteroarilo de 5 miembros con dos átomos de anillo heteroatómico no adyacentes; o

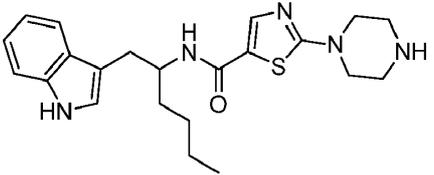
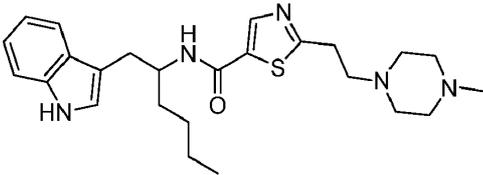
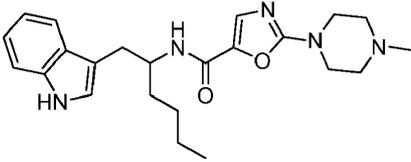
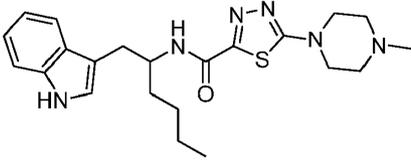
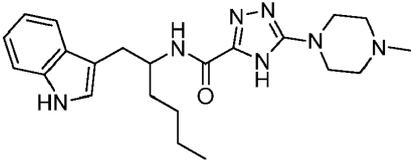
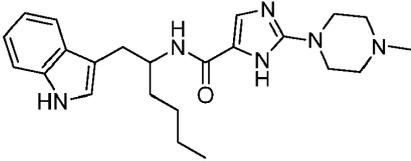
A es tiazol, tiadiazol, oxazol, imidazol o triazol; o

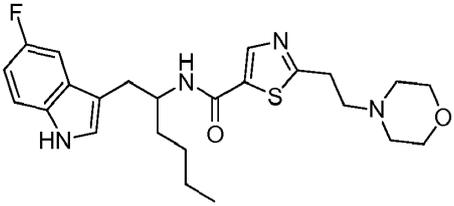
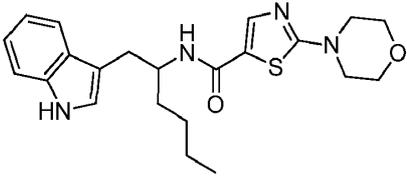
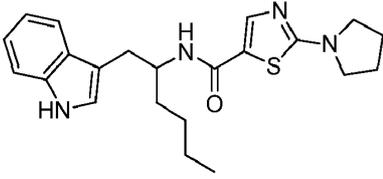
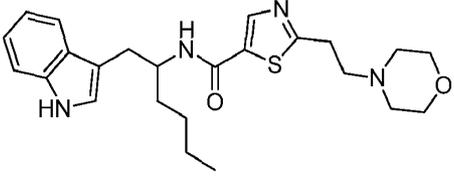
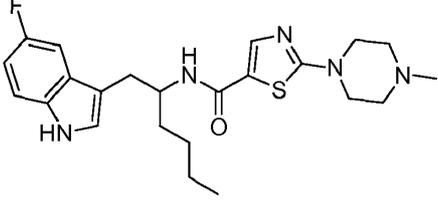
40

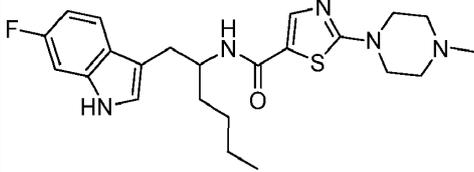
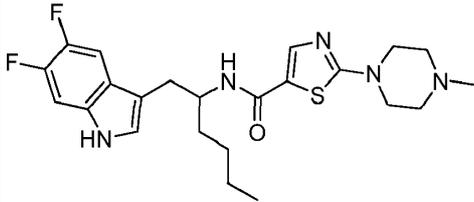
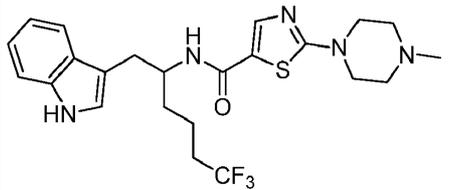
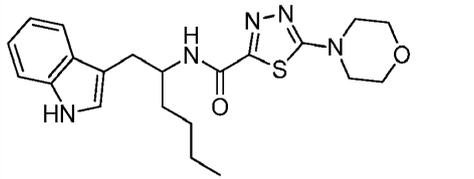
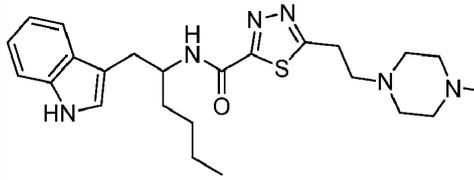
A es tiazol o tiadiazol; o

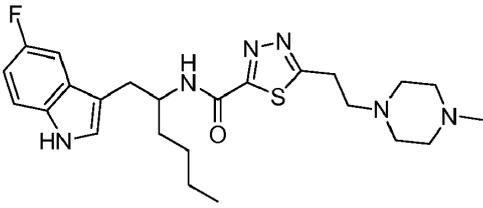
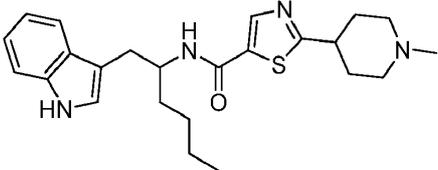
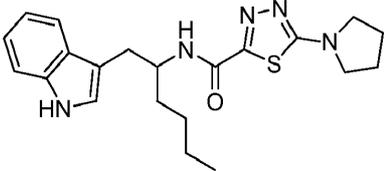
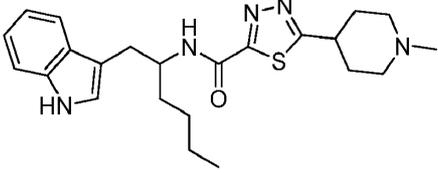
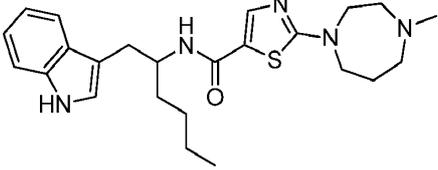
A es tiazol.

5. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde:
- Y está ausente; o
- 5 Y es $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-(\text{CH}_2)_3-$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$, $-(\text{CH}_2)_4-$, $-\text{CH}((\text{CH}_2)_2\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}(\text{CH}(\text{CH}_3)_2)-$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_2-$, o $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$; o
- Y es $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, o $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$; o
- Y es $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$.
6. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde:
- 10 R^3 y R^4 se toman conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados y forman un anillo heterocicloalquilo monocíclico, no sustituido o sustituido con C_{1-4} alquilo; o
- R^3 y R^4 tomados conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados forman azetidina, pirrolidina, piperidina, azepina, piperazina, morfolina, tiomorfolina, o 1,1-dioxo-tiomorfolina, cada una no sustituida o sustituida con C_{1-4} alquilo; o
- 15 R^3 y R^4 tomados conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados forman piperazina, morfolina o pirrolidina, cada una no sustituida o sustituida con C_{1-4} alquilo; o
- R^3 y R^4 tomados conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados forman piperazina o morfolina, cada una no sustituida o sustituida con C_{1-4} alquilo; o
- 20 R^3 y R^4 tomados conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados forman piperazina, no sustituida o sustituida con C_{1-4} alquilo; o
- R^3 y R^4 tomados conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados forman piperazina o 4-metil-piperazina.
7. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde:
- Y es C_{1-4} alquileo, R^3 y Y tomados conjuntamente con el nitrógeno al que R^3 está conectado forman un anillo heterocicloalquilo monocíclico, y R^4 es H o C_{1-4} alquilo; o
- 30 Y es C_{1-4} alquileo, R^3 y Y tomados conjuntamente con el nitrógeno al que R^3 está conectado forman pirrolidina o piperidina.
8. Un compuesto según la reivindicación 7, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde:
- R^4 es H o metilo.
9. Un compuesto según la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde:
- 35 R^1 es H,
- R^2 es C_{1-4} alquilo,
- A es tiazol,
- Y está ausente o es etileno, y
- 40 R^3 y R^4 tomados conjuntamente con el nitrógeno al que están conectados forman N-metilpiperazina.
10. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde:
- R^2 está en la configuración estereoquímica de «R»; o
- 45 R^2 está en la configuración estereoquímica de «S».
11. Un compuesto según la reivindicación 1, seleccionado de entre los compuestos de las siguientes fórmulas, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

(1)		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-2-(piperazin-1-yl)thiazol-5-carboxamida	(Ej. 3),
(2)		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-2-(2-(4-metilpiperazin-1-yl)etil)thiazol-5-carboxamida	(Ej. 5),
(3)		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-2-(4-metilpiperazin-1-yl)thiazol-5-carboxamida	(Ej. 6),
(4)		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-5-(4-metilpiperazin-1-yl)-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida	(Ej. 7),
(5)		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-5-(4-metilpiperazin-1-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-carboxamida	(Ej. 8),
(6)		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-2-(4-metilpiperazin-1-yl)-1H-imidazol-5-carboxamida	(Ej. 9),

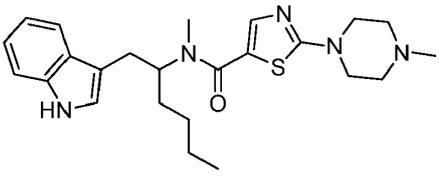
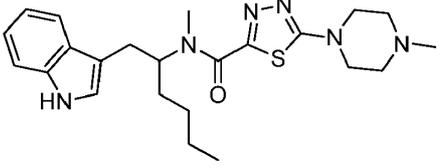
(7)		N-(1-(5-fluoro-1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(2-morfolinoetil)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 10),
(8)		N-(1-(1 H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-morfolinotiazol-5-carboxamida	(Ej. 11),
(9)		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(pirrolidin-1-il)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 12),
(10)		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(2-morfolinoetil)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 13),
(11)		N-(1-(5-fluoro-1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 14),
(12)		N-(1-(6-fluoro-1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 16),

			
(13)		N-(1-(5,6-difluoro-1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 17),
(14)		2-(4-metilpiperazin-1-il)-N-(6,6,6-trifluoro-1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 18),
(15)		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-5-morfolino-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida	(Ej. 19),
(16)		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-5-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etil)-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida	(Ej. 20),
(17)		N-(1-(5-fluoro-1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-5-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etil)-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida	(Ej. 21),

			
(18)		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(1-metilpiperidin-4-il)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 22),
(19)		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-5-(pirrolidin-1-il)-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida	(Ej. 23),
(20)		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-5-(1-metilpiperidin-4-il)-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida	(Ej. 25),
(21)		N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-2-(4-metil-1,4-diazepan-1-il)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 26).

12. Un compuesto según la reivindicación 1, seleccionado de entre los compuestos de las siguientes fórmulas, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

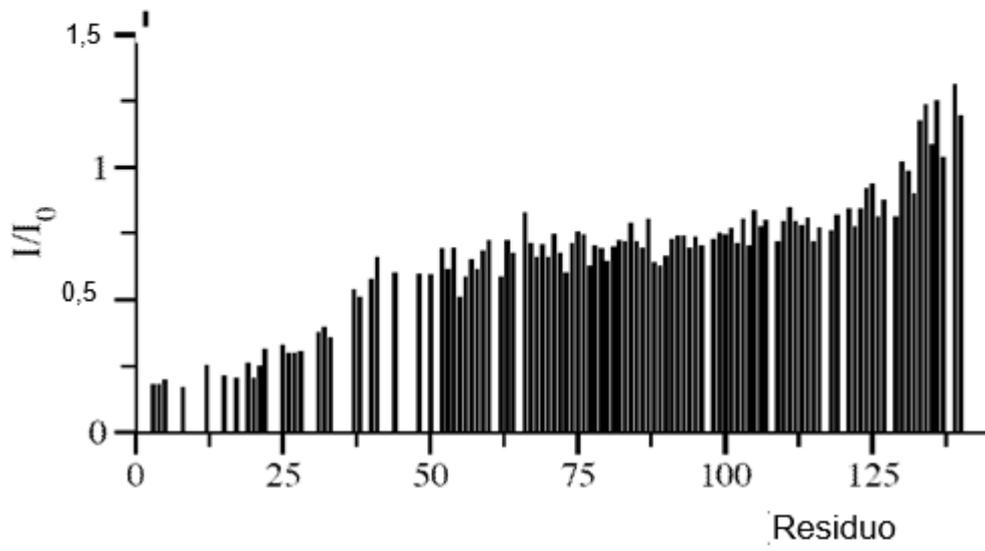
(1)	N-(1-(1H-indol-3-il)hexan-2-il)-N-metil-2-(4-metilpiperazin-1-il)tiazol-5-carboxamida	(Ej. 15),
-----	---	-----------

			
(2)		N-(1-(1H-indol-3-yl)hexan-2-yl)-N-metil-5-(4-metilpiperazin-1-il)-1,3,4-tiadiazol-2-carboxamida	(Ej. 24).

13. Una composición farmacéutica que comprende (a) al menos un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, y (b) un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 5 14. Una composición farmacéutica que comprende (a) al menos un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12; y (b) un excipiente farmacéuticamente aceptable donde R² está considerablemente en una configuración estereoquímica de «R» o de «S».
- 10 15. Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 o composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 13 o 14 para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección médica relacionada con la agregación de proteínas.
- 15 16. Compuesto, sal farmacéuticamente aceptable, o composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 15, donde la enfermedad o afección médica es la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la demencia frontotemporal, la demencia con cuerpos de Lewy (enfermedad de cuerpos de Lewy), la enfermedad de Parkinson con demencia, la atrofia multisistémica, la esclerosis lateral amiotrófica, la enfermedad de Huntington, cáncer, melanoma, o una enfermedad inflamatoria.
- 20 17. Método de interferir con la acumulación de agregados de proteínas o péptidos en una célula, o de prevenir, ralentizar, revertir, o inhibir la agregación de proteínas o péptidos en una célula, que comprende poner en contacto la célula con una cantidad eficaz de al menos un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 o una composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 13 o 14, donde el contacto es *in vitro* o *ex vivo*.

Figura 1

α -sinucleína & POPG



1A

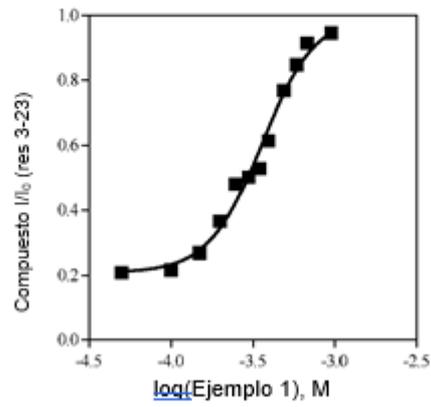


Figura 2

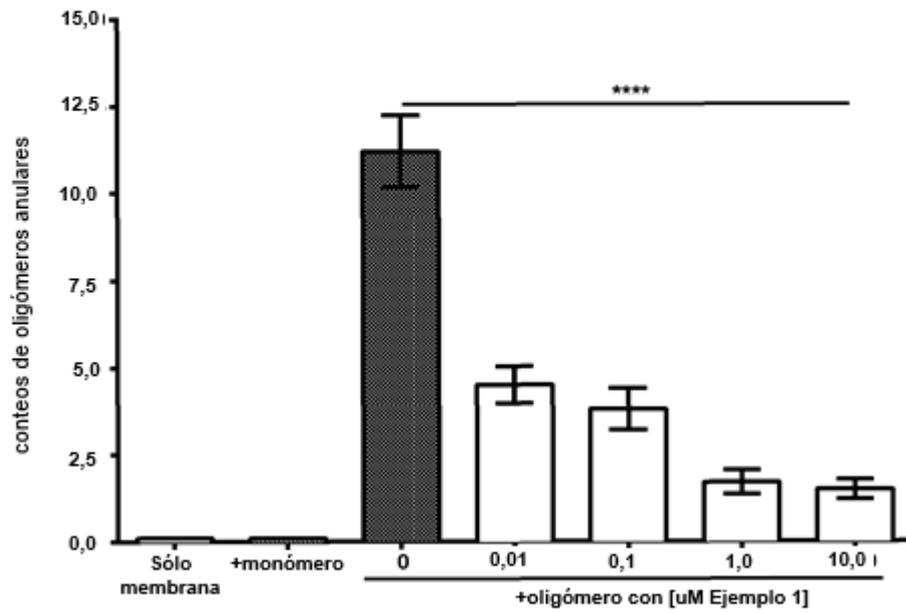


Figura 3

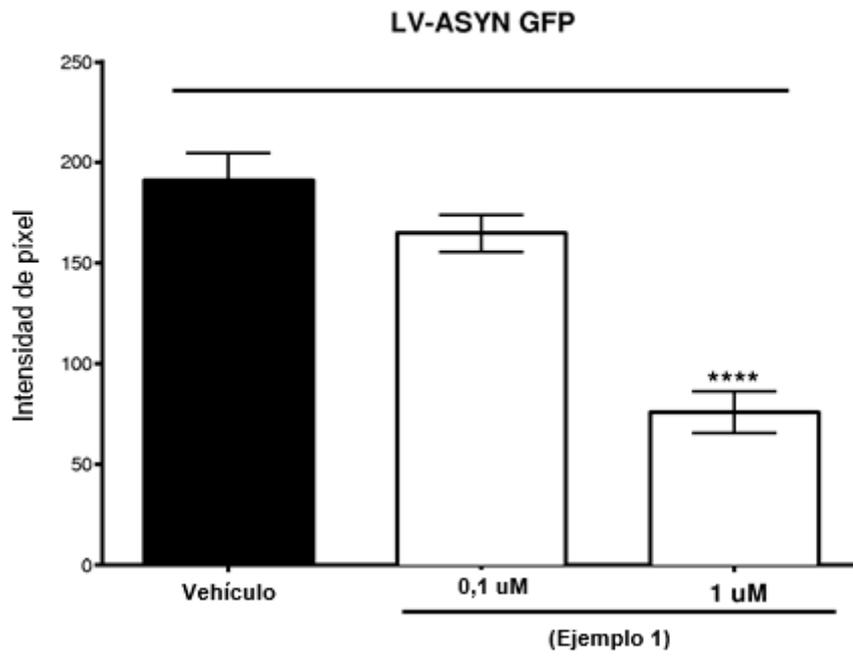


Figura 4

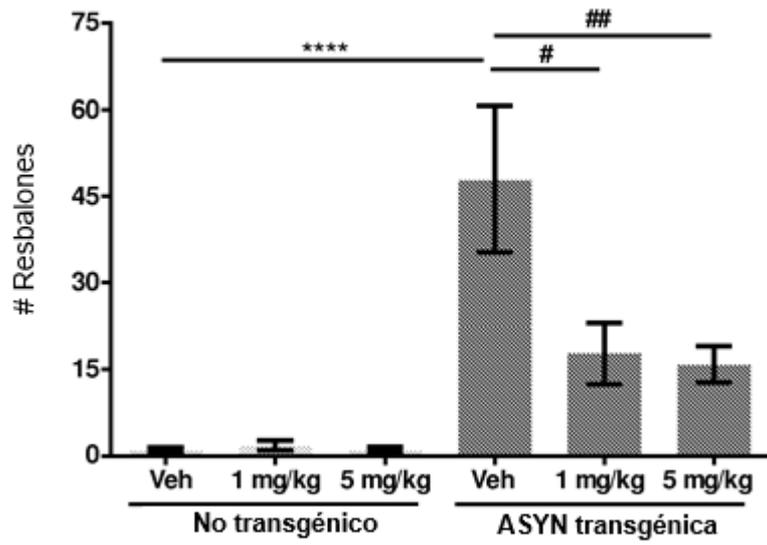


Figura 5

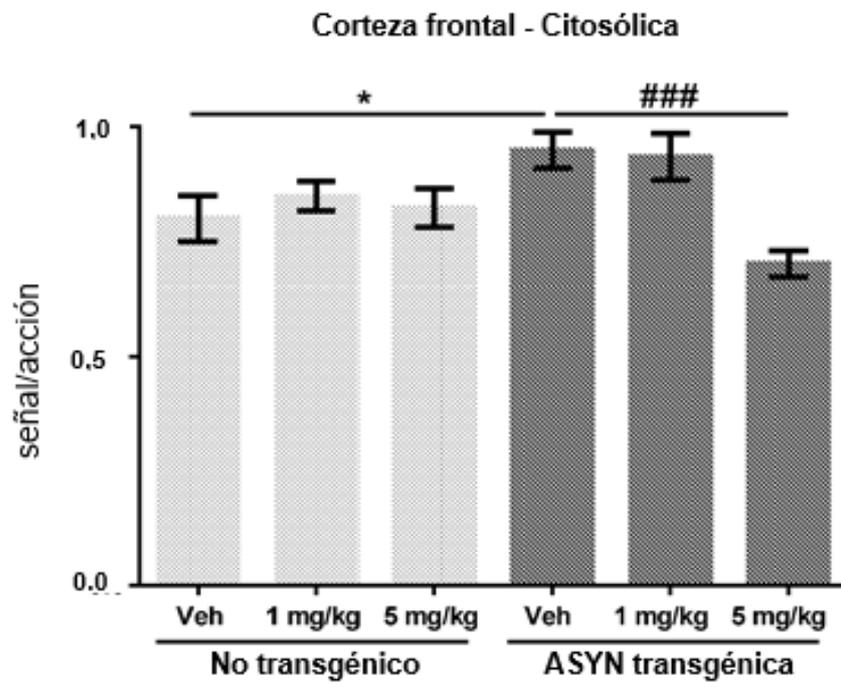


Figura 6

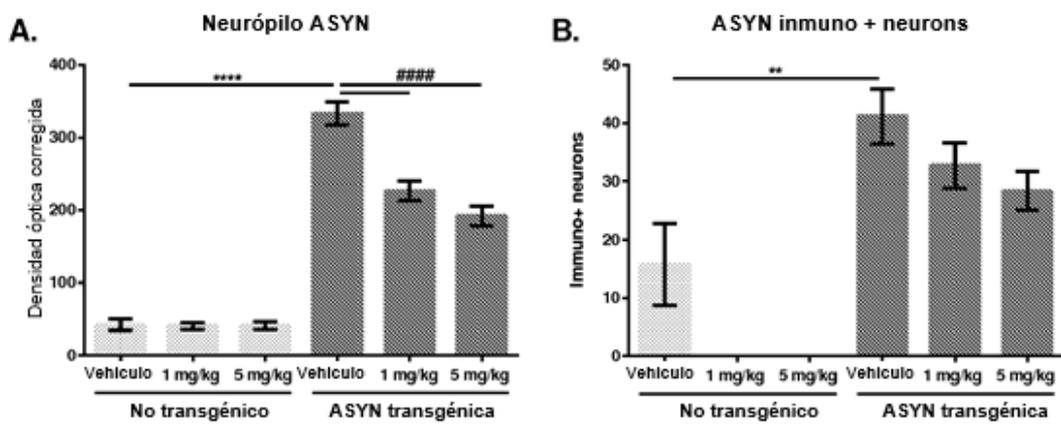


Figura 7

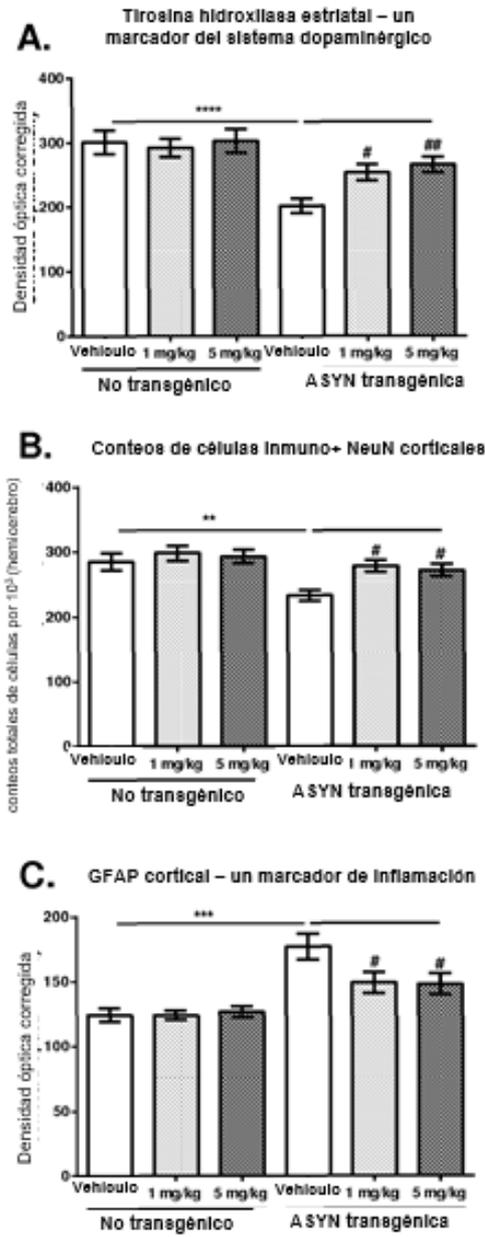


Figura 8

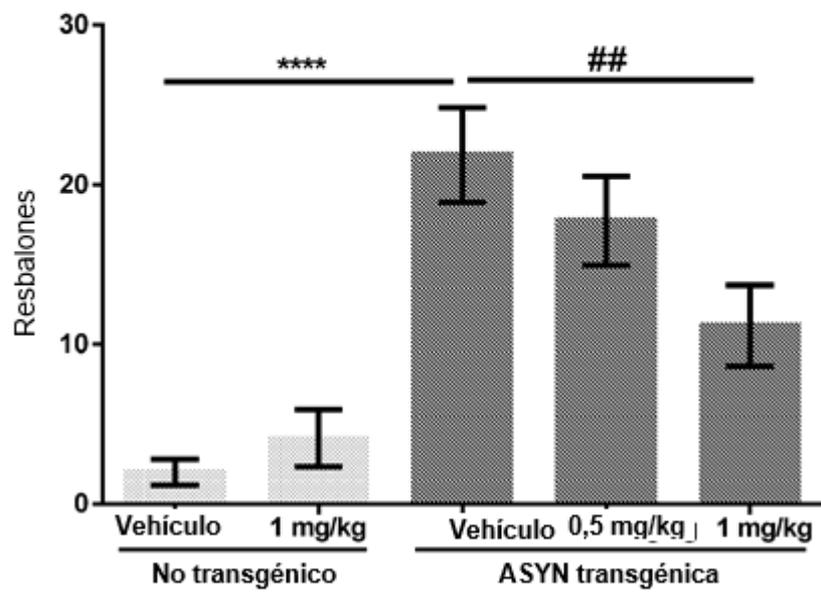


Figura 9

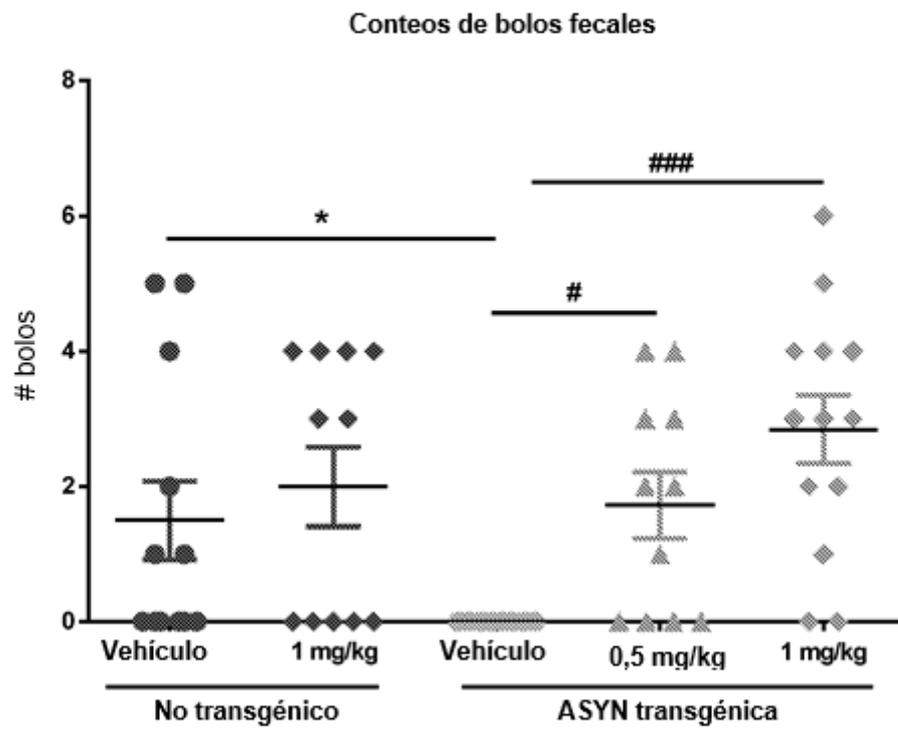


Figura 10

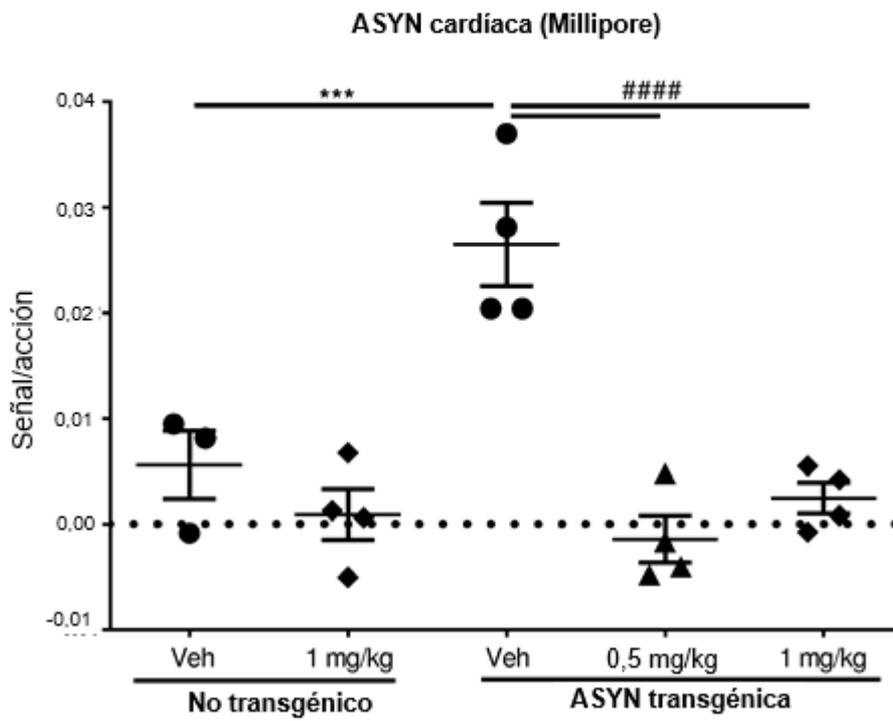


Figura 11

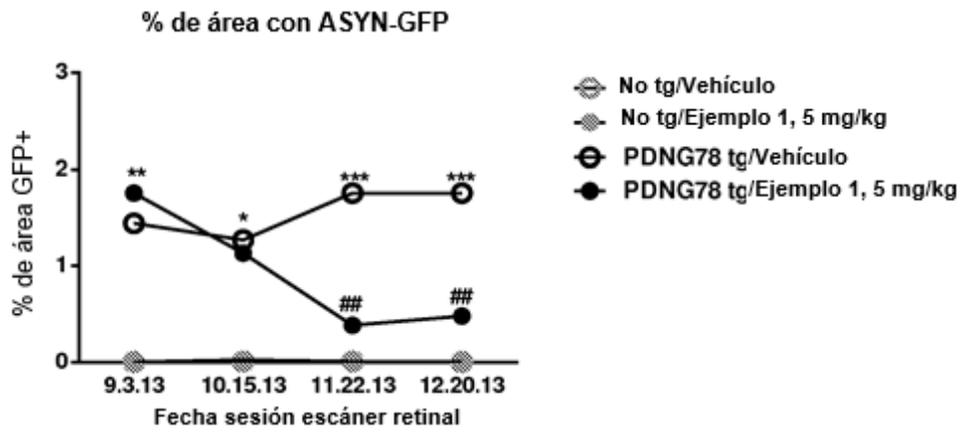


Figura 12

