

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 862 469**

51 Int. Cl.:

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 495/14 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.06.2016 PCT/US2016/035874**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.12.2016 WO16197032**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.06.2016 E 16804586 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.01.2021 EP 3302572**

54 Título: **Moduladores de proteólisis a base de imidas y métodos de uso asociados**

30 Prioridad:

04.06.2015 US 201562171090 P

06.07.2015 US 201514792414

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.10.2021

73 Titular/es:

ARVINAS OPERATIONS, INC. (100.0%)
5 Science Park
New Haven, CT 06511, US

72 Inventor/es:

CREWS, CRAIG, M.;
CREW, ANDREW, P.;
DONG, HANQING;
WANG, JING;
QIAN, YIMIN;
SIU, KAM y
JIN, MEIZHONG

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 862 469 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

Moduladores de proteólisis a base de imidas y métodos de uso asociados

5 Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud de EE.UU. N.º de serie 14/792.414, presentada el 6 de julio de 2015 y una Solicitud provisional de EE.UU. N.º de serie 62/171.090, presentada el 4 de junio de 2015, que reivindica el beneficio de la Solicitud No provisional de EE.UU. N.º de serie 14/686.640, presentada el 14 de abril de 2015, que reclama el beneficio de y la prioridad de, la Solicitud Provisional de EE.UU. N.º 61/979.351, presentada el 14 de abril de 2014, titulada "IMIDE-BASED MODULATORS OF PROTEOLYSIS AND ASSOCIATED METHODS OF USE", y también reivindica el beneficio de, y la prioridad de, la Solicitud Provisional de EE.UU. N.º 62/171.090, presentada el 4 de junio de 2015, titulada "IMIDE-BASED MODULATORS OF PROTEOLYSIS AND ASSOCIATED METHODS OF USE".

15 Campo de la invención

La descripción proporciona compuestos a base de imidas, incluyendo compuestos bifuncionales que comprenden los mismos y métodos de uso asociados. Los compuestos bifuncionales son útiles como moduladores de la ubiquitinación dirigida, especialmente con respecto a una diversidad de polipéptidos y otras proteínas, que se degradan y/o se inhiben de otro modo por compuestos bifuncionales de acuerdo con la presente invención.

Antecedentes

La mayoría de los fármacos de molécula pequeña se unen a enzimas o a receptores en bolsillos estrechos y bien definidos. Por otro lado, las interacciones proteína-proteína son notoriamente difíciles de marcar como diana usando moléculas pequeñas debido a sus grandes superficies de contacto y las ranuras poco profundas o interfaces planas implicadas. Las E3 ubiquitina ligasas (de las cuales se conocen cientos en humanos) confieren especificidad de sustrato para la ubiquitinación y, por lo tanto, son dianas terapéuticas más atractivas que los inhibidores generales del proteasoma debido a su especificidad por ciertos sustratos proteicos. El desarrollo de ligandos de E3 ligasas ha demostrado ser desafiante, en parte debido al hecho de que deben interrumpir las interacciones proteína-proteína. Sin embargo, desarrollos recientes han proporcionado ligandos específicos que se unen a estas ligasas. Por ejemplo, desde el descubrimiento de las nutlinas, los primeros inhibidores de la E3 ligasa de molécula pequeña, se han informado compuestos adicionales que se dirigen a las E3 ligasas, pero el campo sigue manteniéndose poco desarrollado.

Una E3 ligasa con potencial terapéutico es el supresor de tumores de von Hippel-Lindau (VHL). VHL comprende la subunidad de reconocimiento de sustrato/complejo E3 ligasa VCB, que incluye elonginas B y C, y un complejo que incluye Cullin-2 y Rbx1. El sustrato principal de VHL es el Factor inducible por hipoxia 1 α (HIF-1 α), un factor de transcripción que regula positivamente genes tales como el factor de crecimiento proangiogénico VEGF y el glóbulo rojo que induce la citocina eritropoyetina en respuesta a niveles bajos de oxígeno. Los presentes inventores generaron los primeros ligandos de molécula pequeña de Von Hippel Lindau (VHL) para la subunidad de reconocimiento de sustrato de la E3 ligasa, VCB, una diana importante en el cáncer, anemia e isquemia crónica, y estructuras cristalinas obtenidas que confirman que el compuesto imita el modo de unión del factor de transcripción HIF-1 α , el sustrato principal de VHL.

Cereblon es una proteína que en humanos está codificada por el gen CRBN. Los ortólogos de CRBN están altamente conservados desde plantas hasta humanos, lo que subraya su importancia fisiológica. Cereblon forma un complejo de E3 ubiquitina ligasa con la proteína de unión al ADN 1 (DDB1) dañada, Cullin-4A (CUL4A) y regulador de cullins 1 (ROC1). Este complejo ubiquitina diversas otras proteínas. A través de un mecanismo que no ha sido completamente esclarecido, La ubiquitinación del cerebro de las proteínas diana da como resultado niveles aumentados de factor de crecimiento de fibroblastos 8 (FGF8) y factor de crecimiento de fibroblastos 10 (FGF10). FGF8 a su vez regula una serie de procesos de desarrollo, tales como la formación de vesículas auditivas y de extremidades. El resultado neto es que este complejo de ubiquitina ligasa es importante para el crecimiento de las extremidades en los embriones. En ausencia de cereblon, DDB 1 forma un complejo con DDB2 que funciona como una proteína de unión al daño del ADN.

La talidomida, que se ha aprobado para el tratamiento de una serie de indicaciones inmunológicas, también se ha aprobado para el tratamiento de determinadas enfermedades neoplásicas, incluyendo mieloma múltiple. Además del mieloma múltiple, la talidomida y varios de sus análogos también se encuentran actualmente bajo investigación para su uso en el tratamiento de una diversidad de otros tipos de cáncer. Aunque el mecanismo preciso de la actividad antitumoral de la talidomida aún está emergiendo, se sabe que inhibe la angiogénesis. La bibliografía reciente que analiza la biología de las imidas incluye Lu et al Science 343, 305 (2014) y Krönke et al Science 343, 301 (2014).

De manera significativa, la talidomida y sus análogos, por ejemplo, pomolinamido y lenalinomida, se sabe que se unen al cereblon. Estos agentes se unen al cereblon, alterando la especificidad del complejo para inducir la

ubiquitinación y degradación de Ikaros (IKZF1) y Aiolos (IKZF3), factores de transcripción esenciales para el crecimiento del mieloma múltiple. De hecho, una mayor expresión de cereblon se ha relacionado con un aumento de la efectividad de los fármacos imida en el tratamiento del mieloma múltiple.

- 5 BRD4 ha captado una atención considerable tanto del mundo académico como de la industria farmacéutica debido a su gran potencial como una diana novedosa en entornos de múltiples enfermedades, particularmente en el cáncer. BRD4 pertenece a la familia del bromodominio y dominio extra-terminal (BET), que se caracteriza por dos bromodominios (dominio BD) en el extremo N y un dominio extraterminal (dominio ET) en el extremo C (J. Shi, *et al.* Molecular cell, 54 (2014) 728-736 y A.C. Belkina, *et al.*, Nat. Rev. Cancer, 12 (2012) 465-477). Los dos dominios BD
- 10 reconocen e interactúan con restos de lisina acetilada en la cola N-terminal de la proteína histona; el dominio ET aún no está completamente caracterizado y se considera en gran medida que cumple una función de andamiaje en el reclutamiento de diversos reguladores transcripcionales. Por lo tanto, BRD4 juega un papel clave en la regulación de la expresión génica al reclutar moduladores de transcripción relevantes para loci genómicos específicos. Varios estudios han establecido que BRD4 se localiza preferentemente en regiones superpotenciadoras, que a menudo
- 15 residen en dirección 5' de importantes oncogenes, tales como c-MYC, Bcl-xL y BCL-6, y juegan un papel clave en la regulación de sus expresiones (J. Loven, *et al.*, Cell, 153 (2013) 320-334 y B. Chapuy, *et al.*, Cancer Cell, 24 (2013) 777-790.). Debido a su papel fundamental en la modulación de la expresión de oncogenes esenciales, BRD4 surge como una diana terapéutica prometedora en múltiples tipos de cáncer, incluyendo carcinoma de la línea media, AML, MM, BL y cáncer de próstata (J. Loven, *et al.*, Cell, 153 (2013) 320-334; J. Zuber, *et al.*, Nature, 478 (2011) 524-528; J.E. Delmore, *et al.*, Cell, 146 (2011) 904-917; J.A. Mertz, *et al.*, PNAS, 108 (2011) 16669-16674; A. Wyce, *et al.*, Oncotarget, 4 (2013) 2419-2429; I.A. Asangani, *et al.*, Nature, 510 (2014) 278-282; y C.A. French, *et al.*, Oncogene, 27 (2008) 2237-2242). La alta ocupación distintiva de BRD4 de loci genómicos proximales a oncogenes específicos proporciona una ventana terapéutica potencial que permitirá la orientación específica de las células tumorales sin
- 25 afectar a los tejidos normales. Particularmente, BRD4 puede servir como una estrategia alternativa para dirigirse a c-MYC, que contribuye al desarrollo y mantenimiento de la mayoría de los cánceres humanos, pero ha permanecido resistente a fármacos (J.E. Delmore, *et al.*, Cell, 146 (2011) 904-917; J.A. Mertz, *et al.*, PNAS, 108 (2011) 16669-16674; M.G. Baratta, *et al.*, PNAS, 112 (2015) 232-237; y M. Gabay, *et al.*, Cold Spring Harb Perspect Med. (2014) 4:a014241).
- 30 El desarrollo de inhibidores de BRD4 de molécula pequeña, tales como JQ1, iBET y OTX15, ha demostrado un potencial terapéutico prometedor en modelos preclínicos de diversos cánceres, incluyendo BL (J. Loven, *et al.*, Cell, 153 (2013) 320-334; B. Chapuy, *et al.*, Cancer Cell, 24 (2013) 777-790; J.E. Delmore, *et al.*, Cell, 146 (2011) 904-917; J.A. Mertz, *et al.*, PNAS, 108 (2011) 16669-16674; I.A. Asangani, *et al.*, Nature, 510 (2014) 278-282; M.G. Baratta, *et al.*, PNAS, 112 (2015) 232-237; M. Boi, *et al.*, Clin. Cancer Res., (2015) 21(7):1628-38; y A. Puissant, *et al.*, Cancer
- 35 discovery, 3 (2013) 308-323). De hecho, los inhibidores de BRD4 han mostrado diversas actividades antitumorales con buena tolerabilidad en diferentes modelos de tumores de ratón y, de manera no sorprendente, alta sensibilidad a los inhibidores de BRD4 tales como JQ1, se ha asociado con un alto nivel de c-MYC y N-MYC en diferentes tipos de tumores, incluyendo BL impulsado por c-MYC. Casi todos los casos de BL contienen translocación del gen c-myc que lo coloca bajo el control de un superpotenciador ubicado aguas arriba de IgH, impulsando de esta manera un nivel
- 40 anormalmente alto de expresión de c-MYC, desarrollo y mantenimiento de tumores (K. Klapproth, *et al.*, British journal of haematology, 149 (2010) 484-497).

- En la actualidad, cuatro inhibidores de bromodominio BET se encuentran en un ensayo clínico de fase I que se centra principalmente en el carcinoma de línea media y las neoplasias malignas hematológicas (CPI-0610, NCT01949883; GSK525762, NCT01587703; OTX015, NCT01713582; TEN-010, NCT01987362). Los estudios preclínicos con
- 45 inhibidores de BRD4 demuestran su valor en la supresión de c-MYC y la proliferación en líneas celulares BL, aunque con valores de CI_{50} a menudo en el intervalo de 100 nM a 1 μ M (J.A. Mertz, *et al.*, PNAS, 108 (2011) 16669-16674 y M. Ceribelli, *et al.*, PNAS, 111 (2014) 11365-11370). Por lo tanto, a pesar del rápido progreso de los inhibidores de BRD4, el efecto de la inhibición de BRD4 ha sido alentador, pero menos que ideal, ya que el efecto es en su mayoría
- 50 citostático y requiere una concentración relativamente alta de inhibidores.

- Existe una necesidad constante en la técnica de tratamientos eficaces para enfermedades, especialmente hiperplasias y cánceres, tales como mieloma múltiple. Sin embargo, los efectos no específicos y la incapacidad de dirigirse a y modular determinadas clases de proteínas por completo, tales como factores de transcripción, siguen siendo
- 55 obstáculos para el desarrollo de agentes anticáncer eficaces. Como tales, los agentes terapéuticos de molécula pequeña que aprovechan o potencian la especificidad del sustrato de cereblon y, al mismo tiempo, son "sintonizables" de manera que una amplia gama de clases de proteínas pueden ser dirigidas y moduladas con especificidad, serían muy útiles como un terapéutico.

60 Breve resumen de la invención

- La presente divulgación describe compuestos bifuncionales que funcionan para reclutar proteínas endógenas a una E3 ubiquitina ligasa para su degradación, y métodos para usar los mismos. En particular, la presente divulgación proporciona compuestos quiméricos bifuncionales o dirigidos a proteólisis (PROTAC), que encuentran utilidad como
- 65 moduladores de la ubiquitinación dirigida de una diversidad de polipéptidos y otras proteínas, que después se degradan y/o se inhiben de otro modo por los compuestos bifuncionales como se describe en el presente documento.

Una ventaja de los compuestos proporcionados en el presente documento es que es posible una amplia gama de actividades farmacológicas, consistente con la degradación/inhibición de polipéptidos marcados como diana de prácticamente cualquier clase o familia de proteínas. Además, la descripción proporciona métodos de uso de una cantidad eficaz de los compuestos descritos en el presente documento para el tratamiento o la mejora de una enfermedad o afección, tales como cáncer, por ejemplo, mieloma múltiple.

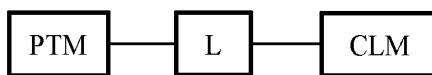
Como tales, en un aspecto la divulgación proporciona nuevos compuestos a base de imidas como se describe en el presente documento.

En un aspecto adicional, la divulgación proporciona compuestos bifuncionales o PROTAC, que comprenden un resto de unión de E3 ubiquitina ligasa (es decir, un ligando para un grupo de E3 ubiquitina ligasa o "ULM") y un resto que se une a una proteína diana (es decir, un ligando dirigido a proteína/polipéptido o grupo "PTM") de tal manera que la proteína/polipéptido diana se coloca cerca de la ubiquitina ligasa para efectuar la degradación (e inhibición) de esa proteína. En una realización preferida, el ULM es un resto de unión de cereblon E3 ubiquitina ligasa (es decir, un "CLM"). Por ejemplo, la estructura del compuesto bifuncional puede representarse como:



Las posiciones respectivas de los restos PTM y CLM, así como su número, como se ilustra en el presente documento, se proporcionan solo a modo de ejemplo y no se pretende que limiten los compuestos de ninguna manera. Como entenderá el experto en la materia, los compuestos bifuncionales como se describen en el presente documento pueden sintetizarse de manera que el número y la posición de los restos funcionales respectivos puedan variarse según se desee.

El compuesto bifuncional puede comprender además un enlazador químico ("L"). En este ejemplo, la estructura del compuesto bifuncional puede representarse como:



donde PTM es un resto de direccionamiento de proteína/polipéptido, L es un enlazador y CLM es un resto de unión a cereblon E3 ubiquitina ligasa.

En determinadas realizaciones preferidas, la E3 ubiquitina ligasa es cereblon. Como tales, en determinadas realizaciones adicionales, el CLM del compuesto bifuncional comprende químicas tales como imida, amida, tioamida, restos derivados de tioimida. En realizaciones adicionales, el CLM comprende un grupo ftalimido o un análogo o derivado del mismo. En realizaciones todavía adicionales, el CLM comprende un grupo ftalimido-glutarimida o un análogo o derivado del mismo. En todavía otras realizaciones, el CLM comprende un miembro del grupo formado por talidomida, lenalidomida, pomalidomida y análogos o derivados de los mismos.

En determinadas realizaciones, los compuestos como se describen en el presente documento comprenden múltiples CLM, múltiples PTM, múltiples enlazadores químicos o una combinación de los mismos.

En un aspecto adicional, la descripción proporciona composiciones terapéuticas que comprenden una cantidad eficaz de un compuesto como se describe en el presente documento o una forma de sal del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones terapéuticas modulan la degradación de proteínas en un paciente o sujeto, por ejemplo, un animal tales como un ser humano, y puede usarse para tratar o mejorar estados de enfermedad o afecciones que se modulan a través de la proteína degradada. En determinadas realizaciones, las composiciones terapéuticas como se describen en el presente documento pueden usarse para efectuar la degradación de proteínas de interés para el tratamiento o la mejora de una enfermedad, por ejemplo, cáncer. En aún otro aspecto, la presente invención proporciona método *in vitro* de ubiquitinación/degradación de una proteína diana en una célula. En determinadas realizaciones, el método puede comprender administrar un compuesto bifuncional como se describe en el presente documento que comprende un CLM y un PTM, preferentemente enlazado a través de un resto enlazador, como se describe de otro modo en el presente documento, en donde el CLM está acoplado al PTM y en donde el CLM reconoce una proteína de la ruta de ubiquitina (por ejemplo, una ubiquitina ligasa, preferentemente una E3 ubiquitina ligasa tal como, por ejemplo, cereblon) y el PTM reconoce la proteína diana de tal manera que se producirá la degradación de la proteína diana cuando la proteína diana se coloque cerca de la ubiquitina ligasa, dando como resultado de esta manera la degradación/inhibición de los efectos de la proteína diana y el control de los niveles de proteína. El control de los niveles de proteínas proporcionado por la presente divulgación proporciona el tratamiento de un estado de enfermedad o afección, que se modula a través de la proteína diana al reducir el nivel de esa proteína en las células de un paciente.

En un aspecto adicional, la descripción proporciona un método para evaluar (es decir, determinar y/o medir) una afinidad de unión de un CLM. En determinadas realizaciones, el método comprende proporcionar un agente de prueba

o compuesto de interés, por ejemplo, un agente o compuesto que tiene un resto imida, por ejemplo, un grupo ftalidimido, grupo ftalimido-glutarimida, talidomida derivatizada, lenalidomida derivatizada o pomalidomida derivatizada y comparar la afinidad de unión al cereblon y/o la actividad inhibidora del agente o compuesto de prueba en comparación con un agente o compuesto que se sabe que se une y/o inhibe la actividad del cereblon.

En todavía otro aspecto, la descripción proporciona métodos para tratar o mejorar una enfermedad, trastorno o síntoma de los mismos en un sujeto o un paciente, por ejemplo, un animal tales como un ser humano, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una composición que comprende una cantidad eficaz, por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz, de un compuesto como se describe en el presente documento o una forma de sal del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde la composición es eficaz para tratar o mejorar la enfermedad o trastorno o síntoma de los mismos en el sujeto.

En otro aspecto, la descripción proporciona métodos para identificar los efectos de la degradación de proteínas de interés en un sistema biológico usando compuestos de acuerdo con la presente invención.

Las áreas generales de utilidad anteriores se dan a modo de ejemplo solamente y no pretenden limitar el alcance de la presente divulgación y las reivindicaciones adjuntas. Los objetivos y las ventajas adicionales asociados a las composiciones, los métodos y procesos de la presente divulgación serán apreciados por un experto en la materia a la luz de las presentes reivindicaciones, descripción y **Ejemplos**.

Breve descripción de los dibujos

Los dibujos adjuntos, que se incorporan en y forman una parte de la memoria descriptiva, ilustran varias realizaciones de la presente invención y, junto con la descripción, sirven para explicar los principios de la invención. Los dibujos son solo para el fin de ilustrar una realización de la invención y no deben interpretarse como limitantes de la invención. La siguiente descripción detallada, tomada junto con las figuras adjuntas, muestra realizaciones ilustrativas de la invención, en las cuales:

Figura 1A y 1B. Ilustración del principio general para la función PROTAC. **(A)** Los PROTAC ilustrativos comprenden un resto de direccionamiento de proteínas (PTM; *rectángulo sombreado oscuro*), un resto de unión a ubiquitina ligasa (ULM; *triángulo sombreado claro*), y opcionalmente un resto enlazador (L; *línea negra*) que acopla o ancla el PTM al ULM. **(B)** Ilustra el uso funcional de los PROTAC como se describen en el presente documento. En resumen, el ULM reconoce y se une a una E3 ubiquitina ligasa específica y el PTM se une y recluta una proteína diana poniéndola en estrecha proximidad a la E3 ubiquitina ligasa. Normalmente, la E3 ubiquitina ligasa forma un complejo con una proteína conjugadora de E2 ubiquitina, y ya sea sola o a través de la proteína E2 cataliza la unión de ubiquitina (*círculos oscuros*) a una lisina en la proteína diana a través de un enlace isopeptídico. La proteína poliubiquitinada (*más a la derecha*) después se marca como diana para la degradación por la maquinaria proteosómica de la célula.

Figura 2. Compuesto quimérico, A825, diseñado utilizando tecnología PROTAC. A825 contiene un resto de unión BRD4 (un derivado de OTX-15) que está conectado a un resto de reclutamiento Cereblon E3 ubiquitina ligasa (un derivado de pomalidomida) a través de un enlazador de tetraoxatetradecano.

Figura 3A, 3B, 3C, 3D, 3E, 3F, 3G, 3H y 3I. Imágenes de transferencia Western que muestran los efectos celulares de inhibidores de BRD4 de molécula pequeña (JQ1 y OTX-15) en líneas celulares BL. JQ1 y OTX-15 conducen a BRD4 en NAMALWA **(A)** y células Ramos **(B)** de una manera dependiente de la dosis. OTX-15 conduce a la acumulación de BRD4 en las células CA-46 **(C)** y células DAUDI **(D)** de una manera dependiente de la dosis. JQ1 y OTX-15 conducen a una supresión significativa, pero incompleta, de c-Myc en células NAMALWA **(E)** y células Ramos **(F)**. **(G)** El efecto de supresión de c-Myc por JQ1 es reversible. El efecto de supresión de c-Myc por JQ1 y OTX-15 en células NAMALWA **(H)** y células Ramos **(I)** es reversible.

Figura 4A, 4B, 4C, 4D, 4E, 4F y 4G. Imágenes de transferencia Western que muestran los efectos celulares de A825 en líneas celulares BL. La degradación de BRD4 por A825 se produce de una manera dependiente de la dosis, en forma de campana en células NAMALWA **(A)** y en células CA-46 **(B)**. **(C)** y **(D)** La degradación de BRD4 por A825 se produce rápidamente. **(E)** y **(F)** La degradación de BRD4 inducida por el tratamiento con A825 depende de Cereblon. **(G)** La degradación de BRD4 por A825 está mediada por el proteasoma.

Figura 5A, 5B, 5C, 5D, 5E y 5F. Comparación de los efectos celulares por tratamiento con A825, JQ1 y OTX-15. **(A)** y **(B)** La supresión de c-Myc por A825 es más significativa que JQ1 y OTX-15. **(C)** Los niveles de proteína c-Myc se suprimen durante más tiempo después del tratamiento con A825 en comparación con JQ1 y OTX-15. **(D)**, **(E)** y **(F)** La función de la proteína c-Myc (evaluada por la expresión del gen SLC19A1) se suprime durante más tiempo después del tratamiento con A825 en comparación con JQ1 y OTX-15.

Figura 6A, 6B, 6C, 6D, 6E, 6F, 6G y 6H. Comparación del efecto antiproliferación en líneas celulares BL con A825, JQ1 y OTX-15. **(A)** - **(D)** A825 tiene un efecto antiproliferación superior en las líneas BL en comparación con JQ1 y OTX-15. **(MI)** A825 conduce a una supresión de la proliferación más duradera en comparación con JQ1 y OTX-15. **(GRAMO)** La pomalidomida rescata a las células de los efectos antiproliferación del tratamiento con dosis bajas de A825. **(GRAMO)** La pomalidomida rescata parcialmente a las células de los efectos antiproliferación del tratamiento con dosis altas de A825. **(H)** La pomalidomida sola no tiene un efecto significativo sobre la proliferación de células BL.

Figura 7A y 7B. Comparación del efecto de apoptosis en células BL con tratamiento con A825, JQ1 y OTX-15. **(A)**

A825 conduce a una inducción de apoptosis más significativa en las células BL (monitorizada por la actividad caspasa) en comparación con JQ1 y OTX-15. **(A)** A825 conduce a una inducción de apoptosis más significativa en las células BL (monitorizada por la escisión de PARP) en comparación con JQ1 y OTX-15.

Figura 8A y 8B. Esquema que muestra el mecanismo de acción del modelo para la degradación de BRD4 mediante el tratamiento con A825. **(A)** Las células tratadas con concentraciones bajas de A825 se unen eficazmente a BRD4 y Cereblon formando un complejo trímero "BRD4-A825-Cereblon", que impulsa la degradación eficiente de BRD4 en la célula. **(B)** Las células tratadas con altas concentraciones de A825 forman dímeros "BRD4-A825" y "A825-Cereblon" y que dificultan la formación óptima de trímeros y la degradación de BRD4.

Descripción detallada

La siguiente es una descripción detallada proporcionada para ayudar a los expertos en la materia a poner en práctica la presente invención.

Se describen en el presente documento composiciones y métodos que se refieren al descubrimiento sorprendente e inesperado de que una proteína E3 ubiquitina ligasa, por ejemplo, cereblon, ubiquitina una proteína diana una vez que ésta y la proteína diana se colocan en proximidad mediante una construcción bifuncional o quimérica que se une a la proteína E3 ubiquitina ligasa y la proteína diana. En consecuencia la presente divulgación proporciona tales compuestos y composiciones que comprenden un resto de unión a E3 ubiquitina ligasa ("ULM") acoplado a un resto de unión a proteína diana ("PTM"), que dan como resultado la ubiquitinación de una proteína diana elegida, que conduce a la degradación de la proteína diana por parte del proteasoma (véase la **Figura 1**). La presente divulgación también proporciona una biblioteca de composiciones y el uso de las mismas.

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

Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor que interviene, a la décima parte de la unidad del límite inferior a menos que el contexto indique claramente lo contrario (tal como en el caso de un grupo que contiene un número de átomos de carbono, en cuyo caso se proporciona cada número de átomo de carbono que cae dentro del rango), entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor afirmado o que interviene en este intervalo está abarcado dentro de la invención. Que los límites superiores e inferiores de estos intervalos más pequeños pueden estar incluidos independientemente en los intervalos más pequeños también está abarcado dentro de la invención, sujetos a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo indicado. Cuando el intervalo indicado incluye uno o ambos de los límites, en la invención también se incluyen los intervalos que excluyen cualquiera de estos límites.

Los siguientes términos se usan para describir la presente invención. En los casos en que un término no se define específicamente en el presente documento, a ese término se le da un significado reconocido en la técnica por aquellos expertos en la materia aplicando ese término en el contexto para su uso en la descripción de la presente invención.

Los artículos "un" y "una" como se usan en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas se usan en el presente documento para referirse a uno o más de uno (es decir, al menos uno) del objeto gramatical del artículo a menos que el contexto indique claramente lo contrario. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento.

La expresión "y/o", como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, debe entenderse que significa "uno o ambos" de los elementos unidos de este modo, es decir, elementos que están presentes conjuntamente en algunos casos y presentes por separado en otros casos. Múltiples elementos enumerados con "y/o" deberían interpretarse de la misma manera, es decir, "uno o más" de los elementos unidos de este modo. Pueden estar presentes opcionalmente otros elementos distintos de los elementos identificados específicamente por la cláusula "y/o", bien relacionados o no relacionados con los elementos identificados específicamente. Por lo tanto, como ejemplo no limitante, una referencia a "A y/o B", cuando se usa junto con lenguaje abierto tal como "que comprende" puede hacer referencia, en una realización, solamente a A (opcionalmente incluyendo elementos distintos de B); en otra realización, solamente a B (opcionalmente incluyendo elementos distintos de A); en aún otra realización, tanto a A como a B (opcionalmente incluyendo otros elementos); etc.

Como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, "o" debería entenderse que tiene el mismo significado que "y/o" como se define anteriormente. Por ejemplo, cuando se separan artículos en una lista, "o" o "y/o" se interpretarán siendo inclusivos, es decir, la inclusión de al menos uno, pero también incluyendo más de uno, de varios o una lista de elementos y, opcionalmente, artículos no enumerados adicionales. Solamente términos que indiquen claramente lo contrario, tales como "solamente uno de" o "exactamente uno de", o, cuando se usa en las reivindicaciones, "que consiste en", se referirán a la inclusión de exactamente un elemento de varios o una lista de elementos. En general, el término "o" como se usa en el presente documento solamente se interpretará como indicativo de alternativas exclusivas (es decir, "uno o el otro pero no ambos") cuando está precedido de expresiones de exclusividad, tales como "bien", "uno de", "solamente uno de", o "exactamente uno de".

En las reivindicaciones, así como en la memoria descriptiva anterior, todas las expresiones de transición como "que comprende/n", "que incluye/n", "que lleva/n", "que tiene/n", "que contiene/n", "que implica/n", "que mantiene/n" "compuesto/s por", y similares deben entenderse como abiertos, es decir, que significan incluyendo pero no limitado a. Solamente las expresiones "que consiste en" y "que consiste esencialmente en" serán expresiones transicionales cerradas o semicerradas, respectivamente, como se expone en el United States Patent Office Manual of Patent Examining Procedures, Sección 2111.03.

Como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, la expresión "al menos uno", en referencia a una lista de uno o más elementos, debe entenderse que significa al menos un elemento seleccionado de cualquiera o más de los elementos en la lista de elementos, pero no necesariamente incluyendo al menos uno de todos y cada uno de los elementos enumerados específicamente en la lista de elementos y no excluyendo cualquier combinación de elementos en la lista de elementos. Esta definición también permite que puedan estar presentes opcionalmente elementos distintos de los elementos identificados específicamente en la lista de elementos a la que se refiere la expresión "al menos uno", bien relacionados o no relacionados con los elementos identificados específicamente. Por lo tanto, como un ejemplo no limitante, "al menos uno de A y B" (o, de forma equivalente, "al menos uno de A o B", o, de forma equivalente "al menos uno de A y/o B") pueden referirse, en una realización, a al menos uno, opcionalmente incluyendo más de uno, A, sin B presente (y opcionalmente incluyendo elementos distintos B); en otra realización, a al menos uno, opcionalmente incluyendo más de uno, B, sin A presente (y opcionalmente incluyendo elementos distintos A); en aún otra realización, a al menos uno, opcionalmente incluyendo más de uno, A y al menos uno, opcionalmente incluyendo más de uno, B (y opcionalmente incluyendo otros elementos); etc.

También debería entenderse que, en determinados métodos descritos en el presente documento que incluyen más de una etapa o acto, el orden de las etapas o actos del método no se limita necesariamente al orden en el que se recitan las etapas o actos del método a menos que el contexto indique lo contrario.

Los términos y expresiones "coadministración" y "coadministración" o "terapia de combinación" se refieren tanto a la administración concurrente (administración de dos o más agentes terapéuticos al mismo tiempo) como a la administración variada en el tiempo (administración de uno o más agentes terapéuticos en un tiempo diferente al de la administración de un agente o agentes terapéuticos adicionales), siempre que los agentes terapéuticos estén presentes en el paciente hasta cierto punto, preferentemente en cantidades eficaces, al mismo tiempo. En determinados aspectos preferidos, uno o más de los presentes compuestos descritos en el presente documento, se coadministran en combinación con al menos un agente bioactivo adicional, especialmente incluyendo un agente contra el cáncer. En aspectos particularmente preferidos, la coadministración de compuestos da como resultado una actividad y/o terapia sinérgicas, incluyendo actividad anticáncer.

El término "compuesto", como se usa en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, se refiere a cualquier compuesto químico específico desvelado en el presente documento, e incluye tautómeros, regioisómeros, isómeros geométricos y, cuando sea aplicable, estereoisómeros, incluyendo isómeros ópticos (enantiómeros) y otros estereoisómeros (diastereómeros) de los mismos, así como sales y derivados farmacéuticamente aceptables (incluyendo las formas de profármacos) de los mismos cuando sea aplicable, en contexto. Dentro de su uso en el contexto, el término compuesto se refiere generalmente a un solo compuesto, pero también puede incluir otros compuestos tales como estereoisómeros, regioisómeros y/o isómeros ópticos (incluyendo mezclas racémicas), así como enantiómeros específicos o mezclas enantioméricamente enriquecidas de compuestos desvelados. El término también se refiere, en el contexto, a formas de profármacos de compuestos que han sido modificadas para facilitar la administración y el suministro de compuestos en un sitio de actividad. Se observa que al describir los presentes compuestos, se describen numerosos sustituyentes y variables asociadas a los mismos. Los expertos en la materia entenderán que las moléculas que se describen en el presente documento son compuestos estables como se describe generalmente a continuación. Cuando se muestra el enlace, tanto un doble enlace como un enlace sencillo se representan dentro del contexto del compuesto mostrado.

El término "ubiquitina ligasa" se refiere a una familia de proteínas que facilitan la transferencia de ubiquitina a una proteína sustrato específica, dirigiendo la proteína del sustrato para la degradación. Por ejemplo, cereblon es una proteína E3 ubiquitina ligasa que sola o en combinación con una enzima conjugadora de E2 ubiquitina provoca la unión de ubiquitina a una lisina en una proteína diana y, posteriormente, se dirige a los sustratos proteicos específicos para su degradación por parte del proteasoma. Por lo tanto, la E3 ubiquitina ligasa sola o en complejo con una enzima conjugadora de ubiquitina E2 es responsable de la transferencia de ubiquitina a proteínas marcadas como diana. En general, la ubiquitina ligasa está implicada en la poliubiquitinación de manera que una segunda ubiquitina se fija a la primera; una tercera está unida a la segunda y así sucesivamente. La poliubiquitinación marca las proteínas para su degradación por parte del proteasoma. Sin embargo, hay algunos eventos de ubiquitinación que se limitan a mono-ubiquitinación, en los cuales solo se añade una única ubiquitina por la ubiquitina ligasa a una molécula de sustrato. Las proteínas mono-ubiquitinadas no se dirigen al proteasoma para su degradación, pero en su lugar pueden ser alterados en su ubicación o función celular, por ejemplo, a través de la unión de otras proteínas que tienen dominios capaces de unirse a ubiquitina. Complicando aún más las cosas, diferentes lisinas en ubiquitina pueden marcarse como diana por un E3 para formar cadenas. La lisina más común es Lys48 en la cadena de ubiquitina. Esta es la lisina

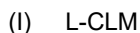
que se usa para fabricar poliubiquitina, que se reconoce por el proteasoma.

El término "paciente" o "sujeto" se usa a lo largo de la memoria descriptiva dentro del contexto para describir un animal, preferentemente un ser humano o un animal domesticado, a quien se proporciona tratamiento, incluyendo tratamiento profiláctico, con las composiciones de acuerdo con la presente invención. Para el tratamiento de aquellas infecciones, afecciones o estados patológicos que son específicos de un animal específico tal como un paciente humano, el término paciente se refiere a ese animal específico, incluyendo un animal domesticado tales como un perro o un gato o un animal de granja tales como un caballo, vaca, oveja, etc. En general, en la presente invención, el término paciente se refiere a un paciente humano a menos que se indique o se implique de otra manera en el contexto del uso del término.

El término "eficaz" se usa para describir una cantidad de un compuesto, composición o componente que, cuando se usa en el contexto de su uso previsto, efectúa un resultado previsto. El término eficaz subsume todos los demás términos de cantidad eficaz o concentración eficaz, que se describen o usan de otro modo en la presente solicitud.

Compuestos y composiciones

En un aspecto, la descripción proporciona compuestos que comprenden un resto de unión a E3 ubiquitina ligasa ("ULM") que es un resto de unión de cereblon E3 ubiquitina ligasa ("CLM"). En una realización, el CLM está acoplado a un enlazador químico (L) de acuerdo con la estructura:



en donde L es un grupo enlazador químico y CLM es un resto de unión a cereblon E3 ubiquitina ligasa. El número y/o las posiciones relativas de los restos en los compuestos ilustrados en el presente documento se proporcionan únicamente a modo de ejemplo. Como entenderá el experto en la materia, los compuestos como se describen en el presente documento pueden sintetizarse con cualquier número deseado y/o posición relativa de los restos funcionales respectivos.

Los términos ULM y CLM se usan en su sentido inclusivo a menos que el contexto indique lo contrario. Por ejemplo, el término ULM incluye todos los ULM, incluyendo aquellos que se unen al cereblon (es decir, CLM). Además, el término CLM incluye todos los restos de unión de cereblon E3 ubiquitina ligasa posibles.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona compuestos PROTAC bifuncionales o multifuncionales útiles para regular la actividad de la proteína induciendo la degradación de una proteína diana. En determinadas realizaciones, el compuesto comprende un CLM acoplado, por ejemplo, enlazado covalentemente, directa o indirectamente, a una fracción que se une a una proteína diana (es decir, una fracción de dirección de la proteína o "PTM"). En determinadas realizaciones, el CLM y el PTM se unen o acoplan mediante un enlazador químico (L). El CLM reconoce la cereblon E3 ubiquitina ligasa y el PTM reconoce una proteína diana y la interacción de los restos respectivos con sus dianas facilita la degradación de la proteína diana colocando la proteína diana en las proximidades de la proteína ubiquitina ligasa. Un compuesto bifuncional ilustrativo puede representarse como:



En determinadas realizaciones, el compuesto bifuncional comprende además un enlazador químico ("L"). Por ejemplo, el compuesto bifuncional puede representarse como:



en donde PTM es un resto de direccionamiento de proteína/polipéptido, L es un enlazador y CLM es un resto de unión a cereblon E3 ligasa.

En determinadas realizaciones, los compuestos como se describen en el presente documento comprenden múltiples PTM (dirigidos a la misma o a diferentes proteínas diana), múltiples CLM, uno o más ULM (es decir, restos que se unen específicamente a otra E3 ubiquitina ligasa, por ejemplo, VHL) o una combinación de los mismos. En cualquiera de los aspectos de las realizaciones descritas en el presente documento, los PTM, CLM y ULM pueden acoplarse directamente o mediante uno o más enlazadores químicos o una combinación de los mismos. En realizaciones adicionales, cuando un compuesto tiene múltiples ULM, los ULM pueden ser para la misma E3 ubiquitina ligasa o cada ULM respectivo puede unirse específicamente a una E3 ubiquitina ligasa diferente. En realizaciones aún adicionales, cuando un compuesto tiene múltiples PTM, los PTM pueden unirse a la misma proteína diana o cada PTM respectivo puede unirse específicamente a una proteína diana diferente.

En otra realización, la descripción proporciona un compuesto que comprende una pluralidad de CLM acoplados directamente o a través de un resto enlazador químico (L). Por ejemplo, un compuesto que tiene dos CLM puede representarse como:



o

(V) CLM-L-CLM

5

En determinadas realizaciones, cuando el compuesto comprende múltiples CLM, los CLM son idénticos. En realizaciones adicionales, el compuesto que comprende una pluralidad de CLM comprende además al menos un PTM acoplado a un CLM directamente o a través de un enlazador químico (L) o ambos. En determinadas realizaciones adicionales, el compuesto que comprende una pluralidad de CLM comprende además múltiples PTM. En realizaciones todavía adicionales, los PTM son los mismos u, opcionalmente, diferentes. En realizaciones aún adicionales, en donde los PTM son diferentes, los PTM respectivos pueden unirse a la misma proteína diana o unirse específicamente a una proteína diana diferente.

10

En realizaciones adicionales, la descripción proporciona un compuesto que comprende al menos dos CLM diferentes acoplados directamente o a través de un enlazador químico (L) o ambos. Por ejemplo, un compuesto que tiene dos CLM diferentes puede representarse como:

15

(VI) CLM-CLM'

20 o

(VII) CLM-L-CLM'

en donde CLM' indica un resto de unión de cereblon E3 ubiquitina ligasa que es estructuralmente diferente de CLM. En determinadas realizaciones, el compuesto puede comprender una pluralidad de CLM y/o una pluralidad de CLM'. En realizaciones adicionales, el compuesto comprende al menos dos CLM diferentes, una pluralidad de CLM y/o una pluralidad de CLM' comprende además al menos un PTM acoplado a un CLM o un CLM' directamente o a través de un enlazador químico o ambos. En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, un compuesto que comprende al menos dos CLM diferentes puede comprender además múltiples PTM. En realizaciones todavía adicionales, los PTM son los mismos u, opcionalmente, diferentes. En realizaciones aún adicionales, en donde los PTM son diferentes, los PTM respectivos pueden unirse a la misma proteína diana o unirse específicamente a una proteína diana diferente. En realizaciones aún adicionales, el PTM en sí es un ULM o CLM (o ULM' o CLM').

25

30

En una realización preferida, el CLM comprende un resto que es un ligando de la cereblon E3 ubiquitina ligasa (CRBN). En determinadas realizaciones, el CLM comprende un quimiotipo de la clase de moléculas "imida". En determinadas realizaciones adicionales, el CLM comprende un grupo ftalimido o un análogo o derivado del mismo. En realizaciones todavía adicionales, el CLM comprende un grupo ftalimido-glutarimida o un análogo o derivado del mismo. En todavía otras realizaciones, el CLM comprende un miembro del grupo formado por talidomida, lenalidomida, pomalidomida y análogos o derivados de los mismos.

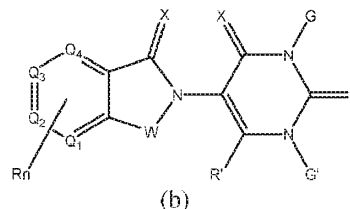
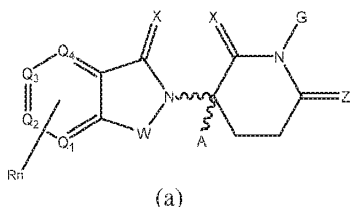
35

40

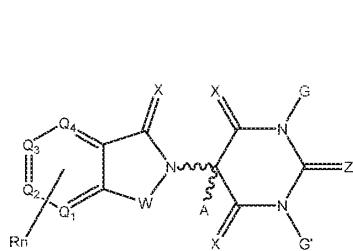
En realizaciones adicionales, la descripción proporciona los compuestos como se describen en el presente documento incluyendo sus enantiómeros, diastereómeros, solvatos y polimorfos, incluyendo las formas de sal farmacéuticamente aceptables de los mismos, por ejemplo, formas de sal ácidas y básicas.

45 **Compuestos de neo-imida**

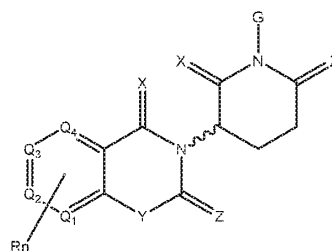
En un aspecto, la descripción proporciona compuestos útiles para unir y/o inhibir el cereblon. En determinadas realizaciones, el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en estructuras químicas:



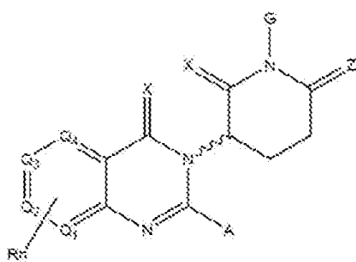
50



(c)

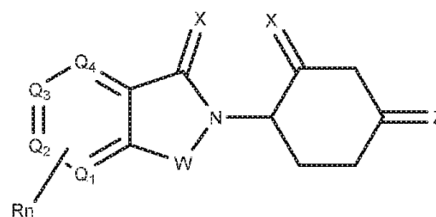


(d)



(e)

y



(f)

5 en donde

W se selecciona independientemente entre el grupo CH₂, CHR, C=O, SO₂, NH y N-alquilo;

X se selecciona independientemente entre el grupo O, S y H₂;

10 Y se selecciona independientemente entre el grupo NH, N-alquilo, N-arilo, N-hetarilo, N-cicloalquilo, N-heterociclilo, O y S;

Z se selecciona independientemente entre el grupo O, y S o H₂ excepto que tanto X como Z no pueden ser H₂;

G y G' se seleccionan independientemente entre el grupo H, alquilo, OH, CH₂-heterociclilo opcionalmente sustituido con R' y bencilo opcionalmente sustituido con R';

15 Q1 - Q4 representan un carbono C sustituido con un grupo seleccionado independientemente entre R', N o N-óxido;

A se selecciona independientemente entre el grupo alquilo, cicloalquilo, Cl y F;

20 R comprende, pero no se limita a: -CONR'R'', -OR', -NR'R'', -SR', -SO₂R', -SO₂NR'R'', -CR'R'', -CR'NR'R'', -arilo, -hetarilo, -alquilo, -cicloalquilo, -heterociclilo, -P(O)(OR')R'', -P(O)R'R'', -OP(O)(OR')R'', -OP(O)R'R'', -Cl, -F, -Br, -I, -CF₃, -CN, -NR'SO₂NR'R'', -NR'CONR'R'', -CONR'COR'', -NR'C(=N-CN)NR'R'', -C(=N-CN)NR'R'', -NR'C(=N-CN)R'', -NR'C(=C-NO₂)NR'R'', -SO₂NR'COR'', -NO₂, -CO₂R', -C(C=N-OR')R'', -CR'=CR'R'', -CCR', -S(C=O)(C=N-R')R'', -SF₅ y -OCF₃

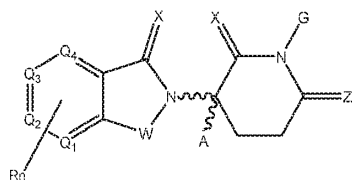
R' y R'' se seleccionan independientemente entre un enlace, H, alquilo, cicloalquilo, arilo, hetarilo, heterociclilo n es un número entero de 1-4;

25 ~~~~~ representa un enlace que puede ser estereoespecífico ((R) o (S)) o no estereoespecífico; y

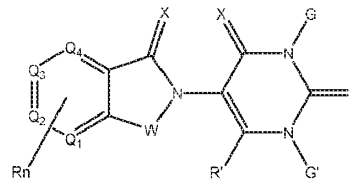
R_n comprende 1-4 átomos o grupos funcionales independientes.

CLM a modo de ejemplo

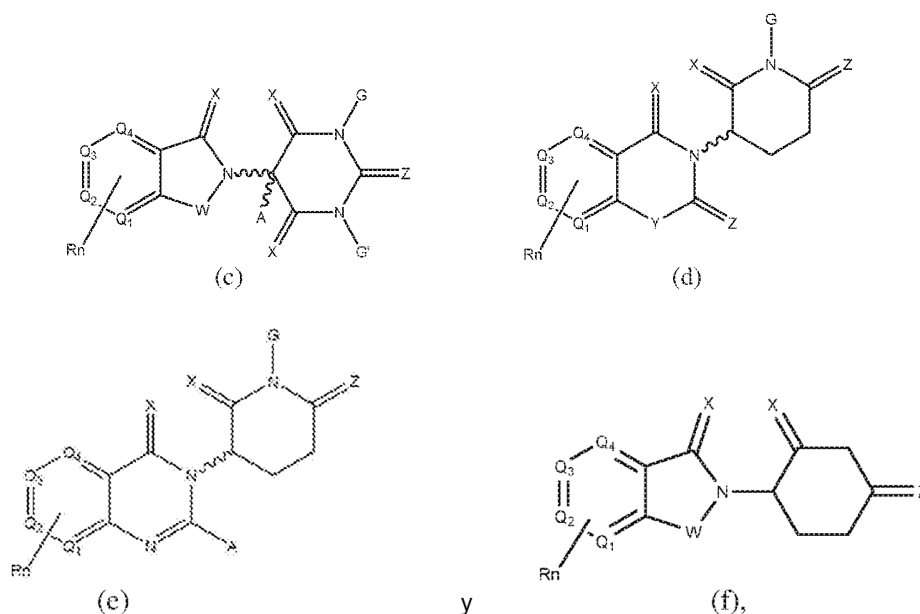
30 En cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento, el CLM comprende una estructura química seleccionada entre el grupo:



(a)



(b)



5 en donde

W se selecciona independientemente entre el grupo CH₂, CHR, C=O, SO₂, NH y N-alquilo;

X se selecciona independientemente entre el grupo O, S y H₂;

10 Y se selecciona independientemente entre el grupo NH, N-alquilo, N-arilo, N-hetarilo, N-cicloalquilo, N-heterociclilo, O y S;

Z se selecciona independientemente entre el grupo O, y S o H₂ excepto que tanto X como Z no pueden ser H₂;

G y G' se seleccionan independientemente entre el grupo H, alquilo, OH, CH₂-heterociclilo opcionalmente sustituido con R' y bencilo opcionalmente sustituido con R';

15 Q1 - Q4 representan un carbono C sustituido con un grupo seleccionado independientemente entre R', N o N-óxido;

A se selecciona independientemente entre el grupo alquilo, cicloalquilo, Cl y F;

20 R comprende, pero no se limita a: -CONR'R'', -OR', -NR'R'', -SR', -SO₂R', -SO₂NR'R'', -CR'R'', -CR'NR'R'', -arilo, -hetarilo, -alquilo, -cicloalquilo, -heterociclilo, -P(O)(OR')R'', -P(O)R'R'', -OP(O)(OR')R'', -OP(O)R'R'', -Cl, -F, -Br, -I, -CF₃, -CN, -NR'SO₂NR'R'', NR'CONR'R'', -CONR'COR'', -NR'C(=N-CN)NR'R'', -C(=N-CN)NR'R'', -NR'C(=N-CN)R'', -NR'C(=C-NO₂)NR'R'', -SO₂NR'COR'', -NO₂, -CO₂R', -C(C=N-OR')R'', -CR'=CR'R'', -CCR', -S(C=O)(C=N-R')R'', -SF₅ y -OCF₃

R' y R'' se seleccionan independientemente entre un enlace, H, alquilo, cicloalquilo, arilo, hetarilo, heterociclilo n es un número entero de 1-4;

~~~~~ representa un enlace que puede ser estereoespecífico ((R) o (S)) o no estereoespecífico; y

25 Rn comprende 1-4 átomos o grupos funcionales independientes y, opcionalmente, uno de los cuales está modificado para unirse covalentemente a un PTM, un grupo enlazador químico (L), un ULM, CLM (o CLM') o una combinación de los mismos.

30 El término "independientemente" se usa en el presente documento para indicar que la variable, el cual se aplica independientemente, varía independientemente de una aplicación a otra.

35 El término "alquilo" significará dentro de su contexto un radical hidrocarburo o grupo alquilo completamente saturado lineal, de cadena ramificada o cíclico, preferentemente un C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, más preferentemente un C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, como alternativa un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, el cual puede estar opcionalmente sustituido. Ejemplos de grupos alquilo son metilo, etilo, n-butilo, sec-butilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo, n-nonilo, n-decilo, isopropilo, 2-metilpropilo, ciclopropilo, ciclopropilmetilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentiletilo, ciclohexiletilo y ciclohexilo, entre otros. En determinadas realizaciones, el grupo alquilo está rematado con un grupo halógeno (At, Br, Cl, F o I). En determinadas realizaciones preferidas, compuestos de acuerdo con la presente invención que pueden usarse para unirse covalentemente a enzimas deshalogenasa. Estos compuestos generalmente contienen una cadena lateral (a menudo unida a través de un grupo polietilenglicol) que termina en un grupo alquilo que tiene un sustituyente halógeno (a menudo cloro o bromo) en su extremo distal, lo que da como resultado la unión covalente del compuesto que contiene dicho resto a la proteína.

45 El término "alqueno" se refiere a radicales de hidrocarburo C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> (preferentemente C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) lineal, de cadena ramificada o cíclicos que contienen al menos un enlace C=C.

El término "alquino" se refiere a radicales de hidrocarburo C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> (preferentemente C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) lineal, de cadena ramificada

o cíclicos que contienen al menos un enlace  $C\equiv C$ .

El término "alquileo" cuando se usa, se refiere a un grupo  $-(CH_2)_n-$  (n es un número entero, generalmente de 0-6), el cual puede estar opcionalmente sustituido. Cuando está sustituido, el grupo alquileo preferentemente está sustituido en uno o más de los grupos metileno con un grupo alquilo  $C_1-C_6$  (incluyendo un grupo ciclopropilo o un grupo t-butilo), pero también puede estar sustituido con uno o más grupos halo, preferentemente de grupos 1 a 3 halo o uno o dos grupos hidroxilo, grupos O-(alquilo  $C_1-C_6$ ) o cadenas laterales de aminoácidos como se desvela de otro modo en el presente documento. En determinadas realizaciones, un grupo alquileo puede estar sustituido con un grupo uretano o alcoxi (u otro grupo), el cual además está sustituido con una cadena de polietilenglicol (de 1 a 10, preferentemente de 1 a 6, a menudo de 1 a 4 unidades de etilenglicol) a la que está sustituido (preferente, pero no exclusivamente en el extremo distal de la cadena de polietilenglicol) una cadena de alquilo sustituida con un solo grupo halógeno, preferentemente un grupo cloro. En otras realizaciones más, el grupo alquileo (a menudo, un metileno), puede estar sustituido con un grupo de cadena lateral de aminoácido, tal como un grupo de cadena lateral de un aminoácido natural o no natural, por ejemplo, alanina,  $\beta$ -alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, cistina, ácido glutámico, glutamina, glicina, fenilalanina, histidina, isoleucina, lisina, leucina, metionina, prolina, serina, treonina, valina, triptófano o tirosina.

El término "no sustituido" significará sustituido únicamente con átomos de hidrógeno. Un intervalo de átomos de carbono, el cual incluye  $C_0$  significa que el carbono está ausente y se reemplaza con H. Por lo tanto, un intervalo de átomos de carbono, el cual es  $C_0-C_6$  incluye átomos de carbono de 1, 2, 3, 4, 5 y 6 y para  $C_0$ , H está en lugar del carbono.

El término "sustituido" u "opcionalmente sustituido" significará independientemente (es decir, donde ocurre más de un sustituyente, cada sustituyente es independiente de otro sustituyente) uno o más sustituyentes (independientemente hasta cinco sustituyentes, preferentemente hasta tres sustituyentes, a menudo 1 o 2 sustituyentes en un resto en un compuesto de acuerdo con la presente invención y pueden incluir sustituyentes, los cuales a su vez pueden estar sustituidos adicionalmente) en una posición de carbono (o nitrógeno) en cualquier lugar de una molécula dentro del contexto, e incluye como sustituyentes hidroxilo, tiol, carboxilo, ciano ( $C\equiv N$ ), nitro ( $NO_2$ ), halógeno (preferentemente, 1, 2 o 3 halógenos, en especial, en un alquilo, en especial, un grupo metilo, tal como un trifluorometilo), un grupo alquilo (preferentemente,  $C_1-C_{10}$ , más preferentemente,  $C_1-C_6$ ), arilo (especialmente fenilo y fenilo sustituido, por ejemplo bencilo o benzoílo), grupo alcoxi (preferentemente, alquilo o arilo  $C_1-C_6$ , incluyendo fenilo y fenilo sustituido), tioéter (alquilo o arilo  $C_1-C_6$ ), acilo (preferentemente, acilo  $C_1-C_6$ ), éster o tioéster (preferentemente, alquilo o arilo  $C_1-C_6$ ) incluyendo éster de alquileo (tal que la unión está en el grupo alquileo, en lugar de en la función éster que está preferentemente sustituida con un grupo alquilo o arilo  $C_1-C_6$ ), preferentemente, alquilo o arilo  $C_1-C_6$ , halógeno (preferentemente, F o Cl), amina (incluida una alquilen amina cíclica de cinco o seis miembros, incluyendo además una alquilamina  $C_1-C_6$  o una dialquil amina  $C_1-C_6$ , cuyos grupos alquilo pueden estar sustituidos con uno o dos grupos hidroxilo) o un grupo -N (alquil  $C_0-C_6$ )(O)(O-alquilo  $C_1-C_6$ ) opcionalmente sustituido (el cual puede estar opcionalmente sustituido con una cadena de polietilenglicol a la cual se une además un grupo alquilo que contiene un solo halógeno, preferentemente sustituyente de cloro), hidrazina, amido, el cual está preferentemente sustituido con uno o dos grupos alquilo  $C_1-C_6$  (incluyendo una carboxamida la cual está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos alquilo  $C_1-C_6$ ), alcanoil (preferentemente, alquilo o arilo  $C_1-C_6$ ) o ácido alcanoico (preferentemente, alquilo o arilo  $C_1-C_6$ ). Los sustituyentes de acuerdo con la presente invención pueden incluir, por ejemplo, grupos  $-SiR_1R_2R_3$  en donde cada uno de  $R_1$  y  $R_2$  es como se describe de otro modo en el presente documento y  $R_3$  es H o un grupo alquilo  $C_1-C_6$ , preferentemente  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  en este contexto es un grupo alquilo  $C_1-C_3$  (incluyendo un grupo isopropilo o t-butilo). Cada uno de los grupos descritos anteriormente se puede unir directamente al resto sustituido o como alternativa, el sustituyente puede estar unido al resto sustituido (preferentemente en el caso de un resto arilo o heteroarilo) a través de un  $-(CH_2)_m-$  opcionalmente sustituido o como alternativa un grupo  $-(OCH_2)_m-$  opcionalmente sustituido,  $-(OCH_2CH_2)_m-$  o  $-(CH_2CH_2O)_m-$ , el cual puede estar sustituido con uno cualquiera o más de los sustituyentes descritos anteriormente. Grupos alquileo  $-(CH_2)_m-$  o grupos  $-(CH_2)_n-$  u otras cadenas, tales como cadenas de etilenglicol, como se identificó anteriormente, pueden estar sustituidos en cualquier parte de la cadena. Los sustituyentes preferidos en los grupos alquileo incluyen halógeno o grupos alquilo  $C_1-C_6$  (preferentemente  $C_1-C_3$ ), los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o dos grupos hidroxilo, uno o dos grupos éter (grupos O- $C_1-C_6$ ), hasta tres grupos halo grupos (preferentemente F), o una cadena lateral de un aminoácido como se describe de otra manera en el presente documento y amida opcionalmente sustituida (preferentemente carboxamida sustituida como se describió anteriormente) o grupos uretano (a menudo con uno o dos sustituyentes de alquilo  $C_0-C_6$ , cuyo grupo o grupos pueden estar sustituidos adicionalmente). En determinadas realizaciones, el grupo alquileo (a menudo un solo grupo metileno) está sustituido con uno o dos grupos alquilo  $C_1-C_6$  opcionalmente sustituidos, preferentemente grupo alquilo  $C_1-C_6$ , lo más a menudo grupos metilo u O-metilo o una cadena lateral de un aminoácido como se describe de otro modo en el presente documento. En la presente invención, un resto en una molécula puede estar opcionalmente sustituido con hasta cinco sustituyentes, preferentemente hasta tres sustituyentes. Muy a menudo, en la presente invención, los restos que están sustituidos están sustituidos con uno o dos sustituyentes.

El término "sustituido" (siendo cada sustituyente independiente de cualquier otro sustituyente) también significará dentro de su contexto de uso alquilo  $C_1-C_6$ , alcoxi  $C_1-C_6$ , halógeno, amido, carboxamido, sulfona, incluyendo sulfonamida, ceto, carboxi, éster  $C_1-C_6$  (oxiéster o carboniléster), ceto  $C_1-C_6$ , uretano  $-O-C(O)-NR_1R_2$  o  $-N(R_1)-C(O)-O-R_1$ , nitro, ciano y amina (especialmente incluyendo un alquilen  $C_1-C_6-NR_1R_2$ , aminas mono- o di-alquil  $C_1-C_6$



sustituidas, las cuales pueden estar opcionalmente sustituidas con uno o dos grupos hidroxilo). Cada uno de estos grupos contiene, a menos que se indique lo contrario, dentro del contexto, entre 1 y 6 átomos de carbono. En determinadas realizaciones, los sustituyentes preferidos incluirán, por ejemplo, -NH-, -NHC(O)-, -O-, =O, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>- (aquí, m y n están en el contexto, 1, 2, 3, 4, 5 o 6), -S-, -S(O)-, SO<sub>2</sub>- o -NH-C(O)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OH, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>SH, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOH, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(O)-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OC(O)-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(O)O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NHC(O)-R<sub>1</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(O)-NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>, -(OCH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OH, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOH, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -(OCH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(O)-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -(OCH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NHC(O)-R<sub>1</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(O)-NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>, -S(O)<sub>2</sub>-R<sub>S</sub>, -S(O)-R<sub>S</sub> (R<sub>S</sub> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o un grupo -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>), NO<sub>2</sub>, CN o halógeno (F, Cl, Br, I, preferentemente F o Cl), dependiendo del contexto del uso del sustituyente. R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno, dentro del contexto, H o un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> (el cual puede estar opcionalmente sustituido con uno o dos grupos hidroxilo o hasta tres grupos halógeno, preferentemente flúor). El término "sustituido" también significará, dentro del contexto químico del compuesto definido y sustituyente usado, un grupo arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido o un grupo heterocíclico opcionalmente sustituido como se describe de otra manera en el presente documento. Los grupos alquilo también pueden estar sustituidos como se desvela en el presente documento, preferentemente con grupos alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituidos (se prefiere metilo, etilo o hidroximetilo o hidroxietilo, proporcionando de ese modo un centro quiral), una cadena lateral de un grupo de aminoácidos como se describe de otro modo en el presente documento, un grupo amido como se describe anteriormente en el presente documento o un grupo uretano O-C(O)-NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub> en donde R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son como se describen en el presente documento, aunque también pueden usarse muchos otros grupos como sustituyentes. Varios restos opcionalmente sustituidos pueden estar sustituidos con 3 o más sustituyentes, preferentemente no más de 3 sustituyentes y preferentemente con 1 o 2 sustituyentes. Se observa que en los casos en donde, en un compuesto en una posición particular de la molécula se requiere la sustitución (principalmente, debido a la valencia), pero no se indica ninguna sustitución, entonces ese sustituyente se interpreta o se entiende que es H, a menos que el contexto de la sustitución sugiere lo contrario.

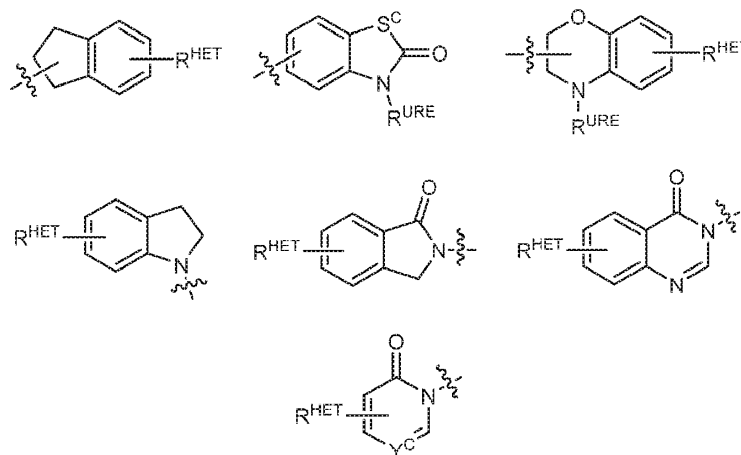
El término "arilo" o "aromático", en el contexto, se refiere a un radical aromático monovalente sustituido (como se describe de otro modo en el presente documento) o no sustituido que tiene un solo anillo (por ejemplo, benceno, fenilo, bencilo) o anillos condensados (por ejemplo, naftilo, antraceno, fenantreno, etc.) y se puede unir al compuesto de acuerdo con la presente invención en cualquier posición estable disponible en el anillo o anillos o como se indique de otro modo en la estructura química presentada. Otros ejemplos de grupos arilo, en el contexto, pueden incluir sistemas de anillos aromáticos heterocíclicos, grupos "heteroarilo" que tienen uno o más átomos de nitrógeno, oxígeno o azufre en el anillo (monocíclicos) tales como imidazol, furilo, pirrol, furanilo, tieno, tiazol, piridina, pirimidina, pirazina, triazol, oxazol o sistemas de anillos condensados como indol, quinolina, indolizina, azaindolizina, benzofurano, etc., entre otros, los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos como se ha descrito anteriormente. Entre los grupos heteroarilo que se pueden mencionar se incluyen grupos heteroarilo que contienen nitrógeno tales como pirrol, piridina, piridona, piridazina, pirimidina, pirazina, pirazol, imidazol, triazol, triazina, tetrazol, indol, isoindol, indolizina, azaindolizina, purina, indazol, quinolina, dihidroquinolina, tetrahydroquinolina, isoquinolina, dihydroisoquinolina, tetrahydroisoquinolina, quinolizina, ftalazina, naftiridina, quinoxalina, quinazolina, cinolina, pteridina, imidazopiridina, imidazotriazina, pirazinopiridazina, acridina, fenantridina, carbazol, carbazolina, pirimidina, fenantrolina, fenaceno, oxadiazol, benzoimidazol, pirrolopiridina, pirrolopirimidina y piridopirimidina; heterociclos aromáticos que contienen azufre tales como tiofeno y benzotiofeno; heterociclos aromáticos que contienen oxígeno tales como furano, pirano, ciclopentapirano, benzofurano e isobenzofurano; y heterociclos aromáticos que comprenden 2 o más heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, azufre y oxígeno, tal como tiazol, tiadiazol, isotiazol, benzoxazol, benzotiazol, benzotiadiazol, fenotiazina, isoxazol, furazano, fenoxazina, pirazoloxazol, imidazotiazol, tienofurano, furopirrol, piridoxazina, furopiridina, furopirimidina, tienopirimidina y oxazol, entre otros, todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos.

La expresión "arilo sustituido" se refiere a un grupo carbocíclico aromático que comprende al menos un anillo aromático o múltiples anillos condensados, al menos uno de los cuales es aromático, en donde el anillo o anillos están sustituidos con uno o más sustituyentes. Por ejemplo, un grupo arilo puede comprender uno o varios sustituyentes seleccionados entre: -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OH, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-C(O)alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-C(O)Oalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OC(O)alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), amina, mono- o di- (alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)amina, en donde el grupo alquilo de la amina está opcionalmente sustituido con 1 o 2 grupos hidroxilo o hasta tres grupos halo (preferentemente F, Cl), OH, COOH, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, preferentemente CH<sub>3</sub>, CF<sub>3</sub>, OMe, OCF<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub> o grupo CN (cada uno de los cuales puede estar sustituido en posiciones orto, meta y/o para del anillo de fenilo, preferentemente para), un grupo fenilo opcionalmente sustituido (el grupo fenilo en sí mismo está preferentemente sustituido con un grupo enlazador unido a un grupo PTM, incluyendo un grupo ULM), y/o al menos uno de F, Cl, OH, COOH, CH<sub>3</sub>, CF<sub>3</sub>, OMe, OCF<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub> o grupo CN (en posiciones orto, meta y/o para del anillo de fenilo, preferentemente para), un grupo naftilo, el cual puede estar opcionalmente sustituido, un heteroarilo opcionalmente sustituido, preferentemente un isoxazol opcionalmente sustituido, incluyendo un isoxazol sustituido con metilo, un oxazol opcionalmente sustituido, incluyendo un oxazol sustituido con metilo, un tiazol opcionalmente sustituido, incluyendo un tiazol sustituido con metilo, un isotiazol opcionalmente sustituido, incluyendo un isotiazol sustituido con metilo, un pirrol opcionalmente sustituido, incluyendo un pirrol sustituido con metilo, un imidazol opcionalmente sustituido, incluyendo un metilimidazol, un benzoimidazol o metoxibencilimidazol opcionalmente sustituido, un oximidazol o metiloximidazol opcionalmente sustituido, un grupo diazol opcionalmente sustituido, incluyendo un grupo metildiazol, un grupo triazol opcionalmente sustituido, incluyendo un grupo triazol sustituido con metilo, un grupo piridina opcionalmente sustituido, incluyendo un grupo piridina sustituida con metilo o un grupo oxapiridina (en donde el grupo piridina está unido al

grupo fenilo por un oxígeno), un furano opcionalmente sustituido, un benzofurano opcionalmente sustituido, un dihidrobenzofurano opcionalmente sustituido, un indol opcionalmente sustituido, indolizina o azaindolizina (2, 3 o 4-azaindolizina), una quinolina opcionalmente sustituida y combinaciones de los mismos.

- 5 "Carboxilo" representa el grupo  $-C(O)OR$ , en donde R es hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo o heteroarilo sustituido, mientras que estos sustituyentes genéricos tienen significados que son idénticos a las definiciones de los grupos correspondientes definidos en el presente documento.

El término "heteroarilo" o "hetarilo" puede significar, pero de ninguna manera se limita a, una quinolina opcionalmente sustituida (que puede estar unida al farmacóforo o sustituida en cualquier átomo de carbono dentro del anillo de quinolina), un indol opcionalmente sustituido (incluyendo dihidroindol), una indolizina opcionalmente sustituida, una azaindolizina opcionalmente sustituida (2, 3 o 4-azaindolizina) un benzoimidazol opcionalmente sustituido, benzodiazol, benzoxofurano, un imidazol opcionalmente sustituido, un isoxazol opcionalmente sustituido, un oxazol opcionalmente sustituido (preferentemente sustituido con metilo), un diazol opcionalmente sustituido, un triazol opcionalmente sustituido, un tetrazol, un benzofurano opcionalmente sustituido, un tiofeno opcionalmente sustituido, un tiazol opcionalmente sustituido (preferentemente sustituido con metilo y/o tiol), un isotiazol opcionalmente sustituido, un triazol opcionalmente sustituido (preferentemente un 1,2,3-triazol sustituido con un grupo metilo, un grupo triisopropilsililo, un grupo  $-(CH_2)_m-O$ -alquilo  $C_1-C_6$  opcionalmente sustituido o un grupo  $-(CH_2)_m-C(O)-O$ -alquilo  $C_1-C_6$  opcionalmente sustituido), una piridina opcionalmente sustituida (2-, 3 o 4-piridina) o un grupo de acuerdo con la estructura química:



en donde

- 30  $S^C$  es  $CHR^{SS}$ ,  $NR^{URE}$  u O;  
 $R^{HET}$  es H, CN,  $NO_2$ , halo (preferentemente Cl o F), alquilo  $C_1-C_6$  opcionalmente sustituido (preferentemente sustituido con uno o dos grupos hidroxilo o hasta tres grupos halo (por ejemplo,  $CF_3$ ), O(alquilo  $C_1-C_6$ ) opcionalmente sustituido (preferentemente sustituido con uno o dos grupos hidroxilo o hasta tres grupos halo) o un grupo acetilénico opcionalmente sustituido  $-C\equiv C-R_a$  en donde  $R_a$  es H o un grupo alquilo  $C_1-C_6$  (preferentemente alquilo  $C_1-C_3$ );  
 35  $R^{SS}$  es H, CN,  $NO_2$ , halo (preferentemente F o Cl), alquilo  $C_1-C_6$  opcionalmente sustituido (preferentemente sustituido con uno o dos grupos hidroxilo o hasta tres grupos halo), O-(alquilo  $C_1-C_6$ ) opcionalmente sustituido (preferentemente sustituido con uno o dos grupos hidroxilo o hasta tres grupos halo) o un  $-C(O)$ (alquilo  $C_1-C_6$ ) opcionalmente sustituido (preferentemente sustituido con uno o dos grupos hidroxilo o hasta tres grupos halo);  
 40  $R^{URE}$  es H, un alquilo  $C_1-C_6$  (preferentemente H o alquilo  $C_1-C_3$ ) o un  $-C(O)$ (alquilo  $C_1-C_6$ ), cada uno de los grupos está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos hidroxilo o hasta tres halógenos, preferentemente grupos flúor o un heterociclo opcionalmente sustituido, por ejemplo piperidina, morfolina, pirrolidina, tetrahydrofurano, tetrahidrotiofeno, piperidina, piperazina, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido, y  
 45  $Y^C$  es N o  $C-R^{YC}$ , en donde  $R^{YC}$  es H, OH, CN,  $NO_2$ , halo (preferentemente Cl o F), alquilo  $C_1-C_6$  opcionalmente sustituido (preferentemente sustituido con uno o dos grupos hidroxilo o hasta tres grupos halo (por ejemplo,  $CF_3$ ), O(alquilo  $C_1-C_6$ ) opcionalmente sustituido (preferentemente sustituido con uno o dos grupos hidroxilo o hasta tres grupos halo) o un grupo acetilénico opcionalmente sustituido  $-C\equiv C-R_a$  en donde  $R_a$  es H o un grupo alquilo  $C_1-C_6$  (preferentemente alquilo  $C_1-C_3$ ).  
 50 Los términos "aralquilo" y "heteroarilalquilo" se refieren a grupos que comprenden tanto arilo o, respectivamente, heteroarilo como también sistemas de anillo alquilo y/o heteroalquilo y/o carbocíclico y/o heterocicloalquilo de acuerdo con las definiciones anteriores.

El término "arilalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo arilo como se definió

anteriormente adjunto a un grupo alquilo definido anteriormente. El grupo arilalquilo está unido al resto parental a través de un grupo alquilo en donde el grupo alquilo tiene de uno a seis átomos de carbono. El grupo arilo en el grupo arilalquilo puede estar sustituido como se ha definido anteriormente.

5 El término "heterociclo" se refiere a un grupo cíclico que contiene al menos un heteroátomo, por ejemplo, N, O o S, y puede ser aromático (heteroarilo) o no aromático. Por lo tanto, los restos heteroarilo se incluyen en la definición de heterociclo, dependiendo del contexto de su uso. Los grupos heteroarilo a modo de ejemplo se describen anteriormente en el presente documento.

10 Los heterocíclicos a modo de ejemplo incluyen: azetidino, benzoimidazolilo, 1,4-benzodioxanilo, 1,3-benzodioxolilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzotienilo, dihidroimidazolilo, dihidropiranilo, dihidrofurano, dioxanilo, dioxolanilo, etilenourea, 1,3-dioxolano, 1,3-dioxano, 1,4-dioxano, furilo, homopiperidinilo, imidazolilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, indolinilo, indolilo, isoquinolinilo, isotiazolidinilo, isotiazolilo, isoxazolidinilo, isoxazolilo, morfolinilo, naftiridinilo, oxazolidinilo, oxazolilo, piridona, 2-pirrolidona, piridina, piperazinilo, N-metilpiperazinilo, piperidinilo, ftalimida, succinimida, pirazinilo, pirazolinilo, piridilo, pirimidinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, pirrolilo, quinolinilo, tetrahydrofurano, tetrahidropiranilo, tetrahydroquinolina, tiazolidinilo, tiazolilo, tienilo, tetrahidrotiofeno, oxano, oxetanilo, oxatolanilo, tiano, entre otros.

20 Los grupos heterocíclicos pueden estar opcionalmente sustituidos con un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en alcoxi, alcoxi sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, acilo, acilamino, aciloxi, amino, amino sustituido, aminoacilo, aminoaciloxi, oxiaminoacilo, azido, ciano, halógeno, hidroxilo, ceto, tioceto, carboxi, carboxialquilo, tioarilo, tioheteroarilo, tioheterociclo, tioheterociclo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, ariloxi, heteroarilo, heteroariloxi, heterocíclico, heterociclo, hidroxiamino, alcoxiamino, nitro, -SO-alquilo, -SO-alquilo sustituido, -SO-arilo, -SO-heteroarilo, -SO<sub>2</sub>-alquilo, -SO<sub>2</sub>-alquilo sustituido, -SO<sub>2</sub>-arilo, oxo (=O) y -SO<sub>2</sub>-heteroarilo.

25 Tales grupos heterocíclicos pueden tener un solo anillo o múltiples anillos condensados. Los ejemplos de heterociclos y heteroarilos de nitrógeno incluyen, pero sin limitarse a, pirrol, imidazol, pirazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, indolizina, isoindol, indol, indazol, purina, quinolizina, isoquinolina, quinolina, ftalazina, naftilpiridina, quinoxalina, quinazolina, cinolina, pteridina, carbazol, carbolina, fenantridina, acridina, fenantrolina, isotiazol, fenazina, isoxazol, fenoxazina, fenotiazina, imidazolidina, imidazolina, piperidina, piperazina, indolina, morfolino, piperidinilo, tetrahydrofurano y similares, así como heterociclos que contienen N-alcoxi-nitrógeno. El término "heterocíclico" también incluye grupos bicíclicos en los que cualquiera de los anillos heterocíclicos está condensado con un anillo de benceno o un anillo de ciclohexano u otro anillo heterocíclico (por ejemplo, indolilo, quinolilo, isoquinolilo, tetrahydroquinolilo y similares).

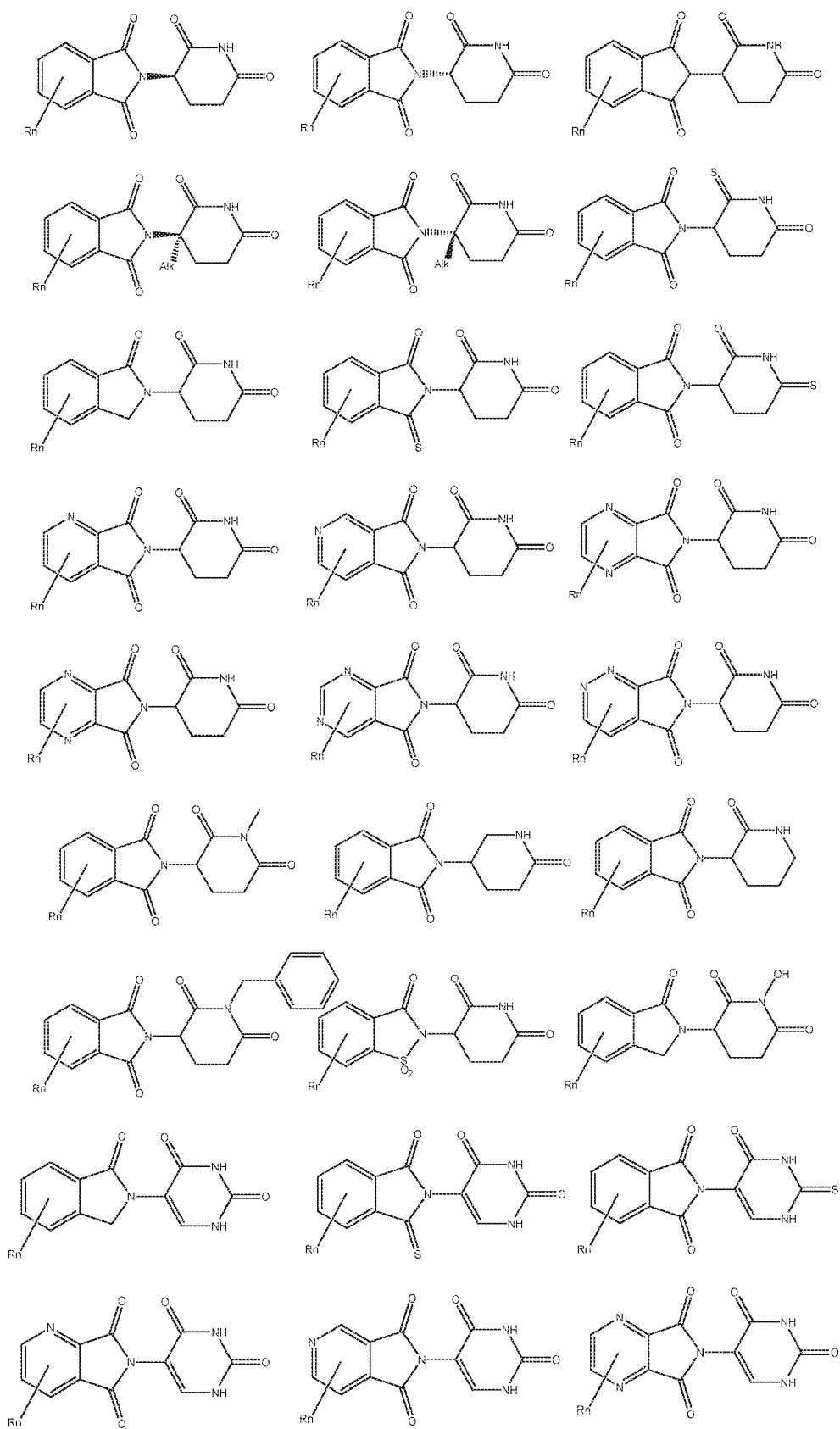
35 El término "cicloalquilo" puede significar, pero de ninguna manera se limita a, grupos univalentes derivados de grupos alquilo monocíclicos o policíclicos o cicloalcanos, como se define en el presente documento, por ejemplo, grupos de hidrocarburos monocíclicos saturados que tienen de tres a veinte átomos de carbono en el anillo, incluyendo, pero sin limitarse a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y similares. La expresión "cicloalquilo sustituido" puede significar, pero de ninguna manera se limita a, un grupo alquilo monocíclico o policíclico y que está sustituido con uno o más sustituyentes, por ejemplo, amino, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, carbiloxi, carbilmercapto, arilo, nitro, mercapto o sulfo, mientras que estos grupos sustituyentes genéricos tienen significados los cuales son idénticos a las definiciones de los grupos correspondientes tal como se definen en esta leyenda.

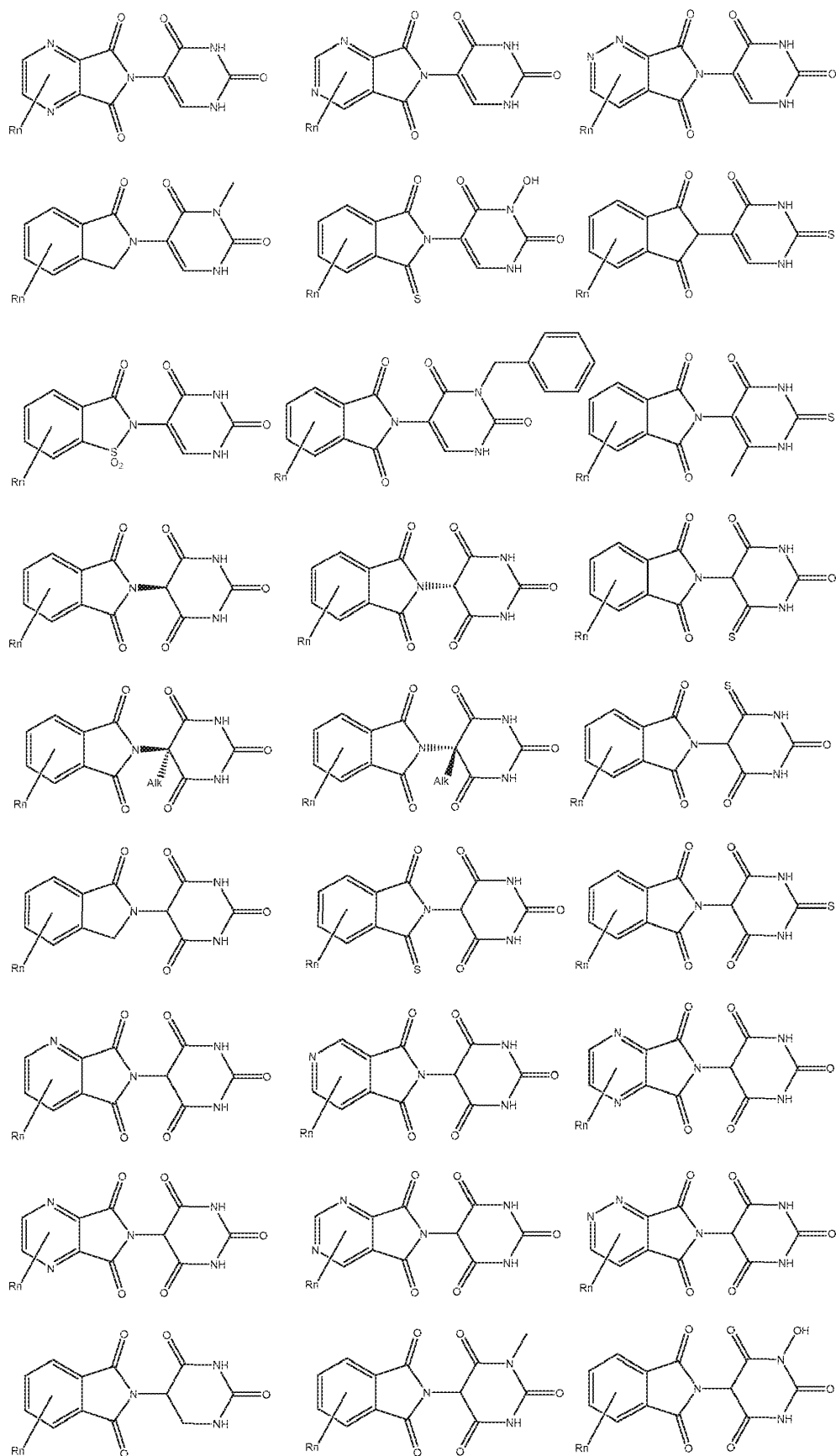
45 "Heterocicloalquilo" se refiere a un grupo alquilo monocíclico o policíclico en el cual al menos un átomo de carbono del anillo de su estructura cíclica se reemplaza con un heteroátomo seleccionado entre el grupo que consiste en N, O, S o P. "Heterocicloalquilo sustituido" se refiere a un grupo alquilo monocíclico o policíclico en el que al menos un átomo de carbono del anillo de su estructura cíclica se reemplaza con un heteroátomo seleccionado entre el grupo que consiste en N, O, S o P y el grupo contiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en halógeno, alquilo, alquilo sustituido, carbiloxi, carbilmercapto, arilo, nitro, mercapto o sulfo, mientras que este grupo sustituyente genérico tiene significados los cuales son idénticos a las definiciones de los grupos correspondientes tal como se definen en esta leyenda.

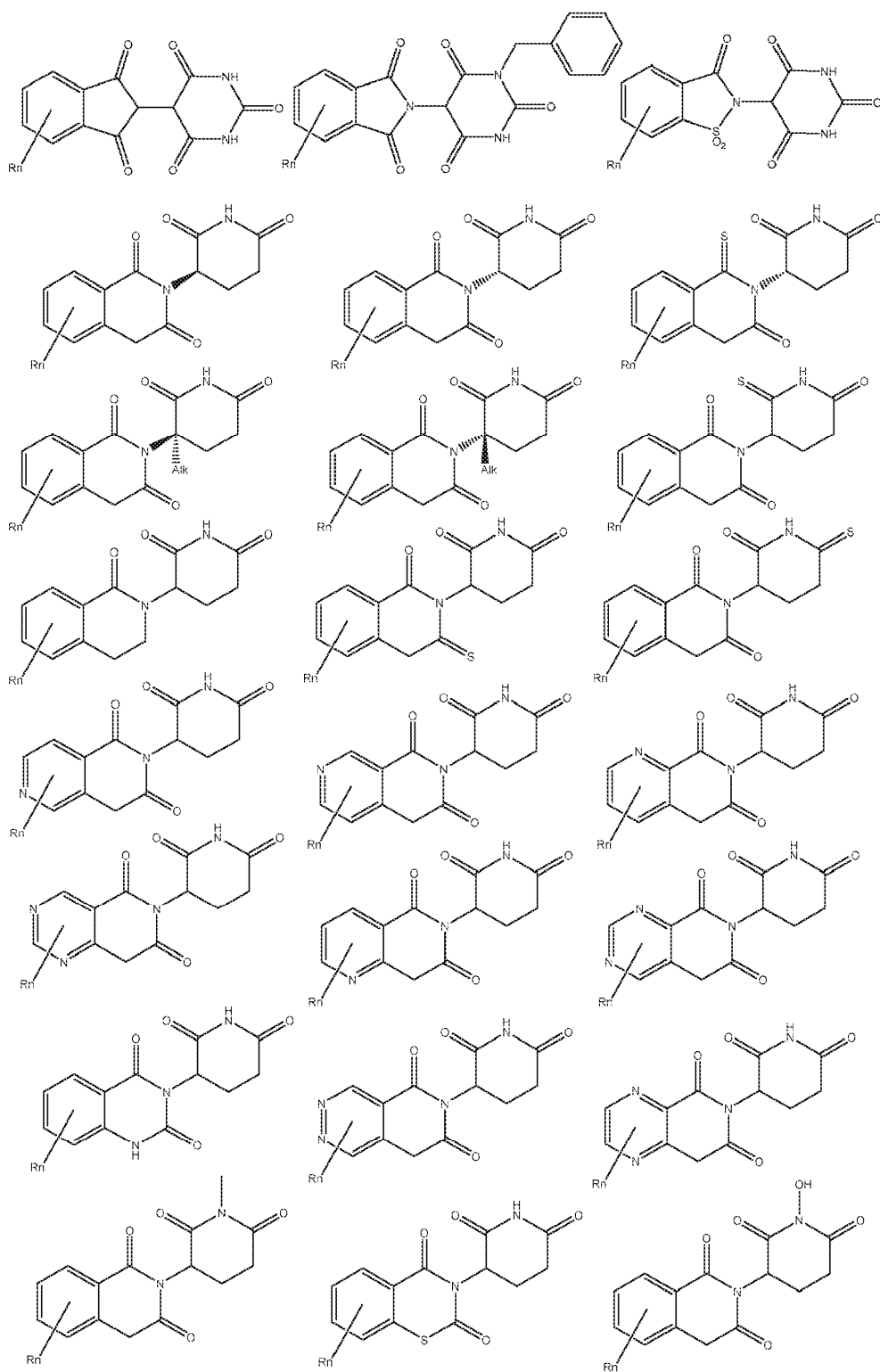
50 El término "hidrocarbilo" significará un compuesto que contiene carbono e hidrógeno y que puede estar completamente saturado, parcialmente insaturado o aromático e incluye grupos arilo, grupos alquilo, grupos alqueno y grupos alquilino.

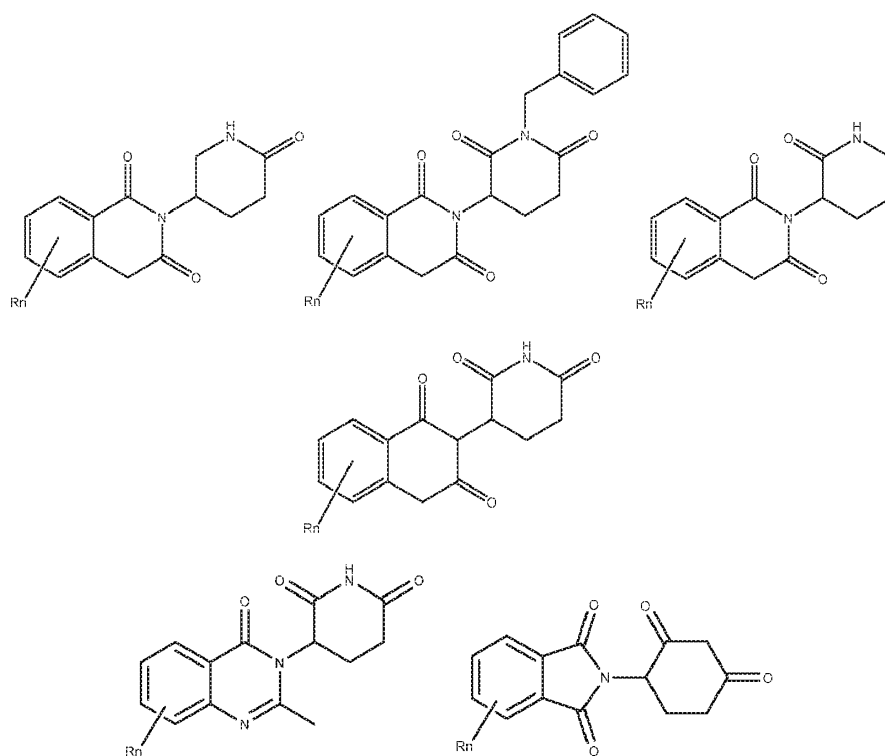
En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el W, X, Y, Z, G, G', R, R', R'', Q1-Q4, A y Rn pueden acoplarse covalentemente de forma independiente a un enlazador y/o un enlazador al que está unido uno o más grupos PTM, ULM, CLM o CLM'.

60 Más específicamente, los ejemplos no limitantes de CLM incluyen los que se muestran a continuación, así como las moléculas "híbridas" que surgen de la combinación de 1 o más de las diferentes características que se muestran en las moléculas a continuación.



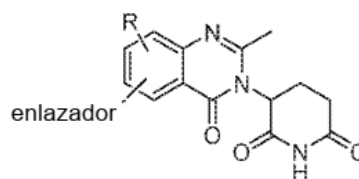
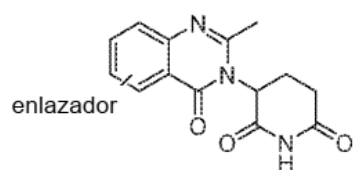
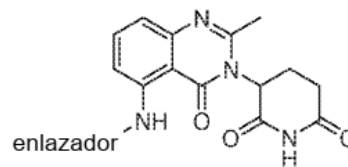
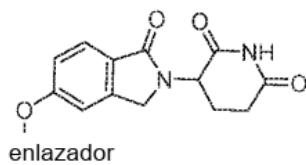
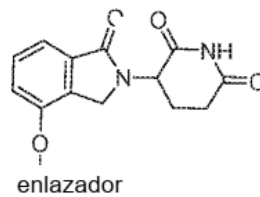
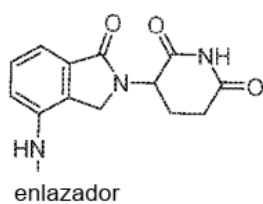
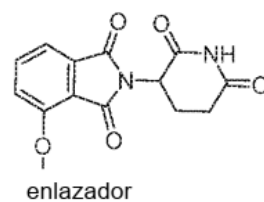
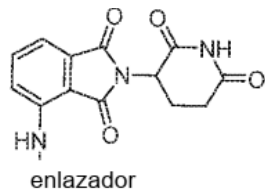






5

En determinados casos, "CLM" pueden ser imidas que se unen a la ligasa cereblon E3. Estas imidas y el punto de conexión del enlazador pueden tener, entre otras, las siguientes estructuras:



10

**Enlazadores a modo de ejemplo**

En determinadas realizaciones, los compuestos como se describen en el presente documento se pueden unir o acoplar químicamente mediante un enlazador químico (L). En determinadas realizaciones, el grupo enlazador L es un grupo que comprende una o más unidades estructurales conectadas covalentemente de A (por ejemplo,  $-A_1 \dots A_q-$ ), en donde

- 5  $A_1$  es un grupo acoplado a al menos uno de un ULM, un PTM o una combinación de los mismos. En determinadas realizaciones,  $A_1$  enlaza un ULM, un PTM o una combinación de los mismos directamente a otro ULM, PTM o una combinación de los mismos. En otras realizaciones,  $A_1$  enlaza un ULM, un PTM o una combinación de los mismos indirectamente a otro ULM, PTM o una combinación de los mismos a través de  $A_q$ .
- 10 En determinadas realizaciones,  $A_1$  a  $A_q$  son, cada uno independientemente, un enlace,  $CR^{L1}-R^{L2}$ , O, S, SO,  $SO_2$ ,  $NR^{L3}$ ,  $SO_2NR^{L3}$ ,  $SONR^{L3}$ ,  $CONR^{L3}$ ,  $NR^{L3}CONR^{L4}$ ,  $NR^{L3}SO_2NR^{L4}$ , CO,  $CR^{L1}=CR^{L2}$ ,  $C \equiv C$ ,  $SiR^{L1}R^{L2}$ ,  $P(O)R^{L1}$ ,  $P(O)OR^{L1}$ ,  $NR^{L3}C(=NCN)NR^{L4}$ ,  $NR^{L3}C(=NCN)$ ,  $NR^{L3}C(=CNO_2)NR^{L4}$ , cicloalquilo  $C_{3-11}$  opcionalmente sustituido con 0-6 grupos  $R^{L1}$  y/o  $R^{L2}$ , heterociclilo  $C_{3-11}$  opcionalmente sustituido con 0-6 grupos  $R^{L1}$  y/o  $R^{L2}$ , arilo opcionalmente sustituido con 0-6 grupos  $R^{L1}$  y/o  $R^{L2}$ , heteroarilo opcionalmente sustituido con 0-6 grupos  $R^{L1}$  y/o  $R^{L2}$ , en donde  $R^{L1}$  o  $R^{L2}$ , cada uno
- 15 independientemente, se puede unir a otros grupos A para formar un grupo cicloalquilo y/o heterociclilo, el cual se puede sustituir adicionalmente con 0-4 grupos  $R^{L5}$ ; en donde

- $R^{L1}$ ,  $R^{L2}$ ,  $R^{L3}$ ,  $R^{L4}$  y  $R^{L5}$  son, cada uno independientemente, H, halo, alquilo  $C_{1-8}$ , Oalquilo  $C_{1-8}$ , Salquilo  $C_{1-8}$ , NHalquilo  $C_{1-8}$ , N(alquilo  $C_{1-8}$ )<sub>2</sub>, cicloalquilo  $C_{3-11}$ , arilo, heteroarilo, heterociclilo  $C_{3-11}$ , Ocicloalquilo  $C_{1-8}$ , Scicloalquilo  $C_{1-8}$ , NHcicloalquilo  $C_{1-8}$ , N(cicloalquilo  $C_{1-8}$ )<sub>2</sub>, N(cicloalquil  $C_{1-8}$ )(alquilo  $C_{1-8}$ ), OH,  $NH_2$ , SH,  $SO_2$ alquilo  $C_{1-8}$ , P(O)(Oalquil  $C_{1-8}$ )(alquilo  $C_{1-8}$ ), P(O)(Oalquilo  $C_{1-8}$ )<sub>2</sub>, CC-alquilo  $C_{1-8}$ , CCH,  $CH=CH$ (alquilo  $C_{1-8}$ ), C(alquil  $C_{1-8}$ )= $CH$ (alquilo  $C_{1-8}$ ), C(alquil  $C_{1-8}$ )=C(alquilo  $C_{1-8}$ )<sub>2</sub>, Si(OH)<sub>3</sub>, Si(alquilo  $C_{1-8}$ )<sub>3</sub>, Si(OH)(alquilo  $C_{1-8}$ )<sub>2</sub>, COalquilo  $C_{1-8}$ , CO<sub>2</sub>H, halógeno, CN, CF<sub>3</sub>, CHF<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>F, NO<sub>2</sub>, SF<sub>5</sub>,  $SO_2$ NHalquilo  $C_{1-8}$ ,  $SO_2$ Nalquilo  $C_{1-8}$ , SONHalquilo  $C_{1-8}$ , SON(alquilo  $C_{1-8}$ )<sub>2</sub>, CONHalquilo  $C_{1-8}$ , CON(alquilo  $C_{1-8}$ )<sub>2</sub>, N(alquil  $C_{1-8}$ )CONH(alquilo  $C_{1-8}$ ), N(alquil  $C_{1-8}$ )CON(alquilo  $C_{1-8}$ )<sub>2</sub>, NHCONH(alquilo  $C_{1-8}$ ), NHCON(alquilo  $C_{1-8}$ )<sub>2</sub>, NHCONH<sub>2</sub>, N(alquil  $C_{1-8}$ ) $SO_2$ NH(alquilo  $C_{1-8}$ ), N(alquil  $C_{1-8}$ ) $SO_2$ N(alquilo  $C_{1-8}$ )<sub>2</sub>, NH  $SO_2$ NH(alquilo  $C_{1-8}$ ), NH  $SO_2$ N(alquilo  $C_{1-8}$ )<sub>2</sub>, NH  $SO_2$ NH<sub>2</sub>.
- 20
- 25

En determinadas realizaciones, q es un número entero superior o igual a 0. En determinadas realizaciones, q es un número entero superior o igual a 1.

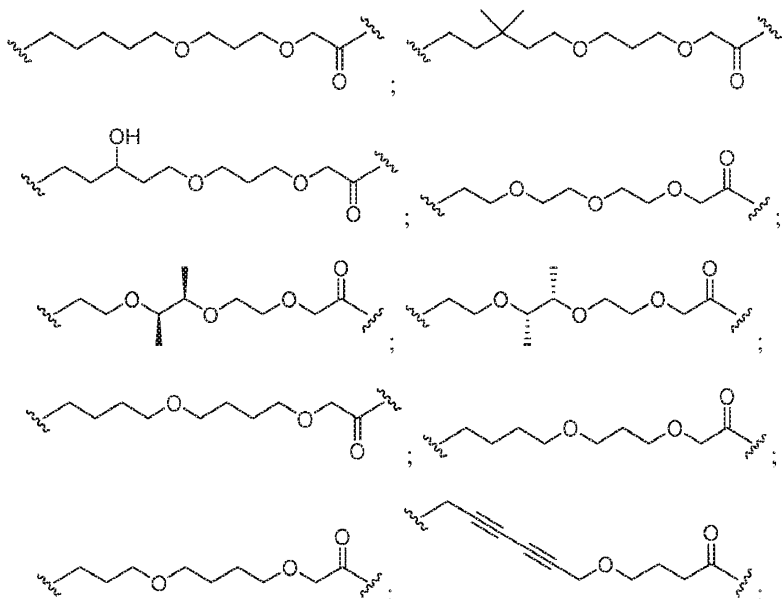
- 30 En determinadas realizaciones, por ejemplo, en donde q es mayor de 2,  $A_q$  es un grupo que está conectado a una fracción ULM o ULM', y  $A_1$  y  $A_q$  están conectados a través de unidades estructurales de A (número de tales unidades estructurales de A: q-2).

- 35 En determinadas realizaciones, por ejemplo, en donde q es 2,  $A_q$  es un grupo que está conectado a  $A_1$  y a un resto ULM o ULM'.

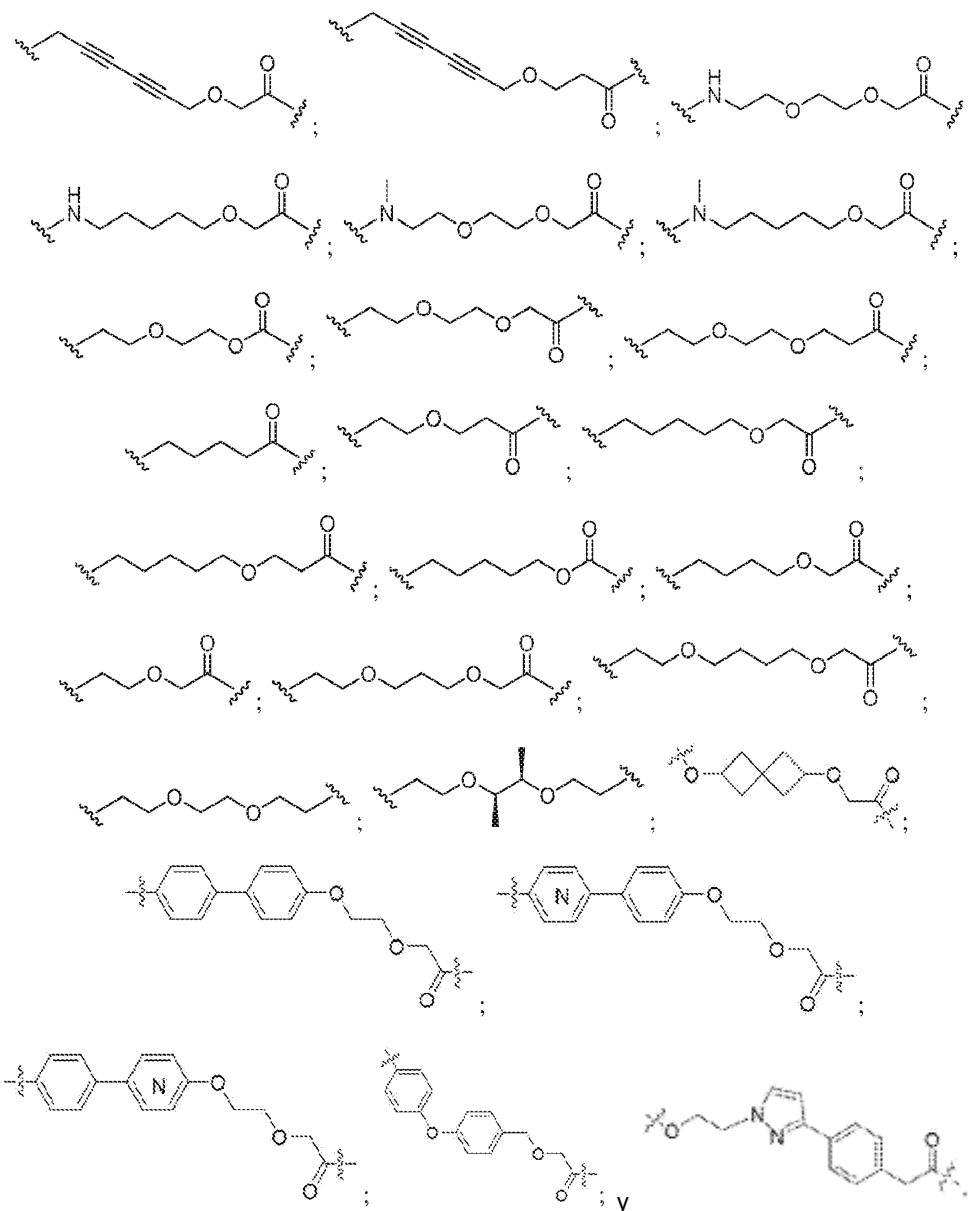
En determinadas realizaciones, por ejemplo, en donde q es 1, la estructura del grupo enlazador L es  $-A_1-$ , y  $A_1$  es un grupo que está conectado a un resto ULM o ULM' y un resto PTM.

- 40 En realizaciones adicionales, q es un número entero de 1 a 100, 1 a 90, 1 a 80, 1 a 70, 1 a 60, 1 a 50, 1 a 40, 1 a 30, 1 a 20 o 1 a 10.

En determinadas realizaciones, el enlazador (L) se selecciona entre el grupo que consiste en:







- 20 En realizaciones adicionales, el grupo enlazador es (poli)etilenglicol opcionalmente sustituido que tiene entre 1 y aproximadamente 100 unidades de etilenglicol, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 50 unidades de etilenglicol, entre 1 y aproximadamente 25 unidades de etilenglicol, entre aproximadamente 1 y 10 unidades de etilenglicol, entre 1 y aproximadamente 8 unidades de etilenglicol y 1 y 6 unidades de etilenglicol, entre 2 y 4 unidades de etilenglicol, o grupos alquilo opcionalmente sustituidos interdispersos con átomos de O, N, S, P o Si opcionalmente sustituidos. En determinadas realizaciones, el enlazador está sustituido con un grupo arilo, fenilo, bencilo, alquilo, alquileo o heterociclo. En determinadas realizaciones, el enlazador puede ser asimétrico o simétrico.
- 25

En cualquiera de las realizaciones de los compuestos descritos en el presente documento, el grupo enlazador puede ser cualquier resto adecuado como se describe en el presente documento. En una realización, el enlazador es un grupo polietilenglicol sustituido o no sustituido que varía en tamaño de aproximadamente 1 a aproximadamente 12 unidades de etilenglicol, entre 1 y aproximadamente 10 unidades de etilenglicol, aproximadamente 2 a aproximadamente 6 unidades de etilenglicol, entre aproximadamente 2 y 5 unidades de etilenglicol, entre aproximadamente 2 y 4 unidades de etilenglicol.

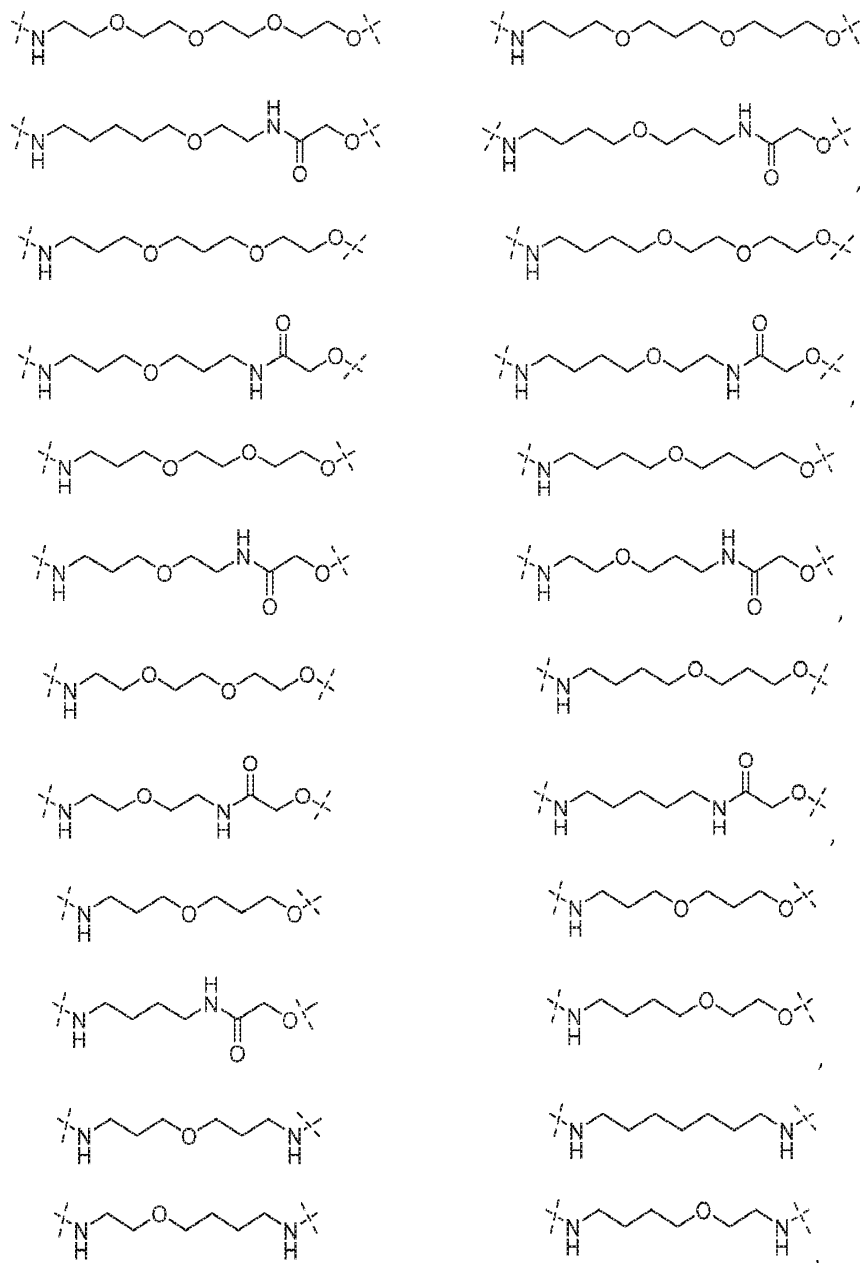
30

35 Aunque el grupo CLM (o ULM) y el grupo PTM pueden unirse covalentemente al grupo enlazador a través de cualquier grupo que sea apropiado y estable para la química del enlazador, en aspectos preferidos de la presente invención, el enlazador está unido covalentemente independientemente al grupo CLM y el grupo PTM preferentemente a través de una amida, éster, tioéster, grupo ceto, carbamato (uretano), carbono o éter, cada uno de los grupos puede insertarse en cualquier lugar del grupo CLM y del grupo PTM para proporcionar la máxima unión del grupo CLM a la ubiquitina

ligasa y el grupo PTM a la proteína diana que se va a degradar. (Se observa que en determinados aspectos en donde el grupo PTM es un grupo ULM, la proteína diana para la degradación puede ser la ubiquitina ligasa en sí). En determinados aspectos preferidos, el enlazador puede estar unido a un grupo alquilo, alqueno, alquino o alquino opcionalmente sustituido, un grupo arilo o un grupo heterocíclico en los grupos CLM y/o PTM.

5

En determinadas realizaciones, "L" pueden ser cadenas lineales con átomos lineales de 4 a 24, el átomo de carbono en la cadena lineal se puede sustituir con oxígeno, nitrógeno, amida, carbono fluorado, etc., tal como la siguientes:

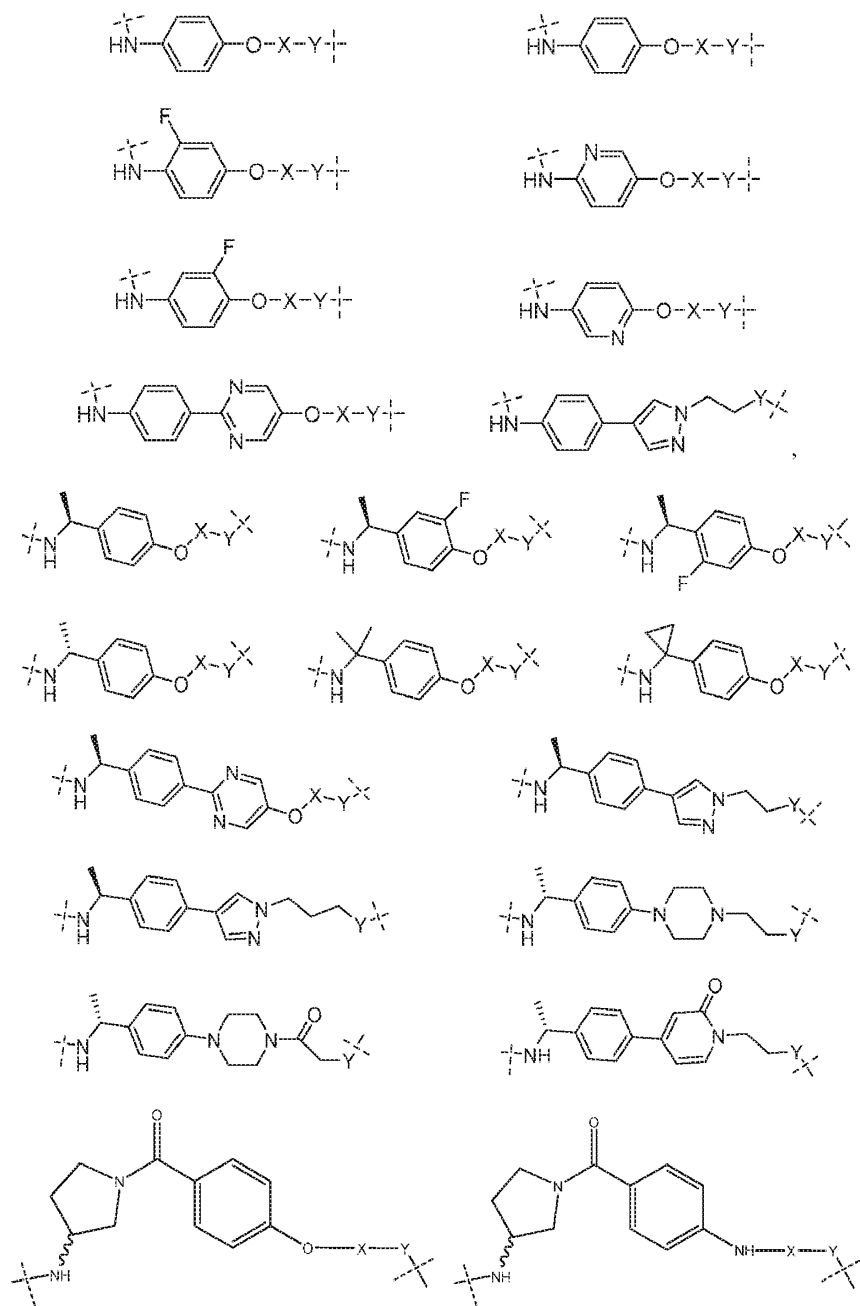


o



En determinadas realizaciones, "L" pueden ser cadenas no lineales y pueden ser restos cíclicos alifáticos o aromáticos

o heteroaromáticos, unos ejemplos de "L" incluyen, pero no se limitan a los siguientes:



en donde 'X' en las estructuras anteriores puede ser una cadena lineal con átomos que varían de 2 a 14, y la cadena mencionada puede contener heteroátomos, tales como oxígeno; y  
 "Y" en las estructuras anteriores puede ser O, N, S(O)<sub>n</sub> (n=0, 1, 2).

### PTM ilustrativos

El grupo PTM es un grupo, que se une a las proteínas diana. Las dianas del grupo PTM son numerosas y se seleccionan de proteínas que se expresan en una célula de tal manera que al menos una parte de las secuencias se encuentra en la célula y puede unirse a un grupo PTM. El término "proteína" incluye oligopéptidos y secuencias de polipéptidos de longitud suficiente para que puedan unirse a un grupo PTM de acuerdo con la presente divulgación. Cualquier proteína en un sistema eucariota o un sistema microbiano, incluyendo un virus, bacteria u hongo, como se describe de otro modo en el presente documento, son dianas para la ubiquitinación mediada por los compuestos de acuerdo con la presente invención. Preferentemente, la proteína diana es una proteína eucariota. El resto de unión a proteínas puede ser un haloalcano (preferentemente un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> que está sustituido con al menos un grupo halo, preferentemente un grupo halo en el extremo distal del grupo alquilo (es decir, lejos del enlazador o grupo CLM), que puede unirse covalentemente a una enzima deshalogenasa en un paciente o sujeto o en un ensayo de

diagnóstico.

Los grupos PTM como se desvelan en el presente documento, por ejemplo, incluyen cualquier resto que se una a una proteína específicamente (se une a una proteína diana) e incluye los siguientes ejemplos no limitantes de restos de proteínas diana de molécula pequeña: inhibidores de Hsp90, inhibidores de quinasa, inhibidores de HDM2 y MDM2, compuestos que se dirigen a proteínas que contienen bromodominio BET humano, inhibidores de HDAC, inhibidores de lisina metiltransferasa humana, inhibidores de la angiogénesis, compuestos de receptores de hormonas nucleares, compuestos inmunosupresores y compuestos que se dirigen al receptor de aril hidrocarburos (AHR), entre muchos otros. Las composiciones descritas a continuación ejemplifican algunos de los miembros de estos nueve tipos de restos de unión a proteína diana de molécula pequeña. Dichos restos de unión a proteínas diana de molécula pequeña también incluyen sales farmacéuticamente aceptables, enantiómeros, solvatos y polimorfos de estas composiciones, así como otras moléculas pequeñas que pueden dirigirse a una proteína de interés. Estos restos de unión se unen al resto de unión de ubiquitina ligasa preferentemente a través de un enlazador para presentar una proteína diana (a la que se une el resto de proteína diana) en las proximidades de la ubiquitina ligasa para ubiquitinación y degradación.

Cualquier proteína, que pueda unirse a un resto de proteína diana o grupo PTM y sobre la que actúa o degradada por una ubiquitina ligasa es una proteína diana como se desvela en el presente documento. En general, las proteínas diana pueden incluir, por ejemplo, proteínas estructurales, receptores, enzimas, proteínas de la superficie celular, proteínas pertinentes a la función integrada de una célula, incluyendo proteínas implicadas en la actividad catalítica, actividad aromataza, actividad motora, actividad helicasa, procesos metabólicos (anabolismo y catabolismo), actividad antioxidante, proteólisis, biosíntesis, proteínas con actividad quinasa, actividad oxidoreductasa, actividad transferasa, actividad hidrolasa, actividad liasa, actividad isomerasa, actividad ligasa, actividad reguladora enzimática, actividad transductora de señal, actividad de molécula estructural, actividad de unión (proteínas, carbohidratos lipídicos), actividad de receptor, motilidad celular, fusión de membranas, comunicación celular, regulación de procesos biológicos, desarrollo, diferenciación celular, respuesta a estímulos, proteínas de comportamiento, proteínas de adhesión celular, proteínas implicadas en la muerte celular, proteínas implicadas en el transporte (incluyendo actividad transportadora de proteínas, transporte nuclear, actividad de transportador de iones, actividad de transportador de canal, actividad vehículo, actividad permeasa, actividad de secreción, actividad del transportador de electrones, patogenicia, actividad reguladora de chaperona, actividad de unión de ácido nucleico, actividad reguladora de la transcripción, actividad de organización extracelular y biogénesis, actividad reguladora de la traducción. Las proteínas de interés pueden incluir proteínas de eucariotas y procariotas incluyendo seres humanos como dianas para la terapia con fármacos, otros animales, incluyendo animales domesticados, microbianos para la determinación de dianas para antibióticos y otros antimicrobianos y plantas, e incluso virus, entre muchos otros.

El grupo PTM puede ser un grupo haloalquilo, en donde dicho grupo alquilo generalmente varía en tamaño desde aproximadamente 1 o 2 carbonos hasta aproximadamente 12 carbonos de longitud, a menudo de aproximadamente 2 a 10 carbonos de longitud, a menudo de aproximadamente 3 carbonos a aproximadamente 8 carbonos de longitud, más a menudo de aproximadamente 4 carbonos a aproximadamente 6 carbonos de longitud. Los grupos haloalquilo son generalmente grupos alquilo lineales (aunque también pueden usarse grupos alquilo de cadena ramificada) y tienen una protección terminal en los extremos con al menos un grupo halógeno, preferentemente un solo grupo halógeno, a menudo un solo grupo cloruro. Los grupos haloalquilo PT descritos en el presente documento están preferentemente representados por la estructura química  $-(CH_2)_v-$ Halo donde v es cualquier número entero de 2 a 12, a menudo de aproximadamente 3 a aproximadamente 8, más a menudo de aproximadamente 4 a aproximadamente 6. Halo puede ser cualquier halógeno, pero es preferentemente Cl o Br, más a menudo Cl.

En otra realización, la presente divulgación proporciona una biblioteca de compuestos. La biblioteca comprende más de un compuesto en donde cada composición tiene una fórmula de A-B, en donde A es un resto de unión a proteínas de la ruta de ubiquitina (preferentemente, un resto de E3 ubiquitina ligasa como se desvela de otra manera en el presente documento) y B es un miembro de unión a proteínas de una biblioteca molecular, en donde A está acoplado (preferentemente, a través de un resto enlazador) a B, y en donde el resto de unión a la proteína de la ruta de la ubiquitina reconoce una proteína de la ruta de la ubiquitina, en particular, una E3 ubiquitina ligasa, tal como cereblon. En una realización particular, la biblioteca contiene un resto de unión de cereblon E3 ubiquitina ligasa específico unido a elementos de unión a proteínas diana al azar (por ejemplo, una biblioteca de compuestos químicos). Como tal, la proteína diana no se determina de antemano y el método puede usarse para determinar la actividad de un elemento de unión a proteína putativo y su valor farmacológico como diana tras la degradación por ubiquitina ligasa.

La presente invención puede usarse para tratar una serie de estados de enfermedad y/o afecciones, incluyendo cualquier estado de enfermedad y/o afección en los cuales las proteínas estén desreguladas y donde un paciente se beneficiaría de la degradación de proteínas.

En un aspecto adicional, la descripción proporciona composiciones terapéuticas que comprenden una cantidad eficaz de un compuesto como se describe en el presente documento o una forma de sal del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable, aditivo o excipiente y, opcionalmente, un agente bioactivo adicional. Las composiciones terapéuticas modulan la degradación de proteínas en un paciente o sujeto, por ejemplo, un animal tales como un ser humano, y puede usarse para tratar o mejorar estados de enfermedad o afecciones que se modulan a través de la proteína degradada. En determinadas realizaciones, las composiciones terapéuticas como se describen en el presente

documento pueden usarse para efectuar la degradación de proteínas de interés para el tratamiento o la mejora de una enfermedad, por ejemplo, cáncer. En determinadas realizaciones adicionales, la enfermedad es mieloma múltiple.

En aspectos alternativos, la presente divulgación se refiere a un método para tratar un estado de enfermedad o mejorar los síntomas de una enfermedad o afección en un sujeto que lo necesita mediante la degradación de una proteína o polipéptido a través del cual se modula un estado o afección de enfermedad que comprende administrar a dicho paciente o sujeto una cantidad eficaz, por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz, de al menos un compuesto como se describe anteriormente en el presente documento, opcionalmente en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable, aditivo o excipiente y, opcionalmente, un agente bioactivo adicional, en donde la composición es eficaz para tratar o mejorar la enfermedad o trastorno o síntoma de los mismos en el sujeto. El método descrito en el presente documento puede usarse para tratar una gran cantidad de estados de enfermedad o afecciones incluyendo cáncer, en virtud de la administración de cantidades eficaces de al menos un compuesto descrito en el presente documento. El estado o afección de la enfermedad puede ser una enfermedad provocada por un agente microbiano u otro agente exógeno tales como un virus, bacteria, hongo, protozoo u otro microbio o puede ser un estado de enfermedad, que está provocada por la sobreexpresión de una proteína, que conduce a un estado de enfermedad y/o afección.

En otro aspecto, la descripción proporciona métodos para identificar los efectos de la degradación de proteínas de interés en un sistema biológico usando compuestos de acuerdo con la presente invención.

El término "proteína diana" se usa para describir una proteína o polipéptido, que es una diana para la unión a un compuesto de acuerdo con la presente invención y la degradación por ubiquitina ligasa a continuación. Dichos restos de unión a proteínas diana de molécula pequeña también incluyen sales farmacéuticamente aceptables, enantiómeros, solvatos y polimorfos de estas composiciones, así como otras moléculas pequeñas que pueden dirigirse a una proteína de interés. Estos restos de unión están unidos a grupos CLM o ULM a través de grupos enlazadores L.

Las proteínas diana que pueden estar unidas al resto de proteína diana y degradadas por la ligasa a la que se une el resto de unión de ubiquitina ligasa incluyen cualquier proteína o péptido, incluyendo fragmentos de los mismos, análogos de los mismos y/u homólogos de los mismos. Las proteínas diana incluyen proteínas y péptidos que tienen cualquier función o actividad biológica, incluyendo estructurales, reguladoras, hormonales, enzimáticas, genéticas, inmunológicas, contráctiles, de almacenamiento, de transporte y de transducción de señales. En determinadas realizaciones, las proteínas diana incluyen proteínas estructurales, receptores, enzimas, proteínas de la superficie celular, proteínas pertinentes a la función integrada de una célula, incluyendo proteínas implicadas en la actividad catalítica, actividad aromataza, actividad motora, actividad helicasa, procesos metabólicos (anabolismo y catabolismo), actividad antioxidante, proteólisis, biosíntesis, proteínas con actividad quinasa, actividad oxidoreductasa, actividad transferasa, actividad hidrolasa, actividad liasa, actividad isomerasa, actividad ligasa, actividad reguladora enzimática, actividad transductora de señal, actividad de molécula estructural, actividad de unión (proteínas, carbohidratos lipídicos), actividad de receptor, motilidad celular, fusión de membranas, comunicación celular, regulación de procesos biológicos, desarrollo, diferenciación celular, respuesta a estímulos, proteínas de comportamiento, proteínas de adhesión celular, proteínas implicadas en la muerte celular, proteínas implicadas en el transporte (incluyendo actividad transportadora de proteínas, transporte nuclear, actividad de transportador de iones, actividad de transportador de canal, actividad vehículo, actividad permeasa, actividad de secreción, actividad del transportador de electrones, patogenicidad, actividad reguladora de chaperona, actividad de unión de ácido nucleico, actividad reguladora de la transcripción, actividad de organización extracelular y biogénesis, actividad reguladora de la traducción. Las proteínas de interés pueden incluir proteínas de eucariotas y procariotas, incluyendo microbios, virus, hongos y parásitos, incluyendo seres humanos, microbios, virus, hongos y parásitos, entre muchos otros, como dianas para terapia de fármacos, otros animales, incluyendo animales domesticados, microbianos para la determinación de dianas para antibióticos y otros antimicrobianos y plantas, e incluso virus, entre muchos otros.

Más específicamente, una serie de dianas farmacológicas para terapias humanas representan dianas proteicas a las que se puede unir e incorporar un resto proteico diana en los compuestos descritos en el presente documento. Estos incluyen proteínas que pueden usarse para restaurar la función en numerosas enfermedades poligénicas, incluyendo, por ejemplo, B7.1 y B7, TNFR1, TNFR2, NADPH oxidasa, BclBax y otros compañeros en la ruta de la apoptosis, receptor C5a, HMG-CoA reductasa, PDE V fosfodiesterasa tipo, PDE IV fosfodiesterasa tipo 4, PDE I, PDEII, PDEIII, inhibidor de escualeno ciclasa, CXCR1, CXCR2, óxido nítrico (NO) sintasa, ciclooxigenasa 1, ciclooxigenasa 2, receptores 5HT, receptores de dopamina, Proteínas G, es decir, Gq, receptores de histamina, 5-lipoxigenasa, triptasa serina, proteasa, timidilato sintasa, purina nucleósido fosforilasa, GAPDH tripanosómica, glucógeno fosforilasa, anhidrasa carbónica, receptores de quimiocina, JAW STAT, RXR y similares, proteasa del VIH 1, integrasa del VIH 1, gripe, neuramimidasa, transcriptasa inversa de la hepatitis B, canal de sodio, resistencia a múltiples fármacos (MDR), proteína P-glucoproteína (y MRP), tirosina quinasas, CD23, CD124, tirosina quinasa p56 lck, CD4, CD5, receptor IL-2, receptor IL-1, TNF-alfaR, ICAM1, canales Cat<sup>+</sup>, VCAM, VLA-4 integrina, selectinas, CD40/CD40L, newokininas y receptores, inosina monofosfato deshidrogenasa, p38 MAP quinasa, ruta Ras/Raf/MEK/ERK, enzima convertidora de interleucina-1, caspasa, VHC, proteasa NS3, helicasa de ARN NS3 de VHC, glicinamida ribonucleótido formil transferasa, proteasa de rinovirus 3C, virus del herpes simple 1 (VHS-I), proteasa, proteasa de citomegalovirus (CMV), poli(ADP-ribosa) polimerasa, quinasas dependientes de ciclina, factor de crecimiento endotelial vascular, receptor de oxitocina, inhibidor de la proteína de transferencia microsómica, inhibidor del transporte de ácidos biliares, inhibidores

de 5 alfa reductasa, angiotensina 11, receptor de glicina, receptor de recaptación de noradrenalina, receptores de endotelina, neuropéptido Y y receptor, receptores de estrógenos, receptor de andrógenos, receptores de adenosina, adenosina quinasa y AMP desaminasa, receptores purinérgicos (P2Y1, P2Y2, P2Y4, P2Y6, P2X1-7), farnesiltransferasas, geranilgeranil transferasa, receptor TrkA para NGF, beta-amiloide, tirosina quinasa Flk-1/KDR, receptor de vitronectina, receptor de integrina, Her-2/neu, inhibición de telomerasa, fosfolipasa A2 citosólica y receptor de tirosina quinasa de EGF. Las dianas proteicas adicionales incluyen, por ejemplo, ecdisona 20-monooxigenasa, canal iónico del canal de cloruro regulado por GABA, acetilcolinesterasa, proteína del canal de sodio sensible al voltaje, canal de liberación de calcio y canales de cloruro. Otras proteínas diana incluyen acetil-CoA carboxilasa, adenilossuccinato sintetasa, protoporfirinógeno oxidasa y enolpiruvilshikimato-fosfato sintasa.

Las enzimas haloalcano deshalogenasa son otra diana de los compuestos específicos descritos en el presente documento. Los compuestos descritos en el presente documento que contienen restos de unión a péptidos de cloroalcano (grupos halo alquilo C1-C12 a menudo de aproximadamente C2-C10) pueden usarse para inhibir y/o degradar las enzimas haloalcano deshalogenasas que se usan en proteínas de fusión o proteínas diagnósticas relacionadas como se describe en el documento PCT/US2012/063401 presentado el 6 de diciembre de 2011 y publicado como WO 2012/078559 el 14 de junio de 2012, los contenidos del cual se incorporan por referencia en el presente documento.

Estas diversas proteínas dianas pueden usarse en cribados que identifican restos de compuestos que se unen a la proteína y mediante la incorporación del resto en compuestos de acuerdo con la presente invención, el nivel de actividad de la proteína puede alterarse para obtener un resultado final terapéutico.

La expresión "resto de proteína diana" o PTM se usa para describir una pequeña molécula que se une a una proteína diana u otra proteína o polipéptido de interés y coloca/presenta esa proteína o polipéptido en las proximidades de una ubiquitina ligasa de tal manera que la degradación de la proteína o polipéptido pueda producirse por la ubiquitina ligasa. Los ejemplos no limitantes de restos de unión a proteínas diana de molécula pequeña incluyen inhibidores de Hsp90, inhibidores de quinasa, inhibidores de MDM2, compuestos que se dirigen a proteínas que contienen bromodominio BET humano, inhibidores de HDAC, inhibidores de lisina metiltransferasa humana, inhibidores de la angiogénesis, compuestos inmunosupresores y compuestos que se dirigen al receptor de aril hidrocarburos (AHR), entre muchos otros. Las composiciones descritas a continuación ejemplifican algunos de los miembros de estos nueve tipos de restos de proteína diana de molécula pequeña.

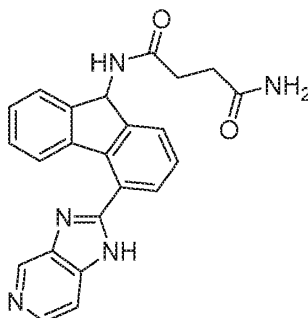
Los restos de proteína diana ilustrativos de acuerdo con la presente divulgación incluyen, inhibidores de haloalcano halogenasa, inhibidores de Hsp90, inhibidores de quinasa, inhibidores de MDM2, compuestos que se dirigen a proteínas que contienen bromodominio BET humano, inhibidores de HDAC, inhibidores de lisina metiltransferasa humana, inhibidores de la angiogénesis, compuestos inmunosupresores y compuestos que se dirigen al receptor de aril hidrocarburos (AHR).

Las composiciones descritas a continuación ejemplifican algunos de los miembros de estos tipos de restos de unión a proteína diana de molécula pequeña. Dichos restos de unión a proteínas diana de molécula pequeña también incluyen sales farmacéuticamente aceptables, enantiómeros, solvatos y polimorfos de estas composiciones, así como otras moléculas pequeñas que pueden dirigirse a una proteína de interés.

#### **I. Inhibidores de la proteína de choque térmico 90 (HSP90):**

Los inhibidores de HSP90 como se usan en el presente documento incluyen, pero no se limitan a:

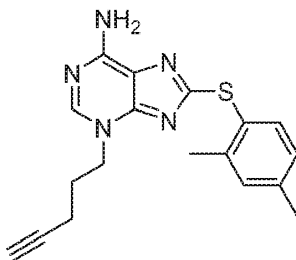
1. Los inhibidores de HSP90 identificados en Vallee, *et al.*, "Tricyclic Series of Heat Shock Protein 90 (HSP90) Inhibitors Part I: Discovery of Tricyclic Imidazo[4,5-C]Pyridines as Potent Inhibitors of the HSP90 Molecular Chaperone (2011) J. Med. Chem. 54: 7206, incluyendo YKB (N-[4-(3H-imidazo[4,5-C]Piridin-2-il)-9H-Fluoren-9-il]-succinamida):



derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través del grupo amida

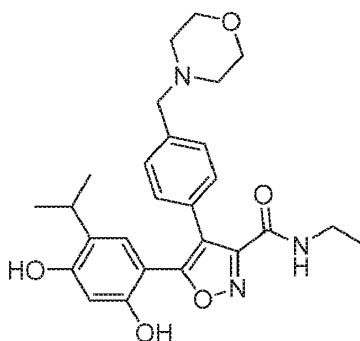
terminal;

2. El inhibidor de HSP90 p54 (modificado) (8-[(2,4-dimetilfenil)sulfanil]-3]pent-4-in-1-il-3H-purin-6-amina):



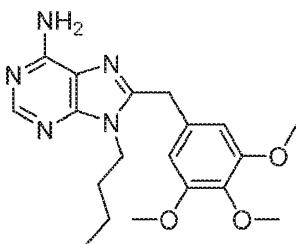
derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través del grupo acetileno terminal;

3. Los inhibidores de HSP90 (modificados) identificados en Brough, *et al.*, "4,5-Diarylisoazole HSP90 Chaperone Inhibitors: Potential Therapeutic Agents for the Treatment of Cancer", J.MED.CHEM. vol: 51, pag:196 (2008), incluyendo el compuesto 2GJ (5-[2,4-dihidroxi-5-(1-metiletil)fenil]-n-etil-4-[4-(morfolin-4-ilmetil)fenil]isoxazol-3-carboxamida) que tiene la estructura:



derivatizado, donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través del grupo amida (en la amina o en el grupo alquilo de la amina);

4. Los inhibidores de HSP90 (modificados) identificados en Wright, *et al.*, Structure-Activity Relationships in Purine-Based Inhibitor Binding to HSP90 Isoforms, Chem Biol. junio de 2004;11(6):775-85, incluyendo el inhibidor de HSP90 PU3 que tiene la estructura:



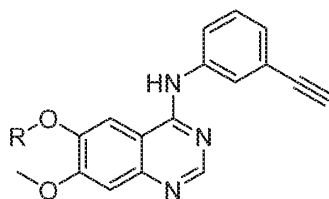
derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o -(L-CLM), por ejemplo, a través del grupo butilo; y

5. El inhibidor de HSP90 geldanamicina ((4E,6Z,8S,9S,10E,12S,13R,14S,16R)-13-hidroxi-8,14,19-trimetoxi-4,10,12,16-tetrametil-3,20,22-trioxo-2-azabicyclo [16.3.1] (derivatizado) o cualquiera de sus derivados (por ejemplo 17-alquilamino-17-desmetoxigeldanamicina ("17-AAG") o 17- (2-dimetilaminoetil) amino-17-desmetoxigeldanamicina ("17-DMAG")) (derivatizado, donde se fija un grupo enlazador L o un -(L-CLM), por ejemplo, a través del grupo amida).

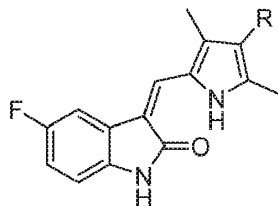
## II. Inhibidores de quinasa y fosfatasa:

Los inhibidores de quinasa como se usan en el presente documento incluyen, pero no se limitan a:

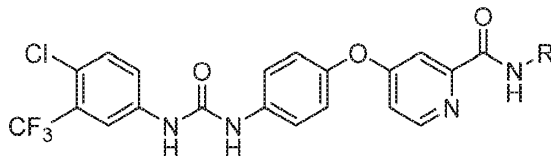
1. Inhibidor de tirosina quinasa derivado de erlotinib:



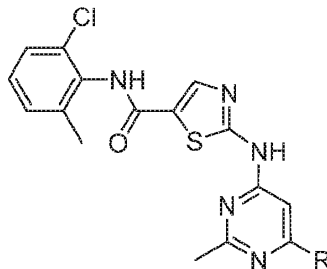
donde R es un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM) fijado, por ejemplo, a través del grupo éter;  
**2.** El inhibidor de quinasa sunitinib (derivatizado):



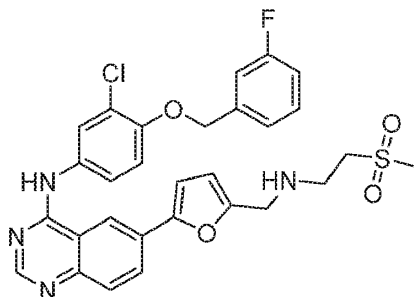
derivatizado donde R es un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM) fijado, por ejemplo, al resto pirrol;  
**3.** Inhibidor de quinasa sorafenib (derivatizado):



derivatizado donde R es un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM) fijado, por ejemplo, al resto amida;  
**4.** El inhibidor de la quinasa desatinib (derivatizado):



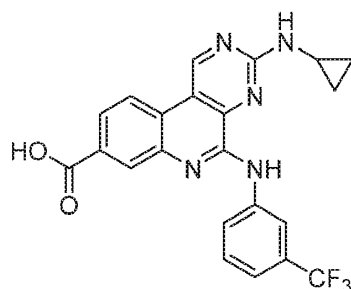
derivatizado donde R es un grupo enlazador L o un -(L-CLM) fijado, por ejemplo, a la pirimidina;  
**5.** El inhibidor de quinasa lapatinib (derivatizado):



derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través del metilo terminal del grupo metil sulfonilo;

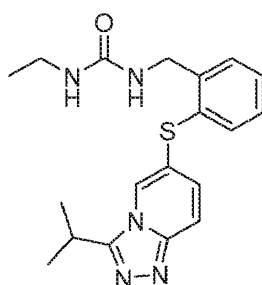
**6.** El inhibidor de quinasa U09-CX-5279 (derivatizado):



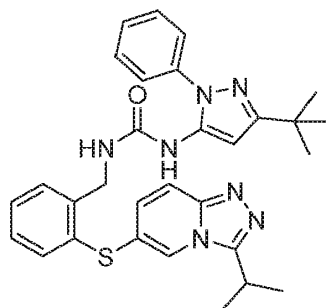


derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través de la amina (anilina), el grupo ácido carboxílico o la amina alfa al grupo ciclopropilo, o al grupo ciclopropilo;

- 5 **7.** Los inhibidores de quinasa identificados en Millan, *et al.*, Design and Synthesis of Inhaled P38 Inhibitors for the Treatment of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, J.MED.CHEM. vol:54, pag:7797 (2011), incluyendo los inhibidores de quinasas Y1W e Y1X (Derivatizados) que tienen las estructuras:

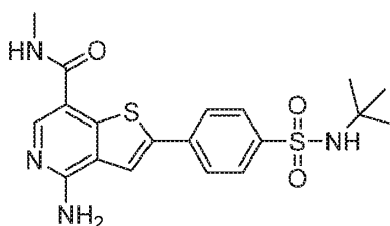


- 10 **YIX** (1-etil-3-(2-([3-(1-metiletil)[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il]sulfanil)bencil)urea, derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través del grupo 'propilo;

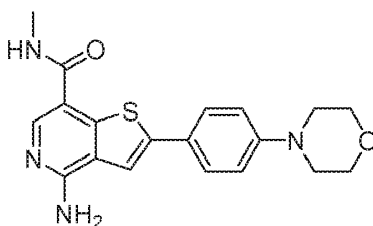


- 15 **YIW** 1-(3-*terc*-butil-1-fenil-1H-pirazol-5-il)-3-(2-([3-(1-metiletil)[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-ilo]sulfanil)bencil)urea derivatizada donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, preferentemente a través de cualquiera del grupo *i*-propilo o el grupo *t*-butilo;

- 20 **8.** Los inhibidores de quinasa identificados en Schenkel, *et al.*, Discovery of Potent and Highly Selective Thienopyridine Janus Kinase 2 Inhibitors J. Med. Chem., 2011, 54 (24), pp 8440-8450, incluyendo los compuestos 6TP y 0TP (Derivatizados) que tienen las estructuras:

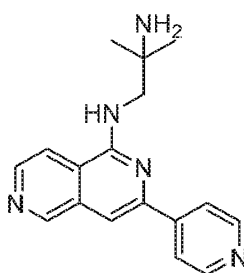


- 25 **6TP** 4-amino-2-[4-(*terc*-butilsulfamoil)fenil]-N-metiltieno[3,2-c]piridin-7-carboxamida Tienopiridina 19 derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo (L-CLM), por ejemplo, a través del grupo metilo terminal unido al resto amida;



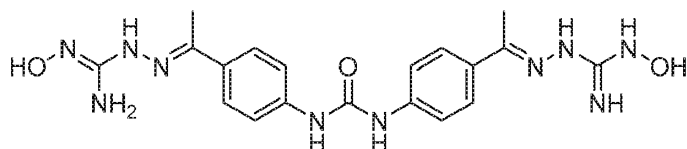
OTP 4-amino-N-metil-2-[4-(morfolin-4-il)fenil]tieno[3,2-c]piridin-7-carboxamida Tienopiridina 8 derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través del grupo metilo terminal unido al resto amida:

9. Los inhibidores de quinasa identificados en Van Eis, *et al.*, "2,6-Naphthyridines as potent and selective inhibitors of the novel protein kinase C isozymes", Biorg. Med. Chem. Lett.15 de dic. de 2011;21(24):7367-72, incluyendo el inhibidor de quinasa 07U que tiene la estructura:



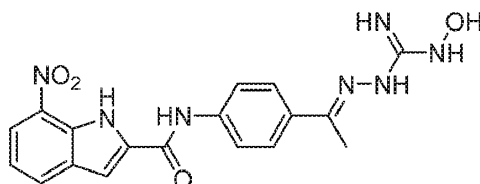
07U 2-metil-N~1~-~[3-(piridin-4-il)-2,6-naftiridin-1-il]propano-1,2-diamina derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través de la amina secundaria o del grupo amino terminal;

10. Los inhibidores de quinas identificados en Lountos, *et al.*, "Structural Characterization of Inhibitor Complexes with Checkpoint Kinase 2 (Chk2), a Drug Target for Cancer Therapy", J.STRUCT.BIOL. vol:176, pág:292 (2011), incluyendo el inhibidor de quinas YCF que tiene la estructura:

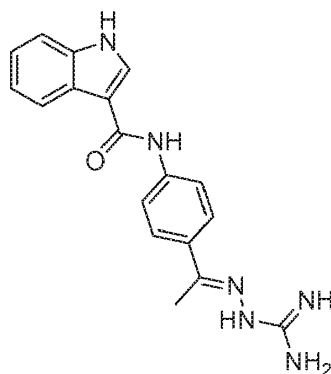


derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través de cualquiera de los grupos hidroxilo terminales;

**11. Los inhibidores de quinasas identificados en Lountos, *et al.*, "Structural Characterization of Inhibitor Complexes with Checkpoint Kinase 2 (Chk2), a Drug Target for Cancer Therapy", J.STRUCT.BIOL. vol:176. pág:292 (2011), incluyendo los inhibidores de quinasas XK9 y NXP (derivatizados) que tienen las estructuras:**



XK9 N-{4-[(1E)-N-(N-hidroxicarbamimidoil)etanohidrazonoil]pneil}-7-nitro-1H-indol-2-carboxamida;

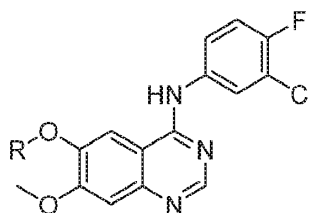


NXP N-{4-[(1E)-N-CARBAMIMIDOILETANHIDRAZONOIL]FENIL}-1H-INDOL-3-CARBOXAMIDA derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través del grupo hidroxilo terminal (XK9) o el grupo hidrazona (NXP);

**12.** El inhibidor de quinasa afatinib (derivatizado) (N-[4-[(3-cloro-4-fluorofenil)amino]-7-[(3S)-tetrahydro-3-furanil]oxi]-6-quinazolinil]-4(dimetilamino)-2-butenamida) (derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través del grupo amina alifática);

**13.** El inhibidor de quinasa fostamatinib (derivatizado) (hexahidrato de fosfato [6-({5-fluoro-2-[(3,4,5-trimetoxifenil)amino]pirimidin-4-il}amino)-2,2-dimetil-3-oxo-2,3-dihidro-4H-pirido[3,2-b]-1,4-oxazin-4-il]metil disódico) (Derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través de un grupo metoxi);

**14.** El inhibidor de quinasa gefitinib (derivatizado) (N-(3-cloro-4-fluoro-fenil)-7-metoxi-6-(3-morfolin-4-ilpropoxi)quinazolin-4-amina);



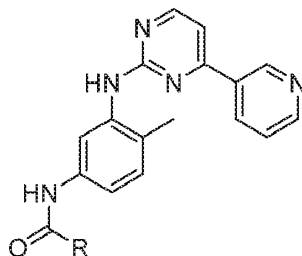
derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través de un grupo metoxi o éter;

**15.** El inhibidor de quinasa lenvatinib (derivatizado) (4-[3-cloro-4-(ciclopropilcarbamoilamino)fenoxil]-7-metoxi-quinolin-6-carboxamida) (derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través del grupo ciclopropilo);

**16.** El inhibidor de quinasa vandetanib (derivatizado) (N-(4-bromo-2-fluorofenil)-6-metoxi-7-[(1-metilpiperidin-4-il) metoxi] quinazolin-4-amina) (derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través del grupo metoxi o hidroxilo);

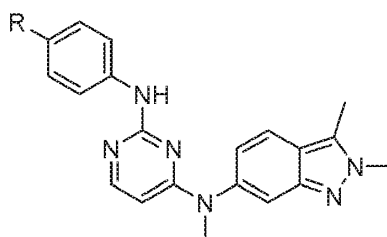
**17.** El inhibidor de quinasa vemurafenib (derivatizado) (ácido {3-[5-(4-clorofenil)-1H-pirrol-2,3-b]piridin-3-carbonil}-2,4-difluoro-fenil)-amida propano-1-sulfónico), derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través del grupo sulfonil propilo;

**18.** El inhibidor de quinasa Gleevec (derivatizado):



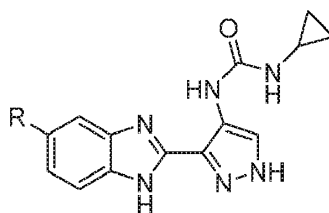
derivatizado donde se fija R como un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través del grupo amida o a través del grupo amina anilina;

**19.** El inhibidor de quinasa pazopanib (derivatizado) (inhibidor de VEGFR3):



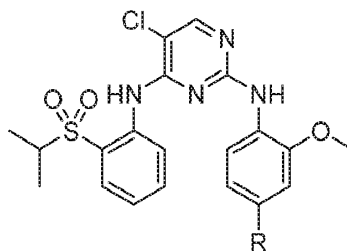
derivatizado donde R es un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM) fijado, por ejemplo, al resto fenilo o a través del grupo anilina amina;

5 **20.** El inhibidor de quinasa AT-9283 (derivatizado) Inhibidor de Aurora quinasa



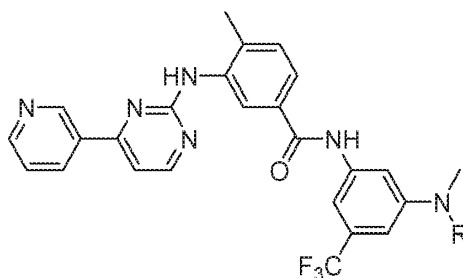
donde R es un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM) fijado, por ejemplo, al resto fenilo);

10 **21.** El inhibidor de quinasa TAE684 (derivatizado) Inhibidor de ALK



donde R es un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM) fijado, por ejemplo, al resto fenilo);

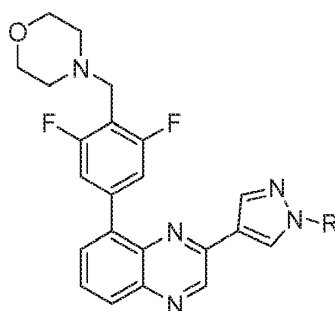
15 **22.** El inhibidor de quinasa nilotanib (derivatizado) Inhibidor de Abl:



derivatizado donde R es un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM) fijado, por ejemplo, al resto fenilo o al grupo anilina amina;

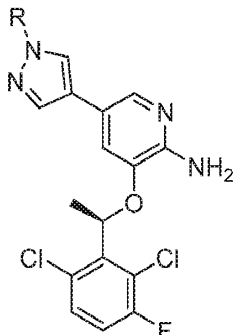
20

**23.** Inhibidor de quinasa NVP-BSK805 (derivatizado) Inhibidor de JAK2



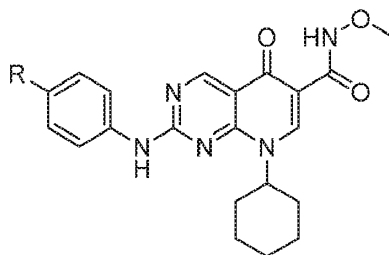
derivatizado donde R es un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM) fijado, por ejemplo, al resto fenilo o al grupo diazol;

**24.** Inhibidor de quinasa crizotinib Derivatizado Inhibidor de Alk



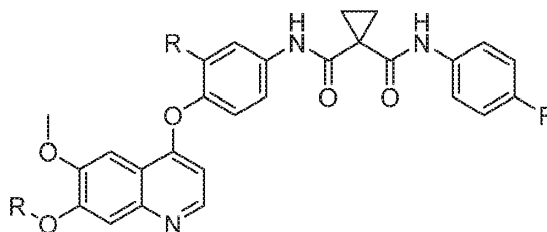
derivatizado donde R es un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM) fijado, por ejemplo, al resto fenilo o al grupo diazol;

**25.** Inhibidor de quinasa JNJ Inhibidor de FMS (derivatizado)



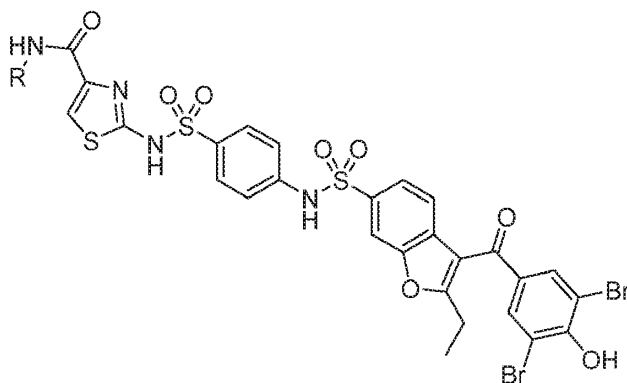
derivatizado donde R es un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM) fijado, por ejemplo, al resto fenilo;

**26.** El inhibidor de quinasa foretinib (derivatizado) Inhibidor de Met



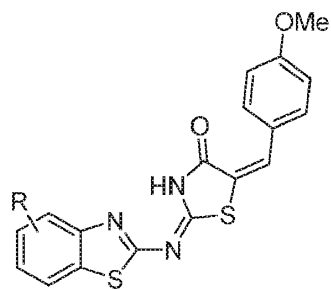
derivatizado donde R es un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM) fijado, por ejemplo, al resto fenilo o un grupo hidroxilo o éter en el resto quinolina;

**27.** El inhibidor alostérico de la proteína tirosina fosfatasa PTP1B (derivatizado):

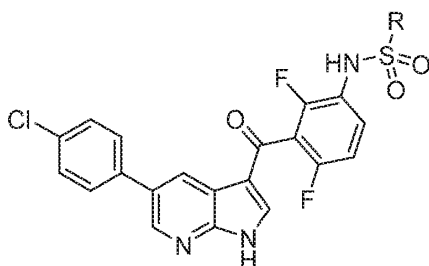


derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, en R, como se indica;

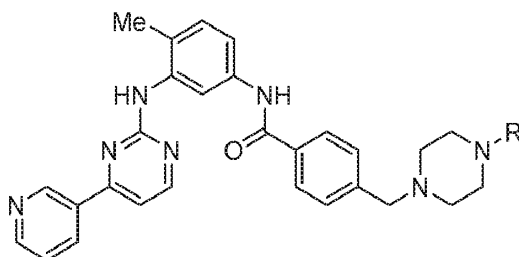
**28.** El inhibidor del dominio SHP-2 de la tirosina fosfatasa (derivatizado):



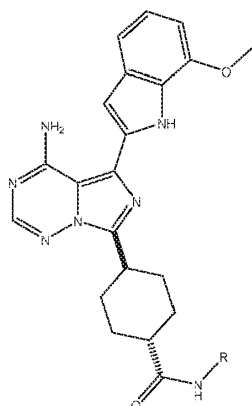
derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, en R;  
**29.** El inhibidor (derivatizado) de BRAF (BRAF<sup>V600E</sup>)/MEK:



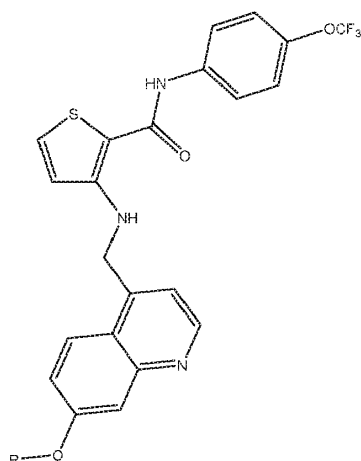
derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, en R;  
**30.** Inhibidor (derivatizado) de tirosina quinasa ABL



derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, en R;  
**31.** El inhibidor de quinasa OSI-027 (derivatizado) inhibidor de mTORC1/2

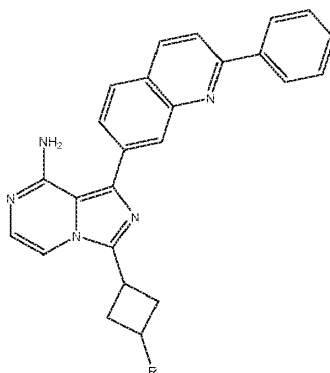


derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, en R;  
**32.** El inhibidor de quinasa OSI-930 (derivatizado) Inhibidor de c-Kit/KDR



derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, en R; y  
**33.** El inhibidor de quinasa OSI-906 (derivatizado) Inhibidor de IGF1R/IR

5



derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, en R.

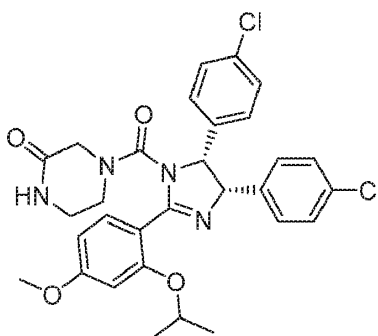
- 10 En donde, en cualquiera de las realizaciones descritas en las secciones I-XVII, "R" designa un sitio para la fijación de un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM) en el resto piperazina.

### **III. Inhibidores de HDM2/MDM2:**

- 15 Los inhibidores de HDM2/MDM2 como se usan en el presente documento incluyen, pero no se limitan a:

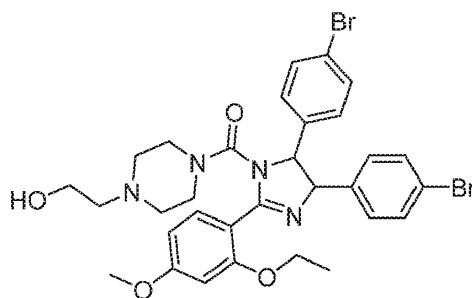
1. Los inhibidores de HDM2/MDM2 identificados en Vassilev, *et al.*, *In vivo* activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2, *SCIENCE* vol:303, pág:844-848 (2004), y Schneekloth, *et al.*, Targeted intracellular protein degradation induced by a small molecule: En route to chemical proteomics, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 18 (2008) 5904-5908, incluyendo (o adicionalmente) los compuestos nutlina-3, nutlina-2 y nutlina-1 (derivatizado) como se describe a continuación, así como todos los derivados y análogos de los mismos:

20

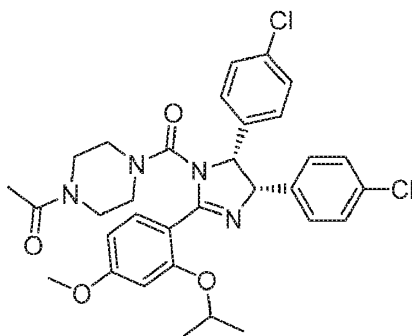


- (derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, en el grupo metoxi o como un grupo hidroxilo);

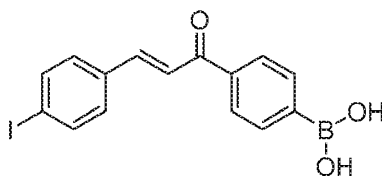
25



- 5 (derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, en el grupo metoxi o el grupo hidroxilo);



- 10 (derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través del grupo metoxi o como un grupo hidroxilo); y  
2. Trans-4-Yodo-4'-Boranil-Calcona

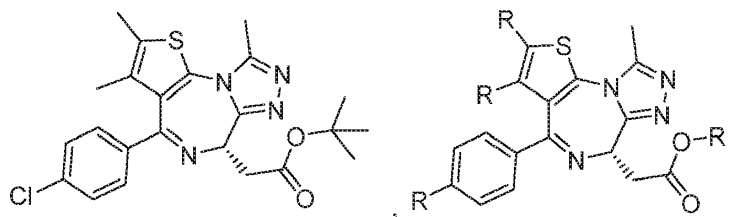


- 15 (derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través de un grupo hidroxilo).

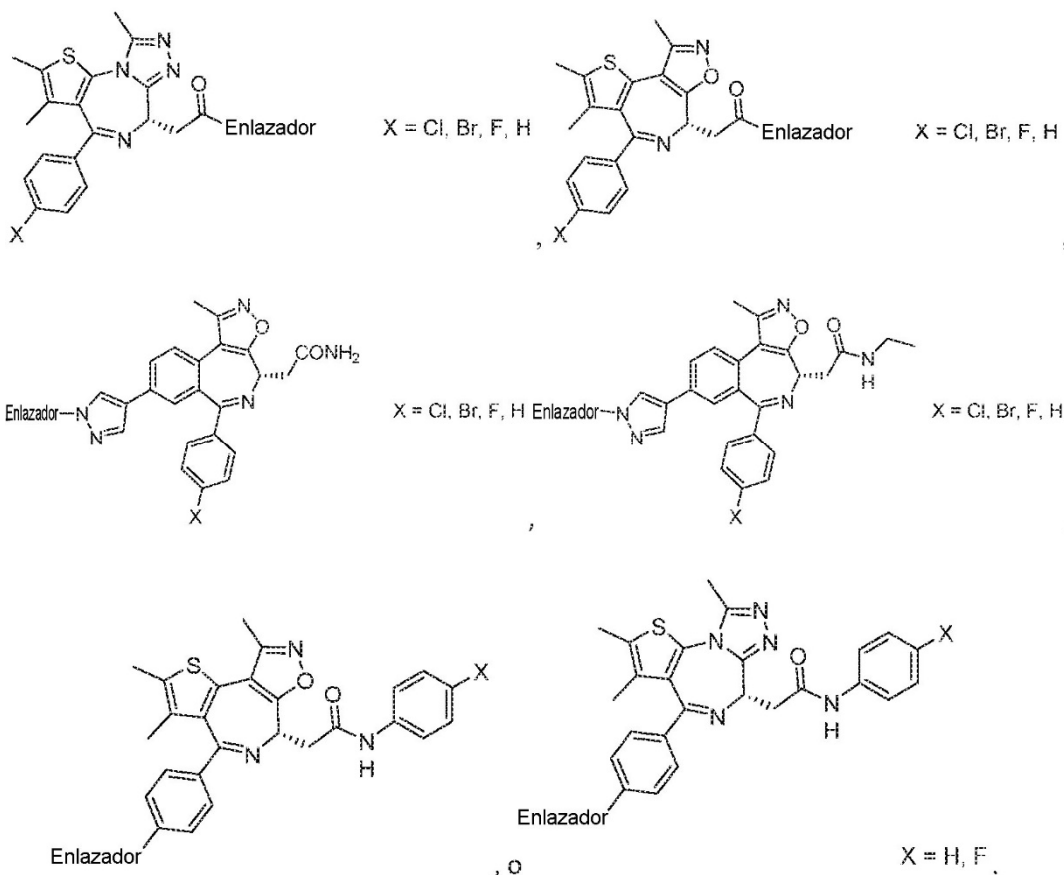
#### **IV. Compuestos que se dirigen a proteínas que contienen bromodominio BET humano:**

- 20 En determinadas realizaciones, los "PTM" pueden ser ligandos que se unen a las proteínas bromo y extra-terminales (BET) BRD2, BRD3 y BRD4. Los compuestos que se dirigen a proteínas que contienen bromodominio BET humano incluyen, pero no se limitan a los compuestos asociados a las dianas como se describe a continuación, donde "R" o "enlazador" designa un sitio para el grupo de enlazador L o una fijación del grupo -(L-CLM), por ejemplo:

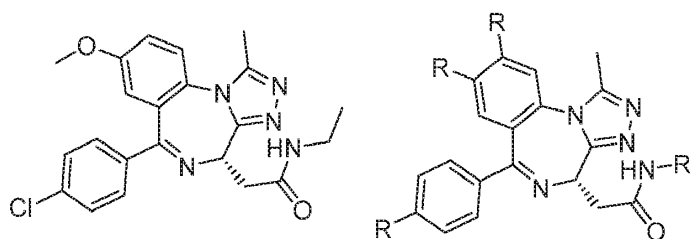
- 25 1. JQ1, Filippakopoulos *et al.* Selective inhibition of BET bromodomains. Nature (2010):



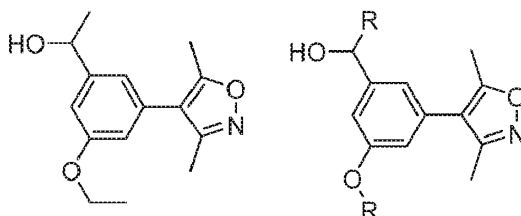




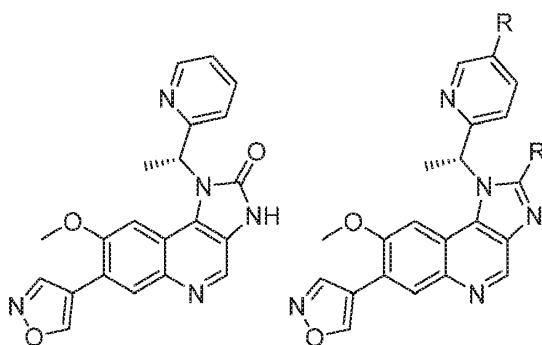
2. I-BET, Nicodeme *et al.* Suppression of Inflammation by a Synthetic Histone Mimic. Nature (2010). Chung *et al.* Discovery and Characterization of Small Molecule Inhibitors of the BET Family Bromodomains. J. Med. Chem. (2011):



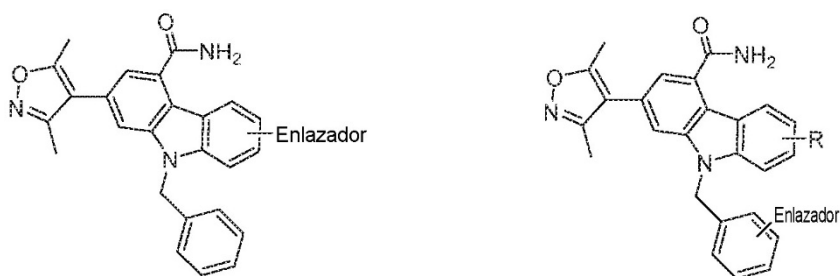
3. Compuestos descritos en Hewings *et al.* 3,5-Dimethylisoxazoles Act as Acetyl-lysine Bromodomain Ligands. J. Med. Chem. (2011) 54 6761-6770.



4. I-BET151, Dawson *et al.* Inhibition of BET Recruitment to Chromatin as an Effective Treatment for MLL-fusion Leukemia. Nature (2011):

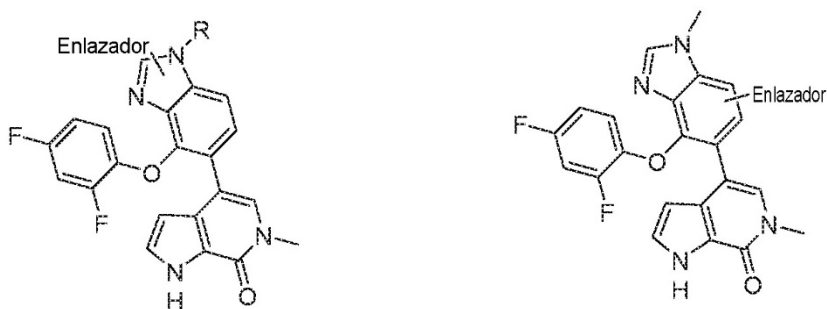


5. Tipo de carbazol (documento US 2015/0256700)



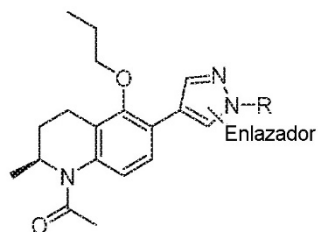
5

6. Tipo de pirrolopiridona (documento US 2015/0148342)



10

7. Tipo de tetrahidroquinolina (documento WO 2015/074064)



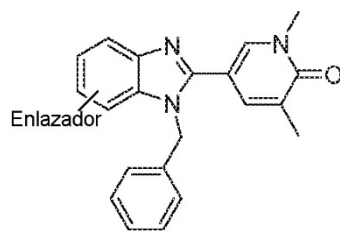
15

8. Tipo de triazolopirazina (documento WO 2015/067770)

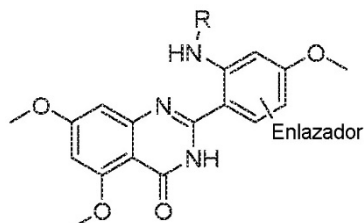


20

9. Tipo de piridona (documento WO 2015/022332)



10. Tipo de quinazolinona (documento WO 2015/015318)



5

11. Tipo de dihidropiridopirazinona (documento WO 2015/011084)

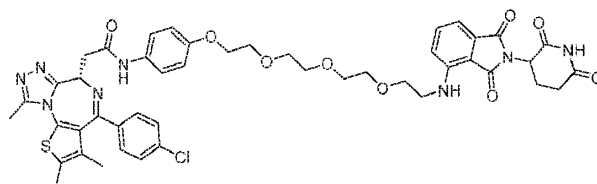
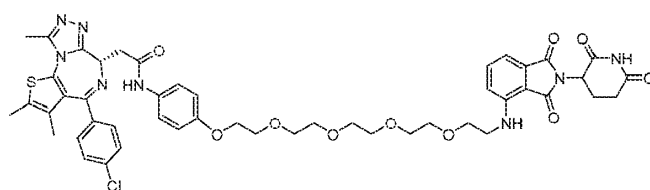


10

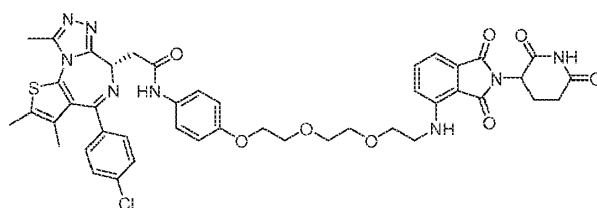
(Donde R o L o enlazador, en cada caso, designa un sitio para la fijación, por ejemplo, de un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM)).

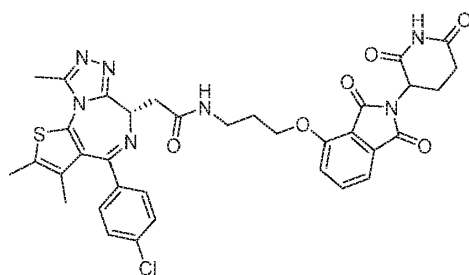
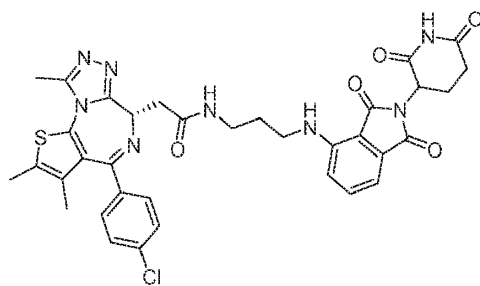
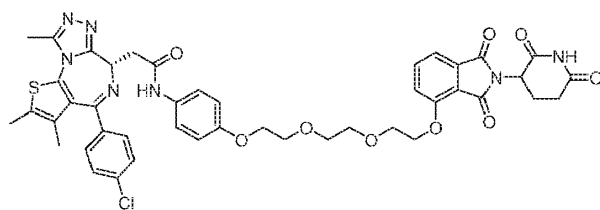
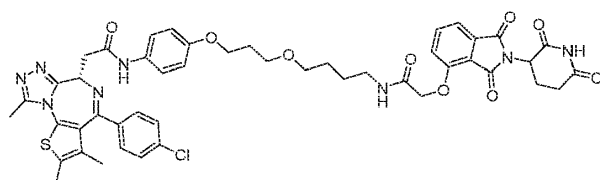
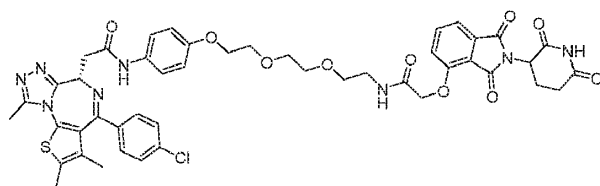
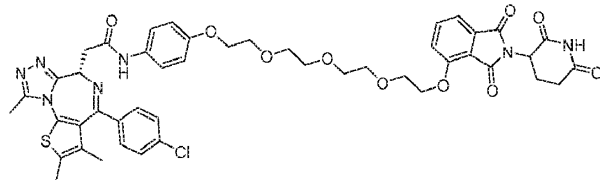
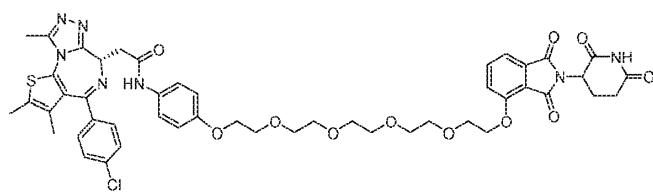
Las siguientes moléculas químicas que usan ligandos de cereblon son representantes de BET PROTAC. La metodología descrita en esta invención no se limita a estos ejemplos.

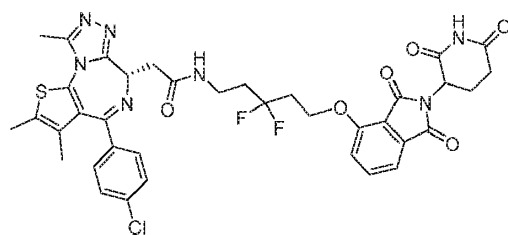
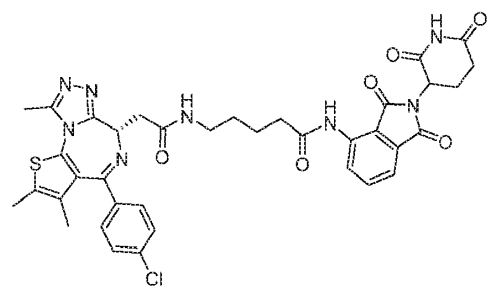
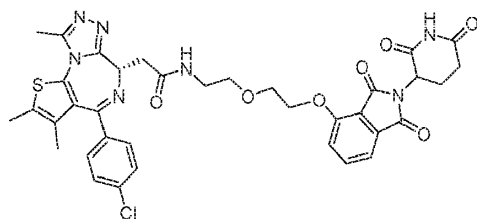
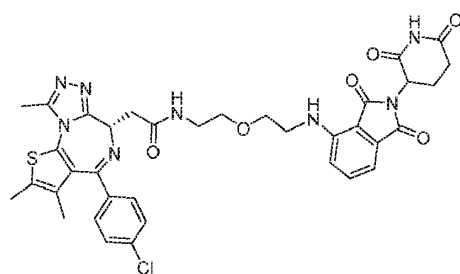
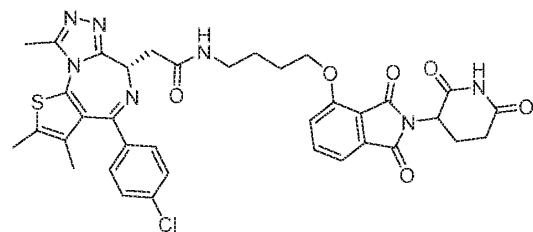
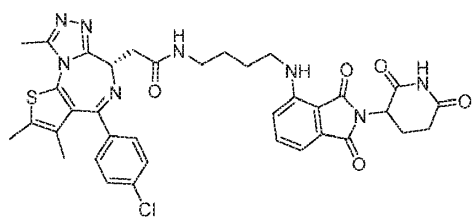
15

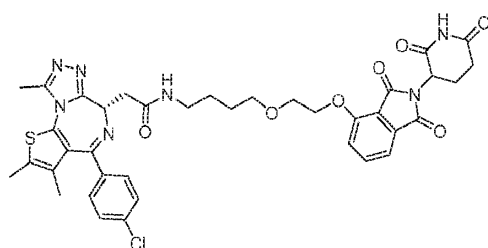
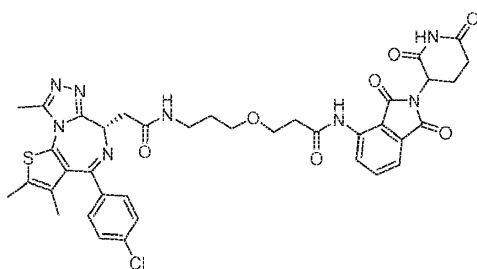
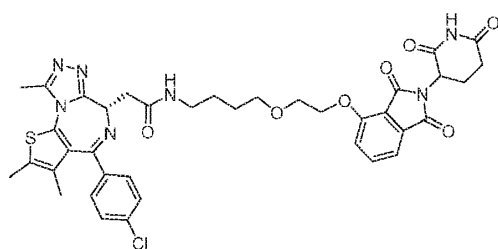
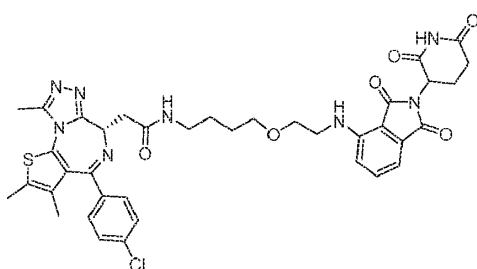
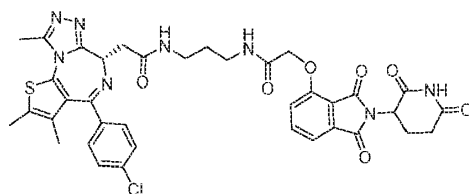
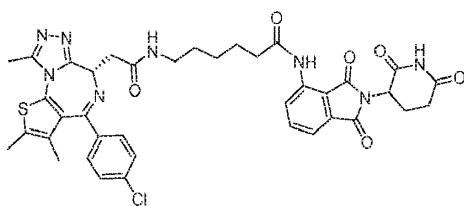


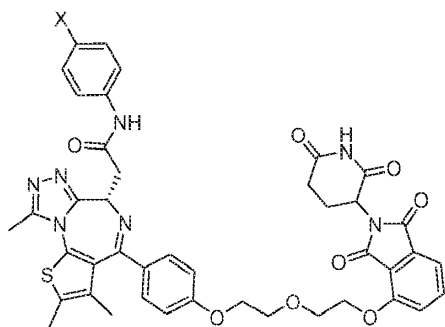
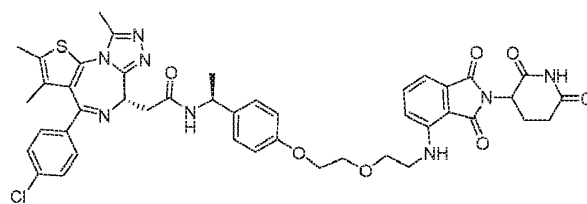
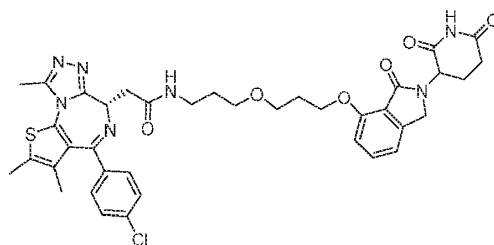
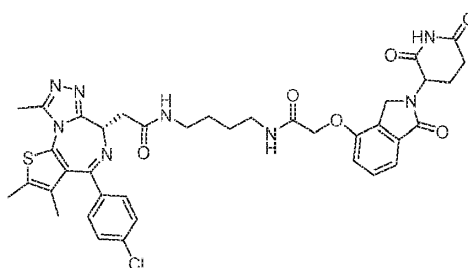
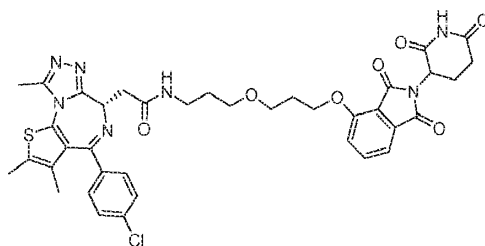
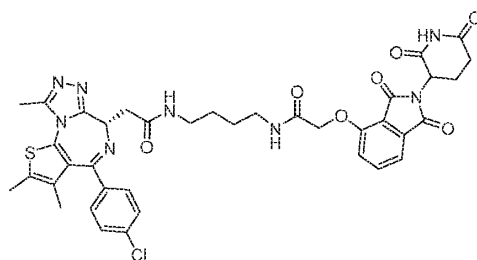
20

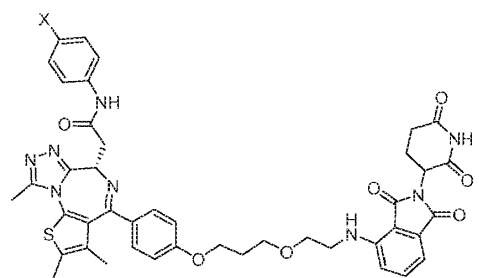
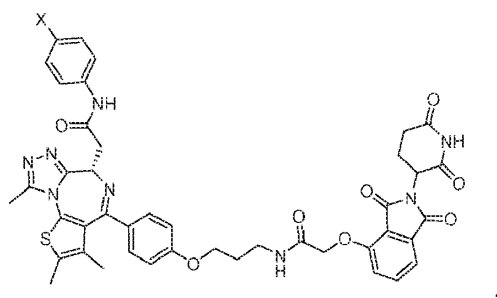
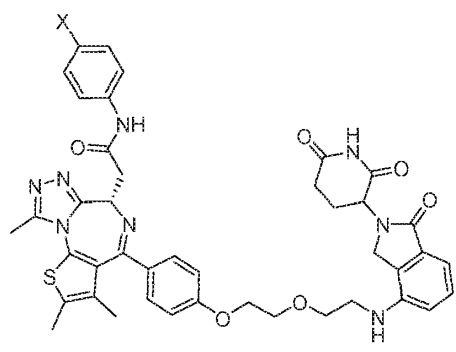
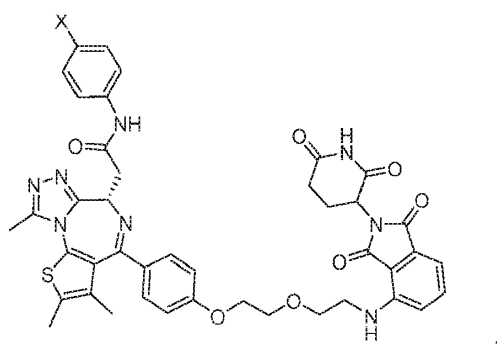
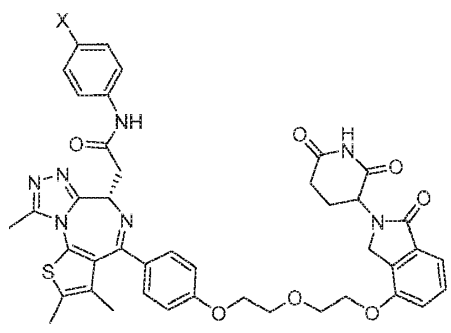




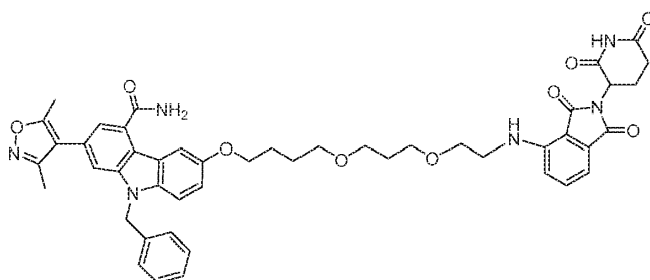
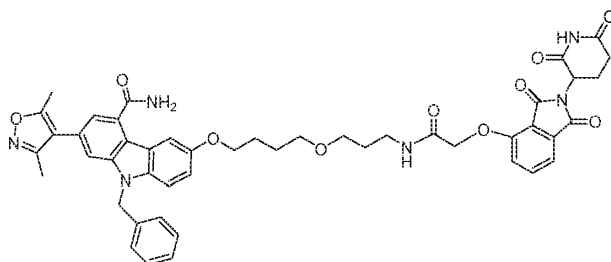
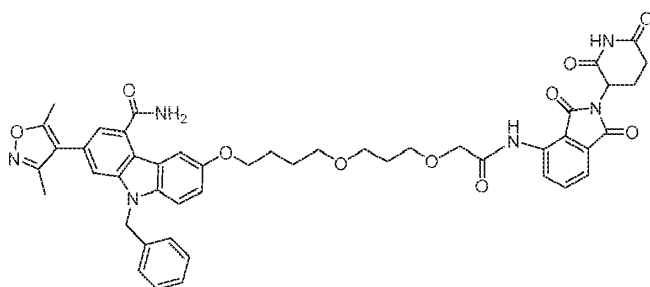








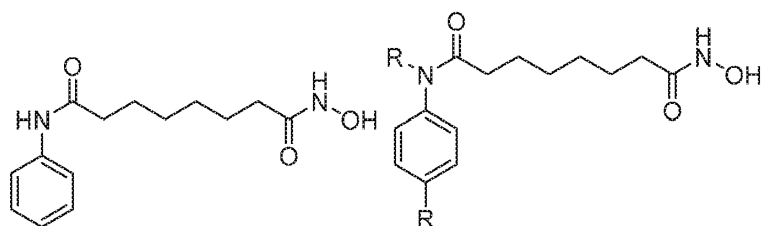




#### V. Inhibidores de HDAC:

Los inhibidores de HDAC (derivatizados) incluyen, pero no se limitan a:

1. Finnin, M. S. *et al.* Structures of Histone Deacetylase Homologue Bound to the TSA and SAHA Inhibitors. *Nature* 40, 188-193 (1999).



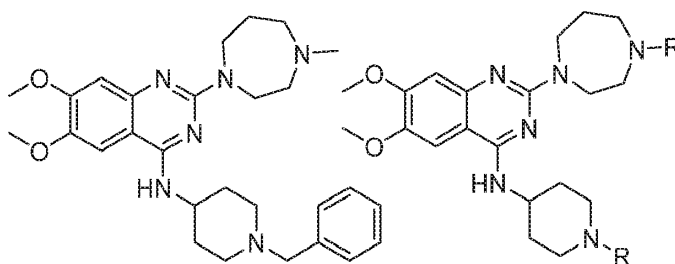
(Derivatizado donde "R" designa un sitio para la fijación, por ejemplo, de un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM); y

2. Compuestos como se definen por la fórmula (I) del documento PCT WO0222577 ("DEACETYLASE INHIBITORS") (Derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través del grupo hidroxilo);

#### VI. Inhibidores de lisina metiltransferasa humana:

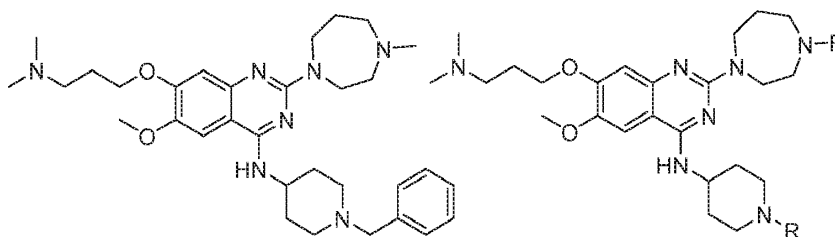
Los inhibidores de lisina metiltransferasa humana incluyen, pero no se limitan a:

1. Chang *et al.* Structural Basis for G9a-Like protein Lysine Methyltransferase Inhibition by BIX-1294. *Nat. Struct. Biol.* (2009) 16(3) 312.



(Derivatizado donde "R" designa un sitio para la fijación, por ejemplo, de un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM);

- 5 2. Liu, F. et al Discovery of a 2,4-Diamino-7-aminoalkoxyquinazoline as a Potent and Selective Inhibitor of Histone Methyltransferase G9a. J. Med. Chem. (2009) 52(24) 7950.



10 (Derivatizado donde "R" designa un sitio potencial para la fijación, por ejemplo, de un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM);

3. Azacitidina (derivatizada) (4-amino-1-β-D-ribofuranosil-1,3,5-triazin-2(1H)-ona) (Derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través de los grupos hidroxilo o amino); y

15 4. Decitabina (derivatizada) (4-amino-1-(2-desoxi-b-D-eritropentofuranosil)-1,3,5-triazin-2(1H)-ona) (Derivatizado donde se fija un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a través de cualquiera de los grupos hidroxilo o en el grupo amino).

## VII. Inhibidores de la angiogénesis:

20 Los inhibidores de la angiogénesis incluyen, pero no se limitan a:

1. GA-1 (derivatizado) y derivados y análogos del mismo, que tienen la estructura o estructuras y unión a enlazadores como se describe en Sakamoto, *et al.*, Development of Protacs to target cancer-promoting proteins for ubiquitination and degradation, Mol Cell Proteomics dic. de 2003;2(12):1350-8;

25 2. Estradiol (derivatizado), que puede estar unido a un grupo enlazador L o un grupo - (L-CLM) como se describe generalmente en Rodríguez-González, *et al.* Targeting steroid hormone receptors for ubiquitination and degradation in breast and prostate cancer, Oncogene (2008) 27, 7201-7211;

30 3. Estradiol, testosterona (derivatizada) y derivados relacionados, incluyendo pero no limitado a DHT y derivados y análogos del mismo, que tienen la estructura o estructuras y unión a un grupo enlazador L o un grupo - (L-CLM) como se describe generalmente en Sakamoto, *et al.*, Development of Protacs to target cancer-promoting proteins for ubiquitination and degradation, Mol Cell Proteomics dic. de 2003; 2(12):1350-8; y

35 4. Ovalicina, fumagilina (derivatizada) y derivados y análogos de las mismas, que tienen la estructura o estructuras y unión a un grupo enlazador L o un grupo - (L-CLM) como se describe generalmente en Sakamoto, *et al.*, Protacs: chimeric molecules that target proteins to the Skp1-Cullin-F box complex for ubiquitination and degradation Proc Natl Acad Sci USA. 17 de jul. de 2001;98(15):8554-9 y la Patente de Estados Unidos N.º 7.208.157.

## VIII. Compuestos inmunosupresores:

Los compuestos inmunosupresores incluyen, pero no se limitan a:

40 1. AP21998 (derivatizado), que tiene la estructura o estructuras y unión a un grupo enlazador L o un grupo - (L-CLM) como se describe generalmente en Schneekloth, *et al.*, Chemical Genetic Control of Protein Levels: Selective *in Vivo* Targeted Degradation, J. AM. CHEM. SOC. 2004, 126, 3748-3754;

45 2. Glucocorticoides (por ejemplo, hidrocortisona, prednisona, prednisolona y metilprednisolona) (Derivatizado donde ha de unirse un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a cualquiera de los hidroxilos) y dipropionato de beclometasona (derivatizado donde se une un grupo enlazador o un -(L-CLM), por ejemplo a un propionato);

3. Metotrexato (derivatizado donde puede unirse un grupo enlazador o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, a cualquiera de los hidroxilos terminales);

50 4. Ciclosporina (derivatizada donde puede unirse un grupo enlazador o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, en

cualquiera de los grupos butilo);

5. Tacrolimus (FK-506) y rapamicina (Derivatizado donde puede unirse un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, en uno de los grupos metoxi); y

6. Actinomicinas (Derivatizadas donde puede unirse un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo, en uno de los grupos isopropilo).

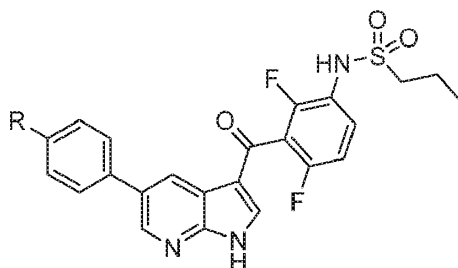
#### **IX. Compuestos que se dirigen al receptor de aril hidrocarburos (AHR):**

Los compuestos que se dirigen al receptor de aril hidrocarburos (AHR) incluyen, pero no se limitan a:

1. Apigenina (Derivatizada de una manera que se une a un grupo enlazador L o un grupo - (L-CLM) como se ilustra generalmente en Lee, *et al.*, Targeted Degradation of the Aryl Hydrocarbon Receptor by the PROTAC Approach: A Useful Chemical Genetic Tool, ChemBioChem Volumen 8, Artículo 17, páginas 2058-2062, 23 de noviembre de 2007); y

2. SRI y LGC006 (derivatizados de tal manera que se una un grupo enlazador L o un -(L-CLM)), como se describe en Boitano, *et al.*, Aryl Hydrocarbon Receptor Antagonists Promote the Expansion of Human Hematopoietic Stem Cells, Science 10 de septiembre de 2010: Vol. 329 n.º 5997 pp. 1345-1348.

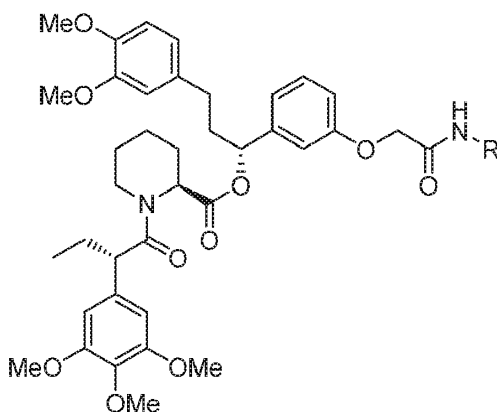
#### **X. Compuestos que se dirigen al receptor RAF (quinasa):**



PLX4032

(Derivatizado donde "R" designa un sitio para la fijación del grupo enlazador L o el grupo (L-CLM), por ejemplo).

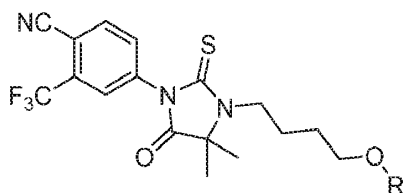
#### **XI. Compuestos que se dirigen a FKBP:**



(Derivatizado donde "R" designa un sitio para la fijación de un grupo enlazador L o un grupo (L-CLM), por ejemplo).

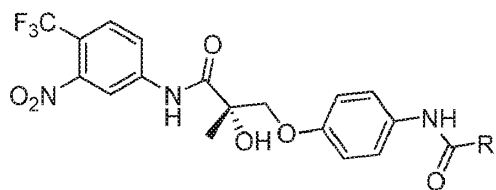
#### **XII. Compuestos que se dirigen al receptor de andrógenos (AR)**

1. Ligando RU59063 (derivatizado) del Receptor de andrógenos

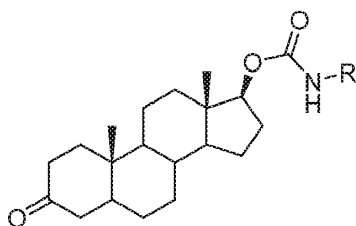


(Derivatizado donde "R" designa un sitio para la fijación de un grupo enlazador L o un grupo (L-CLM), por ejemplo).

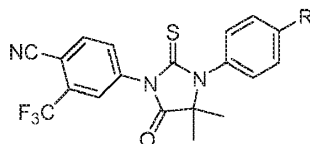
2. Ligando SARM (derivatizado) del Receptor de andrógenos



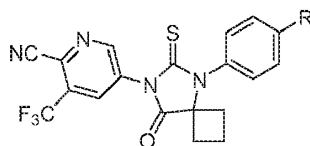
- 5 (Derivatizado donde "R" designa un sitio para la fijación de un grupo enlazador L o un grupo -(L-CLM), por ejemplo).  
3. Ligando DHT del receptor de andrógenos (derivatizado)



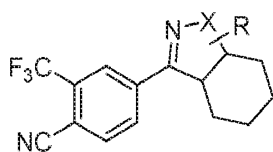
- 10 (Derivatizado donde "R" designa un sitio para la fijación de un grupo enlazador L o grupo -(L-CLM), por ejemplo).  
4. Ligando MDV3100 (derivatizado)



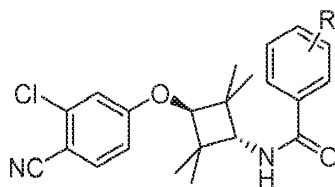
- 15 5. Ligando ARN-509 (derivatizado)



- 20 6. Hexahidrobencisoxazoles



7. Tetrametilciclobutanos

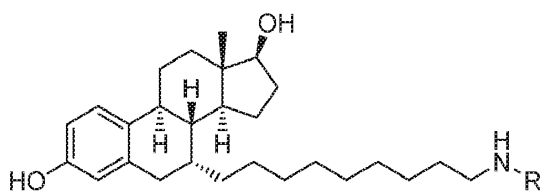


25

**XIII. Compuestos que se dirigen al receptor de estrógenos (ER) ICI-182780**

1. Ligando del receptor de estrógenos

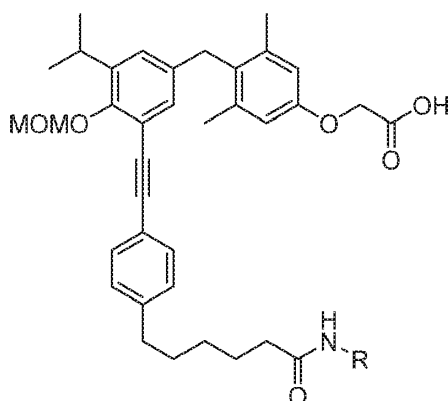
30



(Derivatizado donde "R" designa un sitio para la fijación de grupo enlazador L o grupo -(L-CLM)).

5 **XIV. Compuestos que se dirigen al receptor de hormona tiroidea (TR)**

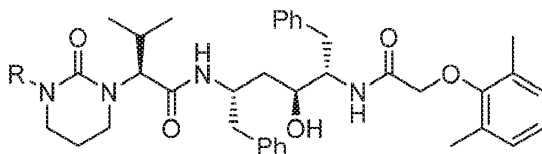
1. Ligando del receptor de la hormona tiroidea (derivatizado)



(Derivatizado donde "R" designa un sitio para la fijación del grupo enlazador L o grupo -(L-CLM) y MOMO indica un grupo metoximetoxi).

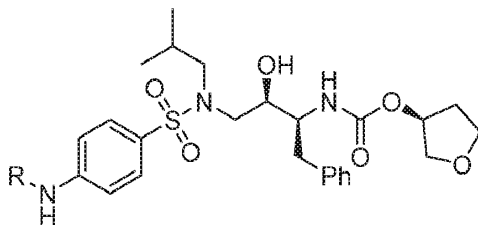
15 **XV. Compuestos que se dirigen a la proteasa del VIH**

1. Inhibidor de la proteasa del VIH (derivatizado)



(Derivatizado donde "R" designa un sitio para la fijación de grupo enlazador L o grupo -(L-CLM)). Véase, J. Med Chem. 2010, 53, 521-538.

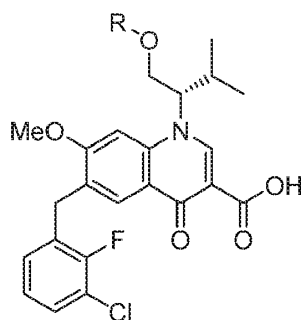
2. Inhibidor de la proteasa del VIH



(Derivatizado donde "R" designa un sitio potencial para la fijación de grupo enlazador L o grupo -(L-CLM)). Véase, J. Med Chem. 2010, 53, 521-538.

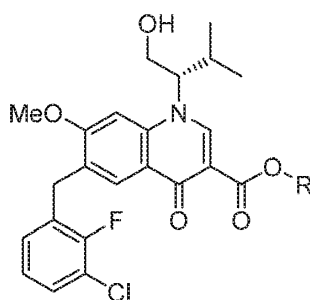
30 **XVI. Compuestos que se dirigen a la Integrasa del VIH**

1. Inhibidor de la integrasa del VIH (derivatizado)

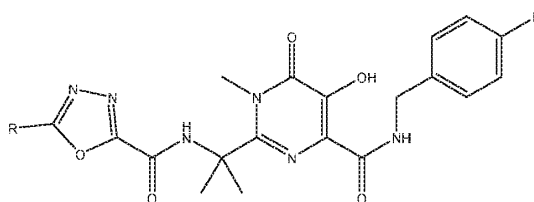


(Derivatizado donde "R" designa un sitio para la fijación de grupo enlazador L o grupo -(L-CLM)). Véase, J. Med. Chem. 2010, 53, 6466.

2. Inhibidor de la integrasa del VIH (derivatizado)



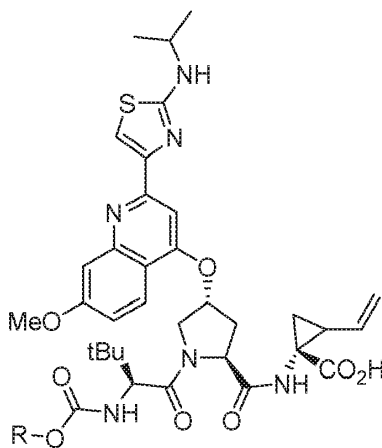
3. Inhibidor de la integrasa del VIH Isetntress (derivatizado)



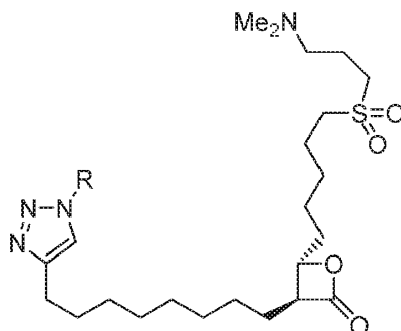
(Derivatizado donde "R" designa un sitio para la fijación de grupo enlazador L o grupo -(L-CLM)). Véase, J. Med. Chem. 2010, 53, 6466.

## **XVII. Compuestos que se dirigen a la proteasa del VHC**

1. Inhibidores de la proteasa del VHC (derivatizados)



(Derivatizado donde "R" designa un sitio para la fijación de grupo enlazador L o grupo -(L-CLM)).

**XVIII. Compuestos que se dirigen a la Acil-proteína Tioesterasa-1 y -2 (APT1 y APT2)****1. Inhibidor de APT1 y APT2 (derivatizado)**

- 5 (Derivatizado donde "R" designa un sitio para la fijación de grupo enlazador L o grupo -(L-CLM)). Véase, Angew. Chem. Int. Ed. 2011, 50, 9838-9842, donde L es un grupo enlazador como se describe de otro modo en el presente documento y dicho grupo CLM es como se describe de otro modo en el presente documento de tal manera que - (L-CLM) une el grupo CLM a un grupo PTM como se describe de otro modo en el presente documento.

**10 Composiciones terapéuticas**

- Las composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de una cantidad eficaz de al menos un compuesto bifuncional como se describe en el presente documento y uno o más de los compuestos descritos de otra manera en el presente documento, todos en cantidades eficaces, en combinación con una cantidad terapéuticamente eficaz de un vehículo, aditivo o excipiente, representan un aspecto adicional de la presente divulgación.

- La presente divulgación incluye, cuando sea aplicable, las composiciones que comprenden las sales farmacéuticamente aceptables, en particular, sales de adición de ácidos o bases de compuestos como se describen en el presente documento. Los ácidos que se usan para preparar las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de los compuestos de base antes mencionados útiles según este aspecto son los que forman sales de adición de ácido no tóxicas, es decir, sales que contienen aniones farmacológicamente aceptables, tales como las sales de clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, nitrato, sulfato, bisulfato, fosfato, fosfato de ácido, acetato, lactato, citrato, citrato de ácido, tartrato, bitartrato, succinato, maleato, fumarato, gluconato, sacarato, benzoato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluensulfonato y pamoato [es decir, 1,1'-metilen-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)], entre muchos otros.

- También pueden usarse sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables para producir formas de sal farmacéuticamente aceptables de los compuestos o derivados de acuerdo con la presente divulgación. Las bases químicas que pueden usarse como reactivos para preparar sales básicas farmacéuticamente aceptables de los presentes compuestos que son de naturaleza ácida son aquellas que forman sales básicas no tóxicas con tales compuestos. Tales sales básicas no tóxicas incluyen, pero no se limitan a aquellas derivadas de tales cationes farmacológicamente aceptables tales como cationes de metales alcalinos (por ejemplo, potasio y sodio) y cationes de metales alcalinotérreos (por ejemplo, calcio, cinc y magnesio), amonio o sales de adición de amina hidrosolubles tales como N-metilglucamina-(meglumina) y las sales de alcanolamonio inferior y otras sales de bases de aminas orgánicas farmacéuticamente aceptables, entre otras.

- Los compuestos como se describen en el presente documento pueden, de acuerdo con la divulgación, administrarse en dosis únicas o divididas por las vías oral, parenteral o tópica. La administración del compuesto activo puede variar desde continua (goteo intravenoso) hasta varias administraciones orales por día (por ejemplo, QID) y puede incluir administración oral, tópica, parenteral, intramuscular, intravenosa, subcutánea, transdérmica (que puede incluir un agente de mejora de la penetración), bucal, sublingual y por supositorio, entre otras vías de administración. También pueden usarse comprimidos orales con recubrimiento entérico para mejorar la biodisponibilidad de los compuestos a partir de una vía de administración oral. La forma de dosificación más eficaz dependerá de la farmacocinética del agente particular elegido, así como de la gravedad de la enfermedad en el paciente. La administración de compuestos de acuerdo con la presente divulgación como pulverizaciones, nebulizados o aerosoles para administración intranasal, intratraqueal o pulmonar también puede usarse. Por lo tanto, la presente divulgación también se dirige a composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad eficaz de compuesto como se describe en el presente documento, opcionalmente en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable, aditivo o excipiente. Los compuestos de acuerdo con la presente divulgación pueden administrarse en formas de liberación inmediata, de liberación intermedia o de liberación sostenida o controlada. Las formas de liberación sostenida o controlada se administran preferentemente por vía oral, pero también en supositorios y transdérmicos u otras formas tópicas. También pueden usarse inyecciones intramusculares en forma liposómica para controlar o mantener la liberación del compuesto en el lugar de la inyección.

- Las composiciones como se describen en el presente documento pueden formularse de una manera convencional

usando uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables y también pueden administrarse en formulaciones de liberación controlada. Los vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden usarse en estas composiciones farmacéuticas incluyen, pero no se limitan a, intercambiadores iónicos, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas, tales como seroalbúmina humana, sustancias tamponantes tales como fosfatos, glicina, ácido

5 sódico, sorbato potásico, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de prolamina, hidrogenofosfato disódico, hidrogenofosfato potásico, cloruro sódico, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias basadas en celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa sódica, poliacrilatos, ceras, polímeros en bloque de polietileno-polioxipropileno, polietilenglicol y lanolina.

10 Las composiciones como se describen en el presente documento pueden administrarse por vía oral, por vía parenteral, por pulverización por inhalación, por vía tópica, por vía rectal, por vía nasal, por vía bucal, por vía vaginal o a través de un depósito implantado. El término "parenteral" como se usa en el presente documento incluye inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional

15 e intracranial o técnicas de infusión. Preferentemente, las composiciones se administran por vía oral, intraperitoneal o intravenosa.

Las formas inyectables estériles de las composiciones como se describen en el presente documento pueden ser una suspensión acuosa u oleaginosa. Estas suspensiones pueden formularse de acuerdo con técnicas conocidas en la

20 materia usando agentes de dispersión o humectación y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, en forma de una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro sódico. Además, como disolvente o medio de suspensión se emplean convencionalmente aceites no volátiles estériles. Para este fin,

25 puede emplearse cualquier aceite suave no volátil, incluyendo monoglicéridos o diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, tales como ácido oleico y sus derivados de glicéridos, son útiles en la preparación de inyectables, como lo son los aceites naturales farmacéuticamente aceptables, tales como aceite de oliva o aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxietiladas. Estas soluciones o suspensiones oleaginosas también pueden contener un diluyente o dispersante alcohólico de cadena larga, tal como Ph. Helv o alcohol similar.

30 Las composiciones farmacéuticas proporcionadas como se describen en el presente documento pueden administrarse por vía oral en cualquier forma de dosificación oralmente aceptable incluyendo, pero no limitado a, cápsulas, comprimidos, suspensiones o soluciones acuosas. En el caso de los comprimidos para uso oral, los vehículos que se usan comúnmente incluyen lactosa y almidón de maíz. Los agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio,

35 también se añaden normalmente. Para la administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz deshidratado. Cuando se necesitan suspensiones acuosas para su uso oral, el principio activo se combina con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, también pueden añadirse determinados agentes edulcorantes, aromatizantes o colorantes.

40 Alternativamente, las composiciones farmacéuticas como se describen en el presente documento pueden administrarse en forma de supositorios para la administración rectal. Estas pueden prepararse mezclando el agente con un excipiente no irritante adecuado, que es sólido a temperatura ambiente pero líquido a la temperatura rectal y, por lo tanto, se derretirá en el recto para liberar el fármaco. Dichos materiales incluyen manteca de cacao, cera de

45 abeja y polietilenglicoles.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento también pueden administrarse por vía tópica. Las formulaciones tópicas adecuadas se preparan fácilmente para cada una de estas áreas u órganos. La aplicación

50 tópica para el tracto intestinal inferior puede lograrse en una formulación de supositorio rectal (véase anteriormente) o en una formulación de enema adecuada. También pueden usarse parches transdérmicos aceptables para la vía tópica.

Para aplicaciones tópicas, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en una pomada adecuada que contenga el principio activo suspendido o disuelto en uno o más vehículos. Los vehículos para administración tópica de los compuestos de esta invención incluyen, pero no se limitan a, aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca,

55 propilenglicol, polioxietileno, compuesto de polioxipropileno, cera emulsionante y agua. En determinados aspectos preferidos de la invención, los compuestos pueden recubrirse sobre una endoprótesis que va a implantarse quirúrgicamente en un paciente para inhibir o reducir la probabilidad de que se produzca una oclusión en la endoprótesis en el paciente.

Alternativamente, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en una loción o crema adecuada que contenga

60 los componentes activos suspendidos o disueltos en uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Los vehículos adecuados incluyen, pero no se limitan a, aceite mineral, monoestearato de sorbitán, polisorbato 60, ésteres cetílicos de cera, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

Para su uso oftálmico, las composiciones farmacéuticas pueden formularse como suspensiones micronizadas en

65 solución salina isotónica, estéril con pH ajustado o, preferentemente, como soluciones en solución salina isotónica, estéril con pH ajustado, ya sea con o sin un conservante tales como cloruro de benzalconio. Alternativamente, para



sus usos oftálmicos, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en una pomada tal como vaselina.

Las composiciones farmacéuticas como se describen en el presente documento también pueden administrarse mediante aerosol nasal o inhalación. Dichas composiciones se preparan de acuerdo con técnicas bien conocidas en la técnica de la formulación farmacéutica y pueden prepararse como soluciones en solución salina, empleando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, promotores de la absorción para mejorar la biodisponibilidad, fluorocarbonos y/u otros agentes solubilizantes o dispersantes convencionales.

La cantidad de compuesto en una composición farmacéutica como se describe en el presente documento que puede combinarse con los materiales vehículo para producir una forma de dosificación unitaria variará dependiendo del hospedador y de la enfermedad tratados, del modo particular de administración. Preferentemente, las composiciones deben formularse para contener entre aproximadamente 0,05 miligramos y aproximadamente 750 miligramos o más, más preferentemente de aproximadamente 1 miligramo a aproximadamente 600 miligramos, e incluso más preferentemente de aproximadamente 10 miligramos a aproximadamente 500 miligramos de principio activo, solo o en combinación con al menos un compuesto distinto de acuerdo con la presente invención.

Debe entenderse también que un régimen de dosificación y tratamiento específico para cualquier paciente particular dependerán de una diversidad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la tasa de excreción, la combinación de fármaco y el criterio del médico a cargo del tratamiento y la gravedad de la enfermedad o afección concreta que se está tratando.

Un paciente o sujeto que necesite terapia que use compuestos de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento puede tratarse administrando al paciente (sujeto) una cantidad eficaz del compuesto de acuerdo con la presente invención incluyendo sales farmacéuticamente aceptables, solvatos o polimorfos, de los mismos opcionalmente en un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable, ya sea solo o en combinación con otros agentes estimulantes de la eritropoyesis conocidos como se identifican de otro modo en el presente documento.

Estos compuestos pueden administrarse por cualquier vía apropiada, por ejemplo, por vía oral, por vía parenteral, por vía intravenosa, por vía intradérmica, por vía subcutánea o por vía tópica, incluyendo por vía transdérmica, en forma líquida, en crema, en gel o sólida o en forma de aerosol.

El compuesto activo se incluye en el vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable en una cantidad suficiente para administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz para la indicación deseada, sin provocar efectos tóxicos graves en el paciente tratado. Una dosis preferida del compuesto activo para todas las afecciones mencionadas en el presente documento está en el intervalo de aproximadamente 10 ng/kg a 300 mg/kg, preferentemente de 0,1 a 100 mg/kg por día, más generalmente de 0,5 a aproximadamente 25 mg por kilogramo de peso corporal del receptor/paciente por día. Una dosificación tópica típica variará del 0,01-5 % p/p en un vehículo adecuado.

El compuesto se administra convenientemente en cualquier forma de dosificación unitaria adecuada, incluyendo pero no limitado a una que contiene menos de 1 mg, de 1 mg a 3.000 mg, preferentemente de 5 a 500 mg de principio activo por forma de dosificación unitaria. Es a menudo conveniente una dosificación oral de aproximadamente 25-250 mg.

El principio activo se administra preferentemente para lograr concentraciones máximas en plasma del compuesto activo de aproximadamente 0,00001-30 mM, con preferencia aproximadamente 0,1-30  $\mu$ M. Esto puede lograrse, por ejemplo, mediante la inyección intravenosa de una solución o formulación del principio activo, opcionalmente en solución salina, o un medio acuoso o administrado como un bolo del principio activo. La administración oral también es apropiada para generar concentraciones eficaces en plasma de principio activo.

La concentración de compuesto activo en la composición del fármaco dependerá de las tasas de absorción, distribución, inactivación y excreción del fármaco, así como otros factores conocidos por los expertos en la materia. Cabe destacar que los valores de dosificación también variarán dependiendo de la gravedad de la afección a aliviar. Cabe entender además que para cualquier sujeto particular, los regímenes de dosificación específicos deben ajustarse con el paso del tiempo de acuerdo con las necesidades del individuo y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones y que los intervalos de concentración expuestos en el presente documento son solo ilustrativos y no pretenden limitar el alcance o la práctica de la composición reivindicada. El principio activo puede administrarse de una vez o puede dividirse en varias dosis menores para su administración a intervalos de tiempo variables.

Las composiciones orales incluirán generalmente un diluyente inerte o un vehículo comestible. Pueden encerrarse en cápsulas de gelatina o comprimirse en comprimidos. Con el fin de administración terapéutica oral, el compuesto activo o su derivado profármaco puede incorporarse con excipientes y usarse en forma de comprimidos, trociscos o cápsulas. Pueden incluirse como parte de la composición agentes aglutinantes y/o materiales adyuvantes farmacéuticamente compatibles.

Los comprimidos, píldoras, cápsulas, trociscos y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes o compuestos de una naturaleza similar: un aglutinante tales como celulosa microcristalina, goma de tragacanto o gelatina; un excipiente tales como almidón o lactosa, un agente dispersante tales como ácido algínico, Primogel o almidón de maíz; un lubricante tales como estearato de magnesio o Sterotes; un emoliente tales como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tales como sacarosa o sacarina; o un agente aromatizante tales como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja. Cuando la forma de dosificación unitaria es una cápsula, puede contener, además del material del tipo anterior, un vehículo líquido tales como un aceite graso. Además, las formas de dosificación unitarias pueden contener diversos materiales distintos que modifiquen la forma física de la unidad de dosificación, por ejemplo, recubrimientos de azúcar, goma laca o agentes entéricos.

El compuesto activo o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo pueden administrarse como un componente de un elixir, suspensión, jarabe, oblea, goma de mascar o similares. Un jarabe puede contener, además de los compuestos activos, sacarosa como agente edulcorante y determinados conservantes, tintes y colorantes y aromas.

El compuesto activo o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo también pueden mezclarse con otros materiales activos que no dificultan la acción deseada o con materiales que complementan la acción deseada, tales como agentes estimulantes de la eritropoyetina, incluyendo EPO y darbapoyetina alfa, entre otras. Uno o más compuestos de acuerdo con la presente invención pueden coadministrarse con otro agente bioactivo, tales como un agente estimulante de la eritropoyetina o un agente de curación de heridas, incluyendo un antibiótico, como se describe de otro modo en el presente documento.

Las soluciones o suspensiones usadas para la aplicación parenteral, intradérmica, subcutánea o tópica pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril tales como agua para inyección, solución salina, aceites no volátiles, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metil parabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito sódico; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminatetraacético; tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro sódico o dextrosa. El preparado parenteral puede encerrarse en ampollas, jeringuillas desechables o viales multidosis hechos de vidrio o plástico.

Si se administran por vía intravenosa, los vehículos preferidos son solución salina fisiológica o solución salina tamponada con fosfato (PBS).

En una realización, los compuestos activos se preparan con vehículos que protegerán al compuesto contra su rápida eliminación del organismo, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de administración microencapsulados. Pueden usarse polímeros biodegradables biocompatibles, tales como acetato de etilenvinilo, polianhídridos, ácido poliglucólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos para preparar dichas formulaciones serán evidentes para aquellos expertos en la materia.

Las suspensiones liposómicas también pueden ser vehículos farmacéuticamente aceptables. Estos pueden prepararse de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, como se describe en la Pat. de EE.UU. N.º 4.522.811 (que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad). Por ejemplo, las formulaciones de liposomas pueden prepararse disolviendo lípido o lípidos apropiados (tales como estearoil fosfatidil etanolamina, estearoil fosfatidilcolina, aracadioilfosfatidilcolina y colesterol) en un disolvente inorgánico que después se evapora, dejando una película fina de lípido seco en la superficie del recipiente. Después se introduce una solución acuosa del compuesto activo en el recipiente. Se hace girar el recipiente a mano para liberar el material lipídico de los lados del recipiente y dispersar los agregados lipídicos, formándose de esta manera la suspensión liposómica.

### **Métodos terapéuticos**

En un aspecto adicional, la descripción proporciona composiciones terapéuticas que comprenden una cantidad eficaz de un compuesto como se describe en el presente documento o una forma de sal del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones terapéuticas modulan la degradación de proteínas en un paciente o sujeto, por ejemplo, un animal tales como un ser humano, y puede usarse para tratar o mejorar estados de enfermedad o afecciones que se modulan a través de la proteína degradada.

Los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento", etc., como se usa en el presente documento, se refieren a cualquier acción que proporcione un beneficio a un paciente para el que pueden administrarse los presentes compuestos, incluyendo el tratamiento de cualquier estado de enfermedad o afección que se modula a través de la proteína a la que se unen los presentes compuestos. Los estados de enfermedad o afecciones, incluyendo cáncer, que pueden tratarse usando compuestos de acuerdo con la presente invención se exponen anteriormente en el presente documento.

La descripción proporciona composiciones terapéuticas como se describe en el presente documento para efectuar la degradación de proteínas de interés para el tratamiento o la mejora de una enfermedad, por ejemplo, cáncer. En determinadas realizaciones adicionales, la enfermedad es mieloma múltiple. Como tal, en otro aspecto, la descripción

proporciona un método para ubiquitinar/degradar una proteína diana en una célula. En determinadas realizaciones, el método comprende administrar un compuesto bifuncional como se describe en el presente documento que comprende, por ejemplo, un CLM y un PTM, preferentemente enlazado a través de un resto enlazador, como se describe de otro modo en el presente documento, en donde el CLM está acoplado al PTM y en donde el CLM reconoce una proteína de la ruta de ubiquitina (por ejemplo, una ubiquitina ligasa, preferentemente una E3 ubiquitina ligasa tal como, por ejemplo, cereblon) y el PTM reconoce la proteína diana de tal manera que se producirá la degradación de la proteína diana cuando la proteína diana se coloque cerca de la ubiquitina ligasa, dando como resultado de esta manera la degradación/inhibición de los efectos de la proteína diana y el control de los niveles de proteína. El control de los niveles de proteínas proporcionado por la presente invención proporciona el tratamiento de un estado de enfermedad o afección, que se modula a través de la proteína diana al reducir el nivel de esa proteína en la célula, por ejemplo, la célula de un paciente. En determinadas realizaciones, el método comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto como se describe en el presente documento, opcionalmente incluyendo un excipiente farmacéuticamente aceptable, vehículo, adyuvante, otro agente bioactivo o una combinación de los mismos.

En realizaciones adicionales, la descripción proporciona métodos para tratar o mejorar una enfermedad, trastorno o síntoma de los mismos en un sujeto o un paciente, por ejemplo, un animal tales como un ser humano, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una composición que comprende una cantidad eficaz, por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz, de un compuesto como se describe en el presente documento o una forma de sal del mismo, y un excipiente farmacéuticamente aceptable, vehículo, adyuvante, otro agente bioactivo o una combinación de los mismos, en donde la composición es eficaz para tratar o mejorar la enfermedad o trastorno o síntoma de los mismos en el sujeto.

En otro aspecto, la descripción proporciona métodos para identificar los efectos de la degradación de proteínas de interés en un sistema biológico usando compuestos de acuerdo con la presente invención.

En otra realización, la presente divulgación se dirige a un método para tratar a un paciente humano que lo necesita una enfermedad o afección modulada a través de una proteína donde la degradación de esa proteína producirá un efecto terapéutico en ese paciente, comprendiendo el método administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con la presente invención, opcionalmente en combinación con otro agente bioactivo. El estado o afección de la enfermedad puede ser una enfermedad provocada por un agente microbiano u otro agente exógeno tales como un virus, bacteria, hongo, protozoo u otro microbio o puede ser un estado de enfermedad, que está provocada por la sobreexpresión de una proteína, que conduce a un estado de enfermedad y/o afección.

La expresión "estado de la enfermedad o afección" se usa para describir cualquier estado de la enfermedad o afección en donde se produce una desregulación de proteínas (es decir, la cantidad de proteína expresada en un paciente es elevada) y donde la degradación de una o más proteínas en un paciente puede proporcionar una terapia beneficiosa o alivio de los síntomas a un paciente que lo necesite. En determinados casos, el estado de la enfermedad o afección puede curarse.

Los estados de la enfermedad o afecciones que pueden tratarse usando compuestos de acuerdo con la presente invención incluyen, por ejemplo, asma, enfermedades autoinmunitarias tales como esclerosis múltiple, diversos cánceres, ciliopatías, paladar hendido, diabetes, cardiopatía, hipertensión, enfermedad inflamatoria del intestino, retraso mental, trastorno del estado de ánimo, obesidad, error refractivo, esterilidad, síndrome de Angelman, enfermedad de Canavan, enfermedad celíaca, enfermedad de Charcot-Marie-Tooth, Fibrosis quística, distrofia muscular de Duchenne, Hemocromatosis, Hemofilia, síndrome de Klinefelter, Neurofibromatosis, Fenilcetonuria, Enfermedad renal poliquística, síndrome de Prader-Willi (PKD1) o 4 (PKD2), Anemia falciforme, enfermedad de Tay-Sachs, síndrome de Turner.

Los estados de enfermedad o afecciones adicionales que pueden tratarse con compuestos de acuerdo con la presente invención incluyen enfermedad de Alzheimer, Esclerosis lateral amiotrófica (enfermedad de Lou Gehrig), Anorexia nerviosa, Trastorno de ansiedad, Aterosclerosis, Trastorno por déficit de atención con hiperactividad, Autismo, Trastorno bipolar, Síndrome de fatiga crónica, Enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad de Crohn, Cardiopatía coronaria, Demencia, Depresión, Diabetes mellitus tipo 1, Diabetes mellitus tipo 2, Epilepsia, síndrome de Guillain-Barré, Síndrome de intestino irritable, Lupus, Síndrome metabólico, Esclerosis múltiple, Infarto de miocardio, Obesidad, Trastorno obsesivo compulsivo, Trastorno de pánico, Enfermedad de Parkinson, Psoriasis, Artritis reumatoide, Sarcoidosis, Esquizofrenia, Ictus, Tromboangiitis obliterante, Síndrome de Tourette, Vasculitis.

Los estados de enfermedad o afecciones todavía adicionales que pueden tratarse con compuestos de acuerdo con la presente invención incluyen aceruloplasminemia, Acondrogénesis tipo II, acondroplasia, Acrocefalia, enfermedad de Gaucher tipo 2, porfiria aguda intermitente, enfermedad de Canavan, Poliposis coli adenomatosa, deficiencia de ALA deshidratasa, deficiencia de adenilosuccinato liasa, Síndrome adrenogenital, Adrenoleucodistrofia, porfiria ALA-D, deficiencia de ALA deshidratasa, Alcaptonuria, enfermedad de Alexander, Ocronosis alcaptonúrica, deficiencia en alfa 1-antitripsina, inhibidor de alfa-1 proteinasa, enfisema, esclerosis lateral amiotrófica síndrome de Alström, enfermedad de Alexander, Amelogénesis imperfecta, deficiencia de ALA deshidratasa, enfermedad de Anderson-Fabry, síndrome de insensibilidad a los andrógenos, Anemia, Angioqueratoma Corporis Diffusum, Angiomatosis retinae (enfermedad

de von Hippel-Lindau), síndrome de Apert, Aracnodactilia (síndrome de Marfan), Síndrome de Stickler, Artrocalasia múltiple congénita (síndrome de Ehlers-Danlos # tipo artrocalasia) ataxia telangiectasia, síndrome de Rett, hipertensión pulmonar primaria, enfermedad de Sandhoff, neurofibromatosis tipo II, Síndrome de Beare-Stevenson cutis gyrata, fiebre mediterránea, familiar, Síndrome de Benjamin, beta-talasemia, Neurofibromatosis acústica bilateral (neurofibromatosis tipo II), Trombofilia de Leiden del Factor V, Síndrome de Bloch-Sulzberger (incontinencia pigmentaria), síndrome de Bloom, anemia sideroblástica ligada al cromosoma X, Síndrome de Bonnevie-Ullrich (síndrome de Turner), enfermedad de Bourneville (esclerosis tuberosa), enfermedad priónica, Síndrome de Birt-Hogg-Dubé, Enfermedad de los huesos frágiles (osteogénesis imperfecta), Síndrome del pulgar ancho-Hallux (síndrome de Rubinstein-Taybi), Diabetes bronceada/cirrosis bronceada (hemocromatosis), Atrofia muscular bulboespinal (enfermedad de Kennedy), Síndrome de Burger-Grutz (deficiencia de lipoproteína lipasa), CGD Trastorno granulomatoso crónico, Displasia campomélica, deficiencia de biotinidasa, Miocardiopatía (síndrome de Noonan), Cri du chat (grito de gato), CAVD (ausencia congénita de los conductos deferentes), Síndrome cardiofacial de Caylor (CBAVD), CEP (porfiria eritropoyética congénita), fibrosis quística, hipotiroidismo congénito, Síndrome de condrodistrofia (acondroplasia), displasia otospondilomegaepifisaria, síndrome de Lesch-Nyhan, galactosemia, síndrome de Ehlers-Danlos, Displasia tanatófica, síndrome de Coffin-Lowry, síndrome de Cockayne, (poliposis adenomatosa familiar), Porfiria eritropoyética congénita, Cardiopatía congénita, Metahemoglobinemia/metahemoglobinemia congénita, acondroplasia, anemia sideroblástica ligada al cromosoma X, Enfermedad del tejido conectivo, Síndrome de anomalía conotruncal facial, Anemia de Cooley (beta-talasemia), Enfermedad por almacenamiento de cobre (enfermedad de Wilson), Enfermedad del transporte de cobre (enfermedad de Menkes), coproporfiria hereditaria, síndrome de Cowden. Disartrosis craneofacial (síndrome de Crouzon), Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (enfermedad priónica), síndrome de Cockayne, síndrome de Cowden, Síndrome de Curschmann-Batten-Steinert (distrofia miotónica), Síndrome de Beare-Stevenson cutis gyrata, hiperoxaluria primaria, displasia espondiloepimetafisaria (tipo Strudwick), distrofia muscular, tipos de Duchenne y Becker (DBMD), síndrome de Usher, Enfermedades degenerativas de los nervios incluyendo síndrome de Grouchy y síndrome de Dejerine-Sottas, discapacidades del desarrollo, atrofia muscular espinal distal, tipo V, síndrome de insensibilidad a los andrógenos, Esclerosis difusa del cuerpo globoide (enfermedad de Krabbe), síndrome de Di George, Deficiencia del receptor de dihidrotestosterona, síndrome de insensibilidad a los andrógenos, síndrome de Down, Enanismo, protoporfiria eritropoyética Deficiencia de eritroide 5-aminolevulinato sintetasa, Porfiria eritropoyética, protoporfiria eritropoyética, uroporfiria eritropoyética, ataxia de Friedreich, poliserositis paroxística familiar, porfiria cutánea tardía, neuropatía familiar sensible a la presión, hipertensión pulmonar primaria (PPH), Enfermedad fibroquística del páncreas, síndrome X frágil, galactosemia, trastornos genéticos del cerebro, Hepatitis de células gigantes (hemocromatosis neonatal), Síndrome de Gronblad-Strandberg (pseudoxantoma elástico), Enfermedad de Gunther (porfiria eritropoyética congénita), hemocromatosis, síndrome de Hallgren, anemia de células falciformes, hemofilia, porfiria hepatoeritropoyética (HEP), enfermedad de Hippel-Lindau (enfermedad de von Hippel-Lindau), enfermedad de Huntington, síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford (progeria), Hiperandrogenismo, Hipocondroplasia, Anemia hipocrómica, Trastornos del sistema inmunitario, incluyendo inmunodeficiencia combinada grave ligada al cromosoma X, síndrome de Insley-Astley, síndrome de Jackson-Weiss, síndrome de Joubert, síndrome de Lesch-Nyhan, síndrome de Jackson-Weiss, Enfermedades renales, incluyendo hiperoxaluria, síndrome de Klinefelter, displasia de Kniest, demencia lacunar, acondrogénesis de Langer-Saldino, ataxia telangiectasia, síndrome de Lynch, deficiencia de lisil-hidroxilasa, enfermedad de Machado-Joseph, Trastornos metabólicos, incluyendo displasia de Kniest, síndrome de Marfan, Trastornos del movimiento, síndrome de Mowat-Wilson, fibrosis quística, síndrome de Muenke, Neurofibromatosis múltiple, síndrome de Nance-Insley, condrodysplasia de Nance-Sweeney, enfermedad de Niemann-Pick, síndrome de Noack (síndrome de Pfeiffer), enfermedad de Osler Weber-Rendu, síndrome de Peutz-Jeghers, Enfermedad renal poliquística, displasia fibrosa polioestótica (síndrome de McCune-Albright), síndrome de Peutz-Jeghers, síndrome de Prader-Labhart-Willi, hemocromatosis, síndrome de hiperuricemia primaria (síndrome de Lesch-Nyhan), hipertensión pulmonar primaria, demencia degenerativa senil primaria, enfermedad priónica, progeria (síndrome de progeria de Hutchinson Gilford), corea progresiva, hereditaria crónica (Huntington) (enfermedad de Huntington), atrofia muscular progresiva, atrofia muscular espinal, acidemia propiónica, protoporfiria, distrofia miotónica proximal, hipertensión pulmonar arterial, PXE (pseudoxantoma elástico), Rb (retinoblastoma), enfermedad de Recklinghausen (neurofibromatosis tipo I), Poliserositis recurrente, Trastornos de la retina, Retinoblastoma, síndrome de Rett, RFALS tipo 3, síndrome de Ricker, síndrome de Riley-Day, síndrome de Roussy-Levy, acondroplasia grave con retraso en el desarrollo y acantosis nigricans (SADDAN), síndrome de Li-Fraumeni, sarcoma, síndrome de mama, leucemia y la glándula suprarrenal (SBLA), esclerosis tuberosa (esclerosis tuberosa), SDAT, SED congénita (displasia espondiloepifisaria congénita), SED Strudwick (displasia espondiloepimetafisaria, tipo Strudwick), SEDc (displasia espondiloepifisaria congénita) SEMD, tipo Strudwick (displasia espondiloepimetafisaria, tipo Strudwick), síndrome de Shprintzen, Trastornos de la pigmentación de la piel, síndrome de Smith-Lemli-Opitz, porfiria genética sudafricana (porfiria variegada), parálisis espástica hereditaria ascendente de inicio infantil, Trastornos del habla y la comunicación, esfingolipidosis, enfermedad de Tay-Sachs, ataxia espinocerebelar, Síndrome de Stickler, ictus, síndrome de insensibilidad a los andrógenos, deficiencia de tetrahidrobiopterina, beta-talasemia, Enfermedad de tiroides, Neuropatía tomaculosa (neuropatía hereditaria con riesgo de parálisis por presión), síndrome de Treacher Collins, síndrome de Triplo X (síndrome de triple X), Trisomía 21 (síndrome de Down), Trisomía X, síndrome de VHL (enfermedad de von Hippel-Lindau), Deficiencia visual y ceguera (síndrome de Alström), enfermedad de Vrolik, síndrome de Waardenburg, síndrome de Warburg Sjo Fledelius, síndrome de Weissenbacher-Zweymüller, síndrome de Wolf-Hirschhorn, enfermedad periódica de Wolff, síndrome de Wreissenbacher-Zweymüller y Xeroderma pigmentoso, entre otras.

El término "neoplasia" o "cáncer" se usa a lo largo de toda la memoria descriptiva para referirse al proceso patológico que da como resultado la formación y el crecimiento de una neoplasia cancerosa o maligna, es decir, tejido anormal que crece por proliferación celular, a menudo más rápido de lo normal y continúa creciendo después de que cesen los estímulos que iniciaron el nuevo crecimiento. Las neoplasias malignas muestran una falta parcial o total de organización estructural y coordinación funcional con el tejido normal y la mayoría invaden los tejidos circundantes, metastatizan en varios sitios y es probable que reaparezcan después de intentar la extracción y provoquen la muerte del paciente a menos que se trate adecuadamente. Como se usa en el presente documento, el término neoplasia se usa para describir todos los estados de enfermedad cancerosa y abraza o abarca el proceso patológico asociado a tumores hematógenos malignos, ascíticos y sólidos. Los cánceres ilustrativos que pueden tratarse con los presentes compuestos solos o en combinación con al menos un agente anticáncer adicional incluyen carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinomas hepatocelulares y carcinomas de células renales, cáncer de la vejiga, intestino, mama, cuello del útero, colon, esófago, cabeza, riñón, hígado, pulmón, cuello, ovario, páncreas, próstata y estómago; leucemias; linfomas benignos y malignos, particularmente, linfoma de Burkitt y linfoma no Hodgkiniano; melanomas benignos y malignos; enfermedades mieloproliferativas; sarcomas, incluyendo sarcoma de Ewing, hemangiosarcoma, sarcoma de Kaposi, liposarcoma, miosarcomas, neuroepitelioma periférico, sarcoma sinovial, gliomas, astrocitomas, oligodendrogliomas, ependimomas, glioblastomas, neuroblastomas, ganglioneuromas, gangliogliomas, meduloblastomas, tumores de células pineales, meningiomas, sarcomas meníngeos, neurofibromas y Schwannomas; cáncer de intestino, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de cuello de útero, cáncer de útero, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, cáncer testicular, cáncer de tiroides, astrocitoma, cáncer esofágico, cáncer pancreático, cáncer de estómago, cáncer de hígado, cáncer de colon, melanoma; carcinosarcoma, enfermedad de Hodgkin, tumor de Wilms y teratocarcinomas. Los cánceres adicionales que pueden tratarse usando compuestos de acuerdo con la presente invención incluyen, por ejemplo, Leucemia linfoblástica aguda de linaje T (T-ALL), Linfoma linfoblástico de linaje T (T-LL), Linfoma periférico de células T, Leucemia de células T del adulto, ALL Pre-B, Linfomas pre-B, Linfoma de células B grandes, Linfoma de Burkitt, ALL de células B, ALL con cromosoma Philadelphia positivo y LMC con cromosoma Philadelphia positivo.

La expresión "agente bioactivo" se usa para describir un agente, distinto de un compuesto de acuerdo con la presente invención, que se usa en combinación con los presentes compuestos como un agente con actividad biológica para ayudar a realizar la terapia deseada, inhibición y/o prevención/profilaxis para las que se utilizan los presentes compuestos. Los agentes bioactivos preferidos para su uso en el presente documento incluyen aquellos agentes que tienen una actividad farmacológica similar a aquella para la que se usan o administran los presentes compuestos e incluyen, por ejemplo, agentes anticáncer, agentes antiviricos, especialmente incluyendo agentes anti-VIH y agentes anti-VHC, agentes antimicrobianos, agentes antifúngicos, etc.

El término "agente anticáncer adicional" se usa para describir un agente anticáncer, que puede combinarse con compuestos de acuerdo con la presente invención para tratar el cáncer. Estos agentes incluyen, por ejemplo, everolimus, trabectedina, abraxano, TLK 286, AV-299, DN-101, pazopanib, GSK690693, RTA 744, ON 0910.Na, AZD 6244 (ARRY-142886), AMN-107, TKI-258, GSK461364, AZD 1152, enzastaurina, vandetanib, ARQ-197, MK-0457, MLN8054, PHA-739358, R-763, AT-9263, un inhibidor de FLT-3, un inhibidor de VEGFR, un inhibidor de EGFR TK, un inhibidor de aurora quinasa, un modulador de PIK-1, un inhibidor de Bcl-2, un inhibidor de HDAC, un inhibidor de c-MET, un inhibidor de PARP, un inhibidor de Cdk, un inhibidor de EGFR TK, un inhibidor de IGFR-TK, un anticuerpo anti-HGF, un inhibidor de PI3 quinasa, un inhibidor de AKT, un inhibidor de mTORC1/2, un inhibidor de JAK/STAT, un inhibidor del punto de control 1 o 2, un inhibidor de la quinasa de adhesión focal, un inhibidor de Map quinasa quinasa (mek), un anticuerpo trampa de VEGF, pemetrexed, erlotinib, dasatanib, nilotinib, decatanib, panitumumab, amrubicina, oregovomab, Lep-etu, nolatrexed, azd2171, batabulina, ofatumumab, zanolimumab, edotecarina, tetrandrina, rubitecán, tesmilifeno, oblimersen, ticilimumab, ipilimumab, gosipol, Bio 111, 131-I-TM-601, ALT-110, BIO 140, CC 8490, cilengtida, gimatecán, IL13-PE38QQR, INO 1001, IPdRi, KRX-0402, lucantona, LY317615, neuradiab, vitespán, Rta 744, Sdx 102, talampanel, atrasentán, Xr 311, romidepsina, ADS-100380, sunitinib, 5-fluorouracilo, vorinostat, etopósido, gemcitabina, doxorubicina, doxorubicina liposómica, 5'-desoxi-5-fluorouridina, vincristina, temozolomida, ZK-304709, seliciclib; PD0325901, AZD-6244, capecitabina, Ácido L-glutámico, N-[4-[2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-1H-pirrol[2,3-d]pirimidin-5-il)etil]benzoil]-, sal disódica, heptahidrato, camptotecina, irinotecán marcado con PEG, tamoxifeno, citrato de toremifeno, anastrozol, exemestano, letrozol, DES (dietilestilbestrol), estradiol, estrógeno, estrógeno conjugado, bevacizumab, IMC-1C11, CHIR-258; 3-[5-(metilsulfonilpiperadinemetil)-indolilquinolona, vatalanib, AG-013736, AVE-0005, acetato de goserelina, acetato de leuprolida, pamoato de triptorelina, acetato de medroxiprogesterona, caproato de hidroxiprogesterona, acetato de megestrol, raloxifeno, bicalutamida, flutamida, nilutamida, acetato de megestrol, CP-724714; TAK-165, HKI-272, erlotinib, lapatanib, canertinib, anticuerpo ABX-EGF, erbitux, EKB-569, PKI-166, GW-572016, lonafarnib, BMS-214662, tipifarnib; amifostina, NVP-LAQ824, ácido hidroxámico analida de suberoilo, ácido valproico, tricostatina A, FK-228, SU11248, sorafenib, KRN951, aminoglutetimida, arnsacrino, anagrelida, L-asparaginasa, vacuna del bacilo de Calmette-Guerin (BCG), adriamicina, bleomicina, buserelina, busulfán, carboplatino, carmustina, clorambucilo, cisplatino, cladribina, clodronato, ciproterona, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daunorrubicina, dietilestilbestrol, epirubicina, fludarabina, fludrocortisona, fluoximasterona, flutamida, gleevec, gemcitabina, hidroxiurea, idarrubicina, ifosfamida, imatinib, leuprolida, levamisol, lomustina, mecloretamina, melfalán, 6-mercaptopurina, mesna, metotrexato, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, nilutamida, octreotida, oxaliplatino, pamidronato, pentostatina, plicamicina, porfímero, procabazina, raltitrexed, rituximab, estreptozocina, tenipósido, testosterona, talidomida, tioguanina, tiotepa, tretinoína, vindesina, ácido 13-cis-retinoico, mostaza de fenilalanina, mostaza de uracilo, estramustina, altretamina,

floxuridina, 5-desoxiuridina, arabinósido de citosina, 6-mecaptopurina, desoxicoformicina, calcitriol, valrubicina, mitramicina, vinblastina, vinorelbina, topotecán, razoxina, marimastat, COL-3, neovastat, BMS-275291, escualamina, endostatina, SU5416, SU6668, EMD121974, interleucina-12, IM862, angiostatina, vitaxina, droloxifeno, idoxifeno, espirolactona, finasterida, cimitidina, trastuzumab, denileucina difitox, gefitinib, bortezomib, paclitaxel, paclitaxel sin cremóforo, docetaxel, epítolona B, BMS-247550, BMS-310705, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, pipendoxifeno, ERA-923, arzoxifeno, fulvestrant, acolbifeno, lasofoxifeno, idoxifeno, TSE-424, HMR-3339, ZK186619, topotecán, PTK787/ZK 222584, VX-745, PD 184352, rapamicina, 40-O-(2-hidroxietyl)-rapamicina, temsirolimus, AP-23573, RAD001, ABT-578, BC-210, LY294002, LY292223, LY292696, LY293684, LY293646, wortmanina, ZM336372, L-779.450, PEG-filgrastim, darbepoetina, eritropoyetina, factor estimulador de colonias de granulocitos, zolendronato, prednisona, cetuximab, factor estimulador de colonia de granulocitos y macrófagos, histrelina, interferón alfa-2a pegilado, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b pegilado, interferón alfa-2b, azacitidina, PEG-L-asparaginasa, lenalidomida, gemtuzumab, hidroclortisona, interleucina-11, dextrazoxano, alemtuzumab, ácido todo-transretinoico, cetoconazol, interleucina-2, megestrol, inmunoglobulina, mostaza de nitrógeno, metilprednisolona, ibritumomab tiuxetán, andrógenos, decitabina, hexametilmelamina, bexaroteno, tositumomab, trióxido de arsénico, cortisona, editronato, mitotano, ciclosporina, daunorubicina liposómica, Edwina-asparaginasa, estroncio 89, casopitant, netupitant, un antagonista del receptor de NK-1, palonosetrón, aprepitant, difenhidramina, hidroxizina, metoclopramida, lorazepam, alprazolam, haloperidol, droperidol, dronabinol, dexametasona, metilprednisolona, proclorperazina, granisetron, ondansetrón, dolasetron, tropisetron, pegfilgrastim, eritropoyetina, epoetina alfa, darbepoetin alfa y mezclas de los mismos.

La expresión "agente anti-VIH" o "agente anti-VIH adicional" incluye, por ejemplo, inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (NRTI), otros inhibidores de la transcriptasa inversa distintos de nucleósidos (es decir, aquellos que no son representativos de la presente invención), inhibidores de proteasas, inhibidores de la fusión, entre otros, compuestos ilustrativos de los cuales pueden incluir, por ejemplo, 3TC (Lamivudina), AZT (Zidovudina), (-)-FTC, ddl (Didanosina), ddC (Zalcitabina), abacavir (ABC), tenofovir (PMPA), D-D4FC (Reverset), D4T (Etavudina), Racivir, L-FddC, L-FD4C, NVP (Nevirapina), DLV (Delavirdina), EFV (Efavirenz), SQVM (Mesilato de saquinavir), RTV (Ritonavir), IDV (Indinavir), SQV (Saquinavir), NFV (Nelfinavir), APV (Amprenavir), LPV (Lopinavir), inhibidores de la fusión tales como T20, entre otros, fúseón y mezclas de los mismos, incluyendo compuestos anti-VIH actualmente en ensayos clínicos o en desarrollo.

Otros agentes anti-VIH que pueden usarse en combinación con compuestos de acuerdo con la presente invención incluyen, por ejemplo, otros NNRTI (es decir, distintos de los NNRTI de acuerdo con la presente invención) pueden seleccionarse del grupo que consiste en nevirapina (BI-R6-587), delavirdina (U-90152S/T), efavirenz (DMP-266), UC-781 (N-[4-cloro-3-(3-metil-2-buteniloxy)fenil]-2-metil-3-furancarbotiamida), etravirina (TMC125), Troviridina (LY300046.HCl), MKC-442 (emivirina, coactinona), HI-236, HI-240, HI-280, HI-281, rilpivirina (TMC-278), MSC-127, HBY 097, DMP266, Baicalina (TJN-151) ADAM-II (3',3'-dicloro-4',4"-dimetoxi-5',5"-bis(metoxicarbonil)-6,6-difenilhexenoato de metilo), 3-bromo-5-(1-5-bromo-4-metoxi-3-(metoxicarbonil)fenil)hept-1-enil)-2-metoxibenzoato de metilo (análogo de alquenildiarilmetano, análogo de Adam), (5-cloro-3-(fenilsulfonil)-2'-indolcarboxamida), AAP-BHAP (U-104489 o PNU-104489), Capravirina (AG-1549, S-1153), atevirdina (U-87201E), ácido aurina tricarboxílico (SD-095345), 1-[(6-ciano-2-indolil)carbonil]-4-[3-(isopropilamino)-2-piridinil]piperazina, 1-[5-[[N-(metil)metilsulfonilamino]-2-indolil]carbonil]-4-[3-(isopropilamino)-2-piridinil]piperazina, 1-[3-(Etilamino)-2-[piridinil]-4-[(5-hidroxi-2-indolil)carbonil]piperazina, 1-[(6-Formil-2-indolil)carbonil]-4-[3-(isopropilamino)-2-piridinil]piperazina, 1-[[5-(Metilsulfoniloxy)-2-indolil]carbonil]-4-[3-(isopropilamino)-2-piridinil]piperazina, U88204E, Bis(2-nitrofenil)sulfona (NSC 633001), Calanolida A (NSC675451), Calanolida B, 6-bencil-5-metil-2-(ciclohexiloxi)pirimidin-4-ona (DABO-546), DPC 961, E-EBU, E-EBU-dm, E-EPSeU, E-EPU, Foscarnet (Foscavir), HEPT (1-[(2-hidroxi-etoxi)metil]-6-(feniltio)timina), HEPT-M (1-[(2-hidroxi-etoxi)metil]-6-(3-metilfenil)tio)timina), HEPT-S (1-[(2-hidroxi-etoxi)metil]-6-(feniltio)-2-tiotimina), Inophyllum P, L-737.126, Michellamina A (NSC650898), Michellamina B (NSC649324), Michellamina F, 6-(3,5-dimetilbencil)-1-[(2-hidroxi-etoxi)metil]-5-isopropiluracilo, 6-(3,5-dimetilbencil)-1-(etoximetil)-5-isopropiluracilo, NPPS, E-BPTU (NSC 648400), Oltipraz (4-Memil-5-(pirazinil)-3H-1,2-ditio-3-tiona), N-{2-(2-cloro-6-fluorofenetil)-N'-(2-tiazolil)tiourea (PETT Cl, derivado F), N-{2-(2,6-Difluorofenetil)-N'-[2-(5-bromopiridil)]tiourea {derivado de PETT), N-{2-(2,6-Difluorofenetil)-N'-[2-(5-metilpiridil)]tiourea (derivado de piridilo de PETT), N-[2-(3-fluorofuranil)etil]-N'-[2-(5-cloropiridil)]tiourea, N-[2-(2-fluoro-6-etoxifenetil)-N'-[2-(5-bromopiridil)]tiourea, N-(2-fenetil)-N'-(2-tiazolil)tiourea (LY-73497), L-697.639, L-697.593, L-697.661, 3-[2-(4,7-Difluorobenzoxazol-2-il)etil]-5-etil-6-metil(piridin-2(1H)-tiona (derivado de 2-piridinona), 3-[[2-metoxi-5,6-dimetil-3-piridil]metil]amina]-5-etil-6-metil(piridin-2(1H)-tiona, R82150, R82913, R87232, R88703, R89439 (Lovirida), R90385, S-2720, Suramina sódica, TBZ (Tiazolobencimidazol, NSC 625487), Tiazoloisindol-5-ona, (+)(R)-9b-(3,5-Dimetilfenil-2,3-dihidrotiazolo[2,3-a]isindol-5(9bH)-ona, Tivirapina (R86183), UC-38 y UC-84, entre otras.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se usa a lo largo de toda la memoria descriptiva para describir, cuando sea aplicable, una forma de sal de uno o más de los compuestos descritos en el presente documento que se presentan para aumentar la solubilidad del compuesto en los jugos gástricos del tracto gastrointestinal del paciente para promover la disolución y la biodisponibilidad de los compuestos. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen aquellas derivadas de bases y ácidos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente aceptables, cuando sea aplicable. Las sales adecuadas incluyen aquellas derivadas de metales alcalinos tales como potasio y sodio, metales alcalinotérreos tales como sales de calcio, magnesio y amonio, entre numerosos ácidos y bases distintos bien conocidos en la técnica farmacéutica. Las sales de sodio y potasio son particularmente preferidas como sales de

neutralización de los fosfatos de acuerdo con la presente invención.

La expresión "derivado farmacéuticamente aceptable" se usa a lo largo de toda la memoria descriptiva para describir cualquier forma de profármaco farmacéuticamente aceptable (tal como un éster, amida u otro grupo profármaco), que, tras la administración a un paciente, proporciona directa o indirectamente el presente compuesto o un metabolito activo del presente compuesto.

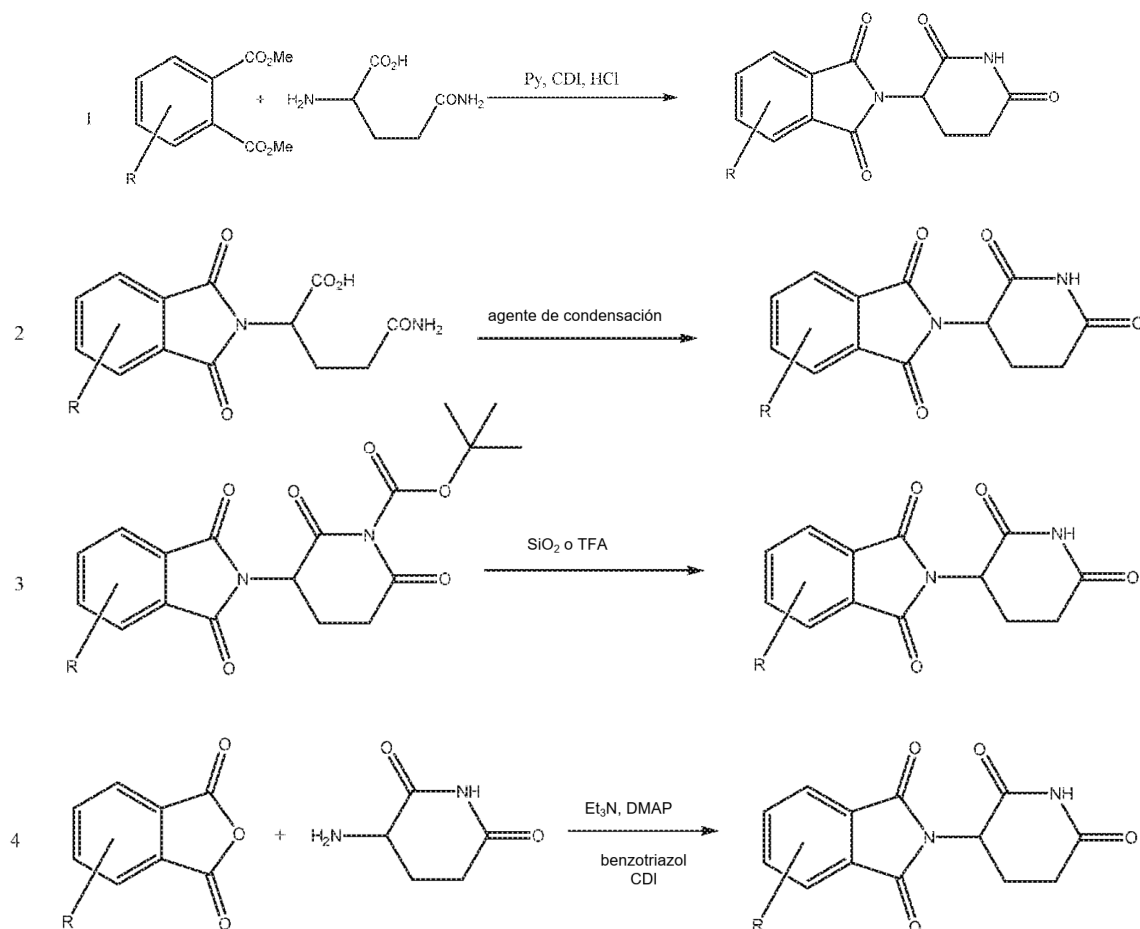
### Enfoque de síntesis general

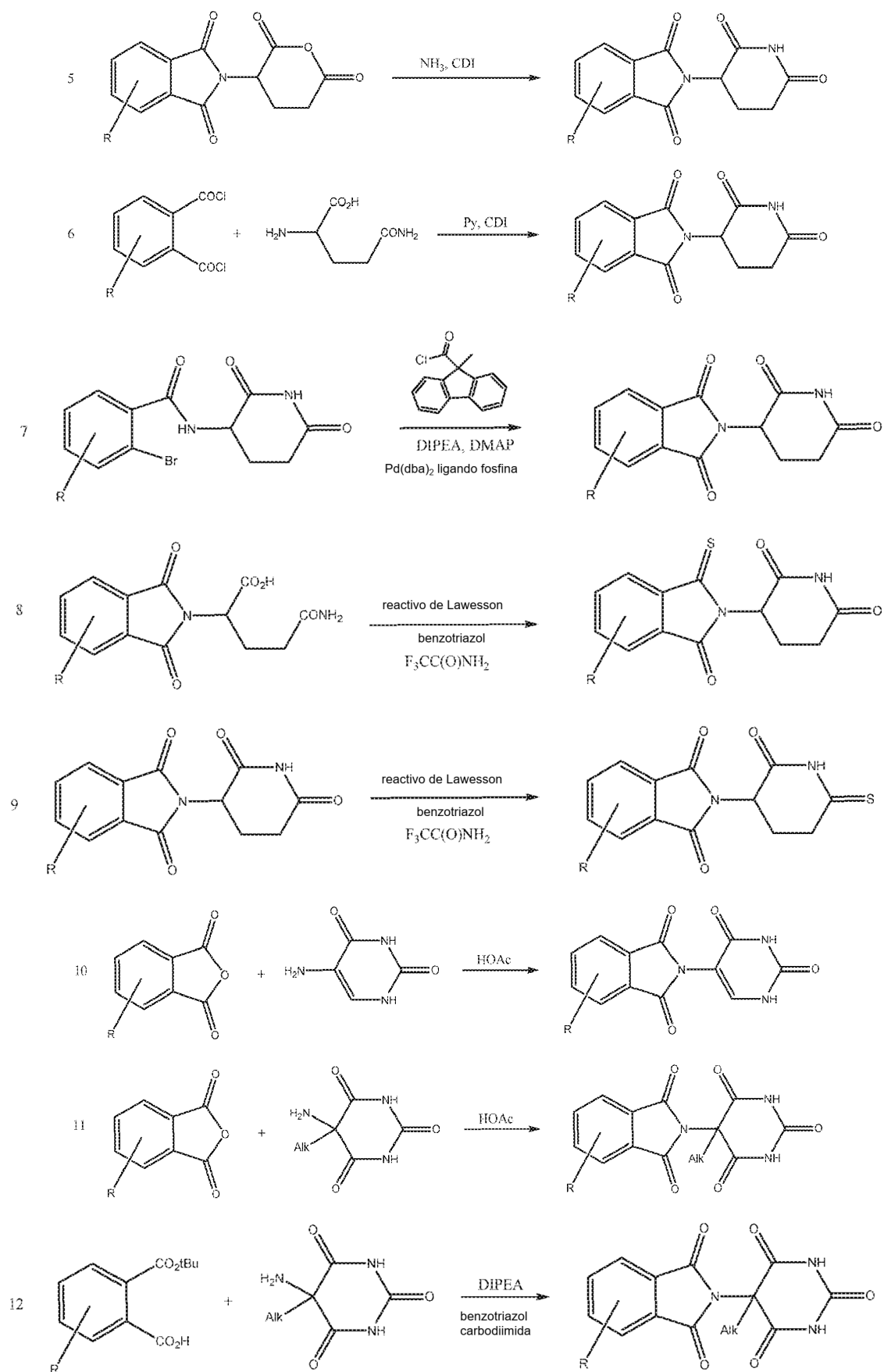
La realización de la síntesis y la optimización de las moléculas bifuncionales como se describe en el presente documento pueden abordarse de forma modular o por etapas. Por ejemplo, la identificación de compuestos que se unen a las moléculas diana puede implicar campañas de selección de rendimiento alto o medio si no hay ligandos adecuados disponibles de inmediato. No es inusual que los ligandos iniciales requieran un diseño iterativo y ciclos de optimización para mejorar los aspectos subóptimos identificados por los datos de ensayos adecuados *in vitro* y farmacológicos y/o ADMET. Parte de la campaña de optimización / SAR sería sondear las posiciones del ligando que son tolerantes a la sustitución y que podrían ser lugares adecuados en los que unir la química del enlazador a la cual se hace referencia anteriormente en el presente documento. Cuando se dispone de datos cristalográficos o estructurales de RMN, estos se pueden utilizar para enfocar tal esfuerzo de síntesis.

De una manera muy análoga, se pueden identificar y optimizar ligandos para una ligasa E3, es decir, ULM/CLM.

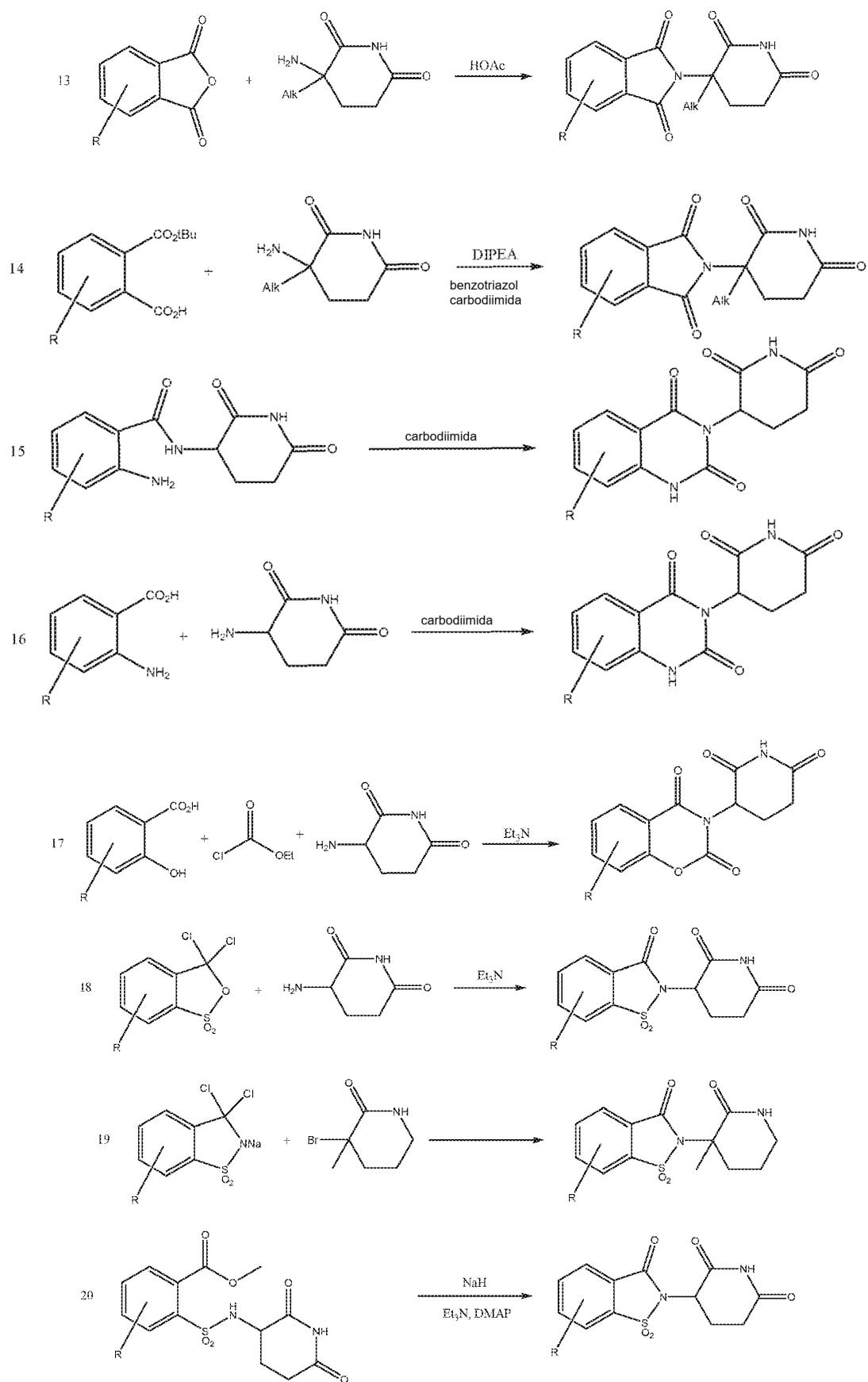
Con PTM y ULM (por ejemplo, CLM) en la mano, un experto en la técnica puede usar métodos de síntesis conocidos para su combinación con o sin un resto enlazador. Los restos enlazadores pueden sintetizarse con varias composiciones, longitudes y flexibilidad y funcionalizarse de manera que los grupos PTM y ULM se puedan unir secuencialmente a los extremos distales del enlazador. Por lo tanto, se puede realizar y perfilar una biblioteca de moléculas bifuncionales en estudios farmacológicos y ADMET/PK *in vitro* e *in vivo*. Al igual que con los grupos PTM y ULM, las moléculas bifuncionales finales pueden someterse a ciclos de optimización y diseño iterativos para identificar moléculas con propiedades deseables.

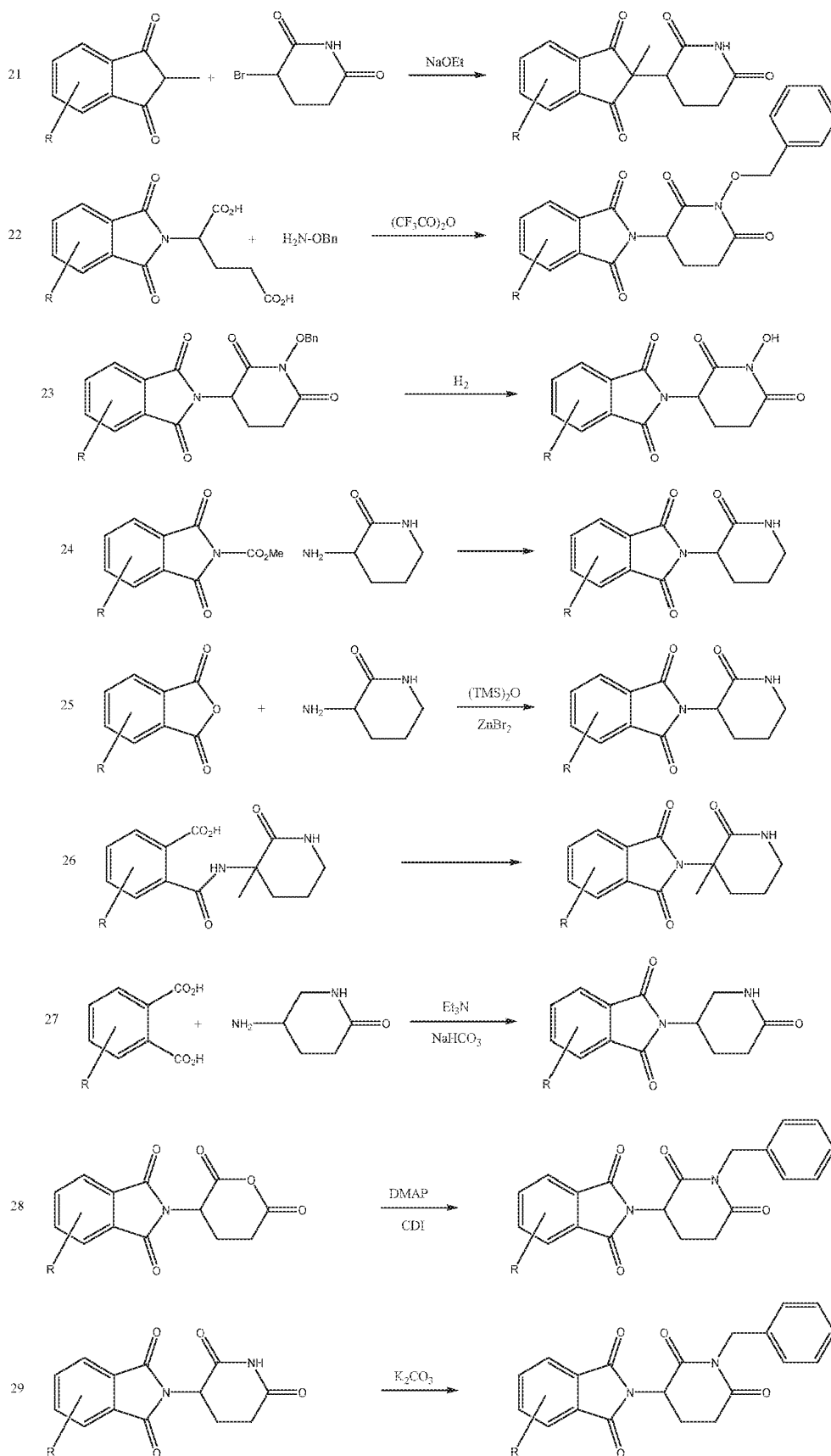
Algunos métodos a modo de ejemplo no limitantes para generar los CLM como se describe en el presente documento se resumen como se muestra a continuación.











Como se muestra en la reacción representativa 1, los derivados de ftalato de dimetilo se pueden condensar con glutamina (racemato o enantiómero) o análogos de glutamina y después reaccionar con agentes tales como carbonildiimidazol para formar derivados de 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1H-isoindolo-1,3-diona.

- Como alternativa, como se muestra en la reacción representativa 2, la ftalimida intermedia producida en la condensación inicial descrita anteriormente se puede preparar y/o aislar por separado y después reaccionar con agentes deshidratantes como trifluoroacetamida,  $\text{POCl}_3$  o anhídrido acético para formar los derivados de 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-1,3-diona deseados. El mismo tipo de ftalimida intermedia también se puede hacer reaccionar con el reactivo de Lawesson antes de la etapa de deshidratación para proporcionar análogos de tio como los que se muestran en las reacciones representativas 8 y 9.
- Los ejemplos protegidos de derivados de 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-1,3-diona, tales como las especies  $\text{N}^1$ -BOC mostradas en el ejemplo representativo 3 pueden desprotegerse para revelar los derivados diana de 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-1,3-diona usando, en este caso, reactivos tales como TFA o sílice.
- Los anhídridos ftálicos, como los que se muestran en el ejemplo representativo 4, pueden abrirse por reacción con aminas tales como 3-aminopiperidin-2,6-diona para formar una especie de carboxilato intermedio, que en el tratamiento con carbonildiimidazol y benzotriazol formará la diana, derivados de 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-1,3-diona. Como alternativa, los dos componentes se pueden combinar en presencia de ácido acético para proporcionar el producto deseado como se muestra en la reacción representativa 13.
- En una reacción análoga, derivados de anhídrido como los que se muestran en la reacción representativa 5 se pueden hacer reaccionar con aminas (amoniaco en el ejemplo mostrado) y después carbonildiimidazoletos para formar los derivados de 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-1,3-diona deseados.
- Cuando se dispone de cloruros de ftaloilo, es posible la condensación directa con glutamina (racemato o enantiómero) o análogos de glutamina, seguido de una reacción adicional con agentes, tales como carbonildiimidazol para formar derivados de 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-1,3-diona como se muestra en la reacción representativa 6.
- Las o-bromobenzamidas se pueden hacer reaccionar con una fuente de CO como el cloruro de ácido que se muestra en la reacción representativa 7 en presencia de un catalizador de paladio y ligando de fosfina asociado para producir derivados de 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-1,3-diona deseados. Como alternativa, el propio gas CO puede usarse junto con catalizadores de rodio (II) y carbonato de plata para proporcionar los productos deseados.
- Derivados de 2-(2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-5-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-1,3-diona y de 5-(1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-1,3-diazinano-2,4,6-triona se pueden preparar por medios análogos a algunos de los métodos descritos anteriormente para derivados de 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-1,3-diona. En las reacciones representativas 20 y 21, se puede hacer reaccionar un anhídrido ftálico con derivados de 5-amino-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-2,4-diona o 5-amino-1,3-diazinano-2,4,6-triona, respectivamente, en presencia de ácido acético para formar los productos deseados.
- Como alternativa, pueden prepararse derivados de 5-(1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)-1,3-diazinano-2,4,6-triona por reacción de derivados de 5-amino-1,3-diazinano-2,4,6-triona con mono *tert*-butil ésteres de ácido ftálico en presencia de base de Hünig, una carbodiimida y benzotriazol como se muestra en la reacción representativa 12. Se pueden emplear condiciones similares para la preparación de derivados de 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-1,3-diona a partir de mono *tert*-butil ésteres de ácido ftálico como se muestra en reacción representativa 14.
- Los compuestos tales como 3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,2,3,4-tetrahidroquinazolin-2,4-diona se pueden preparar a partir de derivados del ácido antranílico por reacción de 3-aminopiperidin-2,6-dionas con una carbodiimida como en la reacción representativa 16. El producto de benzamida intermedio puede aislarse (o producirse por separado) y hacerse reaccionar adicionalmente con una carbodiimida para producir derivados de 3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,2,3,4-tetrahidroquinazolin-2,4-diona como se muestra en la reacción representativa 15.
- Los análogos de 3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-3,4-dihidro-2H-1,3-benzoxazin-2,4-diona se pueden preparar mediante la activación de ácidos salicílicos con cloroformiatos y después la condensación con 3-aminopiperidin-2,6-dionas como se muestra en la reacción representativa 17.
- Las 3,3-dicloro-2,1 $\lambda^6$ -benzoxatiol-1,1-dionas como se muestra en la reacción representativa 18 pueden prepararse mediante la reacción de ácidos 2-sulfobenzoicos con  $\text{POCl}_3$  y  $\text{PCl}_5$ . Estos compuestos pueden reaccionar con derivados amino para producir, por ejemplo, los derivados de 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1 $\lambda^6$ ,2-benzotiazol-1,1,3-triona.
- Como se muestra en la reacción representativa 19, los aniones de derivados de sacarina se pueden alquilar con electrófilos, tales como la 3-bromo-3-metilpiperidin-2-ona para producir derivados de 2-(3-metil-2-oxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1 $\lambda^6$ ,2-benzotiazol-1,1,3-triona diana.
- Los análogos de 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1 $\lambda^6$ ,2-benzotiazol-1,1,3-triona también puede prepararse por

reacción de 2-[(2,6-dioxopiperidin-3-il)sulfamoyl]benzoato de metilo con bases fuertes, tales como hidruro sódico (véase la reacción representativa 20).

La desprotección de derivados de 2-metil-2,3-dihidro-1H-indeno-1,3-diona con etóxido sódico, después la reacción con electrófilos, tales como 3-bromopiperidin-2,6-diona proporcionó 3-(2-metil-1,3-dioxo-1H-inden-2-il)piperidin-2,6-diona como se muestra en la reacción representativa 21.

La preparación de compuestos N<sup>1</sup>-sustituídos, tales como 2-[1-(benciloxi)-2,6-dioxopiperidin-3-il]-2,3-dihidro-1H-isoindolo-1,4-diona (reacción representativa 22) puede lograrse mediante reacción de ácido 2-(1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-2-il)pentanodioico con N-bencilhidroxilamina y con anhídrido trifluoroacético.

A su vez, moléculas tales como 2-[1-(benciloxi)-2,6-dioxopiperidin-3-il]-2,3-dihidro-1H-isoindolo-1,4-diona (reacción representativa 23) pueden estar sujetas en condiciones de hidrogenación para producir análogos de N<sup>1</sup>-hidroxi, tales como 2-(1-hidroxi-2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1H-isoindolo-1,3-diona.

En la reacción representativa 24, se hace reaccionar 1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindolo-2-carboxilato de metilo (y análogos) con 3-aminopiperidin-2-ona para proporcionar 2-(2-oxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1H-isoindolo-1,3-dionas.

La misma amina también se puede hacer reaccionar con derivados de anhídrido ftálico en presencia de un ácido de Lewis, tal como bromuro de cinc y éter trimetilsilílico para producir el mismo tipo de producto que se muestra en la reacción representativa 25. Los productos intermedios de esta reacción, si se aíslan o se preparan de otro modo (reacción representativa 26), pueden llevarse a una ciclación completa mediante el uso de un agente deshidratante.

Los derivados isoméricos, tales como 2-(6-oxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol-1,3-diona que se muestran en la reacción representativa 27 se pueden obtener mediante la reacción del ácido ftálico con 5-aminopiperidin-2-ona.

La preparación de compuestos N<sup>1</sup>-sustituídos, tales como 2-(1-bencil-2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1H-isoindolo-1,4-diona (reacciones representativas 28 y 29) pueden lograrse a través de múltiples rutas. Por ejemplo, el anhídrido (2-(2,6-dioxooxan-3-il)-2,3-dihidro-1H-isoindolo-1,3-diona) se puede condensar con 3-aminopiperidin-2,6-diona en presencia de DMAP y carbonildiimidazol (reacción representativa 28), o derivados de 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2,3-dihidro-1H-isoindolo-1,3-diona pueden alquilarse con electrófilos, tales como bromuro de bencilo en presencia de base como se muestra en la reacción representativa 29.

En algunos casos, se pueden requerir estrategias de grupos protectores y/o interconversiones de grupos funcionales (FGI) para facilitar la preparación de los materiales deseados. Estos procesos químicos son bien conocidos por el químico orgánico sintético y muchos de ellos se pueden encontrar en textos, tales como "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis" Peter G. M. Wuts and Theodora W. Greene (Wiley), y "Organic Synthesis: The Disconnection Approach" Stuart Warren and Paul Wyatt (Wiley).

#### **Control del nivel de proteínas**

Esta descripción también proporciona métodos para el control de los niveles de proteínas en una célula. Esto se basa en el uso de compuestos como se describe en el presente documento, los cuales se saben que interactúan con una proteína diana específica de modo que la degradación de una proteína diana *in vivo* dará como resultado el control de la cantidad de proteína en un sistema biológico, preferentemente a beneficio terapéutico.

Los siguientes ejemplos se utilizan para ayudar a describir la presente invención, pero no deben verse como limitantes de la presente invención de ninguna manera.

#### **Realizaciones a modo de ejemplo de la presente divulgación**

La presente divulgación abarca las siguientes realizaciones específicas. Estas siguientes realizaciones pueden incluir todas las características enumeradas en una realización anterior, como se ha especificado. Cuando sea aplicable, las siguientes realizaciones también pueden incluir las características enumeradas en cualquier realización anterior inclusive o en la alternativa

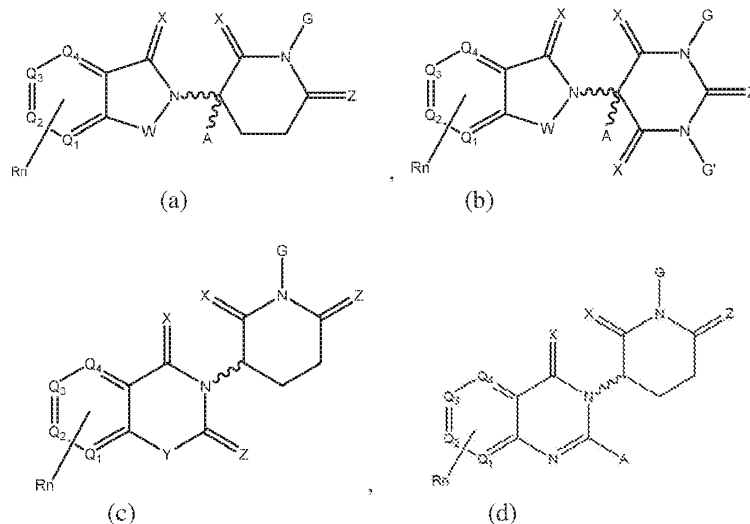
Un aspecto desvela el compuesto que tiene la estructura química: PTM-L-CLM, en donde CLM es un resto de unión de ubiquitina ligasa cereblon E3; PTM es un resto de direccionamiento de proteínas; L es un enlazador seleccionado entre el grupo que consiste en un enlace (ausente) o un grupo enlazador químico; en donde el PTM está acoplado covalentemente al CLM a través del enlazador.

En cualquiera de los aspectos o realizaciones descritos en el presente documento, el PTM es un resto que se une a una proteína que contiene bromodominio, por ejemplo, Brd4.

En cualquiera de los aspectos o realizaciones descritos en el presente documento, los compuestos descritos en el presente documento comprenden además un segundo resto de unión a ligasa de ubiquitina E3 acoplado a través de

un grupo enlazador.

En cualquiera de los aspectos o realizaciones descritos en el presente documento, el CLM comprende un grupo químico obtenido a partir de una imida, un grupo ftalidimido, talidomida, lenalidomida, pomalidomida o análogo de los mismos, isómeros de los mismo o derivados de los mismos; en donde el CLM está representado por una estructura química:



en donde

W se selecciona entre el grupo que consiste en CH<sub>2</sub>, CHR, C=O, SO<sub>2</sub>, NH y N-alquilo;

cada X se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en O, S y H<sub>2</sub>;

Y se selecciona entre el grupo que consiste en NH, N-alquilo, N-arilo, N-hetarilo, N-cicloalquilo, N-heterociclilo, O y S;

Z se selecciona entre el grupo que consiste en O, S y H<sub>2</sub>;

G y G' se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en H, alquilo, OH, CH<sub>2</sub>-heterociclilo opcionalmente sustituido con R' y bencilo opcionalmente sustituido con R';

Q<sub>1</sub>, Q<sub>2</sub>, Q<sub>3</sub>, y Q<sub>4</sub> representan un carbono C sustituido con un grupo seleccionado independientemente entre R', N o N-óxido;

A se selecciona independientemente entre el grupo alquilo, cicloalquilo, Cl y F;

R comprende -CONR'R'', -OR', -NR'R'', -SR', -SO<sub>2</sub>R', -SO<sub>2</sub>NR'R'', -CR'R'', -CR'NR'R'', -arilo, -hetarilo, -alquilo, -cicloalquilo, -heterociclilo, -P(O)(OR')R'', -P(O)R'R'', -OP(O)(OR')R'', -OP(O)R'R'', -Cl, -F, -Br, -I, -CF<sub>3</sub>, -CN, -NR'SO<sub>2</sub>NR'R'', -NR'CONR'R'', -CONR'COR'', -NR'C(=N-CN)NR'R'', -C(=N-CN)NR'R'', -NR'C(=N-CN)R'', -NR'C(=C-NO<sub>2</sub>)NR'R'',

-SO<sub>2</sub>NR'COR'', -NO<sub>2</sub>, -CO<sub>2</sub>R', -C(C=N-OR')R'', -CR'=CR'R'', -CCR', -S(C=O)(C=N-R')R'', -SF<sub>5</sub> y -OCF<sub>3</sub>;

R' y R'' se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en un enlace, H, alquilo, cicloalquilo, arilo, hetarilo, heterociclilo;

~~~~~ representa un enlace que puede ser estereoespecífico ((R) o (S)) o no estereoespecífico; y

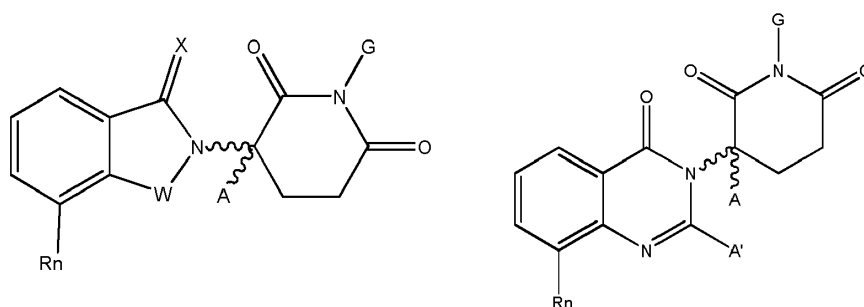
R_n comprende un grupo funcional o un átomo,

en donde n es un número entero de 1-4, y en donde

cuando n es 1, R_n se modifica para unirse covalentemente al grupo enlazador (L), y

cuando n es 2, 3 o 4, entonces un R_n se modifica para unirse covalentemente al grupo enlazador (L), y cualquier otro R_n se modifica opcionalmente para unirse covalentemente a un PTM, un ULM, un segundo CLM que tiene la misma estructura química como el CLM, un CLM', un segundo enlazador, o cualquier múltiple o combinación de los mismos.

En cualquiera de los aspectos o realizaciones descritos en el presente documento, el CLM tiene una estructura química representada por:



en donde

- 5 W se selecciona entre el grupo que consiste en CH₂, C=O, SO₂ y NH;
 cada X se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en O, H₂;
 G se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en H, alquilo, OH;
 A y A' se seleccionan independientemente entre el grupo alquilo, cicloalquilo, Cl y F;
 R_n comprende un grupo funcional o un átomo,
 10 en donde n es un número entero de 1-4, y en donde
 cuando n es 1, R_n se modifica para unirse covalentemente al grupo enlazador (L), y
 cuando n es 2, 3 o 4, entonces un R_n se modifica para unirse covalentemente al grupo enlazador (L), y cualquier
 otro R_n se modifica opcionalmente para unirse covalentemente a un PTM, un ULM, un segundo CLM que tiene la
 15 misma estructura química como el CLM, un CLM', un segundo enlazador, o cualquier múltiple o combinación de
 los mismos.

En un aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en:

- 20 2-[(9R)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-
 N-[4-({1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-4,7,10-trioxa-1-azadodecan-12-
 il}oxi)fenil]acetamida;
- 25 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-
 N-[(1S)-1-(4-[5-[2-(2-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}etoxi)etoxi]pirimidin-
 2-il]fenil)etil]acetamida;
- 30 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-
 N-[2-[2-(2-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}etoxi)etoxi]etil]acetamida;
- 35 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-
 N-[(1R)-1-(4-[2-(2-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-
 il]amino}etoxi)etoxi]fenil)etil]acetamida;
- 40 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-
 N-[2-(2-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}etoxi)etil]acetamida;
- 45 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-
 N-[(1S)-1-(4-[5-(3-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}propoxi)pirimidin-2-
 il]fenil)etil]acetamida;
- 50 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-
 N-[(1S)-1-(4-[3-(2-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-
 il]amino}etoxi)propoxi]fenil)etil]acetamida;
- 55 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-
 N-[(1S)-1-(4-[2-(2-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-
 il]amino}etoxi)etoxi]fenil)etil]acetamida;
- 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-
 N-[(1S)-1-(4-[2-(2-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}butil)etil]acetamida;
- 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-
 N-[(1S)-1-(4-[2-(2-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}etil)etil]acetamida;
- 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-
 N-[(1S)-1-(4-[2-(2-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}pentil)etil]acetamida;

- 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino]propil)acetamida;
- 5 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(4-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino]butil)acetamida;
- 10 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1S)-1-{4-[2-(2-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino]etoxi)etoxi]-3-fluorofenil]etil]acetamida;
- 15 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[4-({1-[2-(3-metil-2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-4,7,10-trioxa-1-azadodecan-12-il}oxi)fenil]acetamida;
- 20 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[4-({1-[2-(1-metil-2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-4,7,10-trioxa-1-azadodecan-12-il}oxi)fenil]acetamida;
- 25 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1R)-1-{3-[3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino]propoxi]fenil]etil]acetamida;
- 30 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(3S)-1-{4-[[2-(2-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino]etoxi]benzoil]pirrolidin-3-il]amino]etil]amino]benzoil]pirrolidin-3-il]acetamida;
- 35 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[2-(2-[[3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metil-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il]amino]etoxi)etil]acetamida;
- 40 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[3-(3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino]propoxi)propil]acetamida;
- 45 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(3S)-1-{4-(2-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino]etoxi)benzoil]pirrolidin-3-il]acetamida;
- 50 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(4-[2-(2-[[3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metil-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il]amino]etoxi)etoxi]etoxi]fenil]acetamida;
- 55 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(5-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino]pentil)acetamida;
- 60 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[3-(3-[[3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metil-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il]amino]propoxi)propil]acetamida;
- 65 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(3S)-1-{4-(2-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino]etoxi)benzoil]pirrolidin-3-il]acetamida;
- 4-(4-[[[(5Z)-3-{1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-4,7,10,13-tetraoxa-1-azapentadecan-15-il]-2,4-dioxo-1,3-tiazolidin-5-iliden]metil]-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo;
- 4-(4-[[[(5Z)-3-{1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-4,7,10,13-tetraoxa-1-azadodecan-12-il]-2,4-dioxo-1,3-tiazolidin-5-iliden]metil]-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo;
- 4-(4-[[[(5Z)-3-{1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-4,7,10,13,16-pentaoxa-1-azaoctadecan-18-il]-2,4-dioxo-1,3-tiazolidin-5-iliden]metil]-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo; y
- 4-(4-[[[(5Z)-3-{1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-4,7,10,13,16,19-hexaoxa-1-azahenicosan-21-il]-2,4-dioxo-1,3-tiazolidin-5-iliden]metil]-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo, incluyendo formas de sal farmacéuticamente aceptables del mismo.

En cualquiera de los aspectos o realizaciones descritos en el presente documento, el enlazador (L) comprende una unidad estructural química representada por la fórmula:



en donde,

q es un número entero mayor a 1; y

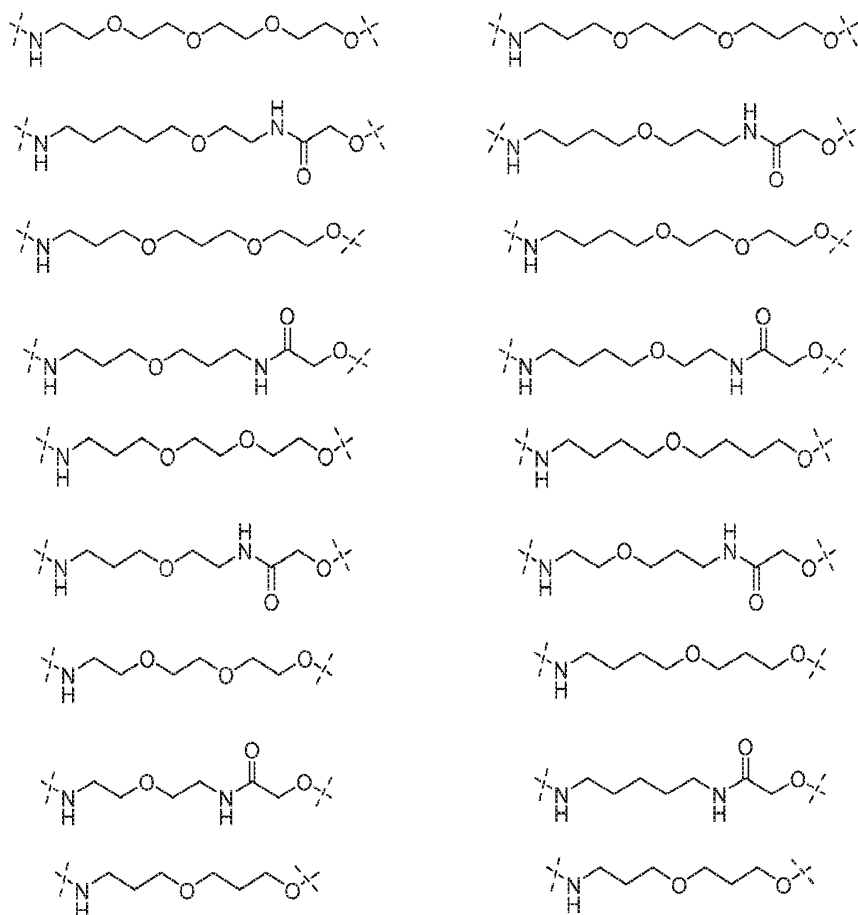
A se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en un enlace, CRL_1RL_4 , O, S, SO, SO_2 , NRL_3 , SO_2NRL_3 , SONRL_3 , CONRL_3 , $\text{NRL}_3\text{CONRL}_4$, $\text{NRL}_3\text{SO}_2\text{NRL}_4$, CO, $\text{CRL}_1=\text{CRL}_2$, $\text{C}\equiv\text{C}$, SiRL_1RL_2 , $\text{P}(\text{O})\text{RL}_1$, $\text{P}(\text{O})\text{ORL}_1$, $\text{NRL}_3\text{C}(\text{=NCN})\text{NRL}_4$, $\text{NRL}_3\text{C}(\text{=NCN})$, $\text{NRL}_3\text{C}(\text{=CNO}_2)\text{NRL}_4$, cicloalquilo C3-11 opcionalmente sustituido con 0-6 grupos RL_1 y/o RL_2 , heterociclilo C3-11 opcionalmente sustituido con 0-6 grupos RL_1 y/o RL_2 , arilo opcionalmente sustituido con 0-6 grupos RL_1 y/o RL_2 , heteroarilo opcionalmente sustituido con 0-6 grupos RL_1 y/o RL_2 ;

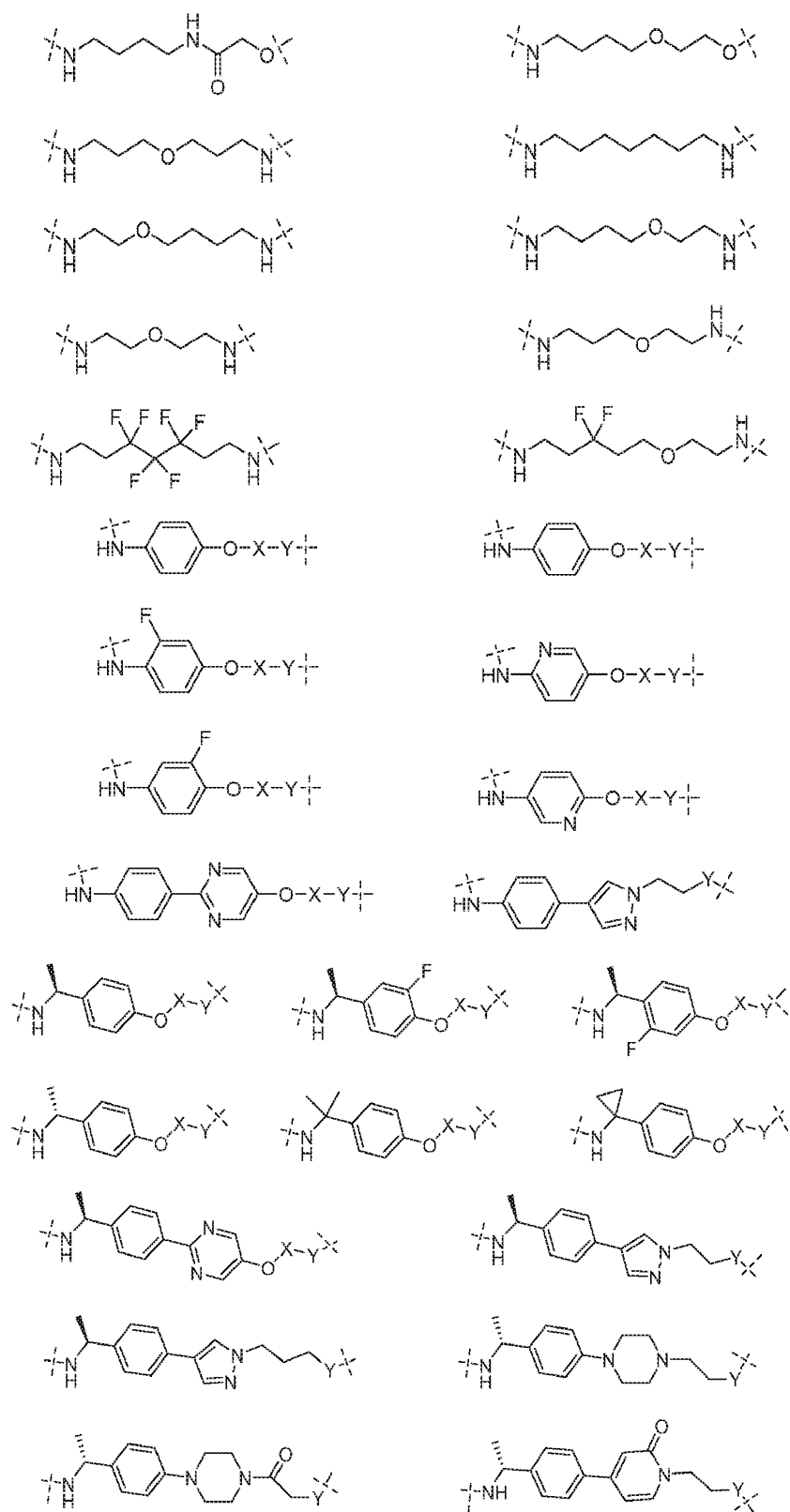
RL_1 , RL_2 , RL_3 , RL_4 y RL_5 se seleccionan cada uno independientemente entre el grupo que consiste en H, halo, alquilo C1-8, Oalquilo C1-8, Salquilo C1-8, Nhalquilo C1-8, N(alquilo C1-8)₂, cicloalquilo C3-11, arilo, heteroarilo, heterociclilo C3-11, Ocicloalquilo C1-8, Scicloalquilo C1-8, Nhcicloalquilo C1-8, N(cicloalquilo C1-8)₂, N(cicloalquil C1-8)(alquilo C1-8), OH, NH_2 , SH, SO_2 alquilo C1-8, $\text{P}(\text{O})(\text{Oalquil C1-8})(\text{alquilo C1-8})$, $\text{P}(\text{O})(\text{Oalquilo C1-8})_2$, CC-alquilo C1-8, CCH, $\text{CH}=\text{CH}(\text{alquilo C1-8})$, $\text{C}(\text{alquil C1-8})=\text{CH}(\text{alquilo C1-8})$, $\text{C}(\text{alquil C1-8})=\text{C}(\text{alquilo C1-8})_2$, $\text{Si}(\text{OH})_3$, $\text{Si}(\text{alquilo C1-8})_3$, $\text{Si}(\text{OH})(\text{alquilo C1-8})_2$, COalquilo C1-8, CO_2H , halógeno, CN, CF_3 , CHF_2 , CH_2F , NO_2 , SF_5 , $\text{SO}_2\text{Nhalquilo C1-8}$, $\text{SO}_2\text{N}(\text{alquilo C1-8})_2$, SONhalquilo C1-8 , $\text{SON}(\text{alquilo C1-8})_2$, CONhalquilo C1-8 , $\text{CON}(\text{alquilo C1-8})_2$, $\text{N}(\text{alquil C1-8})\text{CONH}(\text{alquilo C1-8})$, $\text{N}(\text{alquil C1-8})\text{CON}(\text{alquilo C1-8})_2$, $\text{NHCONH}(\text{alquilo C1-8})$, $\text{NHCON}(\text{alquilo C1-8})_2$, NHCONH_2 , $\text{N}(\text{alquil C1-8})\text{SO}_2\text{NH}(\text{alquilo C1-8})$, $\text{N}(\text{alquil C1-8})\text{SO}_2\text{N}(\text{alquilo C1-8})_2$, $\text{NH}\text{SO}_2\text{NH}(\text{alquilo C1-8})$, $\text{NH}\text{SO}_2\text{N}(\text{alquilo C1-8})_2$ y $\text{NH}\text{SO}_2\text{NH}_2$; y

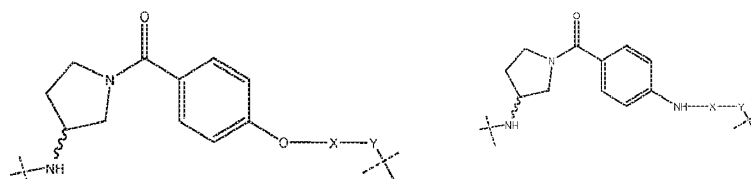
cuando q es mayor de 1, RL_1 o RL_2 cada uno independientemente, se puede unir a otro grupo A para formar un grupo cicloalquilo y/o heterociclilo que se puede sustituir adicionalmente con 0-4 grupos RL_5 .

En cualquiera de los aspectos o realizaciones descritos en el presente documento, L comprende cadenas no lineales, restos cíclicos alifáticos o aromáticos o heteroaromáticos.

En cualquiera de los aspectos o realizaciones descritos en el presente documento, L se selecciona entre el grupo que consiste en:







en donde "X" es una cadena lineal con átomos que varían de 2 a 14 opcionalmente sustituidos para contener heteroátomos; y

"Y" se selecciona independientemente del grupo que consiste en O, N, S(O)_n (n=0, 1, 2).

En un aspecto adicional, la divulgación proporciona composiciones que comprenden una cantidad eficaz de un compuesto como se describe en el presente documento.

En aspectos adicionales, la divulgación proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad eficaz de un compuesto como se describe en el presente documento, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, aditivo y/o excipiente.

En cualquiera de los aspectos o realizaciones descritos en el presente documento, la composición farmacéutica puede comprender además un agente bioactivo adicional.

En cualquiera de los aspectos o realizaciones descritos en el presente documento, el agente bioactivo adicional es un agente anticáncer.

En cualquiera de los aspectos o realizaciones descritos en el presente documento, el agente anticáncer se selecciona del grupo que consiste en everolimus, trabectedina, abraxano, TLK 286, AV-299, DN-101, pazopanib, GSK690693, RTA 744, ON 0910.Na, AZD 6244 (ARRY-142886), AMN-107, TKI-258, GSK461364, AZD 1152, enzastaurina, vandetanib, ARQ-197, MK-0457, MLN8054, PHA-739358, R-763, AT-9263, un inhibidor de FLT-3, un inhibidor de VEGFR, un inhibidor de EGFR TK, un inhibidor de aurora quinasa, un modulador de PIK-1, un inhibidor de Bcl-2, un inhibidor de HDAC, un inhibidor de c-MET, un inhibidor de PARP, un inhibidor de Cdk, un inhibidor de EGFR TK, un inhibidor de IGFR-TK, un anticuerpo anti-HGF, unos inhibidores de PI3 quinasa, un inhibidor de AKT, un inhibidor de mTORC1/2, un inhibidor de JAK/STAT, un inhibidor del punto de control 1 o 2, un inhibidor de la quinasa de adhesión focal, un inhibidor de Map quinasa quinasa (mek), un anticuerpo trampa de VEGF, pemetrexed, erlotinib, dasatinib, nilotinib, decatanib, panitumumab, amrubicina, oregovomab, Lep-etu, nolatrexed, azd2171, batatubulina, ofatumumab, zanolimumab, edotecarina, tetrandrina, rubitecán, tesmilifeno, oblimersen, ticilimumab, ipilimumab, gosipol, Bio 111, 131-I-TM-601, ALT-110, BIO 140, CC 8490, cilengitida, gimatecán, IL13-PE38QQR, INO 1001, IPdR₁ KRX-0402, lucantona, LY 317615, neuradiab, vitespán, Rta 744, Sdx 102, talampanel, atrasentán, Xr 311, romidepsina, ADS-100380, sunitinib, 5-fluorouracilo, vorinostat, etopósido, gemcitabina, doxorubicina, doxorubicina liposómica, 5'-desoxi-5-fluorouridina, vincristina, temozolomida, ZK-304709, seliciclib, PD0325901, AZD-6244, capecitabina, Ácido L-glutámico, N-[4-[2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-1H-pirrol[2,3-d]pirimidin-5-il)etil]benzoil]-, sal disódica, heptahidrato, camptotecina, irinotecán marcado con PEG, tamoxifeno, citrato de toremifeno, anastrozol, exemestano, letrozol, DES (dietilestilbestrol), estradiol, estrógeno, estrógeno conjugado, bevacizumab, IMC-1C11, CHIR-258; 3-[5-(metilsulfonilpiperadinometil)-indolil-quinolona, vatalanib, AG-013736, AVE-0005, la sal de acetato de [D- Ser(But) 6, Azgly 10](piro-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser(But)-Leu-Arg-Pro- Azgly-NH₂ acetato [C₅₉H₈₄N₁₈O₁₄-(C₂H₄O₂)_x donde x = 1 a 2,4], acetato de goserelina, acetato de leuprolida, pamoato de triptorelina, acetato de medroxiprogesterona, caproato de hidroxiprogesterona, acetato de megestrol, raloxifeno, bicalutamida, flutamida, nilutamida, acetato de megestrol, CP-724714; TAK-165, HKI-272, erlotinib, lapatanib, canertinib, anticuerpo ABX-EGF, erbitux, EKB-569, PKI-166, GW-572016, lonafarnib, BMS-214662, tipifarnib; amifostina, NVP-LAQ824, ácido hidroxámico analida de suberoilo, ácido valproico, tricotostatina A, FK-228, SU11248, sorafenib, KRN951, aminoglutetimida, arnsacrina, anagrelida, L-asparaginasa, vacuna del bacilo de Calmette-Guerin (BCG), adriamicina, bleomicina, buserelina, busulfán, carboplatino, carmustina, clorambucilo, cisplatino, cladribina, clodronato, ciproterona, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daunorubicina, dietilestilbestrol, epirubicina, fludarabina, fludrocortisona, fluoximasterona, flutamida, gleevac, gemcitabina, hidroxurea, idarrubicina, ifosfamida, imatinib, leuprolida, levamisol, lomustina, mecloretamina, melfalán, 6-mercaptopurina, mesna, metotrexato, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, nilutamida, octreotida, oxaliplatino, pamidronato, pentostatina, plicamicina, porfímero, procarbazona, raltitrexed, rituximab, estreptozocina, tenipósido, testosterona, talidomida, tioguanina, tiotepa, tretinoína, vindesina, ácido 13-cis-retinoico, mostaza de fenilalanina, mostaza de uracilo, estramustina, altretamina, floxuridina, 5-desoxiuridina, arabinósido de citosina, 6-mecaptopurina, desoxicoformicina, calcitriol, valrubicina, mitramicina, vinblastina, vinorelbina, topotecán, razoxina, marimastat, COL-3, neovastat, BMS-275291, escualamina, endostatina, SU5416, SU6668, EMD121974, interleucina-12, IM862, angiostatina, vitaxina, droloxifeno, idoxifeno, espironolactona, finasterida, cimitidina, trastuzumab, denileucina difitox, gefitinib, bortezomib, paclitaxel, paclitaxel sin cremóforo, docetaxel, epitilona B, BMS-247550, BMS-310705, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, pipendoxifeno, ERA-923, arzoxifeno, fulvestrant, acolbifeno, lasofofifeno, idoxifeno, TSE-424, HMR-3339, ZK186619, topotecán, PTK787/ZK 222584, VX-745, PD 184352, rapamicina, 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, temsirolimus, AP-23573, RAD001, ABT-578, BC-210, LY294002, LY292223, LY292696,

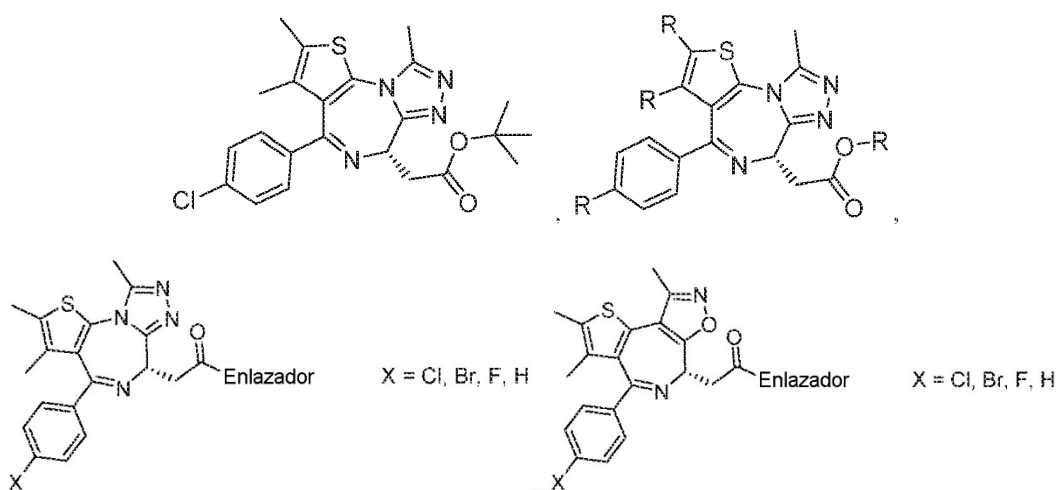
LY293684, LY293646, wortmanina, ZM336372, L-779.450, PEG-filgrastim, darbepoetina, eritropoyetina, factor estimulador de colonias de granulocitos, zolendronato, prednisona, cetuximab, factor estimulador de colonia de granulocitos y macrófagos, histrelina, interferón alfa-2a pegilado, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b pegilado, interferón alfa-2b, azacitidina, PEG-L-asparaginasa, lenalidomida, gemtuzumab, hidroclorona, interleucina-11, dextrazoxano, alemtuzumab, ácido todo-transretinoico, cetoconazol, interleucina-2, megestrol, inmunoglobulina, mostaza de nitrógeno, metilprednisolona, ibritumomab tiuxetán, andrógenos, decitabina, hexametilmelamina, bexaroteno, tositumomab, trióxido de arsénico, cortisona, editronato, mitotano, ciclosporina, daunorrubicina liposómica, Edwina-asparaginasa, estroncio 89, casopitant, netupitant, unos antagonistas del receptor de NK-1, palonosetrón, aprepitant, difenhidramina, hidroxizina, metoclopramida, lorazepam, alprazolam, haloperidol, droperidol, dronabinol, dexametasona, metilprednisolona, proclorperazina, granisetron, ondansetrón, dolasetron, tropisetron, pegfilgrastim, eritropoyetina, epoetina alfa, darbepoetin alfa y mezclas de los mismos.

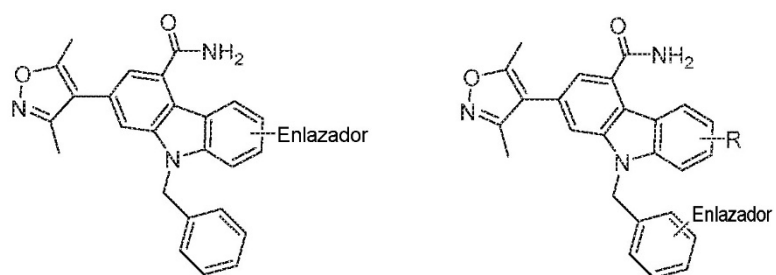
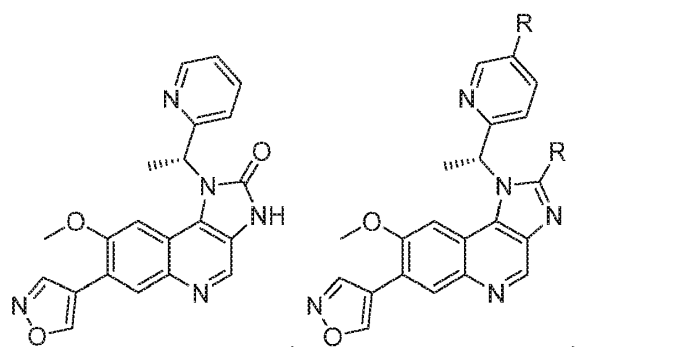
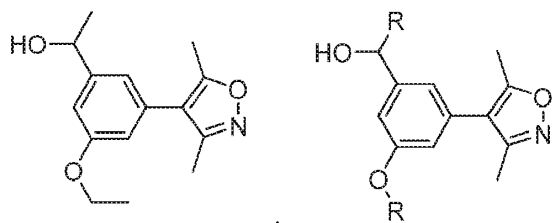
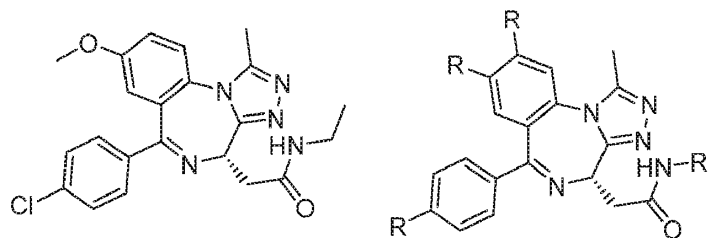
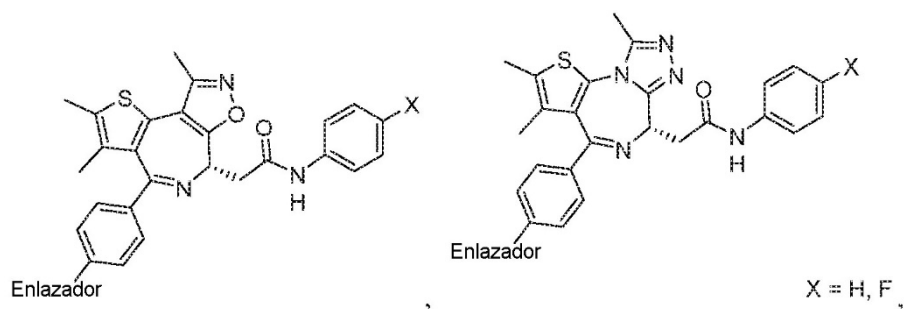
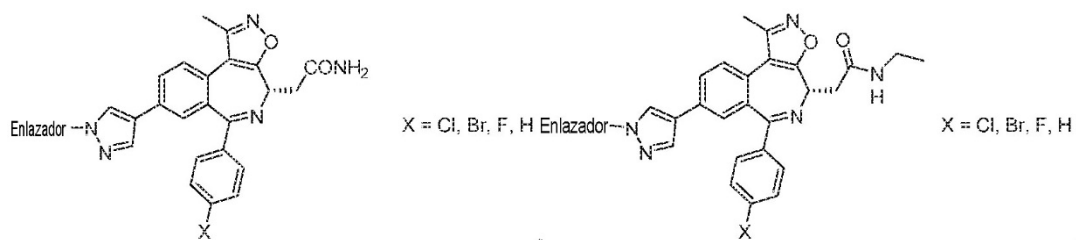
En un aspecto adicional, la divulgación proporciona métodos para inducir la degradación de una proteína diana en una célula que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto como se describe en el presente documento a la célula, en donde el compuesto produce la degradación de la proteína diana.

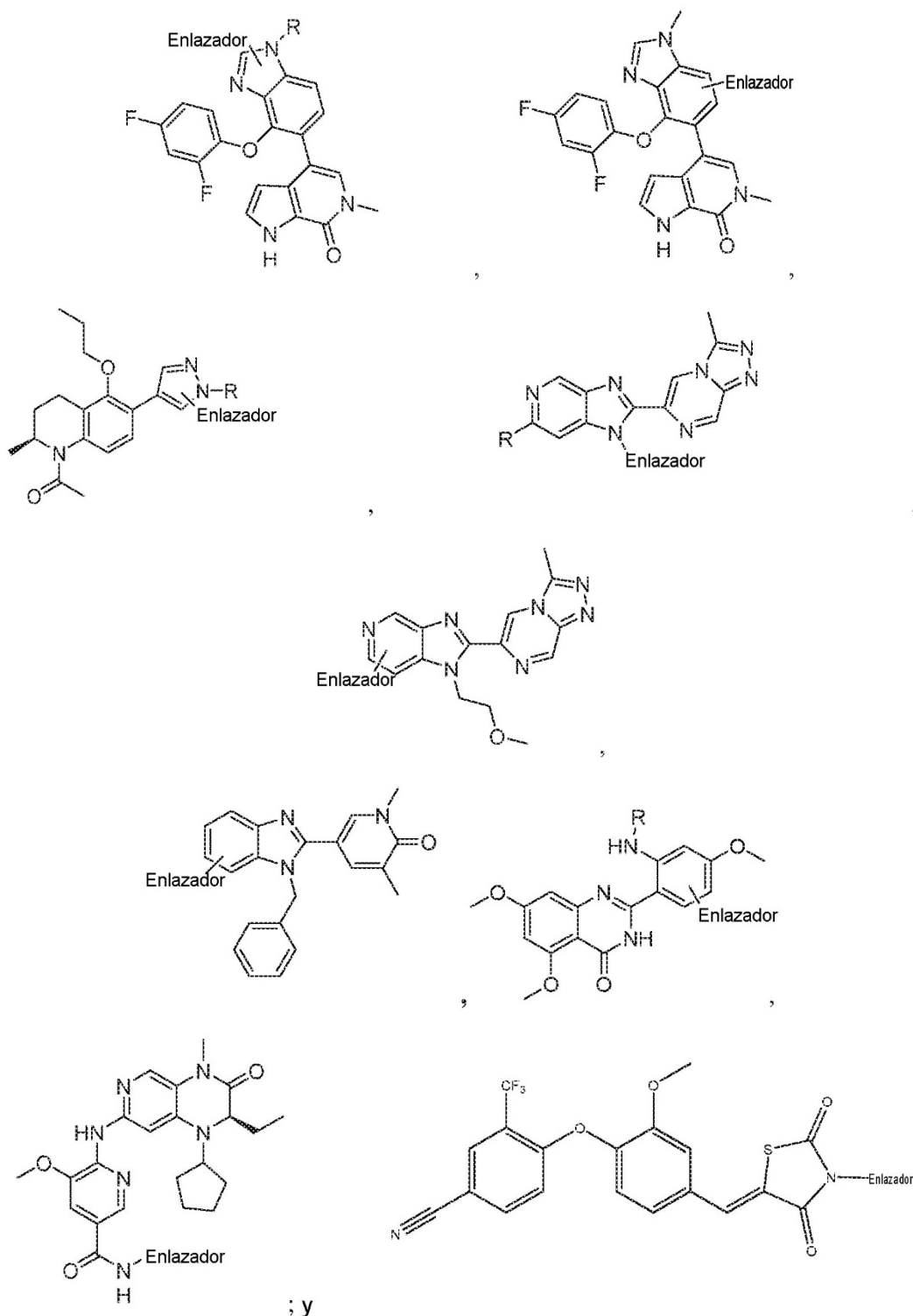
En aspectos aún adicionales, la divulgación proporciona composiciones que comprenden una cantidad eficaz de un compuesto como se describe en el presente documento para su uso en un método para tratar el cáncer, comprendiendo dicho método administrar la composición a un paciente que lo necesite, en donde la composición es eficaz para el tratamiento o alivio de al menos un síntoma de cáncer en el paciente.

En cualquiera de los aspectos o realizaciones descritos en el presente documento, el cáncer es carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinomas hepatocelulares y carcinomas de células renales, cáncer de la vejiga, intestino, mama, cuello del útero, colon, esófago, cabeza, riñón, hígado, pulmón, cuello, ovario, páncreas, próstata y estómago; leucemias; linfomas benignos y malignos, particularmente, linfoma de Burkitt y linfoma no Hodgkiniano; melanomas benignos y malignos; enfermedades mieloproliferativas; mieloma múltiple, sarcomas, incluyendo sarcoma de Ewing, hemangiosarcoma, sarcoma de Kaposi, liposarcoma, miosarcomas, neuroepitelioma periférico, sarcoma sinovial, gliomas, astrocitomas, oligodendrogliomas, ependimomas, glioblastomas, neuroblastomas, ganglioneuromas, gangliogliomas, meduloblastomas, tumores de células pineales, meningiomas, sarcomas menígeos, neurofibromas y Schwannomas; cáncer de intestino, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de cuello de útero, cáncer de útero, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, cáncer testicular, cáncer de tiroides, astrocitoma, cáncer esofágico, cáncer pancreático, cáncer de estómago, cáncer de hígado, cáncer de colon, melanoma; carcinosarcoma, enfermedad de Hodgkin, tumor de Wilms o teratocarcinomas, Leucemia linfoblástica aguda de linaje T (T-ALL), Linfoma linfoblástico de linaje T (T-LL), Linfoma periférico de células T, Leucemia de células T del adulto, ALL Pre-B, Linfomas pre-B, Linfoma de células B grandes, Linfoma de Burkitt, ALL de células B, ALL con cromosoma Philadelphia positivo y LMC con cromosoma Philadelphia positivo.

En cualquiera de los aspectos o realizaciones descritos en el presente documento, el CLM está acoplado a un PTM que tiene una estructura seleccionada del grupo que consiste en:







10

en donde R o Enlazador es un enlace o un resto enlazador químico que acopla el CLM al PTM, incluyendo las formas de sal farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Ejemplos

15

A. Clonación, expresión y purificación de CRBN y DDB1 humanos. El procedimiento es convencional para uno versado en la materia, como se tipifica por la descripción en Lopez-Girona *et al.* (Cereblon is a direct protein target for immunomodulatory and antiproliferative activities of lenalidomide and pomalidomide, A Lopez-Girona, D Mendy, T Ito, K Miller, A K Gandhi, J Kang, S Karasawa, G Carmel, P Jackson, M Abbasian, A Mahmoudi, B Cathers, E Rychak, S Gaidarova, R Chen, P H Schafer, H Handa, T O Daniel, J F Evans y R Chopra, Leukemia 26: 2326-2335, 2012).

20

Los ADNc de los genes CRBN y DDB1 pueden amplificarse mediante PCR usando Pfusion (NEB) como polimerasa y las siguientes secuencias de cebadores:

| Cebador | Secuencia |
|---------------|---|
| CRBN-Directo | GTGCCGCGTGGCTCCATGGCCGGCGAAGGAGATCAGCAGGA (SEQ ID NO: 1) |
| CFBN-Rev | GCTTCCTTTTCGGGCTTATTACAAGCAAAGTATTACTTTGTC (SEQ ID NO: 2) |
| DDB1-Directo | TCGGGCGCGGTCTCGGTCCGAAAAGGATGTCGTACAACACTACGTGGTAAC (SEQ ID NO: 3) |
| DDB1-Rev | GCTTCCTTTTCGGGCTTATTTTTCGAACTGCGGGTGGCTCCAATGGATCCGAGTTAGCTCCT (SEQ ID NO: 4) |
| CRBN-Flag-Rev | GCTTCCTTTTCGGGCTTACTTATCGTCATCGCCTTGTAGTCCAAGCAAAGTATTACTTTGT (SEQ ID NO: 5) |

CRBN puede clonarse en pBV-ZZ-HT-LIC, pBV-GST-LIC, pMA-HT-LIC y DDB1 en pBV-notag-LIC, usando clonación independiente de la ligación 26. Para la clonación en el vector de mamíferos pMA-HT-LIC, el oligo CRBN-Flag-Inverso añade una etiqueta FLAG C-terminal para inmunodetección. El DDB1-Rev añade un StrepTag 27. Es necesaria una etiqueta ZZ 28 para lograr una alta expresión de CRBN soluble; sin ello, el His-CRBN se expresa a bajo nivel, mientras que una GST-CRBN da como resultado una proteína agregada. Se generan y amplifican baculovirus recombinantes de ZZ-His-CRBN y DDB1-StrepTag (ST) usando el sistema de expresión de baculovirus Bac-to-Bac de Invitrogen en células de insecto Sf9. ZZ-His-CRBN y DDB1-ST se coexpresan en insectos High Five (Tni) en bolsas de ondas de 10 l a 27 °C usando medio ESF921 no suplementado de Expression Systems. Las células se recolectan 48 horas después de la infección mediante centrifugación y la pasta se resuspende en PBS más cóctel inhibidor de proteasa 5X (Roche, Indianapolis, IN).

Todas las etapas posteriores de purificación de proteínas se llevan a cabo a 4 °C. Las células congeladas se descongelan, se resuspenden en 5 volúmenes de tampón de lisis (Tris HCl 50 mM pH 8,0, NaCl 0,5 M, glicerol al 10 %, DTT 2 mM) más inhibidores de imidazol y proteasa 20 mM, se lisaron y centrifugaron para producir un sobrenadante transparente. El CRBN-DDB1 se purifica en un sistema ÄKTA-xpress (GE Healthcare) mediante cromatografía de níquel-Sepharose y Sephacryl S200. Después el complejo se purifica adicionalmente usando cromatografía de intercambio aniónico en una columna MonoQ de 8 ml y una segunda pasada en una filtración en gel S-200. CRBN-DDB1 se identifica mediante SDS-PAGE y las fracciones que contienen CRBN-DDB1 se combinaron y almacenaron a -70 °C.

2. Ensayo de fusión térmica de fluorescencia para medir la unión de compuestos a CRBN recombinante

El ensayo es convencional para uno versado en la materia, como se tipifica por la descripción en Lopez-Girona *et al.* (Cereblon is a direct protein target for immunomodulatory and antiproliferative activities of lenalidomide and pomalidomide, A Lopez-Girona, D Mendy, T Ito, K Miller, A K Gandhi, J Kang, S Karasawa, G Carmel, P Jackson, M Abbasian, A Mahmoudi, B Cathers, E Rychak, S Gaidarova, R Chen, P H Schafer, H Handa, T O Daniel, J F Evans y R Chopra, Leukemia 26: 2326-2335, 2012).

Las estabildades térmicas de CRBN-DDB1 en presencia o ausencia de compuestos de prueba se realizan en presencia de Sypro Orange en un formato de microplaca de acuerdo con Pantoliano *et al.* (Pantoliano MW, Petrella EC, Kwasnoski JD, Lobanov VS, Myslik J, Graf E *et al.* High-density miniaturized thermal shift assays as a general strategy for drug discovery. J Biomol Screen 2001; 6: 429-440.) Dos mg de proteína en 20 ml de tampón de ensayo (Tris HCl 25 mM pH 8,0, NaCl 150 mM, 2 uM Sypro Orange) se someten a un aumento gradual de temperatura de 20 a 70 °C y la fluorescencia se lee cada 1 °C en un ABIPrism 7900HT (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, EE.UU.). Los compuestos se disuelven en DMSO (final al 1 % en el ensayo) y se analizan por cuadruplicado en un intervalo de concentración entre 30 nM y 1000 uM; los controles contenían solo un 1 % de DMSO.

3. Método de CLEM

El análisis se realiza en una columna Poroshell 120 EC C18 (50 mm x 3,0 mm de diámetro interno de 2,7 µm de diámetro de relleno) a 45 °C.

Los disolventes empleados son:

- A = Solución de ácido fórmico al 0,1 % v/v en agua.
- B = Solución de ácido fórmico al 0,1 % v/v en acetonitrilo.

El gradiente empleado es el siguiente:

| Tiempo (minutos) | Caudal (ml/min) | % de A | % de B |
|------------------|------------------|--------|--------|
| 0 | 1 | 95 | 5 |
| 0,5 | 1 | 95 | 5 |
| 3,0 | 1 | 1 | 99 |
| 3,75 | 1 | 1 | 99 |
| 4,0 | 1 | 95 | 5 |

La detección UV es una señal promediada desde una longitud de onda de 210 nm a 350 nm y los espectros de masas se registran en un espectrómetro de masas usando ionización por electropulverización en modo positivo.

- 5 A continuación se ilustran las fases móviles y los gradientes usados cuando los compuestos se purifican mediante HPLC preparativa.

4. HPLC preparativa (modificador de ácido fórmico)

- 10 El análisis de HPLC se realiza en una columna OBD X Bridge RP18 (150 mm x 19 mm de diámetro interno, 5 µm de diámetro de relleno) a temperatura ambiente.

Los disolventes empleados son:

- 15 A = Solución de ácido fórmico al 0,1 % v/v en agua.
B = acetonitrilo.

5. HPLC preparativa (modificador de bicarbonato de amonio)

- 20 El análisis de HPLC se realiza en una columna OBD X Bridge RP18 (150 mm x 19 mm de diámetro interno, 5 µm de diámetro de relleno) a temperatura ambiente.

Los disolventes empleados son:

- 25 A = bicarbonato de amonio 10 mM en agua.
B = acetonitrilo.

Para cada una de las purificaciones preparativas, independientemente del modificador usado, el gradiente empleado depende del tiempo de retención del compuesto particular que se somete a purificación según se registra en la CLEM analítica. El caudal es 20 ml/min.

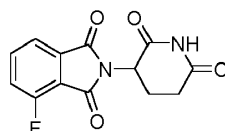
La detección UV es una señal de una longitud de onda de 254 nm o 220 nm.

- 35 Aunque las realizaciones preferidas de la invención se han mostrado y descrito en el presente documento, se entenderá que tales realizaciones se proporcionan solo a modo de ejemplo.

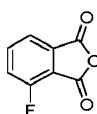
B. Síntesis

- 40 Los detalles de síntesis de los ejemplos incluidos a continuación son representativos de los procedimientos generales que informan sobre la síntesis del conjunto de ejemplos más amplio.

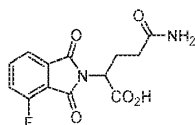
1. 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-fluoro-2,3-dihidro-1H-isoindolo-1,3-diona



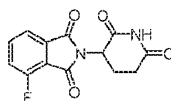
- 45 **Etapa 1:** 4-fluoroisobenzofuran-1,3-diona



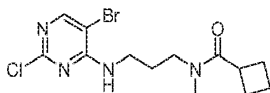
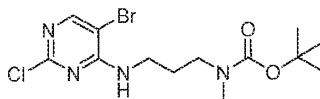
- 50 Una mezcla de ácido 3-fluoroftálico (50 g, 271,7 mmol) en anhídrido acético (400 ml) se calentó a reflujo durante 2 h. Los volátiles se retiraron al vacío, y los residuos se cristalizaron en anhídrido acético para proporcionar 4-fluoroisobenzofuran-1,3-diona (40 g, en bruto) en forma de un sólido de color pardo. CL-EM: 167,1 [MH]⁺. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,58 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,86 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,92-7,97 (m, 1H).

Etapla 2: ácido 5-amino-2-(4-fluoro-1,3-dioxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoico

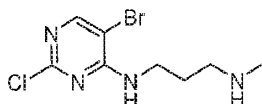
Una mezcla de la 4-fluoroisobenzofuran-1,3-diona anterior (40 g, en bruto) y L-glutamina (35 g, 239 mmol) en DMF seca (200 ml) se agitó a 90 °C durante 8 h. El disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se volvió a disolver en HCl 4 N (200 ml) y se agitó durante 8 h adicionales. La precipitación resultante se recogió por filtración, se lavó con agua y se secó para proporcionar ácido 5-amino-2-(4-fluoro-1,3-dioxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoico (37 g, en bruto) en forma de un sólido de color blanquecino. CL-EM: 295,2 [MH]⁺. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 2,16-2,20 (m, 2H), 2,31-2,43 (m, 2H), 4,79-4,83 (m, 1H), 6,79 (a, 1H), 7,26 (a, 1H), 7,77-7,85 (m, 2H), 7,98-8,03 (m, 1H), 13,32 (a, 1H).

Etapla 3: 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-fluoro-2,3-dihidro-1H-isoindolo-1,3-diona

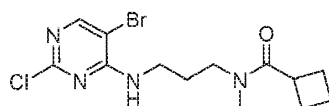
Una mezcla del anterior ácido 5-amino-2-(4-fluoro-1,3-dioxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoico (37 g, en bruto), 1,1'-carbonyldiimidazol (CDI) (24,2 g, 149,4 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (1,3 g, 11,5 mmol) en acetonitrilo (80 ml) se calentó a reflujo durante 5 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. El sólido resultante se recogió por filtración, y se lavó con acetonitrilo (100 ml) para proporcionar el producto en bruto, el cual se purificó por cromatografía sobre gel de sílice usando MeOH al 1-10 % en DCM como eluyente para proporcionar 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-fluoroisindolin-1,3-diona (9,0 g, rendimiento del 12 % durante tres etapas) en forma de un sólido de color amarillo claro. CL-EM: 277,2 [MH]⁺. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 2,14-2,19 (m, 1H), 2,75-2,95 (m, 3H), 4,97-5,01 (m, 1H), 7,43 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 7,10-7,81 (m, 2H), 8,08 (a, 1H).

2. N-(3-(5-bromo-2-cloropirimidin-4-ilamino)propil)-N-metilciclobutano carboxamida**Etapla 1:** N-{3-[(5-bromo-2-cloropirimidin-4-il)amino]propil}-N-metilcarbamato de *terc*-butilo

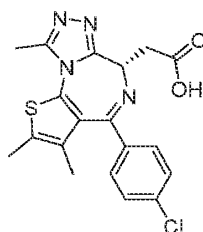
Una mezcla de N-(3-aminopropil)-N-metilcarbamato de *terc*-butilo (826 mg, 4,40 mmol) y 5-bromo-2,4-dicloropirimidina (400 mg, 1,76 mmol) en MeOH (10 ml) se agitó a ta durante 1 h. Después, la mezcla de reacción se concentró al vacío, y el residuo se purificó usando una cromatografía Teledyne ISCO [EtOAc al 0→35 %/Heptanos] para proporcionar N-{3-[(5-bromo-2-cloropirimidin-4-il)amino]propil}-N-metilcarbamato de *terc*-butilo (615 mg, rendimiento del 92 %). CL-EM (ES⁺): m/z = 381,05/383,05 [MH]⁺, t_R = 2,55 min.

Etapla 2: {3-[(5-bromo-2-cloropirimidin-4-il)amino]propil}(metil)amina

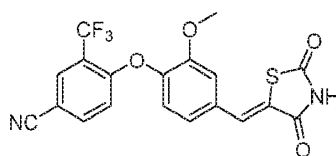
A una solución de N-{3-[(5-bromo-2-cloropirimidin-4-il)amino]propil}-N-metilcarbamato de *terc*-butilo (615 mg, 1,62 mmol) en DCM (5 ml) se le añadió ácido trifluoroacético (0,54 ml, 6,5 mmol) a ta. Después de que la mezcla se agitara durante 1 h, se concentró al vacío. El residuo se purificó usando una cromatografía Teledyne ISCO [metanol al 0 → 15 % en DCM] para proporcionar {3-[(5-bromo-2-cloropirimidin-4-il)amino]propil}(metil)amina (371 mg, rendimiento del 82 %). CL-EM (ES⁺): m/z = 280,99/282,99 [MH]⁺, t_R = 1,13 min.

Etapla 3: N-{3-[(5-bromo-2-cloropirimidin-4-il)amino]propil}-N-metilciclobutanocarboxamida

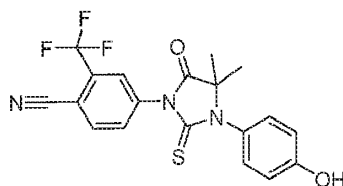
A una solución de {3-[(5-bromo-2-cloropirimidin-4-il)amino]propil}(metil)amina (371 mg, 1,33 mmol) y cloruro de ciclobutanocarboxilo (188 mg, 1,60 mmol) en DCM (10 ml) a ta, se le añadió trietil amina (0,41 ml, 2,92 mmol). La mezcla de reacción se dejó en agitación a ta durante 16 h, después se concentró al vacío. El residuo se purificó usando una cromatografía Teledyne ISCO [EtOAc al 0 → 100 %/Heptanos] para proporcionar N-{3-[(5-bromo-2-cloropirimidin-4-il)amino]propil}-N-metilciclobutano carboxamida (268 mg, 56 %). CL-EM (ES⁺): *m/z* = 363,041365,04 [MH⁺], *t_R* = 2,18 min.

3. ácido (S)-2-(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)acético

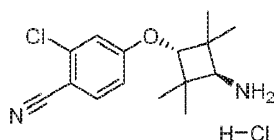
El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en WO2011/143660

4. (Z)-4-(4-((2,4-dioxotiazolidin-5-iliden)metil)-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en Patch, R. J. et al J. Med Chem. 2011, 54, 788-808.

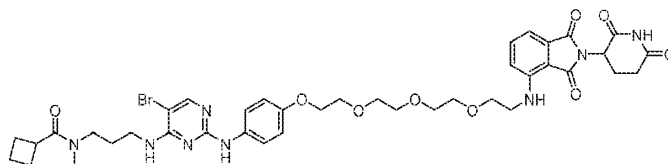
5. 4-[3-(4-hidroxifenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-sulfanilidenimidazolidin-1-il]-2-(trifluorometil)benzonitrilo

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en Jung, M. E. et al J. Med. Chem. 2010, 53, 2779-2796.

6. sal de hidrogenocloruro de 2-cloro-4-(trans-3-amino-2,2,4,4-tetrametilciclobutoxi)benzonitrilo

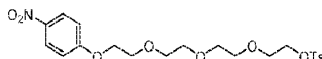
El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en Guo, C. et al J. Med. Chem. 2011, 54, 7693-7704.

7. **[N-(3-(5-bromo-2-(4-(2-(2-(2-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-ilamino)etoxi)etoxi)etoxi)etoxi)fenilamino)pirimidin-4-ilamino)propil)-N-metilciclobutanocarboxamida]**



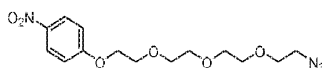
(Estructura del compuesto n.º 17 mostrada en la Tabla 1)

5 **Etapla 1: 4-metilbencenosulfonato de 2-(2-(2-(4-nitrofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etilo**



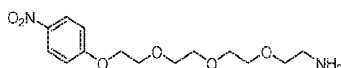
10 Una mezcla de bis(4-metilbencenosulfonato) de 2,2'-(2,2'-oxibis(etano-2,1-diil)bis(oxi))bis(etano-2,1-diilo) (3 g, 5,96 mmol), 4-nitrofenol (813 mg, 5,84 mmol) y carbonato potásico (1,65 g, 11,94 mmol) en N,N-dimetilformamida seca (20 ml) se agitó a 50 °C durante una noche. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en agua (60 ml), después se extrajo con acetato de etilo (80 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (50 ml) y salmuera (50 ml), se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo al 10-20 % en hexano) para proporcionar 4-metilbencenosulfonato de 2-(2-(2-(4-nitrofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etilo (2,65 g, 15 rendimiento del 95 %) en forma de un aceite de color amarillo. CL-EM (ES⁺): m/z 470,2 [MH⁺] (t_R = 2,83 min)

Etapla 2: [1-(2-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)etoxi)-4-nitrobenceno]



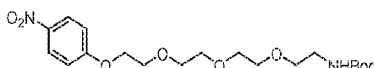
20 Una mezcla de 4-metilbencenosulfonato de 2-(2-(2-(2-(4-nitrofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etilo (2,65 g, 5,64 mmol) y azida sódica (734 mg, 11,29 mmol) en etanol (30 ml) se calentó a reflujo durante 16 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se inactivó con agua (50 ml) y se extrajo con diclorometano (50 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (50 ml) y salmuera (40 ml), se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentraron a presión reducida para proporcionar el 1-(2-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)etoxi)-4-nitrobenceno en bruto (865 mg) en forma de un aceite de color amarillo.

30 **Etapla 3: [2-(2-(2-(2-(4-nitrofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etanamina]**

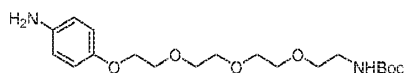


35 Una mezcla del 1-(2-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)etoxi)-4-nitrobenceno anterior (865 mg, 2,54 mmol), trifenilfosfina (999 mg, 3,81 mmol) y agua (69 mg, 3,83 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 14 h en una atmósfera de nitrógeno. Los volátiles se retiraron a presión reducida para proporcionar un residuo en bruto, el cual se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con metanol al 3-5 % en diclorometano) para proporcionar 2-(2-(2-(2-(4-nitrofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etanamina (661 mg, rendimiento del 83 %) en forma de un aceite de color amarillo. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 2,86 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 3,51 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 3,63-3,75 (m, 8H), 3,90 (t, J = 4,4 Hz, 2H), 4,23 (t, J = 4,8 Hz, 2H), 6,97-6,99 (m, 2H), 8,18-8,22 (m, 2H).

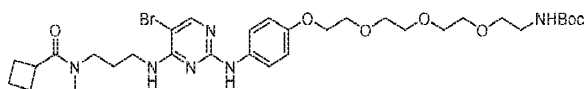
40 **Etapla 4: 2-(2-(2-(2-(4-nitrofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etilcarbamato de *terc*-butilo**



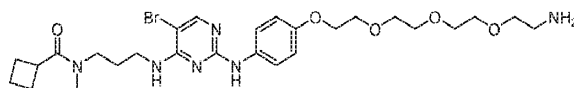
45 Una mezcla de 2-(2-(2-(2-(4-nitrofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etanamina (661 mg, 2,1 mmol), trietilamina (449 mg, 4,43 mmol) y dicarbonato de di-*terc*-butilo (505 mg, 2,31 mmol) en diclorometano (25 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se diluyó con diclorometano (100 ml), se lavó con agua (30 ml x 2) y salmuera (30 ml), se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo al 20-40 % en hexano) para proporcionar 2-(2-(2-(2-(4-nitrofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etilcarbamato de *terc*-butilo (818 mg, rendimiento del 94 %) en forma de un aceite de color amarillo. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 1,44 (s, 9H), 3,37 (d, J = 5,2 Hz, 2H), 3,54 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 3,62-3,70 (m, 6H), 3,73-3,76 (m, 2H), 3,90 (t, J = 4,4 Hz, 2H), 4,23 (t, J = 4,8 Hz, 2H), 5,01 (a, 1H), 6,96-7,00 (m, 2H), 8,18-8,22 (m, 2H).

Etapas 5: 2-(2-(2-(2-(4-aminofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etilcarbamato de *tert*-butilo

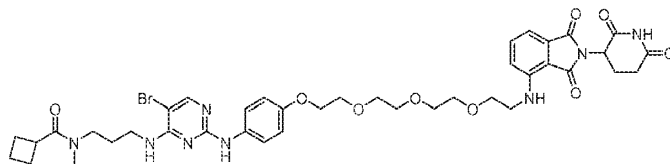
Una mezcla de 2-(2-(2-(2-(4-nitrofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etilcarbamato (818 mg, 1,97 mmol), polvo de hierro (1,1 g, 0,65 mmol) y cloruro de amonio (528 mg, 9,87 mmol) en etanol (20 ml) y agua (5 ml) se agitó a 80 °C durante 1 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, el precipitado sólido se retiró por filtración y se lavó con acetato de etilo (20 ml x 2). El filtrado se repartió entre acetato de etilo (120 ml) y agua (30 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (30 ml), se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo al 30-40 % en hexano) para proporcionar 2-(2-(2-(2-(4-aminofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etilcarbamato de *tert*-butilo (512 mg, rendimiento del 67 %) en forma de un aceite de color amarillo.

Etapas 6: 2-(2-(2-(2-(4-(5-bromo-4-(3-(N-metilciclobutanocarboxamido)propilamino)pirimidin-2-ilamino)fenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etilcarbamato de *tert*-butilo

Una mezcla de 2-(2-(2-(2-(4-aminofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etil carbamato de *tert*-butilo (130 mg, 0,34 mmol), N-(3-(5-bromo-2-cloropirimidin-4-ilamino)propil)-N-metilciclobutanocarboxamida (24 mg, 0,06 mmol) y ácido *p*-toluenosulfónico (11,6 mg, 0,07 mmol) en dioxano (1,5 ml) se calentó a reflujo durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se inactivó con una solución acuosa de bicarbonato sódico (1,0 N, 30 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (30 ml) y salmuera (30 ml), se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentraron a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo al 50 % en hexano) para proporcionar 2-(2-(2-(2-(4-(5-bromo-4-(3-(N-metilciclobutanocarboxamido)propilamino)pirimidin-2-ilamino)fenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etilcarbamato de *tert*-butilo (40 mg, rendimiento del 17 %) en forma de un aceite de color amarillo.

Etapas 7: N-(3-(2-(4-(2-(2-(2-(2-aminoetoxi)etoxi)etoxi)etoxi)fenilamino)-5-bromopirimidin-4-ilamino)propil)-N-metilciclobutanocarboxamida

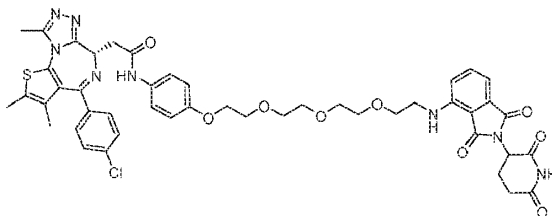
Una mezcla de 2-(2-(2-(2-(4-(5-bromo-4-(3-(N-metilciclobutanocarboxamido)propilamino)pirimidin-2-ilamino)fenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etilcarbamato de *tert*-butilo (40 mg, 0,06 mmol) en ácido 2,2,2-trifluoroacético (1 ml) y diclorometano (1 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Los volátiles se retiraron a presión reducida. El residuo se repartió entre diclorometano (60 ml) y una solución acuosa de bicarbonato sódico (2,0 N, 30 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (20 ml), se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida para proporcionar N-(3-(2-(4-(2-(2-(2-(2-aminoetoxi)etoxi)etoxi)etoxi)fenilamino)-5-bromopirimidin-4-ilamino)propil)-N-metilciclobutanocarboxamida (18 mg, rendimiento del 52 %) en forma de un aceite de color amarillo.

Etapas 8: N-(3-(5-bromo-2-(4-(2-(2-(2-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-ilamino)etoxi)etoxi)etoxi)etoxi)fenilamino)pirimidin-4-ilamino)propil)-N-metilciclobutanocarboxamida

Una mezcla de N-(3-(2-(4-(2-(2-(2-(2-aminoetoxi)etoxi)etoxi)etoxi)fenilamino)-5-bromopirimidin-4-ilamino)propil)-N-metilciclobutano carboxamida (130 mg, 0,03 mmol), 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-fluoro-2,3-dihidro-1H-isoindolo-1,3-diona (8,2 mg, 0,03 mmol) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (7,6 mg, 0,06 mmol) en N,N-dimetilformamida seca (1 ml) se agitó a 90 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se repartió entre acetato de etilo (100 ml) y agua (30 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (30 ml), se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por TLC prep. para proporcionar N-(3-(5-bromo-2-(4-(2-(2-(2-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-ilamino)etoxi)etoxi)etoxi)etoxi)fenilamino)pirimidin-4-ilamino)propil)-N-metilciclobutanocarboxamida (10,2 mg, rendimiento del 40 %) en forma de un sólido de color amarillo. CL-EM (ES⁺): m/z = 865,27/867,27 (1:1) [MH]⁺. t_R = 2,06 min. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ 1,68-1,77 (m,

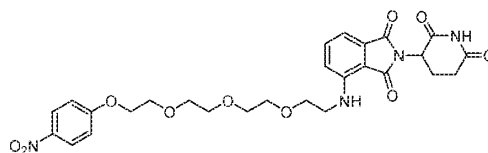
3H), 1,89-1,92 (m, 3H), 2,08-2,15 (m, 3H), 2,60-2,79 (m, 7H), 3,28-3,35 (m, 6H), 3,55-3,61 (m, 10H), 3,69-3,72 (m, 2H), 3,96-3,99 (m, 2H), 4,91-4,95 (m, 1H), 6,75-6,78 (m, 2H), 6,91-6,94 (m, 2H), 7,34-7,42 (m, 3H), 7,76 (d, J = 12,8 Hz, 1H).

- 5 **8. 2-((S)-4-(4-clorofenil)-2,3,9-bimetil-6H-tieno [3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)-N-(4-(2-(2-(2-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-ilamino)etoxi)etoxi)etoxi)etoxi)fenil)acetamida**



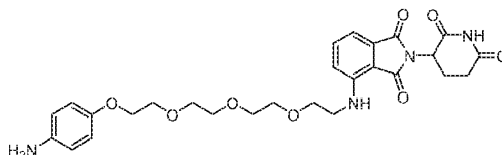
- 10 (Estructura del compuesto n.º 14 mostrada en la Tabla 1)

Etapla 1: (2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-(2-(2-(2-(4-nitrofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etilamino)isindolin-1,3-diona



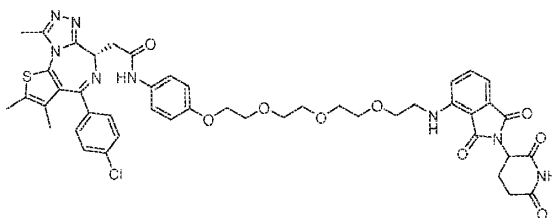
- 15 Una mezcla de 2-(2-(2-(2-(4-nitrofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etanamina (128 mg, 0,41 mmol), 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-fluoro-2,3-dihidro-1H-isindolo-1,3-diona (112,5 mg, 0,41 mmol) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (105 mg, 0,81 mmol) en N,N-dimetilformamida seca (2 ml) se agitó a 90 °C durante 12 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se vertió en agua (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (35 ml×2). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (30 ml) y salmuera (30 ml), se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentraron a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por TLC prep. para proporcionar 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-(2-(2-(2-(4-nitrofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etilamino)isindolin-1,3-diona (73 mg, rendimiento del 31 %) en forma de un sólido de color amarillo. CL-EM (ES⁺): m/z 571,3 [MH⁺], t_R = 2,46 min.

- 25 **Etapla 2:** (4-(2-(2-(2-(2-(4-aminofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etilamino)-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isindolin-1,3-diona)



- 30 A una suspensión de 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-(2-(2-(2-(4-nitrofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etilamino)isindolin-1,3-diona (73 mg, 0,128 mmol) y polvo de hierro (71,6 mg, 1,28 mmol) en etanol (2 ml) se le añadió una solución de cloruro de amonio (68 mg, 1,26 mmol) en agua (0,5 ml) a temperatura ambiente, la mezcla resultante se agitó a 80 °C durante 1 h. Después de enfriar la mezcla a temperatura ambiente, el precipitado sólido se retiró por filtración y se lavó con acetato de etilo (10 ml x 2). El filtrado se repartió entre acetato de etilo (60 ml) y agua (30 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (30 ml), se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida para proporcionar 4-(2-(2-(2-(2-(4-aminofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etilamino)-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isindolin-1,3-diona (66,5 mg, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. CL-EM (ES⁺): m/z 541,5 [MH⁺], t_R = 1,593 min.

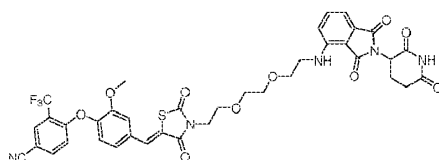
- 40 **Etapla 3:** 2-((S)-4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno [3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)-N-(4-(2-(2-(2-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-ilamino)etoxi)etoxi)etoxi)etoxi)fenil)acetamida



A una solución en agitación de 4-(2-(2-(2-(2-(4-aminofenoxi)etoxi)etoxi)etoxi)etilamino)-2-(2,6-dioxopiperidin-3-

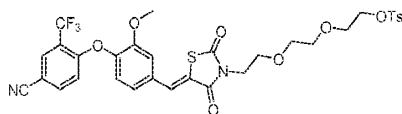
il)isoindolin-1,3-diona (58,4 mg, 0,11 mmol), ácido (S)-2-(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)acético (43,3 mg, 0,11 mmol) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (41,8 mg, 0,32 mmol) en N,N-dimetilformamida seca (1 ml) se le añadió (2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluroniohexafluorofosfato) (82 mg, 0,21 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. La mezcla se vertió en agua (25 ml), se extrajo con acetato de etilo (35 mlx2). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (20 ml) y salmuera (30 ml), se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentraron a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por TLC prep. para proporcionar 2-((S)-4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)-N-(4-(2-(2-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-ilamino)etoxi)etoxi)etoxi)fenil)acetamida (52 mg, rendimiento del 52 %) en forma de un sólido de color amarillo. CL-EM (ES⁺): m/z 923,29/925,29 (3:1) [MH⁺], t_R = 2,689 min. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 1,67 (s, 3H), 2,05-2,12 (m, 1H), 2,40 (s, 3H), 2,65-2,85 (m, 6H), 3,41-3,54 (m, 4H), 3,65-3,74 (m, 10H), 3,81-3,85 (m, 2H), 4,06-4,11 (m, 2H), 4,63-4,69 (m, 1H), 4,85-4,93 (m, 1H), 6,38-6,55 (m, 1H), 6,83 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,92 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,09 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,33 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,39-7,51 (m, 5H), 8,59 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 8,77 (d, J = 3,2 Hz, 1H).

9. (Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-ilamino)etoxi)etoxi)etil)-2,4-dioxotiazolidin-5-iliden)metil)-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo



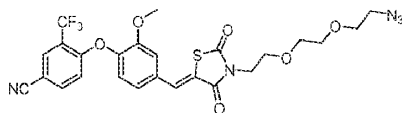
(Estructura del compuesto n.º 22 mostrada en la Tabla 1)

Etapla 1: (Z)-2-(2-(2-(5-(4-(4-ciano-2-(trifluorometil)fenoxi)-3-metoxibenciliden)-2,4-dioxotiazolidin-3-il)etoxi)etoxi)etil 4-metilbencenosulfonato)



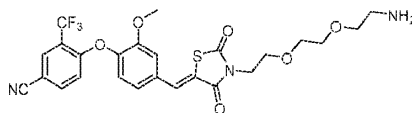
Una mezcla de (Z)-4-(4-((2,4-dioxotiazolidin-5-iliden)metil)-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo (1,0 g, 2,3 mmol), carbonato potásico (1,0 g, 6,9 mmol) y 2,2'-(etano-1,2-diilbis(oxi))bis(etano-2,1-diil) bis(4-metilbencenosulfonato) (1,3 g, 2,7 mmol) en N,N-dimetilformamida (10 ml) se agitó a 80 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se inactivó con agua (10 ml), y se extrajo con acetato de etilo (40 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (50 ml) y salmuera (50 ml), se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo al 10-30 % en hexano) para proporcionar 4-metilbencenosulfonato de (Z)-2-(2-(2-(5-(4-(4-ciano-2-(trifluorometil)fenoxi)-3-metoxibenciliden)-2,4-dioxotiazolidin-3-il)etoxi)etoxi)etilo (1,0 g, rendimiento del 61 %) en forma de un sólido de color amarillo claro.

Etapla 2: (Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etil)-2,4-dioxotiazolidin-5-iliden)metil)-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo



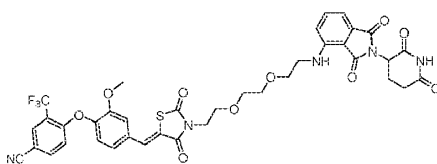
Una mezcla de 4-metilbencenosulfonato de (Z)-2-(2-(2-(5-(4-(4-ciano-2-(trifluorometil)fenoxi)-3-metoxibenciliden)-2,4-dioxotiazolidin-3-il)etoxi)etoxi)etilo (1,0 g, 1,4 mmol) y azida sódica (185 mg, 2,8 mmol) en etanol (20 ml) se calentó a reflujo durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se repartió entre acetato de etilo (100 ml) y agua (20 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (30 ml), se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida para proporcionar (Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etil)-2,4-dioxotiazolidin-5-iliden)metil)-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo (130 mg, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo claro, el cual se usó en la etapa siguiente sin purificación adicional.

Etapla 3: (Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-aminoetoxi)etoxi)etil)-2,4-dioxotiazolidin-5-iliden)metil)-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo



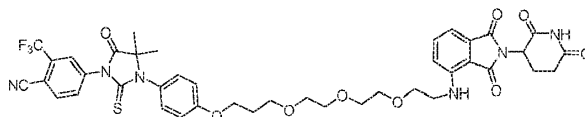
Una mezcla de la anterior (Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etil)-2,4-dioxotiazolidin-5-iliden)metil)-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo (130 mg, en bruto), trifenilfosfina (100 mg, 0,34 mmol) en agua (0,2 ml) y tetrahidrofurano (20 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 14 h. La mezcla se concentró a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con 3-5 % metanol en diclorometano) para dar (Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-aminoetoxi)etoxi)etil)-2,4-dioxotiazolidin-5-iliden)metil)-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo (60 mg, rendimiento del 8 % en dos etapas) en forma de un aceite de color amarillo. CL-EM (ES⁺): m/z 552,1 [MH⁺], t_R = 2,15 min.

Etapla 4: (Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-ilamino)etoxi)etoxi)etil)-2,4-dioxotiazolidin-5-iliden)metil)-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo



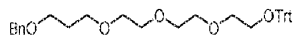
Una mezcla de (Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-aminoetoxi)etoxi)etil)-2,4-dioxotiazolidin-5-iliden)metil)-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo (60 mg, 0,10 mmol), 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-fluoro-2,3-dihidro-1H-isindolo-1,3-diona (30 mg, 0,13 mmol) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (50 mg, 0,39 mmol) en 1-metilpirrolidin-2-ona (1 ml) se agitó a 90 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se inactivó con agua (5 ml) y se extrajo con acetato de etilo (20 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (10 ml x 2) y salmuera (10 ml), se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentraron a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por TLC prep. para proporcionar (Z)-4-(4-((3-(2-(2-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-ilamino)etoxi)etoxi)etil)-2,4-dioxotiazolidin-5-iliden)metil)-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo (9,5 mg, rendimiento del 11,8 %) en forma de un sólido de color amarillo. CL-EM (ES⁺): m/z 808,19 [MH⁺], t_R = 3,022 min. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 2,12-2,16 (m, 1H), 2,73-2,91 (m, 3H), 3,42 (s, 2H), 3,67-3,80 (m, 11H), 3,99 (s, 2H), 4,91-4,95 (m, 1H), 6,51 (s, 1H), 6,76-6,86 (m, 2H), 7,02-7,19 (m, 4H), 7,43 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 7,68 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,85-8,12 (m, 3H).

10. 4-(3-(4-(3-(2-(2-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-il)amino)etoxi)etoxi)etoxi)propoxi)fenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il)-2-(trifluorometil)benzonitrilo



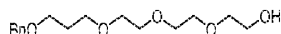
(Estructura del compuesto n.º 1 mostrada en la Tabla 1)

Etapla 1: 1,1,1,16-tetrafenil-2,5,8,11,15-pentaoxahexadecano



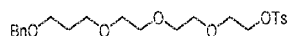
A una solución de 2-(2-(2-(tritoloxi)etoxi)etoxi)etanol (7 g, 17,7 mmol) en N,N-dimetilformamida (50 ml) se le añadió lentamente hidruro sódico (al 60 % en aceite mineral, 707 mg, 17,7 mmol) a 0 °C. Después de la mezcla se agitó a ta durante 30 min, se añadió 4-metilbencenosulfonato de 3-(benciloxi)propilo (5,8 g 18,0 mmol) en una porción a 0 °C, la mezcla resultante se dejó en agitación a 70 °C durante una noche. Después de enfriar la mezcla a ta, se inactivó cuidadosamente con agua (40 ml), se extrajo con acetato de etilo (60 mlx3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (80 ml), se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentraron a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por gel de sílice cromatografía ultrarrápida (eluyendo con acetato de etilo al 5-10 % en hexano) para proporcionar 1,1,1,16-tetrafenil-2,5,8,11,15-pentaoxahexadecano (4,8 g, rendimiento del 50 %) en forma de un aceite incoloro. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 1,85-1,92 (m, 2H), 3,23 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 3,53-3,59 (m, 6H), 3,64-3,68 (m, 8H), 4,47 (s, 2H), 7,19-7,33 (m, 15H), 7,45-7,47 (m, 5H).

Etapla 2: 1-fenil-2,6,9,12-tetraoxatetradecan-14-ol



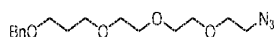
A una solución de 1,1,1,16-tetrafenil-2,5,8,11,15-pentaoxaheptadecano (4,8 g, 8,8 mmol) en dicloruro de metileno (10 ml) y metanol (10 ml) se le añadió ácido clorhídrico acuoso (37 %, 2,5 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 2 h. La mezcla de reacción se vertió en agua (30 ml) y se extrajo con diclorometano (20 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con bicarbonato sódico acuoso (1 N, 50 ml), agua (30 ml) y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo al 20-40 % en hexano) para proporcionar 1-fenil-2,6,9,12-tetraoxatetradecan-14-ol (1,9 g, rendimiento del 73 %) en forma de un aceite incoloro.

Etapas 3: 4-metilbencenosulfonato de 1-fenil-2,6,9,12-tetraoxatetradecan-14-ilo



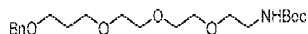
Una mezcla de 1-fenil-2,7,10,13-tetraoxapentadecan-15-ol (1,9 g, 6,3 mmol), trietilamina (1,3 ml, 9,5 mmol), N,N-dimetilpiridin-4-amina (75 mg, 0,63 mmol) y cloruro de 4-metilbenceno-1-sulfonilo (1,45 g, 7,65 mmol) en diclorometano (20 ml) se agitó a ta durante 3 h. Se añadió agua (20 ml) para interrumpir la reacción, y el producto se extrajo con diclorometano (40 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo al 10-30 % en hexano) para proporcionar 4-metilbencenosulfonato de 1-fenil-2,6,9,12-tetraoxatetradecan-14-ilo (2,2 g, rendimiento del 78 %) en forma de un aceite incoloro. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 1,87-1,92 (m, 2H), 2,43 (s, 3H), 3,54-3,60 (m, 12H), 3,67 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 4,15 (t, J = 5,0 Hz, 2H), 4,48 (s, 2H), 7,27-7,33 (m, 7H), 7,79 (d, J = 8,4 Hz, 2H).

Etapas 4: 14-azido-1-fenil-2,6,9,12-tetraoxatetradecano



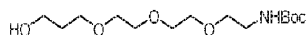
Una mezcla de 4-metilbencenosulfonato de 1-fenil-2,6,9,12-tetraoxatetradecan-14-ilo (2,2 g, 4,9 mmol) y azida sódica (420 mg, 6,3 mmol) en etanol (10 ml) se calentó a reflujo durante 5 h. La mezcla de reacción se enfrió a ta, se vertió en agua (10 ml) y se extrajo con diclorometano (50 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentraron a presión reducida para dar 14-azido-1-fenil-2,6,9,12-tetraoxatetradecano (1,4 g, en bruto) en forma de un aceite incoloro, el cual se usó en la etapa siguiente sin purificación adicional.

Etapas 5: (1-fenil-2,6,9,12-tetraoxatetradecan-14-il)carbamato de *tert*-butilo



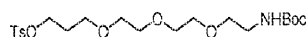
Una mezcla del anterior 14-azido-1-fenil-2,6,9,12-tetraoxatetradecano (1,4 g, en bruto) y trifenilfosfina (1,7 g, 6,5 mmol) en tetrahidrofurano (15 ml) y agua (0,5 ml) se agitó a ta durante una noche en una atmósfera de nitrógeno. A la mezcla de reacción se le añadieron trietilamina (0,9 ml, 6,5 mmol) y dicarbonato de di-*tert*-butilo (1,1 g, 5,2 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se dejó calentar hasta ta y se agitó a ta durante 2 h. Los volátiles se evaporaron a presión reducida, y el residuo se repartió entre diclorometano (100 ml) y agua (50 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (30 ml), se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por gel de sílice cromatografía ultrarrápida (eluyendo con acetato de etilo al 30-50 % en hexano) para proporcionar (1-fenil-2,6,9,12-tetraoxatetradecan-14-il)carbamato de *tert*-butilo (1,2 g, rendimiento del 50 % en dos etapas) en forma de un aceite incoloro.

Etapas 6: 2-(2-(2-(3-hidroxipropoxi)etoxi)etoxi)etilcarbamato de *tert*-butilo



Una mezcla de (1-fenil-2,6,9,12-tetraoxatetradecan-14-il)carbamato de *tert*-butilo (1,2 g, 3 mmol) y paladio sobre carbono (10 %, 200 mg) en etanol (50 ml) se agitó a ta en atmósfera de hidrógeno (globo de hidrógeno). Se retiró paladio sobre carbono por filtración y se lavó con etanol (20 ml). El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 2-(2-(2-(3-hidroxipropoxi)etoxi)etoxi)etilcarbamato de *tert*-butilo (900 mg, en bruto) en forma de un aceite incoloro, el cual se usó en la etapa siguiente sin purificación adicional.

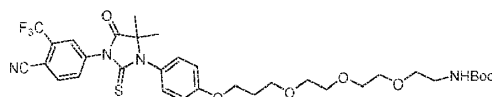
Etapas 7: 4-metilbencenosulfonato de 2,2-dimetil-4-oxo-3,8,11,14-tetraoxa-5-azaheptadecan-17-ilo



Una mezcla del anterior 2-(2-(2-(3-hidroxipropoxi)etoxi)etoxi)etilcarbamato de *tert*-butilo (900 mg, en bruto), trietilamina (0,6 ml, 4,35 mmol), N,N-dimetilpiridin-4-amina (16 mg, 0,14 mmol) y cloruro de 4-metilbenceno-1-sulfonilo (660 mg, 3,5 mmol) en diclorometano anhidro (15 ml) se agitó a ta durante 3 h. Se añadió agua (20 ml) para interrumpir la reacción y el producto se extrajo con diclorometano (50 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con

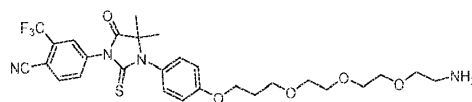
salmuera (50 ml), se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se evaporaron a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo al 20-30 % en hexano) para proporcionar 4-metilbencenosulfonato de 2,2-dimetil-4-oxo-3,8,11,14-tetraoxa-5-azaheptadecan-17-ilo (650 mg, rendimiento del 77 %) en forma de un aceite de color amarillo claro. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 1,44 (s, 9H), 1,88-1,95 (m, 2H), 2,45 (s, 3H), 3,29-3,33 (m, 2H), 3,48-3,61 (m, 12H), 4,09-4,15 (m, 2H), 5,04 (s a, 1H), 7,34 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,79 (d, J = 8,0 Hz, 2H).

Etapla 8: (2-(2-(2-(3-(4-(3-(4-ciano-3-(trifluorometil)fenil)-5,5-dimetil-4-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il)fenoxi)propoxi)etoxi)etoxi)etil)carbamato de *terc*-butilo



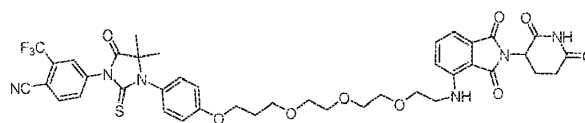
Una mezcla de 4-metilbencenosulfonato de 2,2-dimetil-4-oxo-3,8,11,14-tetraoxa-5-azaheptadecan-17-ilo (115 mg, 0,25 mmol), carbonato potásico (69 mg, 0,50 mmol) y 4-(3-(4-hidroxifenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il)-2-(trifluorometil)benzonitrilo (100 mg, 0,25 mmol) en acetonitrilo (5 ml) se agitó a 80 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se inactivó con agua (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (30 ml) y salmuera (30 ml), se secaron sobre sulfato de magnesio y se evaporaron a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo al 10-30 % en hexano) para proporcionar 2-(2-(2-(3-(4-(3-(4-ciano-3-(trifluorometil)fenil)-5,5-dimetil-4-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il)fenoxi)propoxi)etoxi)etoxi) etilcarbamato de *terc*-butilo (150 mg, rendimiento del 82 %) en forma de un aceite de color amarillo. CL-EM (ES⁺): m/z 695,40 [MH⁺], t_R = 2,79 min.

Etapla 9: 4-(3-(4-(3-(2-(2-(2-aminoetoxi)etoxi)etoxi)propoxi)fenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il)-2-(trifluorometil)benzonitrilo



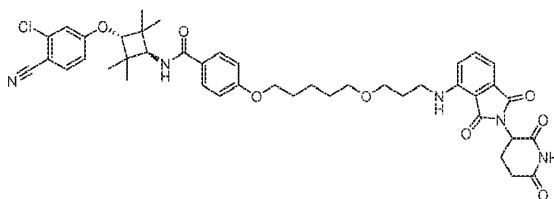
Una mezcla de 2-(2-(2-(3-(4-(3-(4-ciano-3-(trifluorometil)fenil)-5,5-dimetil-4-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il)fenoxi)propoxi)etoxi)etoxi) etilcarbamato de *terc*-butilo (150 mg, 0,21 mmol) en diclorometano anhidro (2 ml) y ácido 2,2,2-trifluoroacético (1 ml) se agitó a ta durante 1 h. Los volátiles se evaporaron a presión reducida, el residuo se vertió en bicarbonato sódico acuoso (1 N, 20 ml) y se extrajo con diclorometano (50 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentraron a presión reducida para dar 4-(3-(4-(3-(2-(2-(2-aminoetoxi)etoxi)etoxi)propoxi)fenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il)-2-(trifluorometil)benzonitrilo (115 mg, en bruto) en forma de un aceite de color pardo, el cual se usó en la etapa siguiente sin purificación adicional.

Etapla 10: 4-(3-(4-(3-(2-(2-(2-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-il)amino)etoxi)etoxi)etoxi)propoxi)fenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il)-2-(trifluorometil)benzonitrilo

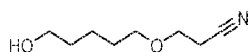


Una solución del anterior 4-(3-(4-(3-(2-(2-(2-aminoetoxi)etoxi)etoxi)propoxi)fenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il)-2-(trifluorometil)benzonitrilo (115 mg, en bruto), 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-fluoro-2,3-dihidro-1H-isoindolo-1,3-diona (41 mg, 0,15 mmol) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (58 mg, 0,44 mmol) en N,N-dimetilformamida (2 ml) se agitó a 90 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió a ta, se inactivó con agua (3 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (30 ml x 2) y salmuera (20 ml), se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentraron a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por prep-TLC para proporcionar 4-(3-(4-(3-(2-(2-(2-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-il)amino)etoxi)etoxi)etoxi)propoxi)fenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-tioxoimidazolidin-1-il)-2-(trifluorometil)benzonitrilo (34,5 mg, rendimiento del 27 %) en forma de un sólido de color amarillo. CL-EM (ES⁺): m/z 851,25 [MH⁺], t_R = 2,652 min. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ 1,57 (s, 6H), 2,07-2,11 (m, 3H), 2,70-2,90 (m, 3H), 3,46-3,72 (m, 14H), 4,10 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 4,88-4,92 (m, 1H), 6,48-6,49 (m, 1H), 6,91-7,26 (m, 6H), 7,49 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,83-7,85 (m, 1H), 7,97-8,02 (m, 3H).

11. 4-[[5-(3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}propoxi)pentil]oxi]-N-[trans-3-(3-cloro-4-cianofenoxi)-2,2,4,4-tetrametilciclobutil]benzamida

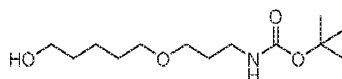


Etapla 1: 3-[(5-hidroxipentil)oxi]propanonitrilo



Se añadió pentano-1,5-diol (2,98 g, 28,6 mmol) a una suspensión de hidruro sódico (dispersión al 60 % en aceite mineral, 820 mg, 34,2 mmol) en THF (50 ml). Después de que la mezcla se agitase a ta durante 20 min, se enfrió a 0 °C y se añadió gota a gota acrilonitrilo (1,20 g, 22,8 mmol). La mezcla resultante se agitó a ta durante 10 h. Parte del disolvente se retiró al vacío y el residuo se vertió en agua. La mezcla se extrajo con DCM (3x). La capa orgánica se filtró a través de un separador de fase Biotage Universal y se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice en un Teledyne Combiflash ISCO eluyendo con MeOH/DCM (0:100 a 3:97) para producir 3-[(5-hidroxipentil)oxi]propanonitrilo (635 mg, rendimiento del 18 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 3,60-3,73 (m, 4H), 3,45-3,55 (m, 2H), 2,60 (dt, J = 4,1. 6,4 Hz, 2H), 2,06 (d, J = 3,9 Hz, 1H), 1,57-1,69 (m, 4H), 1,43-1,50 (m, 2H).

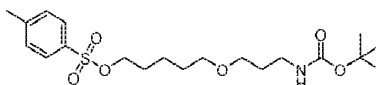
Etapla 2: N-{3-[(5-hidroxipentil)oxi]propil}carbamato de *terc*-butilo



A una solución de 3-[(5-hidroxipentil)oxi]propanonitrilo (400 mg, 2,54 mmol) en MeOH (12 ml) y H₂O (2,0 ml) se le añadió cloruro de níquel (II) (393 mg, 3,04 mmol), seguido de borohidruro sódico (360 mg, 9,52 mmol) en porciones. La mezcla se agitó a ta durante 3 h, después se inactivó con MeOH (12 ml). La mezcla se filtró a través de celite y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró al vacío. A una solución del producto en bruto anterior en THF (5 ml) se le añadieron NaOH ac. 6 M (0,5 ml) y dicarbonato de di-*terc*-butilo (831 mg, 3,81 mmol), la mezcla resultante se agitó a ta durante 3 h, después se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice en un Teledyne Combiflash ISCO eluyendo con MeOH/DCM (0:100 a 4:96) para producir N-{3-[(5-hidroxipentil)oxi]propil}carbamato de *terc*-butilo (366 mg, rendimiento del 55 %).

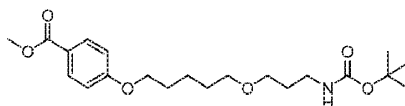
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 4,91 (s a, 1H), 3,66 (s a, 2H), 3,49 (t, J = 5,9 Hz, 2H), 3,43 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 3,24 (c, J = 5,9 Hz, 2H), 1,75 (quint., J = 6,2 Hz, 2H), 1,57-1,65 (m, 5H), 1,41-1,52 (m, 11H).

Etapla 3: N-[3-((5-[(4-metilbencenosulfonil)oxi]pentil)oxi)propil]carbamato de *terc*-butilo



A una solución de 3-((5-hidroxipentil)oxi)propil}carbamato de *terc*-butilo (300 mg, 3,88 mmol) en DCM (10 ml) se le añadieron DIPEA (599,3 µl, 3,44 mmol), cloruro de tosilo (262,3 mg, 1,38 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (14,0 mg, 0,115 mmol). La mezcla resultante se agitó a ta durante 20 h. La reacción se interrumpió con un bicarbonato sódico semisaturado, se extrajo con DCM (2x), se filtró a través de un separador de fase Biotage Universal y se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice en un Teledyne Combiflash ISCO eluyendo con EtOAc/Heptano (0:100 a 30:70) para producir N-[3-((5-[(4-metilbencenosulfonil)oxi]pentil)oxi)propil]carbamato de *terc*-butilo (914 mg, rendimiento del 26 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,78 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,34 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 4,02 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 3,44 (t, J = 6,1 Hz, 2H), 3,35 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 3,19 (c, J = 5,9 Hz, 2H), 2,44 (s, 3H), 1,64-1,74 (m, 5H), 1,49-1,54 (m, 2H), 1,42 (s, 9H), 1,33-1,40 (m, 2H). CL-EM (ES⁺): *m/z* 438,19 [MNa⁺], *t_R* = 2,65 min.

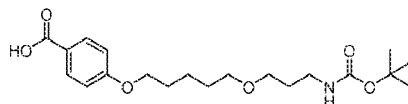
Etapla 4: 4-[[5-(3-[(*terc*-butoxi)carbonil]amino}propoxi)pentil]oxi]benzoato de metilo



Una mezcla de N-[3-((5-[(4-metilbencenosulfonil)oxi]pentil)oxi)propil]carbamato de *terc*-butilo (340 mg, 0,82 mmol), 4-hidroxibenzoato de metilo (117 mg, 0,77 mmol), carbonato potásico (203 mg, 1,47 mmol) en MeCN (10 ml) se agitaron

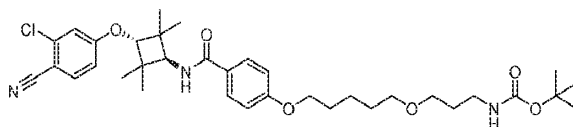
a 80 °C durante 24 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con una solución semisaturada de bicarbonato sódico (1x), agua (2x) y salmuera (1x) y después se filtró a través de un separador de fase Biotage Universal. El filtrado se concentró al vacío, y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice en un Teledyne Combiflash ISCO eluyendo con EtOAc/Heptano (0:100 a 50:50) para producir 4-[[5-(3-[[*tert*-butoxi]carbonil]amino)propoxi]pentil]oxi]benzoato de metilo (300 mg, rendimiento del 93 %). CL-EM (ES⁺): *m/z* 418,21 [MNa⁺], *t_R* = 2,74 min.

Etapas 5: ácido 4-[[5-(3-[[*tert*-butoxi]carbonil]amino)propoxi]pentil]oxi]benzoico



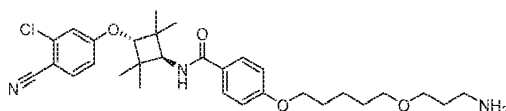
A una solución de 4-[[5-(3-[[*tert*-butoxi]carbonil]amino)propoxi]pentil]oxi]benzoato (150 mg, 0,38 mmol) en 1:1:1 de THF/Agua/MeOH (6,0 ml, v/v/v) se le añadió hidróxido de litio (81,6 mg, 3,41 mmol). La mezcla resultante se agitó durante una noche a ta, después se acidificó a un pH 2-3 con HCl acuoso 6 N. La mezcla se concentró al vacío para retirar la mayoría de los disolventes, después se diluyó con EtOAc, se lavó con agua (2 x) y salmuera (2 x), se filtró a través de un separador de fase Biotage Universal y se concentró al vacío. El producto en bruto se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional (123 mg). CL-EM (ES⁺): *m/z* 404,20 [MNa⁺], *t_R* = 2,40 min.

Etapas 6: N-(3-[[5-(4-[[trans-3-(3-cloro-4-cianofenoxi)-2,2,4,4-tetrametilciclobutil]carbamoil]fenoxi)pentil]oxi]propil]carbamato de *tert*-butilo



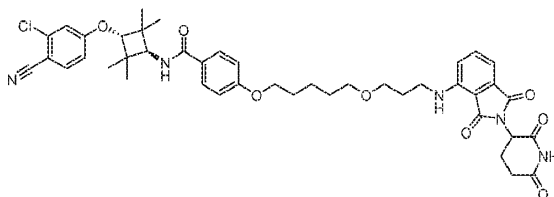
A una solución de ácido 4-[[5-(3-[[*tert*-butoxi]carbonil]amino)propoxi]pentil]oxi]benzoico (124 mg, 0,322 mmol), 2-cloro-4-(trans-3-amino-2,2,4,4-tetrametilciclobutoxi)benzonitrilo (89,8 mg, 0,322 mmol) en DMF (5 ml) se le añadieron DIPEA (112 µl, 0,65 mmol) y TBTU (155 mg, 0,48 mmol). La mezcla resultante se agitó a ta durante 1 h, después se diluyó con EtOAc, se lavó con agua (3 x) y salmuera (1 x), se filtró a través de un separador de fase Biotage Universal y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice en un Teledyne Combiflash ISCO eluyendo con MeOH/DCM (0:100 a 5:95) para producir N-(3-[[5-(4-[[trans-3-(3-cloro-4-cianofenoxi)-2,2,4,4-tetrametilciclobutil]carbamoil]fenoxi)pentil]oxi]propil]carbamato de *tert*-butilo (169 mg, rendimiento del 82 %). CL-EM (ES⁺): *m/z* 643,32/645,31 (3:1) [MH⁺], *t_R* = 3,04 min.

12. 4-[[5-(3-aminopropoxi)pentil]oxi]-N-[trans-3-(3-cloro-4-cianofenoxi)-2,2,4,4-tetrametilciclobutil]benzamida



A una solución de N-(3-[[5-(4-[[trans-3-(3-cloro-4-cianofenoxi)-2,2,4,4-tetrametilciclobutil]carbamoil]fenoxi)pentil]oxi]propil]carbamato de *tert*-butilo (124 mg, 0,192 mmol) en DCM (5 ml) se le añadió ácido trifluoroacético (372 µl, 4,86 mmol) y se calentó a 45 °C durante 1 h hasta la finalización. Después, la reacción se concentró al vacío hasta un sólido y se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional (104 mg, rendimiento del 99 %). CL-EM (ES⁺): *m/z* 543,27/545,26 (3:1) [MH⁺], *t_R* = 2,26 min.

13. 4-[[5-(3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino]propoxi)pentil]oxi]-N-[trans-3-(3-cloro-4-cianofenoxi)-2,2,4,4-tetrametilciclobutil]benzamida



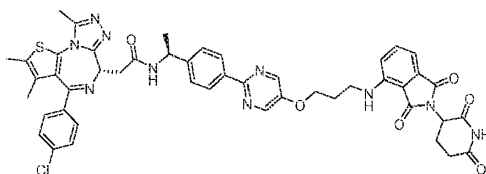
(Estructura del compuesto n.º 11 mostrada en la Tabla 1)

A una solución de 4-[[5-(3-aminopropoxi)pentil]oxi]-N-[trans-3-(3-cloro-4-cianofenoxi)-2,2,4,4-

tetrametilciclobutil]benzamida (30,0 mg, 0,0553 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) se le añadieron diisopropiletilamina (384 μ l, 2,21 mmol), 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-fluoro-2,3-dihidro-1H-isoindolo-1,3-diona (18,3 mg, 0,0664 mmol). La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 16 h, después se diluyó con EtOAc, se lavó con una solución semisaturada de salmuera (2 x), se filtró a través de un separador de fase Biotage Universal y se concentró al vacío.

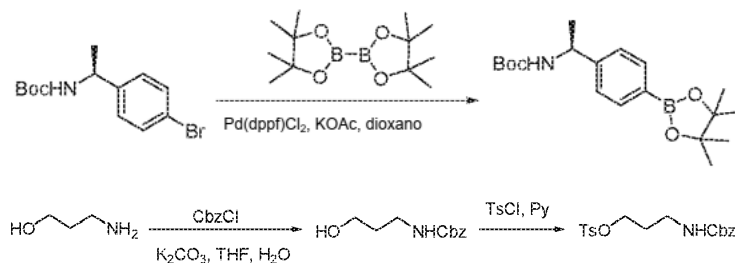
El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice en un Teledyne Combiflash ISCO eluyendo con MeOH/DCM (0:100 a 7:93) para producir 4-[[5-(3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino]propoxi)pentil]oxi]-N-[trans-3-(3-cloro-4-cianofenoxi)-2,2,4,4-tetrametilciclobutil]benzamida (12 mg, rendimiento del 28 %). CL-EM (ES⁺): m/z 799,31/801,31 (3:1) [MH⁺], t_R = 2,97 min. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,03 (s, 1H), 7,72 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 7,58 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,48 (dd, J = 7,2; 8,4 Hz, 1H), 7,07 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 6,98 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 6,89-6,96 (m, 3H), 6,82 (dd, J = 2,5; 8,8 Hz, 1H), 6,18 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,89 (dd, J = 5,1; 12,1 Hz, 1H), 4,16 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 4,06 (s, 1H), 4,02 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 3,56 (t, J = 5,9 Hz, 2H), 3,50 (s, 2H), 3,46-3,48 (m, 1H), 3,41 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,82-2,90 (m, 1H), 2,76-2,81 (m, 1H), 2,67-2,75 (m, 1H), 2,07-2,14 (m, 1H), 1,94 (quint., J = 6,1 Hz, 2H), 1,82-1,87 (m, 2H), 1,67-1,73 (m, 2H), 1,53-1,59 (m, 2H), 1,28 (s, 6H), 1,20-1,25 (m, 6H).

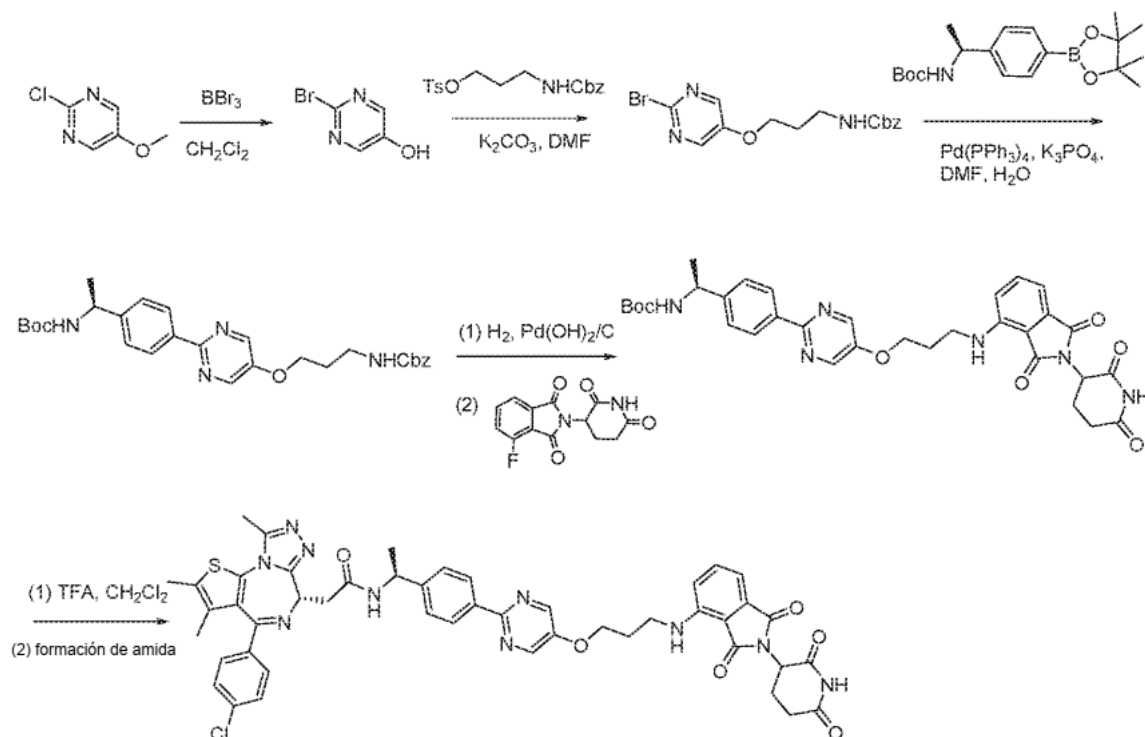
14. 2-((S)-4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)-N-((1S)-1-(4-(5-(3-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-ilamino)propoxi)pirimidin-2-il)fenil)etil)acetamida también conocido como 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1S)-1-{4-[5-(3-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino)propoxi]pirimidin-2-il]fenil}etil]acetamida



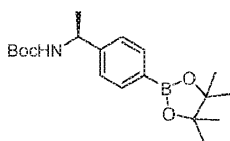
(Compuesto n.º 40, Tabla 1)

El compuesto 40 puede prepararse mediante el siguiente esquema de ejemplo:





Etapla 1: Preparación de 1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)etilcarbamato de (S)-*terc*-butilo



A una solución en agitación de 1-(4-bromofenil)etilcarbamato de (S)-*terc*-butilo (6 g, 20,0 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (7,6 g, 29,9 mmol) y acetato potásico (5,9 mg, 60,1 mmol) en dioxano (50 ml) se le añadió [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno dicloropaldio (II) (440 mg, 0,60 mmol) a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se desgasificó y se rellenó con nitrógeno tres veces. La mezcla resultante se agitó a 90 °C durante una noche. Después del enfriamiento hasta la temperatura ambiente, la mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (100 ml) y agua (50 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentraron a presión reducida para dar un residuo en bruto, el cual se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo al 5-10 % en hexano) para proporcionar 1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)etilcarbamato de (S)-*terc*-butilo (7,4 g, rendimiento del 98 %) en forma de un aceite de color amarillo. CL/EM (ES⁺): *m/z* 370,0 [M+Na⁺]; *t_R* = 3,165 min; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 1,26 (s, 12H), 1,34 (s, 12H), 4,78 (a, 1H), 7,30 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,78 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H); fórmula química: C₁₉H₃₀BNO₄; peso molecular: 347,26

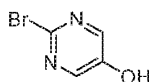
Etapla 2: Preparación de 3-hidroxiopropilcarbamato de bencilo



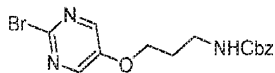
A una solución en agitación de 3-aminopropan-1-ol (20 g, 266 mmol) y carbonato potásico (73 g, 529 mmol) en una mezcla de agua (50 ml) y tetrahidrofurano (100 ml) se le añadió bencilcloroformiato (68 g, 398 mmol) a 0 °C. La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (200 ml) y agua (100 ml). La capa orgánica se recogió, se lavó con salmuera (100 ml), se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida para dar un residuo en bruto, el cual se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo al 20-50 % en hexano) para proporcionar 3-hidroxiopropilcarbamato de bencilo (26,9 g, rendimiento del 52 %) en forma de un aceite incoloro. CL/EM (ES⁺): *m/z* 232,1 [M+Na⁺]; *t_R* = 1,697 min; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 1,67-1,73 (m, 2H), 2,56 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H), 3,33-3,38 (m, 2H), 3,65-3,70 (m, 2H), 5,06 (a, 1H), 5,11 (s, 2H), 7,29-7,36 (m, 5H); fórmula química: C₁₁H₁₅NO₃; peso molecular: 209,24

Etapas 3: Preparación de 4-metilbencenosulfonato de 3-(benciloxicarbonilamino)propilo

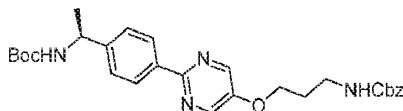
- 5 A una solución en agitación de 3-hidroxipropilcarbamato de bencilo (26,9 g, 128,6 mmol) en piridina (40 ml) se le añadió cloruro de 4-toluenosulfonilo (73 g, 384 mmol) a 0 °C. La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (120 ml) y agua (80 ml). La capa orgánica se recogió, se lavó con ácido clorhídrico (1 N, 480 ml) y salmuera (100 ml), se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida para dar un residuo en bruto, el cual se purificó por
- 10 cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluido con acetato de etilo al 10-20 % en hexano) para proporcionar 4-metilbencenosulfonato de 3-(benciloxicarbonilamino)propilo (38,5 g, rendimiento del 82 %) en forma de un aceite de color amarillo. CL/EM (ES⁺): *m/z* 386,2 [M+Na⁺]; *t_R* = 2,582 min; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 1,85-1,91 (m, 2H), 2,43 (s, 3H), 3,25 (m, 2H), 4,09 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 4,83 (a, 1H), 5,07 (s, 2H), 7,26-7,39 (m, 7H), 7,78 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H); fórmula química: C₁₈H₂₁NO₅S; peso molecular: 363,43

Etapas 4: Preparación de 2-bromopirimidin-5-ol

- 20 A una solución en agitación de 2-cloro-5-metoxipirimidina (10 g, 69,1 mmol) en diclorometano anhidro (60 ml) se le añadió una solución de tribromuro de boro (34,7 g, 138,5 mmol) en diclorometano (100 ml) a -78 °C. La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se interrumpió mediante la adición de metanol (80 ml) gota a gota a -78 °C. El disolvente se retiró a presión reducida para dar un residuo en bruto, el cual se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con
- 25 metanol al 2-5 % en diclorometano anhidro) para proporcionar 2-bromopirimidin-5-ol (6,5 g, rendimiento del 54 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,26 (s, 2H), 8,49 (s, 1H); fórmula química: C₄H₃BrN₂O; peso molecular: 174,98

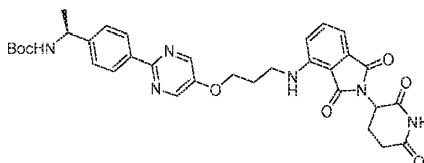
Etapas 5: Preparación de 3-(2-bromopirimidin-5-iloxi)propilcarbamato de bencilo

- Una mezcla de 2-bromopirimidin-5-ol (5 g, 38,3 mmol), 4-metilbencenosulfonato de 3-(benciloxicarbonilamino)propilo (13,9 g, 38,2 mmol) y carbonato potásico (10,6 g, 76,8 mmol) en N,N-dimetilformamida (30 ml) se agitó a 80 °C durante
- 35 una noche. Después del enfriamiento hasta la temperatura ambiente, la mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (50 ml) y agua (30 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (80 ml), se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentraron a presión reducida para dar un residuo en bruto, el cual se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con acetato de etilo al 20-40 % en hexano) para proporcionar 3-(2-bromopirimidin-5-iloxi)propilcarbamato de bencilo (2,4 g, rendimiento del 23 %) en forma de un aceite incoloro. CL/EM (ES⁺): *m/z* 367,9 [M+1] para Br⁸¹; *t_R* = 2,375 min; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 2,04-2,08 (m, 2H), 3,39-3,43 (m, 2H), 4,08-4,13 (m, 2H), 5,09 (s, 2H), 7,34-7,36 (m, 5H), 8,22 (s, 2H); fórmula química: C₁₅H₁₆BrN₃O₃; Peso molecular: 366,21

Etapas 6: Preparación de (S)-(1-(4-(5-(3-(((benciloxi)carbonil)amino)propoxi)pirimidin-2-il)fenil)etil)carbamato de *terc*-butilo

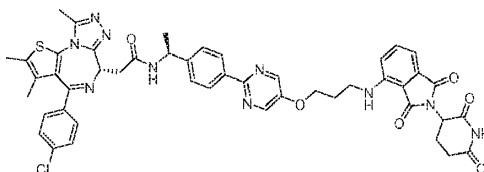
- A una solución en agitación de 3-(2-bromopirimidin-5-iloxi)propilcarbamato de bencilo (2,4 g, 6,6 mmol), 1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)etilcarbamato de (S)-*terc*-butilo (2,3 g, 6,6 mmol) y trihidrato de fosfato potásico tribásico (3,5 g, 13,3 mmol) en N,N-dimetilformamida (30 ml) y agua (5 ml), se le añadió cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (II) (766 mg, 0,66 mmol) a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se desgasificó y se llenó con nitrógeno tres veces. La mezcla resultante se agitó a 80 °C durante 4 horas. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (70 ml) y agua (30 ml). La capa orgánica se recogió, se lavó con salmuera (30 ml), se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida para dar un residuo en bruto, el cual se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluido con acetato de etilo al 10-50 % en hexano) para proporcionar (S)-(1-(4-(5-(3-(((benciloxi)carbonil)amino)propoxi)pirimidin-2-il)fenil)etil)carbamato de *terc*-butilo (2,2 g, rendimiento del 67 %) en forma de un sólido de color blanco. CL/EM (ES⁺): *m/z* 507,5 [M+H⁺]; *t_R* = 2,841 min; fórmula química: C₂₈H₃₄N₄O₅; peso molecular: 506,59

Etapla 7: Preparación de (1S)-1-(4-(5-(3-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-ilamino)propoxi)pirimidin-2-il)fenil)etilcarbamato de *terc*-butilo



Una mezcla de (S)-1-(4-(5-(3-(((benciloxi)carbonil)amino)propoxi)pirimidin-2-il)fenil)etilcarbamato de *terc*-butilo (2,2 g, 4,4 mmol) e hidróxido de paladio sobre carbono (10 %, 200 mg) en metanol (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante una noche en atmósfera de hidrógeno (globo de hidrógeno). El catalizador se retiró a través de filtración y se lavó con metanol (50 ml) y el filtrado combinado se concentró a presión reducida. El residuo se volvió a disolver en 1-metil-2-pirrolidinona (20 ml), seguido de la adición secuencial de 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-4-fluoroisindolin-1,3-diona (1,2 g, 4,3 mmol) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (2,3 g, 17,4 mmol). La mezcla resultante se agitó a 80 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (30 ml) y agua (15 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con acetato de etilo (25 ml x 2). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (30 ml), se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida para dar un residuo en bruto, el cual se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluido con metanol al 1-2 % en diclorometano) para proporcionar (1S)-1-(4-(5-(3-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-ilamino)propoxi)pirimidin-2-il)fenil)etilcarbamato de *terc*-butilo (710 mg, rendimiento del 26 %) en forma de un aceite de color amarillo. CL/EM (ES⁺): m/z 629,3 [M+H⁺]; t_R = 2,660 min; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 1,42-1,48 (m, 12H), 2,04-2,07 (m, 2H), 2,11-2,26 (m, 4H), 3,54-3,59 (m, 2H), 4,24-4,26 (m, 2H), 4,90-4,94 (m, 1H), 6,50-6,53 (m, 1H), 6,93-6,95 (m, 1H), 7,11-7,12 (m, 1H), 7,39-7,41 (m, 2H), 7,43-7,48 (m, 3H), 8,08 (a, 1H), 8,28-8,32 (m, 2H), 8,51 (s, 2H); fórmula química: C₃₃H₃₆N₆O₇; peso molecular: 628,67;

Etapla 8: Preparación de 2-((S)-4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)-N-((1S)-1-(4-(5-(3-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-ilamino)propoxi)pirimidin-2-il)fenil)etil)acetamida también conocida como 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0^{2,6}.0^{1,4}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1S)-1-(4-[5-(3-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-il]amino)propoxi]pirimidin-2-il)fenil]etil]acetamida



Una mezcla de (1S)-1-(4-(5-(3-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-ilamino)propoxi)pirimidin-2-il)fenil)etilcarbamato de *terc*-butilo (710 mg, 1,1 mmol) y ácido 2,2,2-trifluoroacético (7 ml) en diclorometano (7 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se evaporaron las sustancias volátiles a presión reducida. El residuo se volvió a disolver en N,N-dimetilformamida seca (10 ml), seguido de la adición secuencial de ácido (S)-2-(4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)acético (407 mg, 1,0 mmol), N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (730 mg, 5,6 mmol) y HATU (hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio) (1,3 g, 3,3 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (40 ml) y agua (20 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con acetato de etilo (25 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentraron a presión reducida para dar un residuo en bruto, el cual se purificó por TLC preparativa (eluido con metanol al 7 % en diclorometano) para proporcionar 2-((S)-4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)-N-((1S)-1-(4-(5-(3-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-ilamino)propoxi)pirimidin-2-il)fenil)etil)acetamida (160 mg, rendimiento del 15,5 % después de dos etapas) en forma de un sólido de color amarillo. CL/EM (ES⁺): m/z 911,3 [M+H⁺]; t_R = 2,666 min; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 1,58 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,66 (s, 3H), 1,94-2,01 (m, 1H), 2,11-2,14 (m, 1H), 2,22-2,23 (m, 2H), 2,38 (s, 3H), 2,66 (s, 3H), 2,75-2,90 (m, 2H), 3,38-3,43 (m, 1H), 3,55-3,62 (m, 3H), 4,24-4,26 (m, 2H), 4,58-4,61 (m, 1H), 4,89-4,93 (m, 1H), 5,18-5,22 (m, 1H), 6,48-6,55 (m, 1H), 6,89-6,94 (m, 2H), 7,10-7,12 (m, 1H), 7,32-7,41 (m, 6H), 7,50 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 8,26-8,28 (m, 3H), 8,51 (s, 2H); fórmula química: C₄₇H₄₃ClN₁₀O₆S; peso molecular: 911,43

C. Bioensayos de degradación de proteínas:

Los siguientes bioensayos se realizaron para evaluar el nivel de degradación de proteínas observado en diversos tipos de células usando compuestos representativos desvelados en el presente documento.

En cada bioensayo, las células se trataron con cantidades variables de compuestos abarcados por la presente divulgación, como se muestra en la Tabla 1. En este estudio se evaluó la degradación de las siguientes proteínas: Quinasa de unión a TANK 1 (TBK1), receptor de estrógeno α (ER α), proteína 4 que contiene bromodominio (BRD4), receptor de andrógenos (AR) y c-Myc.

1. Protocolo Western TBK1

Se adquirieron células Panc02.13 de ATCC y se cultivaron en RPMI-1640 (Gibco), suplementado con FBS al 15 % (ATCC) y 10 Unidades/ml de insulina humana recombinante (Gibco). Los tratamientos de control de DMSO y de compuesto (0,1 μ M, 0,3 μ M y 1 μ M) se llevaron a cabo en placas de 12 pocillos durante 16 h. El agonista de TLR3 Poly I:C (Invivogen; tlr1-pic) se añadió en las últimas 3 h. Las células se recolectaron y se lisaron en tampón RIPA (Tris 50 mM pH 8, NaCl 150 mM, Tx-100 al 1 %, SDS al 0,1 %, desoxicolato sódico al 0,5 %) suplementado con inhibidores de proteasa y fosfatasa. Los lisados se clarificaron a 16.000 g durante 10 minutos y los sobrenadantes se separaron mediante SDS-PAGE. La inmunotransferencia se realizó utilizando protocolos convencionales. Los anticuerpos usados fueron TBK1 (Cell Signalling n.º 3504), pIRF3 (abcam n.º ab76493) y GAPDH (Cell Signalling n.º 5174). Las bandas se cuantificaron utilizando un sistema de formación de imágenes Biorad ChemiDoc MP.

2. Protocolo Western ERR α

Se cultivaron células NAMALWA (ATCC) en RPMI-1640 (Life Technologies) suplementado con FBS al 15 % (Life Technologies). Las incubaciones de controles de DMSO y de compuesto (0,1 μ M, 0,3 μ M y 1 μ M) se llevaron a cabo en placas de 24 pocillos durante 16 h. Las células se recogieron y lisaron con tampón de lisis celular (Cell Signaling Technologies) que contenía inhibidores de proteasa (Thermo Scientific). Los lisados se clarificaron a 16.000 g durante 10 minutos y los sobrenadantes se separaron mediante SDS-PAGE. La inmunotransferencia se realizó utilizando protocolos convencionales. Los anticuerpos usados fueron ERR α (Cell Signalling n.º 8644) y GAPDH (Cell Signaling n.º 5174). Las bandas se cuantificaron utilizando un sistema de formación de imágenes Bio-Rad ChemiDoc MP.

3. Protocolo Western BRD4

Las células VCaP se adquirieron de ATCC y se cultivaron en medio de Eagle modificado de Dulbecco (ATCC), suplementado con FBS al 10 % (ATCC) y Penicilina/Estreptomicina (Life Technologies). Los tratamientos de control de DMSO y de compuesto (0,003 μ M, 0,01 μ M, 0,03 μ M y 0,1 μ M) se realizaron en placas de 12 pocillos durante 16 h. Las células se recolectaron y se lisaron en tampón RIPA (Tris 50 mM pH 8, NaCl 150 mM, Tx-100 al 1 %, SDS al 0,1 %, desoxicolato sódico al 0,5 %) suplementado con inhibidores de proteasa y fosfatasa. Los lisados se clarificaron a 16.000 g durante 10 minutos y se determinó la concentración de proteína. Se sometió una cantidad igual de proteína (20 μ g) a análisis SDS-PAGE y se siguió por inmunotransferencia de acuerdo con protocolos convencionales. Los anticuerpos usados fueron BRD4 (Cell Signalling n.º 13440) y Actina (Sigma n.º 5441). Los reactivos de detección fueron sustrato Clarity Western ECL (Bio-rad n.º 170-5060).

4. Protocolo AR ELISA

Las células VCaP se adquirieron de ATCC y se cultivaron en medio de Eagle modificado de Dulbecco (ATCC), suplementado con FBS al 10 % (ATCC) y Penicilina/Estreptomicina (Life Technologies). Los tratamientos de control de DMSO y de compuesto (0,0001 μ M - 1 μ M) se realizaron en placas de 96 pocillos durante 16 h. Las células se recogieron y se lisaron con tampón de lisis celular (n.º de catálogo 9803) (Tris-HCL 20 mM (pH 7,5), NaCl 150 mM, Na₂EDTA 1 mM, EGTA 1 mM, Triton al 1 %, pirofosfato sódico 2,5 mM, B-glicerofosfato 1 mM, Na₃VO₄ 1 mM, leupeptina 1 μ g/ml. Los lisados se clarificaron a 16.000 g durante 10 minutos y se cargaron en el PathScan AR ELISA (Cell Signalling n.º de catálogo 12850). El kit ELISA PathScan® Total Androgen Receptor Sandwich es un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) en sándwich de fase sólida que detecta niveles endógenos de proteína receptora total de andrógenos. Se han recubierto los micropocillos con un mA b de conejo receptor de andrógenos. Después de la incubación con lisados celulares, la proteína receptora de andrógenos es capturada por el anticuerpo recubierto. Después de un lavado extenso, se añade un mA b de detección de ratón receptor de andrógenos para detectar la proteína receptora de andrógenos capturada. Un anticuerpo IgG anti-ratón, enlazado a HRP se usa después para reconocer el anticuerpo de detección unido. El sustrato de HRP, TMB, se añade para desarrollar el color. La magnitud de la absorbancia del color desarrollado es proporcional a la cantidad de proteína receptora de andrógenos total.

Los anticuerpos en el kit son formulaciones personalizadas específicas para el kit.

5. Protocolo de ensayo de ELISA c-Myc

Se adquirieron células 22RV-1 de ATCC y se cultivaron en medio RPMI + FBS al 10 %. Las células se recogieron usando tripsina (Gibco n.º 25200-114), se contaron y se sembraron a 30.000 células/pocillo a un volumen de 75 μ l/pocillo en medio RPMI + FBS al 10 % en placas de 96 pocillos. Las células se dosificaron con compuestos diluidos en DMSO al 0,1 %, se incubaron durante 18 h, después se lavaron y se lisaron en 50 μ l de tampón RIPA (Tris 50 mM pH 8, NaCl 150 mM, Tx-100 al 1 %, SDS al 0,1 %, desoxicolato sódico al 0,5 %) suplementado con inhibidores

de proteasa y fosfatasa. Los lisados se clarificaron a 4000 rpm a 4 °C durante 10 minutos, después se añadieron alícuotas en una placa ELISA de 96 pocillos del kit Novex Human c-myc ELISA de Life Technologies n.º de catálogo KHO2041. Se añadieron 50 µl de anticuerpo de detección c-Myc en cada pocillo, las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 3 h, después se lavaron con tampón de lavado ELISA. Se añadieron 100 µl del anticuerpo secundario IgG-HRP anti-conejo a cada pocillo y se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos. Las placas se lavaron con tampón de lavado ELISA, se añadieron 100 µl de TMB a cada pocillo y después se monitorizó cada 5 minutos para detectar un cambio de color. Se añaden 100 µl de solución de parada y las placas se leen a 450 nm.

D. Resultados

La Tabla 1 proporciona los resultados de los datos experimentales obtenidos de un número representativo de compuestos abarcados por la presente divulgación. En particular, se trataron diversos tipos de células con los compuestos enumerados en la Tabla 1, que se identifican por estructura química, caracterización por espectrometría de masas y nombre del compuesto.

La Tabla 1 muestra que (A) se logró una degradación del 10-30 % en las células tratadas con 1 µM de los Compuestos 1, 6-9, 12 y 17; (B) Se logró una degradación del 31-50 % en células tratadas con 1 µM de los Compuestos 2-5, 10 y 20; y (C) se logró una degradación > 50 % en las células tratadas con 1 µM de los compuestos 11, 13-16, 18-19, 21 y 22. La Tabla 1 también muestra que (D) los Compuestos 24 y 26-35 tienen una Cl_{50} <50 nM, mientras que (E) los Compuestos 23 y 25 tienen una Cl_{50} de >50 nM.

EJEMPLO 2

Los inhibidores de moléculas pequeñas han sido la piedra angular del desarrollo de fármacos oncológicos y generalmente funcionan inhibiendo la actividad enzimática (tales como los inhibidores de quinasas) o interfiriendo las interacciones proteína-proteína (tales como los inhibidores de BRD4). Dada la unión reversible de la mayoría de los inhibidores de moléculas pequeñas, a menudo se requieren grandes concentraciones sistémicas de fármaco para asegurar una inhibición funcional suficiente. Adicionalmente, lograr y mantener un alto nivel de fármaco sistémico que se requiere para la efectividad *in vivo* ha demostrado ser un desafío para muchas dianas.

BRD4, un miembro de la familia del bromodominio y el dominio extra terminal (BET), es una proteína caracterizada por dos bromodominios (dominio BD) en el extremo N y un dominio extraterminal (dominio ET) en el extremo C. Los dos dominios BD reconocen e interactúan con restos de lisina acetilada en la cola N-terminal de la proteína histona. Se considera que el dominio ET cumple una función de andamiaje en el reclutamiento de diversos reguladores transcripcionales, pero aún no se ha caracterizado por completo. Se ha demostrado que BRD4 se encuentra en regiones superpotenciadoras, que a menudo residen en dirección 5' de importantes oncogenes, tales como c-MYC, Bcl-xL y BCL-6, y juegan un papel clave en la regulación de sus expresiones. Basado en su papel en la regulación de la expresión génica mediante el reclutamiento de moduladores de transcripción relevantes para loci genómicos específicos, BRD4 es un fármaco candidato para tratar y/o prevenir varios cánceres humanos, tales como carcinoma de la línea media, leucemia mieloide aguda (AML), mieloma múltiple (MM), linfoma de Burkitt (BL) y cáncer de próstata.

Se han desarrollado varios inhibidores de bromodominio BET de molécula pequeña, tales como JQ1, iBET y OTX15, que han mostrado potencial terapéutico en determinados modelos preclínicos de diversos cánceres, incluyendo BL. Casi todos los casos de BL contienen translocación del gen c-myc que lo coloca bajo el control de un superpotenciador ubicado aguas arriba de IgH, impulsando de esta manera un nivel anormalmente alto de expresión de c-MYC, desarrollo y mantenimiento de tumores. Los estudios preclínicos con inhibidores de BRD4 demuestran su capacidad para suprimir c-MYC y la proliferación en líneas celulares BL; sin embargo, los valores de Cl_{50} de estos inhibidores están a menudo en el intervalo de 100 nM a 1 µM.

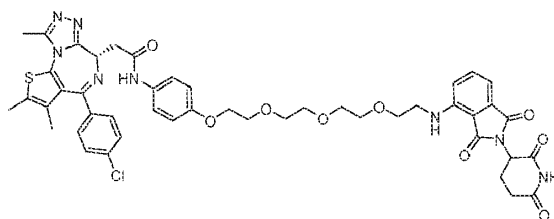
Materiales y métodos

Los detalles del diseño experimental y los procedimientos de este estudio se proporcionan a continuación:

1. Compuestos

El Compuesto N.º 14 (**Tabla 1**) se sintetizó de acuerdo con el procedimiento analizado anteriormente en el Ejemplo 1, Síntesis n.º 8. Este compuesto, denominado "A825" a lo largo de este Ejemplo, tiene el siguiente nombre y estructura.

2-((S)-4-(4-clorofenil)-2,3,9-trimetil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepin-6-il)-N-(4-(2-(2-(2-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxoisindolin-4-ilamino)etoxi)etoxi)etoxi)etoxi)fenil)acetamida



Como se muestra en la Figura 2, A825 contiene un resto de unión BRD4 (un derivado de OTX-15) que está conectado a un resto de reclutamiento Cereblon E3 ubiquitina ligasa (un derivado de pomalidomida) a través de un enlazador de tetraoxatetradecano.

Los efectos celulares de A825 se evaluaron en diversas líneas celulares y estos efectos se compararon con dos inhibidores del dominio BET conocidos, JQ1 y OTX-15. JQ1 es el inhibidor del dominio BET más frecuentemente usado en estudios publicados y OTX-15 es un inhibidor del dominio BET en fases avanzadas de desarrollo clínico.

El resto de reclutamiento de Cereblon de A825 también se evaluó en diversas líneas celulares y se comparó con pomalidomida.

Los inhibidores de JQ1, OTX-15 y pomalidomida se sintetizaron de acuerdo con métodos publicados.

2. Células y reactivos

Las células NAMALWA, Ramos, CA-46 y DAUDI se adquirieron de ATCC y se mantuvieron según las instrucciones. Los anticuerpos contra BRD4 (n.º E2A7X), c-MYC (n.º D84C12), PARP (n.º 46D11) se adquirieron de Cell Signaling Technology. El anticuerpo de actina (n.º A5441) se adquirió de SigmaAldrich. Los anticuerpos secundarios (n.º 7074, n.º 7076) se adquirieron de Cell Signaling Technology. MG132 (n.º M7449) se adquirió de SigmaAldrich. Carfizomib (n.º S2853) se adquirió de Selleck.

3. Análisis por transferencia Western

Las células cultivadas se recogieron en tampón de lisis que contenía HEPES 40 mM (pH 7,4), NaCl 140 mM, EDTA 2,5 mM, NP-40 al 1 %, SDS al 0,1 % y cóctel inhibidor de proteasa. Después de 10 minutos de centrifugación (14000 rpm), se recogió el sobrenadante para la determinación de la concentración de proteínas mediante el método BCA y se sometió a inmunotransferencia mediante un protocolo convencional. Los resultados de la transferencia Western se visualizaron usando el sustrato de transferencia Western Bio-Rad Clarity ECLL en el sistema de formación de imágenes Bio-Rad ChemiDoc™ MP.

4. RT-PCR

La extracción de ARN se realizó con Aurum™ Total RNA Mini Kit (n.º 732-6820) de Bio-Rad. El ADNc de primera cadena del ARN total se sintetizó con el kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad (n.º 4368813) de Life Technologies de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La PCR cuantitativa se realizó usando Bio-rad SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix (n.º 172-5271). Se usaron los siguientes cebadores:

5. Ensayo de proliferación

| Cebador | Secuencia |
|-------------------|-------------------------------------|
| GAPDH-Directo | GAAGGTGAAGGTCGGAGTC (SEQ ID NO: 6) |
| GAPDH-Inverso | GAAGATGGTGATGGGATTTC (SEQ ID NO: 7) |
| SLC19A1-Directo | ATGGCCCCCAAGAAGTAGAT (SEQ ID NO: 8) |
| SLC19A1 - Inverso | GTCAACACGTTCTTGCCAC (SEQ ID NO: 9) |

Para evaluar el efecto de los inhibidores sobre la proliferación, se sembraron células (50.000/100 µl) en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos seguido de la adición del compuesto a la concentración indicada. Después de 72 horas, se añadieron 100 µl. por pocillo de reactivo CellTiter-Glo (CTG) reconstituido (n.º G7572 de Promega) y se leyó en el lector de imágenes Cytation 3 de BioTek. El crecimiento celular relativo se determinó comparando las lecturas del ensayo de las células tratadas con las células de control tratadas con DMSO.

6. Determinación de Kd

La afinidad de los compuestos con el Bromodominio 1 y 2 de BRD4 se determinó con BROMOscan™ de DiscoverX.

B. Resultados

Los efectos celulares de JQ1, OTX-15 y A825 se evaluaron y se compararon en los siguientes experimentos.

1. Los inhibidores del dominio BET de molécula pequeña conducen a una acumulación significativa de proteína BRD4 y a una supresión ineficaz de c-MYC

a. Acumulación de BRD4 dependiente de la dosis con tratamiento con JQ1 y OTX-15

Los estudios han demostrado que las líneas celulares de linfoma de Burkitt (BL) responden a los inhibidores de BRD4 debido a la dependencia de las líneas celulares del oncogén c-myc que se transloca y se pone bajo el control de superpotenciadores de IgH en dirección 3' de BRD4.

En un experimento inicial, diversas líneas celulares BL (células NAMALWA, Ramos, CA-46 y Daudi) se trataron con dos inhibidores del dominio BET conocidos (JQ1 y OTX-15) a diversas concentraciones para confirmar que estos inhibidores eran eficaces para reducir y/o prevenir la degradación de BRD4. Específicamente, las células NAMALWA y Ramos se trataron con diversas concentraciones de JQ1 y OTX-15 (3 nM, 10 nM, 100 nM, 300 nM, 1000 nM y 3000 nM); y las células CA-46 y Daudi se trataron con 100 nM y 300 nM de JQ1 y OTX-15. Un conjunto separado de células se trató de la misma manera, excepto que se usó DMSO en lugar del inhibidor. Todas las células se trataron durante la noche con dosis crecientes de JQ1 y OTX-15. Después del tratamiento, los lisados celulares se recogieron y se analizaron mediante inmunotransferencia para BRD4 y Actina.

Los efectos de estos tratamientos se determinaron evaluando la cantidad de BRD4 presente en las células mediante análisis de transferencia Western después del tratamiento (**Figuras 3A, 3B, 3C y 3D**).

Las **Figuras 3A-3D** muestran que tanto JQ1 como OTX-15 conducen a una acumulación significativa de proteína BRD4 de una manera dependiente de la dosis en todas las líneas celulares probadas. Estos resultados son consistentes con la observación previa de que el tratamiento con JQ1 da como resultado una regulación positiva de BRD4 en algunas líneas celulares de cáncer de pulmón Shimamura, T., Chen, Z., Soucheray, M., Carretero, J., Kikuchi, E., Tchaicha, J.H., Gao, Y., Cheng, K.A., Cohoon, T.J., Qi, J., *et al.* (2013). (J.A. Mertz, *et al.*, PNAS, 108 (2011) 16669-16674; y K. Klapproth, *et al.*, British journal of haematology, 149 (2010) 484-497).

b. Tasa de acumulación de BRD4 con tratamiento con JQ1 y OTX-15

También se determinó la velocidad a la que BRD4 se acumula en las líneas celulares BL después del tratamiento con JQ1 y OTX-15. Específicamente, las células NAMALWA y Ramos se trataron con 300 nM de cada inhibidor durante 0 h, 0,5 h, 1,0 h, 2,0 h, 4,0 h, 7,0 h, 24 h y 48,0 h. Después del tratamiento, los lisados celulares se recogieron y se analizaron mediante inmunotransferencia para BRD4 y Actina.

La **Figura 3E** muestra que las células NAMALWA contienen un nivel detectable de BRD4 antes del tratamiento con cualquier inhibidor (0 h). La cantidad de BRD4 presente en las células NAMALWA aumentó notablemente dentro de los 30 minutos de tratamiento con JQ1 u OTX-15 y la cantidad de BRD4 continuó aumentando con un tratamiento más prolongado en el tiempo (0,5 horas a 48,0 horas).

La **Figura 3F** muestra, similar a las células NAMALWA, que las células Ramos también contienen un nivel detectable de BRD4 antes del tratamiento con cualquier inhibidor (0 h). Sin embargo, BRD4 se acumuló a un ritmo más lento en las células Ramos en comparación con las células NAMALWA. Específicamente, se observó un aumento notable en la cantidad de BRD4 entre aproximadamente 4,0 horas y aproximadamente 70 horas de tratamiento con JQ1 u OTX-15. Se observó un aumento notable en la cantidad de BRD4 en las células de Ramos después de 24,0 horas de tratamiento con ambos inhibidores.

En conjunto, los resultados mostrados en las **Figuras 3E y 3F** demuestran que los inhibidores de BRD4 de molécula pequeña conducen a una acumulación rápida de BRD4 en diversas líneas celulares BL con 0,3 μ M de JQ1 u OTX-15.

c. JQ1 y OTX-15 conducen a la supresión posterior de c-Myc

Como se ha analizado anteriormente, se ha demostrado que BRD4 se encuentra en regiones superpotenciadoras, que a menudo residen en dirección 5' de importantes oncogenes, tales como c-Myc, Bcl-xL y BCL-6. Para determinar si los inhibidores del dominio BET pueden afectar la expresión de oncogenes posteriores, las células NAMALWA se trataron con concentraciones crecientes (3 nM, 10 nM, 100 nM, 300 nM, 1000 nM y 3000 nM) de JQ1 u OTX-15 durante la noche. Un conjunto separado de células se trató de la misma manera, excepto que se usó DMSO en lugar del inhibidor. Después del tratamiento, los lisados celulares se recogieron y se analizaron mediante inmunotransferencia para c-Myc y Actina.

La **Figura 3G** muestra que el tratamiento de células con inhibidores del dominio BET puede conducir a una supresión posterior de c-Myc hasta cierto punto pero, incluso a concentraciones elevadas, los inhibidores no pueden inhibir completamente la expresión de c-Myc. Específicamente, la Figura muestra que a bajas concentraciones (de 3 nM a 30 nM), los inhibidores no tuvieron un impacto notable en el nivel de c-Myc presente en las células. Sin embargo, la

cantidad de c-Myc se redujo notablemente en las células tratadas con 100 nM de JQ1 u OTX-15 y se redujo aún más en las células tratadas con 300 nM y 1000 nM de JQ1 u OTX-15. Aunque tanto JQ1 como OTX-15 reprimieron significativamente el nivel de c-Myc a concentraciones entre 100 nM y 1000 nM, los resultados muestran que dosis más altas de cualquiera de los inhibidores no parecieron dar como resultado una reducción adicional de c-Myc (**Figura 3G, comparar 1000 nM con 3000 nM**).

Basándose en estos resultados, el tratamiento de células con los inhibidores del dominio BET JQ1 y OTX-15 conduce a una supresión significativa de la proteína c-Myc posterior a BRD4 a concentraciones entre 100 nM y 1000 nM. Sin embargo, concentraciones más altas de JQ1 y OTX-15 (por encima de 1000 nM) no condujeron a una supresión adicional de la proteína c-Myc más allá del efecto observado con 1000 nM de inhibidor. Asimismo, ni JQ1 ni OTX-15 pudieron suprimir completamente la expresión de c-Myc, incluso a concentraciones de 3000 nM.

d. La supresión de c-Myc por JQ1 y OTX-15 es reversible

El siguiente estudio se realizó para determinar si el efecto supresor de la expresión de c-Myc por JQ1 y OTX-15 era reversible.

En este estudio, Las células NAMALWA se trataron con JQ1 (1000 nM) durante 24 horas, seguido de tres lavados para retirar el inhibidor. Las células se volvieron a sembrar y se incubaron sin inhibidor durante 0 h, 0,5 h, 1,0 h, 2,0 h, 3,0 h, 4,0 h y 6,0 h. A continuación, se recogieron los lisados celulares en los diversos puntos de tiempo y se analizaron mediante inmunotransferencia para c-Myc y actina. En un experimento de control paralelo, las células NAMALWA se trataron de la misma manera, excepto que se usó DMSO en lugar de JQ1.

La **Figura 3H** muestra que 1000 nM de JQ1 suprimieron significativamente los niveles de proteína c-Myc en las células NAMALWA (*comparar el carril de 0 h de células tratadas con JQ1 con el carril de 0 h del control DMSO*), que es consistente con los resultados mostrados en las **Figuras 3A-3D**. La **Figura 3H** también muestra que la supresión de c-Myc por JQ1 fue rápidamente reversible ya que los niveles de proteína c-Myc aumentaron significativamente entre 1,0 y 2,0 horas después de la retirada del inhibidor y, dentro de las 3,0 horas posteriores a la retirada del inhibidor, la proteína c-Myc volvió al nivel de la muestra control.

En otro experimento, las células Ramos se trataron con cualquiera de JQ1 (1000 nM), OTX-15 (1000 nM) o DMSO (control) durante 24 horas. Después del tratamiento, las células se lisaron (para evaluar la supresión de c-Myc por los inhibidores) o se lavaron para retirar el inhibidor, se volvieron a sembrar y se incubaron sin inhibidor durante 4,0 horas (para evaluar la reversibilidad de la supresión de c-Myc). Los lisados celulares se recogieron y se analizaron mediante inmunotransferencia para c-Myc y Actina.

Los resultados de las células Ramos fueron consistentes con aquellos observados en las células NAMALWA. Específicamente, la **Figura 3I** (panel inferior) muestra que JQ1 y OTX-15 suprimieron c-Myc en las células Ramos (carriles "JQ1" y "OTX15"), pero este efecto supresor fue reversible, ya que los niveles de c-Myc aumentaron significativamente dentro de las 4,0 horas después de que se retiraran los inhibidores (carriles "4 h después del lavado de JQ1" y "4 h después del lavado de OTX15").

Los resultados de este estudio demostraron que los inhibidores de BRD4 de molécula pequeña (JQ1 y OTX-15) conducen a la supresión de c-Myc posterior en líneas celulares BL. Sin embargo, los inhibidores no pudieron suprimir completamente la expresión de c-Myc en las células, incluso a concentraciones elevadas. Adicionalmente, se encontró que el efecto supresor de la expresión de c-Myc por estos inhibidores era rápidamente reversible, aumentando los niveles de proteína c-Myc de aproximadamente 2,0 a 4,0 horas después de la retirada de los inhibidores. Los resultados obtenidos en este estudio son consistentes con descubrimientos anteriores en AML que c-MYC se reprime por el tratamiento con JQ1, pero retrocede rápidamente tras la retirada de JQ1 (J.A. Mertz, *et al.*, PNAS, 108 (2011) 16669-16674).

2. Secuestro del Cereblon E3 ubiquitina ligasa para crear PROTAC para degradar eficientemente BRD4

La acumulación rápida y robusta de BRD4 por el tratamiento JQ1 y OTX-15, junto con la naturaleza reversible de la unión del inhibidor a BRD4 observada en el estudio anterior, puede explicar los efectos moderados sobre la inhibición de la proliferación y la inhibición de la proliferación de c-Myc posterior observados en BL y otros cánceres. Para eludir las limitaciones de los inhibidores de BRD4 de molécula pequeña, se diseñó un compuesto quimera, A825, utilizando la tecnología PROTAC (analizada anteriormente y mostrada en la **Figura 2**).

a. Afinidad de unión del inhibidor a los bromodominios de BRD4

Se evaluó la afinidad de unión de A825 al bromodominio 1 (BD1) y al bromodominio 2 (BD2) de BRD4 y se comparó con las afinidades de unión de JQ1 y OTX-15 en los mismos dominios. Las afinidades de unión de cada uno de estos compuestos se resumen en la tabla a continuación.

| Compuesto | Afinidad de unión (K_D) | |
|-----------|-----------------------------|--------|
| | BD1 | BD2 |
| A825 | 90 nM | 28 nM |
| JQ1 | 12 nM | 10 nM |
| OTX-15 | 14 nM | 3,5 nM |

Los estudios de afinidad de unión mostraron que A825 tiene una afinidad de unión ligeramente reducida a BD1 y BD2 de BRD4 en comparación con los de JQ1 y OTX-15.

5

b. A825 conduce a una degradación eficiente de BRD4

Se evaluó el efecto de A825 sobre los niveles de proteína BRD4 en líneas celulares BL.

- 10 Específicamente, Las células NAMALWA y CA-46 se trataron durante la noche con concentraciones crecientes (0,3 nM, 1,0 nM, 3,0 nM, 10 mM, 30 nM, 100 nM, 300 nM y 1000 nM) de A825. Después del tratamiento, los lisados celulares se recogieron y se analizaron mediante inmunotransferencia para BRD4 y Actina.

- 15 Las **Figuras 4A y 4B** muestran que el tratamiento de líneas celulares BL con A825 induce la degradación completa de la proteína BRD4 a bajas concentraciones de este compuesto. En particular, basándose en los datos que se muestran en esta Figura, la DC_{50} (50 % de degradación máxima) de BRD4 en células NAMALWA parece lograrse tratando las células con 1,0 nM o menos de A825 (4A). De forma similar, la DC_{50} de BRD4 en células CA-46 parece lograrse tratando las células con 0,3 nM a 1,0 nM o menos de A825 (4B).

- 20 También, BRD4 parece estar completamente degradado en ambas líneas celulares BL tratadas con A825 en concentraciones que oscilan entre aproximadamente 3,0 nM y aproximadamente 300 nM, como lo demuestra la falta de una banda de proteína notable para BRD4 a estas concentraciones de tratamiento. De manera interesante, se observó una pequeña cantidad de proteína BRD4 en el carril que contenía los lisados de ambas líneas celulares BL tratadas con 1000 nM de A825, lo que indica que la degradación de BRD4 por A825 se produce de una manera dependiente de dosis, en forma de campana. Esto es, la degradación completa de BRD4 se produce dentro de un rango de concentración crítica de A825, porque se observa una degradación incompleta de BRD4 cuando A825 está presente por encima o por debajo de este intervalo crítico.

- 25 Teniendo en cuenta el hecho de que los restos de unión de BRD4 y Cereblon en A825 tienen K_D de 28-90 nM y 3 μ M para sus respectivas dianas, esto sugiere que A825 actúa catalíticamente en la mediación de la degradación de BRD4.

30

c. A825 conduce a una degradación rápida de BRD4

- 35 También se determinó la tasa de degradación de BRD4 en líneas celulares BL después del tratamiento con A825. En este estudio, las células NAMALWA y Ramos se trataron con A825 (100 nM) durante 0 h, 0,5 h, 1,0 h, 2,0 h, 4,0 h, 7,0 h y 24 h. Después del tratamiento, los lisados celulares se recogieron y se analizaron mediante inmunotransferencia para BRD4 y Actina.

- 40 Las **Figuras 4C y 4D** muestran que BRD4 está presente en ambas líneas celulares BL antes del tratamiento con A825 (0 h). Los niveles de proteína BRD4 disminuyeron notablemente en 1 hora de tratamiento con A825 y los niveles de proteína continuaron disminuyendo de manera constante durante el transcurso del período de tratamiento de 24,0 h. Esta Figura también muestra que la degradación de BRD4 por A825 se produce rápidamente, resultando en más del 50 % de la proteína perdida dentro de las 2 horas posteriores al tratamiento con A825.

45 d. La degradación de BRD4 por A825 depende de Cereblon

- Para confirmar que la degradación de BRD4 inducida por el tratamiento con A825 depende de Cereblon, se realizó un experimento de inhibición competitiva en que las líneas celulares BL se trataron con A825, pomalidomida o una combinación de los dos compuestos. Como se analizó anteriormente y se muestra en la **Figura 2**, A825 contiene un resto de reclutamiento de Cereblon E3 ubiquitina ligasa, que es un derivado de pomalidomida y, como tal, pomalidomida y A825 compiten por la unión a Cereblon. Por lo tanto, si la degradación de BRD4 por A825 depende de Cereblon, entonces las células tratadas con una combinación de A825 y pomalidomida deberían mostrar una reducción en la degradación de BRD4 en comparación con las células tratadas con A825 solo.

- 55 En este estudio, las células NAMALWA y Ramos se trataron durante la noche con diversas concentraciones de A825 (10 nM, 100 nM y 1000 nM), pomalidomida (10 μ M) sola o una combinación de A825 y pomalidomida. Después del tratamiento, los lisados celulares se recogieron y se analizaron mediante inmunotransferencia para BRD4 y Actina.

- 60 Las **Figuras 4E y 4F** muestran una degradación completa de BRD4 en células tratadas con 10 nM y 100 nM de A825, mientras que una pequeña cantidad de BRD4 está presente en las células tratadas con 1000 nM de A825, que es

consistente con los resultados mostrados en las **Figuras 4A y 4B**. La **Figura 4E y 4F** también muestra que los niveles de BRD4 no se vieron afectados en las células tratadas con pomalidomida sola, lo que se esperaba ya que la pomalidomida no se dirige a BRD4 para su degradación. Finalmente, las **Figuras 4E y 4F** muestran que los niveles de proteína BRD4 se rescataron parcialmente de la degradación en células tratadas con una combinación de A825 y pomalidomida.

Los resultados de este estudio confirman que la degradación de BRD4 por A825 está mediada por Cereblon.

e. Los inhibidores del proteasoma previenen la degradación de BRD4 por A825

Cereblon es una proteína E3 ubiquitina ligasa que, sola o en combinación con una enzima conjugadora de E2 ubiquitina, provoca la unión de ubiquitina a una lisina en una proteína diana y, posteriormente, se dirige a los sustratos proteicos específicos para la degradación por parte del proteasoma. Para confirmar que la degradación de BRD4 por A825 se produce a través de la ruta del proteasoma, las líneas celulares BL se trataron con A825 con y sin inhibidores del proteasoma.

Específicamente, las células NAMALWA se trataron durante la noche con A825 solo (10 nM y 100 nM); MG132 solo (5 μ M); o Carfizomib solo (5 μ M); o una combinación de A825 con MG132 o con Carfizomib. Después del tratamiento, los lisados celulares se recogieron y se analizaron mediante inmunotransferencia para BRD4 y Actina.

La **Figura 4G** muestra que BRD4 se degradó completamente en células tratadas con 10 nM o 100 nM de A825 solo, que es consistente con los resultados mostrados en las **Figuras 4A y 4B**. Las **Figuras 4E y 4F** también muestran que tanto MG132 como Carfizomib evitaron completamente la degradación de BRD4 inducida por 10 nM o 100 nM de A825. Estos resultados confirman que la degradación de BRD4 por A825 procede de acuerdo con la ruta normal de Cereblon, a través del proteasoma.

b. Sumario y análisis

Tomados en conjunto, Los datos obtenidos de los experimentos (a) a (f) anteriores demuestran que A825 conduce a una degradación rápida y eficaz de BRD4 en un mecanismo mediado por Cereblon y dependiente de proteasoma.

El perfil de degradación de BRD4 observado en este estudio apoya el siguiente modelo de mecanismo de acción, que se ilustra en la **Figura 8**. Específicamente, en células no tratadas, la expresión de BRD4 no se inhibe y funciona bajo un control celular regular. Sin embargo, cuando las células se tratan con concentraciones bajas de A825, suficiente A825 está presente en la célula para unirse eficazmente a BRD4 en un extremo de la molécula y Cereblon en el otro extremo para formar un complejo trímero "BRD4-A825-Cereblon" (**Figura 8A**). Este complejo trímero "BRD4-A825-Cereblon" impulsa la degradación eficiente de BRD4 en la célula. El complejo trímero es capaz de formarse en células tratadas con A825 dentro de un intervalo de concentración particular y puede conducir a un agotamiento completo de BRD4 en la célula (**Figura 8A**). Sin embargo, cuando las células se tratan con concentraciones altas de A825, se forman dímeros "BRD4-A825" y "A825-Cereblon" que dificultan la formación óptima de trímeros, lo que da como resultado una degradación de BRD4 menos eficaz (**Figura 8B**).

3. A825 conduce a una supresión de c-MYC más significativa y duradera que los inhibidores de moléculas pequeñas

Como se ha analizado anteriormente, el tratamiento de células con 100 nM o más de inhibidores del dominio BET de molécula pequeña JQ1 y OTX-15 resultó en una significativa, pero incompleta, supresión de la proteína c-Myc cadena abajo y que las concentraciones por encima de 1000 nM no dieron como resultado una supresión adicional de c-Myc. En los siguientes estudios, los efectos posteriores de A825 sobre la expresión de c-Myc se compararon con los inhibidores de moléculas pequeñas, JQ1 y OTX15.

a. A825 suprime c-Myc en mayor medida que JQ1 y OTX-15

En este estudio, la supresión de c-Myc por A825 se comparó con JQ1 y OTX-15.

Específicamente, las células NAMALWA y Ramos se trataron durante la noche con diversas concentraciones de A825 (100 nM, 300 nM y 1000 nM) o JQ1 (100 nM, 300 nM, 1000 nM, 3000 nM y 10000 nM) u OTX15 (100 nM, 300 nM, 1000 nM, 3000 nM y 10000 nM). Después del tratamiento, los lisados celulares se recogieron y se analizaron mediante inmunotransferencia para BRD4, c-Myc y Actina.

Las **Figuras 5A y 5B** muestran que JQ1 y OTX-15 conducen a una acumulación robusta de BRD4 y una significativa, pero incompleta, supresión de c-Myc en ambas líneas celulares BL (consistente con la **Figura 3G**). Las **Figuras 5A y 5B** también muestran que A825 resultó en una degradación significativa de BRD4 (consistente con las **Figuras 4A-4G**) y una regulación negativa mucho más pronunciada de c-Myc en comparación con JQ1 y OTX-15 en ambas líneas celulares BL. Notablemente, A825 fue capaz de regular negativamente la expresión de c-Myc en un grado mucho mayor que JQ1 y OTX-15 con una concentración mucho más baja del compuesto.

b. A825 suprime la expresión de c-Myc durante más tiempo que JQ1 y OTX-15

El siguiente estudio se realizó para comparar la duración de la supresión de c-Myc por A825, JQ1 y OTX-15.

Específicamente, Las células NAMALWA se trataron durante 24 horas con A825 (0,1 μ M), JQ1 (1,0 μ M) y OTX-15 (1,0 μ M) seguido de tres lavados para retirar los compuestos. Las células se volvieron a sembrar en medio fresco y se incubaron sin ningún compuesto durante 0 h, 2,0 h, 4,0 h, 6,0 h y 24,0 h. En un experimento de control paralelo, las células se trataron de la misma manera, excepto que se usó DMSO en lugar de inhibidor. Los lisados se recogieron y se analizaron mediante inmunotransferencia para BRD4, c-Myc y Actina.

La **Figura 5C** muestra que el efecto post-tratamiento sobre BRD4 por A825 (degradación de BRD4) se mantiene durante mucho más tiempo que el efecto post-tratamiento por JQ1 y OTX-15 (acumulación de BRD4). Adicionalmente, el efecto de supresión posterior al tratamiento posterior en c-Myc por A825 también se mantiene mucho más tiempo con A825 en comparación con JQ1 y OTX-15. En particular, la Figura muestra que no se observó proteína BRD4 detectable en las células 6 horas después del tratamiento con A825.

Adicionalmente, incluso después de 24 horas después del tratamiento con A825, solo se observó una pequeña cantidad de BRD4 en la transferencia Western, que estaba muy por debajo del nivel de BRD4 observado en la muestra control. Por el contrario, la acumulación de BRD4 por JQ1 y OTX-15 fue de corta duración, volviendo el nivel de proteína de BRD4 en estas muestras al nivel de la muestra control dentro de aproximadamente 4 horas después del tratamiento. La Figura también muestra que solo se detectó un pequeño nivel de proteína c-Myc entre 2 horas y 6 horas después del tratamiento con A825 e, incluso 24 horas después del tratamiento, el nivel de c-Myc estaba muy por debajo de la muestra control. Por el contrario, la Figura muestra que los niveles de proteína c-Myc se recuperan al nivel de control dentro de aproximadamente 4 horas después de la retirada de JQ1 y OTX-15. Por lo tanto, estos resultados demuestran que los efectos posteriores al tratamiento sobre BRD4 y c-Myc por A825 se mantienen durante un período de tiempo más largo en comparación con JQ1 y OTX-15.

c. A825 suprime la función c-Myc durante más tiempo que JQ1 y OTX-15. La proteína c-Myc es un factor de transcripción que activa la expresión de muchos genes, incluyendo SLC19A1, que es una proteína de membrana que es un transportador de folato y participa en la regulación de las concentraciones intracelulares de folato. En los experimentos anteriores, se demostró que A825, JQ1 y OTX-15 suprimen la expresión de c-Myc y el efecto de A825 fue más fuerte y duradero en comparación con JQ1 y OTX-15. Para investigar más a fondo cómo A825, JQ1 y OTX-15 pueden afectar a las rutas y eventos posteriormente a BRD4, las células se trataron con cada compuesto y se evaluó la expresión del gen SLC19A1 en diversos momentos posteriores al tratamiento.

Específicamente, Las células NAMALWA se trataron durante 24 horas con A825 (0,1 μ M), JQ1 (1,0 μ M) y OTX-15 (1,0 μ M) seguido de tres lavados para retirar los compuestos. Las células se volvieron a sembrar en medio fresco y se incubaron sin ningún inhibidor durante 0 h, 6,0 h y 24,0 h. En un experimento de control paralelo, las células se trataron de la misma manera, excepto que se usó DMSO en lugar de inhibidor. En cada punto de tiempo, se extrajo ARN de los lisados, se transcribió inversamente en ADNc y se cuantificó por QPCR con cebadores específicos de SLC19A1. GAPDH también se cuantificó mediante QPCR como un control interno.

De acuerdo con los resultados de la supresión de la proteína c-Myc (mostrados en la **Figura 5C**), las **Figuras 5D-5F** muestran que el tratamiento con A825 da como resultado una supresión más sustancial y duradera de la función c-Myc, como se determina por la expresión del gen SLC19A1, en comparación con JQ1 y OTX-15. En particular, la Figura muestra que la expresión del gen SLC19A1 se reduce significativamente por A825 y que incluso después de 24 horas después del tratamiento, la expresión del gen SLC19A1 se reduce en gran medida en comparación con la muestra control. Por el contrario, la Figura muestra que la expresión del gen SLC19A1 se reduce por JQ1 y OTX-15, pero vuelve al nivel de tratamiento de control en 6,0 a 24,0 horas.

4. A825 tiene una supresión de la proliferación celular superior en comparación con los inhibidores de moléculas pequeñas

Se sabe que las células BL son sensibles a los inhibidores de BRD4, que suprimen la señalización de c-Myc e inducen la inhibición de la proliferación celular (J.A. Mertz, *et al.*, PNAS, 108 (2011) 16669-16674). Los efectos del tratamiento con A825, JQ1 y OTX-15 sobre la proliferación celular se evaluó en los siguientes experimentos.

a. A825 suprime la proliferación celular en mayor medida que JQ1 y OTX-15

En este estudio, se evaluó la proliferación de diversas líneas celulares BL después del tratamiento con A825, JQ1 y OTX-15.

Específicamente, Las líneas celulares NAMALWA Ramos, CA-46 y Daudi se sembraron a 50.000 células/100 μ l en placas de 96 pocillos. Las células se trataron con concentraciones crecientes de A825 (100 pM, 300 pM, 1 nM, 3 nM, 10 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM, 1 μ M) JQ1 y OTX-15 (1 nM, 3 nM, 10 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM, 1 μ M, 3 μ M; para

NAMALWA, JQ1 y OTX-15 se usaron hasta 10 μ M) como se muestra en las **Figuras 6A-6D**). Después del tratamiento, la proliferación relativa de las muestras se determinó mediante ensayo CTG 72 horas después del tratamiento.

Las **Figuras 6A-6D** muestran que el tratamiento con A825 dio como resultado una supresión de la proliferación más pronunciada en comparación con JQ1 u OTX15 en todas las líneas celulares BL probadas, y que este efecto se logró usando concentraciones significativamente más bajas del compuesto. De manera interesante, el crecimiento relativo en las líneas celulares Ramos y Daudi tratadas con las concentraciones más altas de A825 fue cercano a 0,0.

b. A825 suprime la proliferación celular durante más tiempo que JQ1 y OTX-15

En este estudio, se evaluó la duración del efecto antiproliferación en las células NAMALWA tras el tratamiento y la retirada con A825, JQ1 y OTX-15.

Específicamente, Las células NAMALWA se trataron durante 24 horas con A825 (0,1 μ M), JQ1 (1,0 μ M) y OTX15 (1,0 μ M) seguido de tres lavados para retirar los compuestos. Las células se volvieron a sembrar en medio fresco y se incubaron sin ningún compuesto durante 0 h, 24,0 h y 48,0 h. En un experimento de control paralelo, las células se trataron de la misma manera, excepto que se usó DMSO en lugar de inhibidor. Después del tratamiento, la proliferación relativa de las muestras se determinó mediante ensayo CTG.

La **Figura 6E** muestra que el efecto de supresión de la proliferación por A825 se mantuvo durante más de 48 horas después del tratamiento en comparación con el de JQ1 u OTX15. Este resultado es consistente con los resultados experimentales discutidos anteriormente, donde A825 proporciona un efecto duradero sobre la degradación de BRD4 y la represión de la señalización descendente (por ejemplo, **Figuras 5A - 5F**).

c. La pomalidomida reduce el efecto antiproliferativo provocado por A825

Como se ha analizado anteriormente, los resultados en la **Figura 4C** demostraron que los niveles de proteína BRD4 se rescataron parcialmente de la degradación cuando estaba presente pomalidomida durante el tratamiento con A825, debido a la inhibición competitiva de la unión de Cereblon. Se realizó el siguiente experimento para determinar si la pomalidomida también puede prevenir, o al menos reducir, el efecto antiproliferativo en diversas líneas celulares BL por A825.

Específicamente, las células NAMALWA, CA-46 y Daudi se trataron con A825 (10 nM o 100 nM) solo, o en combinación con pomalidomida (1,0 μ M o 10,0 μ M) durante 72 horas. En un experimento de control paralelo, las células se trataron de la misma manera, excepto que se usó DMSO en lugar de inhibidor. Después del tratamiento, la proliferación relativa de las muestras se determinó mediante ensayo CTG.

El tratamiento de células con 10 nM de A825 solo dio como resultado una supresión de la proliferación significativa en comparación con las células control (**Figura 6F**), que es consistente con los resultados mostrados en las **Figuras 6A-6E**. La **Figura 6F** muestra que el tratamiento con 10 nM de A825 solo redujo el crecimiento celular a aproximadamente un 40 % en las células NAMALWA y CA-46 y a aproximadamente un 65 % en las células Daudi, en relación con el crecimiento de las células control. La pomalidomida redujo el efecto antiproliferación provocado por 10 nM de A825 de una manera dependiente de la dosis. En particular, el tratamiento con pomalidomida 1,0 μ M en combinación con 10 nM de A825 resultó en una reducción menos drástica en el crecimiento celular en comparación con la muestra de control (aproximadamente el 80 % en células NAMALWA, aproximadamente el 90 % en células CA-46 y aproximadamente el 95 % en células Daudi). El aumento de la concentración de pomalidomida a 10,0 μ M durante el tratamiento con 10 nM de A825 previno el efecto antiproliferación en todas las líneas celulares ensayadas en relación con la muestra de control.

El tratamiento de células con 100 nM de A825 solo suprimió la proliferación de todos los tipos de células probados en mayor medida en comparación con el tratamiento con 10 nM de A825 solo (*comparar la **Figura 6G** con la **Figura 6F***), que es consistente con los resultados mostrados en las **Figuras 6A-6E**. La **Figura 6G** muestra que el tratamiento con 100 nM de A825 solo redujo el crecimiento celular a aproximadamente un 25 % - 27 % en las células NAMALWA y Daudi y a aproximadamente un 33 % en las células Daudi, en relación con el crecimiento de las células control. La pomalidomida redujo el efecto antiproliferación provocado por 100 nM de A825 de una manera dependiente de la dosis. En particular, el tratamiento con pomalidomida 1,0 μ M en combinación con 100 nM de A825 dio como resultado una reducción menos drástica del crecimiento celular (aproximadamente el 55 % en todas las líneas celulares) en relación con la muestra control. El aumento de la concentración de pomalidomida a 10,0 μ M durante el tratamiento con 100 nM de A825 redujo aún más el efecto antiproliferación en todas las líneas celulares (entre aproximadamente un 70 % y aproximadamente un 80 % en todas las líneas celulares en relación con la muestra control).

Como un control adicional, las células BL se trataron con pomalidomida para determinar si la pomalidomida sola, sin A825, tiene un efecto sobre la proliferación celular. Específicamente, las células BL se trataron con diversas concentraciones de pomalidomida sola (0,001 μ M, 0,003 μ M, 0,01 μ M, 0,03 μ M, 0,1 μ M, 0,3 μ M, 1 μ M, 3 μ M, 10 μ M, como se muestra en la **Figura 6H**) durante 72 horas. En un experimento paralelo, las células se trataron de la misma manera, excepto que se usó DMSO en lugar de pomalidomida. Después del tratamiento, la proliferación relativa de

las muestras tratadas con pomalidomida se determinó mediante ensayo CTG y se comparó con el control DMSO.

La **Figura 6H** muestra que el tratamiento de células con pomalidomida sola no tuvo como resultado un efecto significativo sobre la proliferación de estas líneas celulares.

5. A825 tiene una inducción de apoptosis superior en comparación con los inhibidores de moléculas pequeñas

c-Myc es una oncoproteína pleiotrópica implicada en muchas marcas características del cáncer, incluyendo ciclo celular, senescencia, proliferación y apoptosis dependiendo de diferentes entidades tumorales (M. Gabay, *et al.*, Cold Spring Harb Perspect Med. (2014) 4:a014241). Los experimentos anteriores demuestran un efecto universal sobre la supresión de la proliferación en todas las líneas BL probadas después del tratamiento con inhibidores de BRD4 de molécula pequeña (JQ1 y OTX-15) así como A825. Los siguientes experimentos evalúan hasta qué punto JQ1, OTX-15 y A825 pueden inducir apoptosis en líneas celulares BL.

a. A825 conduce a un aumento más significativo en la actividad de caspasa en comparación con JQ1 y OTX-15

Diversas líneas celulares BL se trataron con ARV-825 (0,1 μ M) o JQ1 (1,0 μ M) u OTX015 (1,0 μ M) o puomicina (10 mg/ml) como control positivo de la inducción de la apoptosis, durante 24 horas, se midió la actividad de caspasa 3/7 mediante el ensayo Caspasa 3/7-Glow.

La **Figura 7A** muestra que la actividad caspasa varía notablemente dependiendo tanto de la línea celular BL probada como del inhibidor usado en el tratamiento. Específicamente, el tratamiento de las células BL con 100 nM de A825 dio como resultado un aumento estadísticamente significativo de la actividad caspasa en comparación con las células BL tratadas con JQ1 y OTX-15. El aumento de la actividad caspasa fue incluso más significativo en las células Daudi y NAMALWA en comparación con las células Ramos y CA-56.

Los presentes inventores observaron un aumento de la actividad de las caspasas 3/7 después de 24 horas de tratamiento de todas las líneas celulares BL con A825, pero no por dosis más altas de JQ1 y OTX15 (Figura 5A).

b. A825 conduce a un aumento más significativo en la escisión de PARP en comparación con JQ1 y OTX-15

Las células Ramos y CA-46 se trataron con dosis crecientes de ARV-825 (hasta 1,0 μ M) o JQ1 y OTX015 (hasta 10,0 μ M) durante 48 horas. Los lisados se recogieron y se analizaron mediante inmunotransferencia para la escisión de PARP con actina como control de carga.

La **Figura 7B** muestra que a las 48 horas, las células Ramos demostraron una apoptosis significativa con 0,1 μ M de tratamiento con A825, como evidencia la escisión prominente de PARP. Por el contrario, dosis significativamente más alta de inhibidores, JQ1 y OTX15, son necesarias para provocar un nivel similar de apoptosis en las líneas celulares correspondientes. La necesidad de concentraciones más altas de JQ1 y OTX-15 probablemente se deba a que estos inhibidores tienen una inhibición de BRD4 ineficaz y una represión de c-Myc posterior.

Tomados en conjunto, estos descubrimientos proporcionan una fuerte evidencia de que la degradación de BRD4 mediada por PROTAC es una estrategia más eficaz para dirigirse a BRD4 en BL en comparación con los inhibidores de moléculas pequeñas.

6. Sumario y análisis

Se sabe que las células BL son sensibles a los inhibidores de BRD4, que suprimen la señalización de c-Myc e inducen la inhibición de la proliferación celular (J.A. Mertz, *et al.*, PNAS, 108 (2011) 16669-16674). Recientemente, ha habido un progreso significativo en el diseño de compuestos que inhiben eficazmente BRD4 en las células. Sin embargo, a pesar de este progreso reciente, aún han de descubrirse inhibidores de BRD4 que tengan importantes beneficios funcionales y clínicos, que puedan explicarse parcialmente por la acumulación pronunciada de BRD4 observada durante el tratamiento con inhibidores y la naturaleza reversible/transitoria de la inhibición observada después del tratamiento, después de que se retire el inhibidor.

Los experimentos realizados en este Ejemplo demuestran que los inhibidores de BRD4 de molécula pequeña, JQ1 y OTX15, conducen a una acumulación significativa de proteína BRD4 en todas las líneas celulares BL probadas. Aunque ambos inhibidores suprimieron el nivel de c-Myc posterior, la supresión requirió una alta concentración de los compuestos. Asimismo, incluso con altas concentraciones de estos inhibidores, la supresión de c-Myc no fue completa. Los resultados observados en este Ejemplo para JQ1 y OTX-15 son consistentes con los resultados obtenidos por otros en un panel de líneas celulares de cáncer de pulmón y próstata (Shimamura, T., Chen, Z., Soucheray, M., Carretero, J., Kikuchi, E., Tchaicha, J.H., Gao, Y., Cheng, K.A., Cohoon, T.J., Qi, J., *et al.* (2013) y datos no mostrados). Los resultados obtenidos anteriormente sugieren que la acumulación robusta de BRD4, junto con la naturaleza reversible de la unión del inhibidor a BRD4, puede explicar el efecto moderado en la supresión de c-Myc posterior y la inhibición de la proliferación limitada asociada a inhibidores de moléculas pequeñas. Una posible explicación para los

datos de JQ1 y OTX-15 es que la unión del inhibidor con BRD4 da como resultado un cambio conformacional que conduce a un aumento de su estabilidad o dificulta su accesibilidad a su maquinaria de degradación natural. Alternativamente, los inhibidores de BRD4 pueden estar suprimiendo un circuito de retroalimentación negativa mediado por BRD4 que regula los niveles de proteína BRD4. No obstante, el destacado aumento del nivel de BRD4, junto con la naturaleza reversible de la unión del inhibidor, podría explicar parcialmente la ineficacia de la inhibición de BRD4 y la supresión de MYC posterior.

Tanto los estudios preclínicos como los clínicos han demostrado que los efectos de los inhibidores de BRD4 fueron en gran parte citostáticos, con apoptosis limitada a unas pocas líneas celulares y pacientes en fase I. Esto podría limitar significativamente el beneficio potencial de futuros pacientes a concentraciones clínicamente alcanzables de inhibidores de BRD4.

Otro fenómeno recurrente del desarrollo de fármacos inhibidores de moléculas pequeñas es la aparición de mutaciones en proteínas diana para mediar la resistencia o incluso para convertir de un antagonista a un agonista. Por ejemplo, aunque la enzalutamida es efectiva en el tratamiento del cáncer de próstata al inhibir el receptor de andrógenos, se convierte en un agonista en células tumorales con receptor de andrógenos que contiene la mutación F876L. Por lo tanto, los pacientes con cáncer de próstata cuyos tumores contienen ARF876L preexistente o inducido por el tratamiento no se beneficiarán del tratamiento con enzalutamida. Por el contrario, la degradación de la diana mediada por PROTAC evitará estos escollos y proporcionará una poderosa estrategia de focalización eficiente.

Para eludir las limitaciones de los inhibidores de BRD4 de molécula pequeña, una molécula quimera, A825, se diseñó conectando una fracción de unión de BRD4 de molécula pequeña a una fracción de unión de Cereblon E3 ligasa a través de la tecnología PROTAC.

Los experimentos anteriores muestran que A825 indujo una degradación rápida y eficiente de BRD4 al reclutar activamente la Cereblon E3 ligasa para BRD4, que dirige BRD4 a la maquinaria de degradación del proteasoma. Estos resultados también demuestran que A825 conduce a una supresión más pronunciada de la expresión y función de c-Myc posterior, proliferación celular e inducción de apoptosis en comparación con los inhibidores de BRD4 de molécula pequeña.






Los efectos funcionales mejorados del degradador BRD4 sobre los inhibidores podrían atribuirse parcialmente a la supresión más completa y sostenida de c-MYC, una oncoproteína impulsora en BL. También es posible que BRD4 posea funciones de "chaperona", ya que es una proteína grande con muchos compañeros de unión que quedan por identificar y dilucidar más. Comprensiblemente, la eliminación de BRD4 provocaría un efecto más profundo que la mera inhibición de su unión a compañeros que contienen acetil-lisina. Una comparación de los fenotipos de BRD4 inactivados o atenuados (como por CRISPR y ARNhp) con los de la inhibición de BRD4 por inhibidores abordaría esta pregunta, sin embargo, está fuera del alcance de este estudio.

La afinidad de unión de OTX15 y Pomalidomida a su diana respectiva, BRD4 y Cereblon, son ~10 nM y ~3 uM, respectivamente. A825, que se basa en estos dos ligandos, logra una DC_{50} para BRD4 por debajo de 1 nM. Esto sugiere fuertemente que BRD4 PROTAC posee una característica catalítica y abre enormes oportunidades en el desarrollo de degradadores funcionales que consisten en ligandos diana con afinidad subóptima sin función conocida. Por lo tanto, muchas dianas "difíciles", que normalmente carecen de sitios de unión de ligandos naturales, pueden volverse "no resistentes a fármacos" con la degradación mediada por PROTAC.

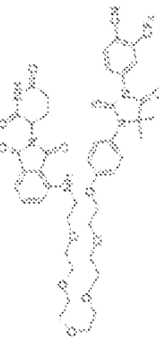
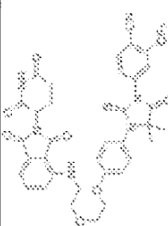



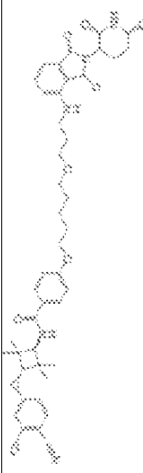
En resumen, la presente divulgación proporciona una estrategia novedosa para dirigirse eficazmente a BRD4 mediante la creación de un potente degradador de BRD4 mediante tecnología PROTAC. Asimismo, abre el camino para una nueva clase de moléculas de fármacos que reclutan activamente la E3 ligasa para dirigirse a proteínas patológicas específicas para su degradación, por lo tanto, hace que muchas dianas "difíciles" de los enfoques tradicionales de moléculas pequeñas sean "no resistentes a fármacos".

7. Aplicabilidad industrial


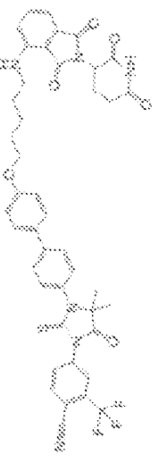



Se describe una nueva molécula bifuncional, que contiene una fracción de reclutamiento BRD4 y una fracción de reclutamiento Cereblon E3 Ligasa, a través de la tecnología PROTAC. A825 degrada activamente BRD4, que conduce a una supresión significativa y persistente de MYC aguas abajo y una fuerte supresión de la proliferación celular e inducción de apoptosis en BL. A825 representa una nueva estrategia para dirigirse eficientemente a BRD4, que emerge como una diana prometedora en múltiples cánceres. A825 representa un ejemplo de que la degradación de proteínas mediada por PROTAC proporciona una estrategia prometedora para dirigirse a las proteínas patológicas "resistentes a fármacos" mediante enfoques tradicionales.





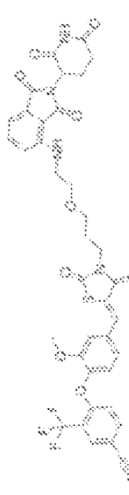
| n.º | Estructura | Actividad de degradación | | | | MH ⁺ | Nombre químico |
|-----|--|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|---|
| | | AR ¹ | BRD4 ¹ | TBK1 ² | ERRα ³ | | |
| 1 |  | A | | | | 851,25 | 4-[3-[4-((1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-4-yl]-4,7,10-trioxo-1-azadodecan-13-yl)oxi)fenil]-4,4-dimetil-5-oxo-2-sulfanilidenimidazolidin-1-yl]-2-(trifluorometil)benzonitrilo |
| 2 |  | B | | | | 821,25 | 4-[3-[4-((1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-4-ylamino)etoxi]propoxi)fenil]-4,4-dimetil-5-oxo-2-sulfanilidenimidazolidin-1-yl]-2-(trifluorometil)benzonitrilo |
| 3 |  | B | | | | 837,23 | 4-[3-[4-((1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-4-yl]-4,7,10-trioxo-1-azadodecan-12-yl)oxi)fenil]-4,4-dimetil-5-oxo-2-sulfanilidenimidazolidin-1-yl]-2-(trifluorometil)benzonitrilo |
| 4 |  | B | | | | 837,24 | 4-[3-[4-((1-[2-[(3S)-2,6-dioxopiperidin-3-yl]-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-4-yl]-4,7,10-trioxo-1-azadodecan-12-yl)oxi)fenil]-4,4-dimetil-5-oxo-2-sulfanilidenimidazolidin-1-yl]-2-(trifluorometil)benzonitrilo |
| 5 |  | B | | | | 837,24 | 4-[3-[4-((1-[2-[(3R)-2,6-dioxopiperidin-3-yl]-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-4-yl]-4,7,10-trioxo-1-azadodecan-12-yl)oxi)fenil]-4,4-dimetil-5-oxo-2-sulfanilidenimidazolidin-1-yl]-2-(trifluorometil)benzonitrilo |

(continuación)

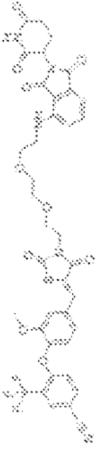




| n.º | Estructura | Actividad de degradación | | | | MH ⁺ | Nombre químico |
|-----|---|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|--|
| | | AR ¹ | BRD4 ¹ | TBK1 ² | ERRα ³ | | |
| 6 |  | A | | | | 925,30 | 4-((3-((4-((1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-yl]-4,7,10,13,16-penta-1-azaocadecan-18-yl)oxy)fenil]-4,4-dimetil-5-oxo-2-sulfanilidenimidazolidin-1-yl)-2-(trifluorometil)benzonitrilo |
| 7 |  | A | | | | 749,19 | 4-((3-((4-((1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-ylamino)etoxi]etoxi]fenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-sulfanilidenimidazolidin-1-yl)-2-(trifluorometil)benzonitrilo |
| 8 |  | A | | | | 793,28 | 4-((3-((4-((1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-ylamino)etoxi]etoxi]fenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-sulfanilidenimidazolidin-1-yl)-2-(trifluorometil)benzonitrilo |
| 9 |  | A | | | | 807,32 | 4-((3-((4-((1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-ylamino)etoxi]etoxi]propoxi]fenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-sulfanilidenimidazolidin-1-yl)-2-(trifluorometil)benzonitrilo |
| 10 |  | B | | | | 865,36 | 4-((3-((4-((1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-yl]-4,7,10-trioxa-1-azatetradecan-14-yl)oxy]fenil]-4,4-dimetil-5-oxo-2-sulfanilidenimidazolidin-1-yl)-2-(trifluorometil)benzonitrilo |
| 11 |  | C | | | | 799,31 | 4-((5-((3-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-ylamino)propoxi]pentil]oxy)-N-[trans-3-(3-cloro-4-cianofenoxi)-2,2,4,4-tetrametilciclobutil]benzamida |

(continuación)

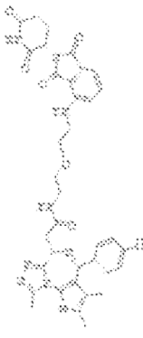




| n.º | Estructura | Actividad de degradación | | | | | MH ⁺ | Nombre químico |
|-----|---|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--|
| | | AR ¹ | BRD4 ¹ | TBK1 ² | ERRa ³ | cMyc ⁴ | | |
| 12 |  | A | | | | | 866, 16 | 4-{4,4-dimetil-3-[4-({1-[2-(3-metil-2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-il]-4,7,10-trioxa-1-azatridecan-13-il}oxi)fenil]-4-oxo-2-sulfanilidenimidazolidin-1-il}-2-(trifluorometil)benzonitrilo |
| 13 |  | C | | | | | 823, 12 | 4-[3-(4-{4-({5-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-il]amino)pentil}oxi)fenil}fenil)-4,4-dimetil-5-oxo-2-sulfanilidenimidazolidin-1-il]-2-(trifluorometil)benzonitrilo |
| 14 |  | | C | | | | 923,29 y
925,29 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[4-({1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-il]-4,7,10-trioxa-1-azadodecan-12-il}oxi)fenil]acetamida |
| 15 |  | | C | | | | 967,31 y
969,31 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[4-({1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-il]-4,7,10,13-tetraoxa-1-azapentadecan-15-il}oxi)fenil]acetamida |
| 16 |  | | C | | | | 879,26 y
881,26 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(4-{2-[2-(2-{2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-il]amino)etoxi]etoxi}fenil]acetamida |

| n.º | Estructura | (continúa) | | | | MH ⁺ | Nombre químico |
|-----|--|-----------------|-------------------|---|-------------------|-------------------|---|
| | | AR ¹ | BRD4 ¹ | Actividad de degradación
TBK1 ² | ERRa ³ | cMyc ⁴ | |
| 17 |  | | | A | | 865,27 y 857,27 | N-{3-[(5-bromo-2-{4-[(1-{2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-yl]-4,7,10-trioxa-1-azadodecan-12-yl)oxi}fenil)amino]pirimidin-4-yl}amino]propil}-N-metilciclobutanocarboxamida |
| 18 |  | | | C | | 953,32 y 955,32 | N-{3-[(5-bromo-2-{4-[(1-{2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-yl]-4,7,10,13,16-pentaoxa-1-azaoctadecan-18-yl)oxi}fenil)amino]pirimidin-4-yl}amino]propil}-N-metilciclobutanocarboxamida |
| 19 |  | | | C | | 909,31 y 911,31 | N-{3-[(5-bromo-2-{4-[(1-{2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-yl]-4,7,10,13-tetraoxa-1-azapentadecan-15-yl)oxi}fenil)amino]pirimidin-4-yl}amino]propil}-N-metilciclobutanocarboxamida |
| 20 |  | | | | B | 764,15 | 4-(4-{[(5Z)-3-{2-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-yl]amino}etoxi]etil]-2,4-dioxo-1,3-tiazolidin-5-iliden}metil)-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo |
| 21 |  | | | | C | 778,18 | 4-(4-{[(5Z)-3-{2-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-yl]amino}etoxi]propil}-2,4-dioxo-1,3-tiazolidin-5-iliden}metil)-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo |




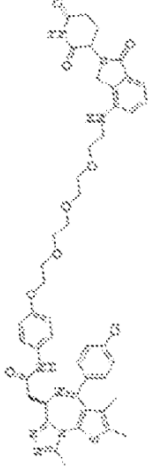
(continuación)

| n.º | Estructura | Actividad de degradación | | | | | MH* | Nombre químico |
|-----|---|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|---|
| | | AR ¹ | BRD4 ¹ | TBK1 ² | ERRα ³ | cMyc ⁴ | | |
| 22 |  | | | | C | | 808,19 | 4-((5Z)-3-{2-[2-(2-{2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-ylamino}etoxi)etil]etil}-2,4-dioxo-1,3-tiazolidin-5-iliden)metil]-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo |
| 23 |  | | | | | E | 847,21 y 849,21 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0.2,5]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-yl]-N-[(1S)-1-[4-{4-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-ylamino]butoxi}fenil]etil]acetamida |
| 24 |  | | | | | D | 771,16 y 773,16 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0.2,5]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-yl]-N-[3-{2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-ylamino}propoxi]propil]acetamida |
| 25 |  | | | | | E | 713,14 y 715,14 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0.2,5]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-yl]-N-(3-{2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-ylamino}propil]acetamida |
| 26 |  | | | | | D | 863,26 y 865,26 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0.2,5]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-yl]-N-[(1S)-1-{4-[2-(2-{2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-ylamino}etoxi)etil]etil]acetamida |

(continuación)

| n.º | Estructura | Actividad de degradación | | | | MH ⁺ | Nombre químico |
|-----|---|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---|
| | | AR ¹ | BRD4 ¹ | TBK1 ² | ERRα ³ | cMyc ⁴ | |
| 27 |  | | | | | D | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ² .6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-{2-[(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}etoxi}etil]acetamida |
| 28 |  | | | | | D | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ² .6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-{(1R)-1-[4-(4-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}butoxi)fenil]etil]acetamida |
| 29 |  | | | | | D | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ² .6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-{(1R)-1-[4-{2-[(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}etoxi}etil]etil]acetamida |
| 30 |  | | | | | D | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ² .6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-{(1R)-1-[4-(3-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}propoxi)fenil]etil]acetamida |
| 31 |  | | | | | D | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ² .6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-{2-[4-(3-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}propoxi)fenil]pirimidin-5-il]acetamida |

(continuación)

| n.º | Estructura | Actividad de degradación | | | | MH ⁺ | Nombre químico |
|-----|--|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---|
| | | AR ¹ | BRD4 ¹ | TBK1 ² | ERRa ³ | cMyc ⁴ | |
| 32 |  | | | | | D | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0.2.6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[4-[3-(2-{2,6-dioxopiperidin-3-il}-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-ilamino)etoxi]propoxi]-3-fluorofenil]acetamida |
| 33 |  | | | | | D | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0.2.6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[4-[3-(2-{2,6-dioxopiperidin-3-il}-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-ilamino)propoxi]butoxi]-2-fluorofenil]acetamida |
| 34 |  | | | | | D | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0.2.6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[4-[3-(2-{2,6-dioxopiperidin-3-il}-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-ilamino)propoxi]butoxi]-3-fluorofenil]acetamida |
| 35 |  | | | | | D | 2-[(9R)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0.2.6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[4-({1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-4,7,10-trioxa-1-azadodecan-12-il}oxi)fenil]acetamida |

Categorías de actividad de degradación:

- A = degradación al 10-30 % a 1 uM
 B = degradación al 31-50 % a 1 uM
 C = > degradación al 50 % a 1 uM
 D = Cl₅₀ < 50 nM
 E = Cl₅₀ > 50 nM

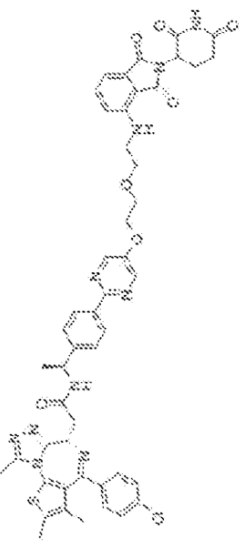
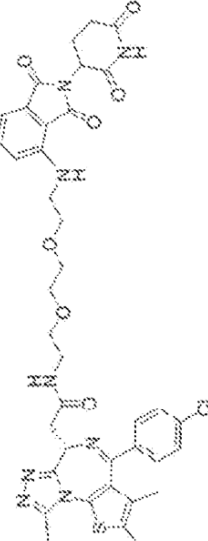
Célula usada en bioensayo:

¹células VCaP

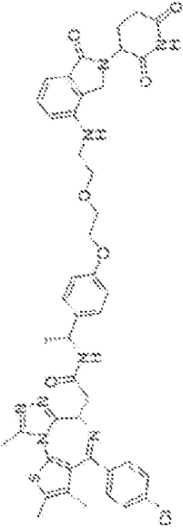
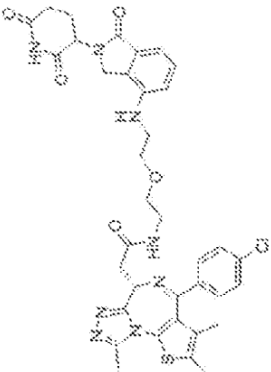
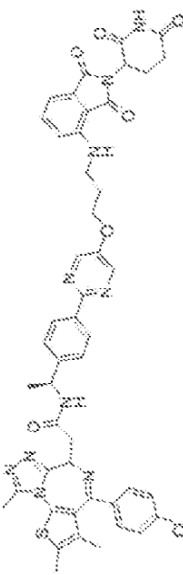
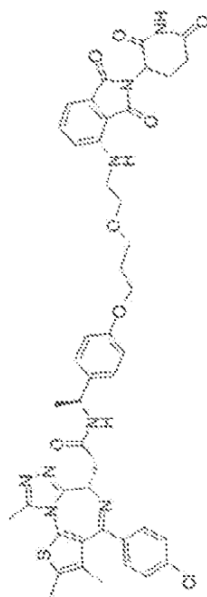
²células Panc0.013

³células Namalwa

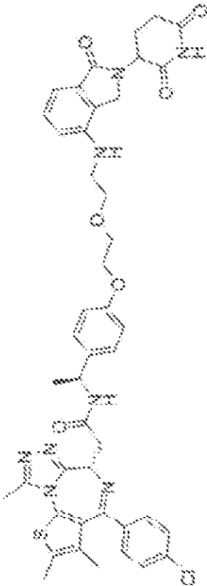
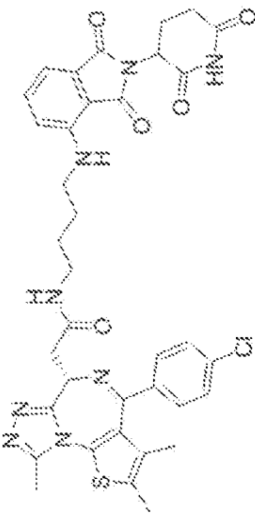
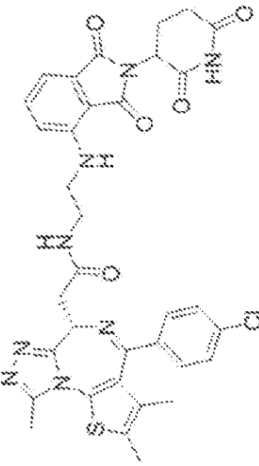
⁴células 22RV-1

| Categorías de actividad | | Estructura | Diana | cMyc
Cl ₅₀ | MH ⁺ | Nombre químico |
|-------------------------|--|--|-------|--------------------------|----------------------|---|
| n.º | | | | | | |
| 36 | <p>A = degradación al 10-30 % a 1 uM</p> <p>B = degradación al 31-50 % a 1 uM</p> <p>C = > degradación al 50 % a 1 uM</p> <p>D = Cl₅₀ < 50 nM</p> <p>E = Cl₅₀ > 50 nM</p> <p>F = sin probar</p> |  | BRD4 | D | 941, 19 y
943, 19 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ² .6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[1(1S)-1-(4-{5-[2-(2-{2,6-dioxopiperidin-3-il})-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}etoxi)pirimidin-2-il]fenil]etil]acetamida |
| 37 | |  | BRD4 | D | 787, 15 y
789, 15 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ² .6]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[2-[2-(2-{2,6-dioxopiperidin-3-il})-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}etoxi)etil]etil]acetamida |

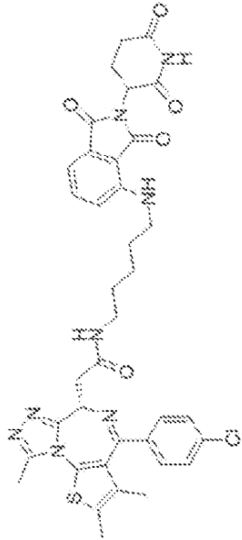
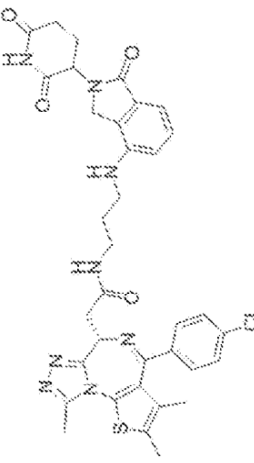
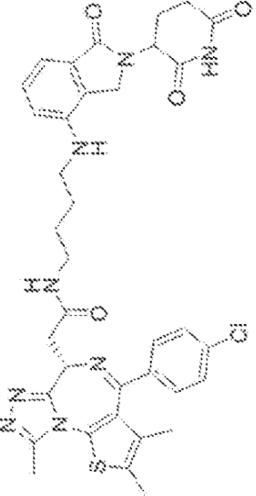
(continuación)

| n.º | Estructura | Diana | cMyc
Cl ₅₀ | MH ⁺ | Nombre químico |
|-----|--|-------|--------------------------|--------------------|--|
| 38 |  | BRD4 | D | 849,20 y
851,20 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,5} .0 ^{3,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1R)-1-{4-[2-(2-{6-dioxopiperidin-3-il}-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il)amino]etoxi}fenil]etil]acetamida |
| 39 |  | BRD4 | E | 730,15 y
732,15 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,5} .0 ^{3,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(2-{(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il)amino]etoxi}etil]acetamida |
| 40 |  | BRD4 | D | 911,18 y
913,18 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,5} .0 ^{3,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1S)-1-{4-[5-(3-{(2-{6-dioxopiperidin-3-il}-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il)amino}propoxi)pirimidin-2-il]fenil]etil]acetamida |
| 41 |  | BRD4 | D | 877,19 y
879,19 | 2-[(9S)-7-(4-chlorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,5} .0 ^{3,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1S)-1-{4-[3-(2-{(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il)amino]etoxi}propoxi}fenil]etil]acetamida |

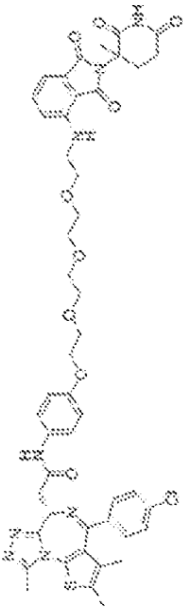
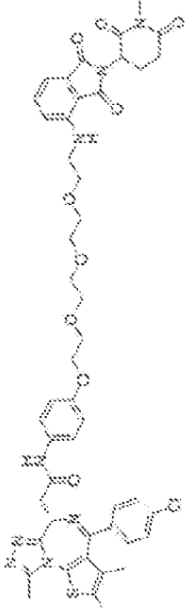
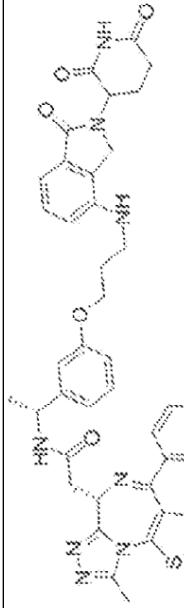
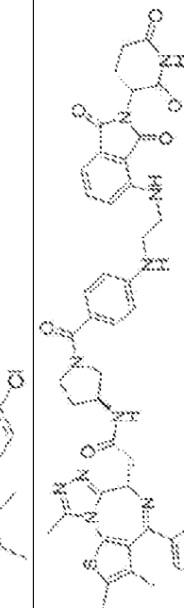
(continuación)

| n.º | Estructura | Diana | cMyc
Cl ₅₀ | MH ⁺ | Nombre químico |
|-----|--|-------|--------------------------|--------------------|--|
| 42 |  | BRD4 | D | 849,19 y
851,19 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6} .0 ^{2,7}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1S)-1-{4-[2-(2-{2,6-dioxopiperidin-3-il})-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}etoxi)etoxi]fenil]etil]acetamida |
| 43 |  | BRD4 | E | 727,13 y
729,13 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6} .0 ^{2,7}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(4-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}butil)acetamida |
| 44 |  | BRD4 | E | 699,10 y
701,10 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6} .0 ^{2,7}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(2-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}etil)acetamida |

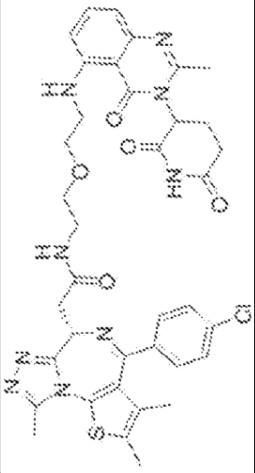
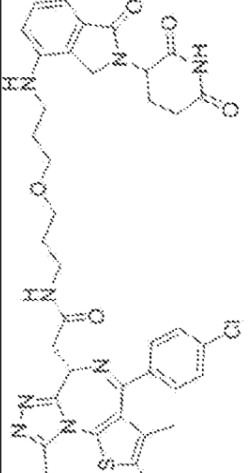
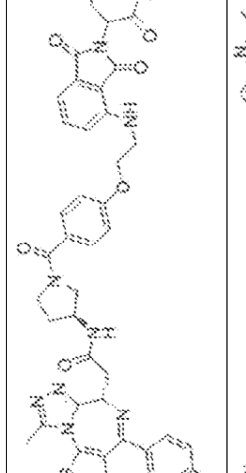
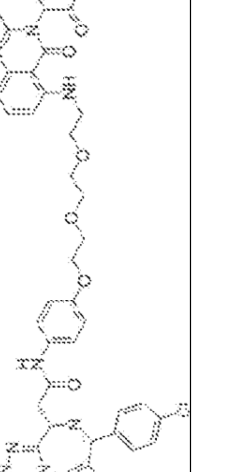
(continuación)

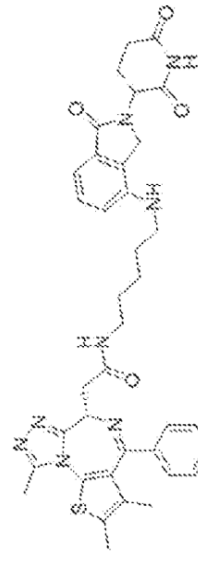
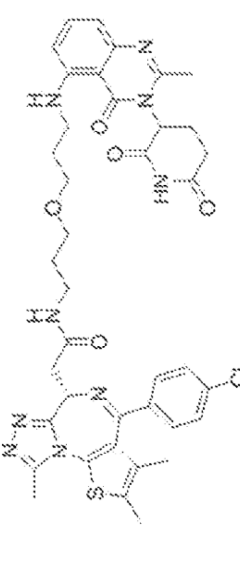
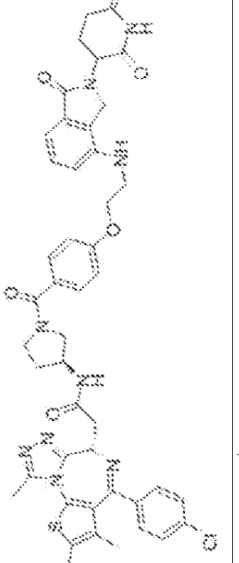
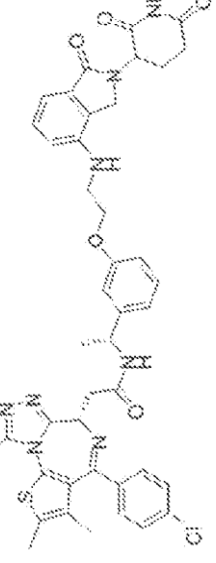
| n.º | Estructura | Diana | cMyc
Cl ₅₀ | MH ⁺ | Nombre químico |
|-----|--|-------|--------------------------|--------------------|--|
| 45 |  | BRD4 | D | 741,14 y
743,14 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(5-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}pentil)acetamida |
| 46 |  | BRD4 | E | 699,13 y
701,13 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(3-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}propil)acetamida |
| 47 |  | BRD4 | E | 713,15 y
715,15 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(4-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}butil)acetamida |
| 48 | | BRD4 | D | 881,15 y
883,15 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1S)-1-{4-[2-(2-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}etoxi)-3-fluorofenil]etil]acetamida |

(continuación)

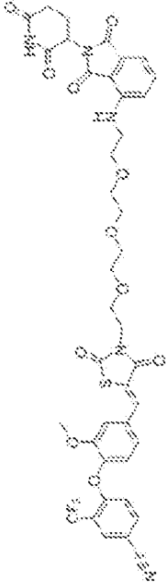

| n.º | Estructura | Diana | cMyc
Cl ₅₀ | MH ⁺ | Nombre químico |
|-----|--|-------|--------------------------|--------------------|--|
| 49 |  | BRD4 | E | 937,20 y
939,20 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6} .0 ^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[4-({1-[2-(3-metil-2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-il]-4,7,10-trioxa-1-azadodecan-12-il}oxi)fenil]acetamida |
| 50 |  | BRD4 | E | 937,20 y
939,20 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6} .0 ^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[4-({1-[2-(1-metil-2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-il]-4,7,10-trioxa-1-azadodecan-12-il}oxi)fenil]acetamida |
| 51 |  | BRD4 | E | 819,18 y
821,18 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6} .0 ^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1R)-1-[3-({2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-il}amino)propoxi]fenil]etil]acetamida |
| 52 |  | BRD4 | E | 887,17 y
889,17 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6} .0 ^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(3S)-1-[4-({2-[2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-il]amino)etil]amino]benzoil]pirrolidin-3-il]acetamida |

(continuación)

| n.º | Estructura | Diana | cMyc
Cl ₅₀ | MH ⁺ | Nombre químico |
|-----|---|-------|--------------------------|----------------------|---|
| 53 |  | BRD4 | E | 756, 15 y
758, 15 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[2-(2-{[3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metil-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-ilamino]etoxi}etil)acetamida |
| 54 |  | BRD4 | D | 757, 17 y
759, 17 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[3-(3-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-ilamino]propoxi}propil)acetamida |
| 55 |  | BRD4 | D | 888, 16 y
890, 16 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[4-(2-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-ilamino]etoxi}benzoil)pirrolidin-3-il)acetamida |
| 56 |  | BRD4 | D | 892, 19 y
894, 19 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ^{2,6}]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[4-(2-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metil-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-ilamino]etoxi}etoxi)fenil]acetamida |

| (continuación) | | | | | |
|----------------|---|-------|--------------------------|--------------------|---|
| n.º | Estructura | Diana | cMyc
Cl ₅₀ | MH ⁺ | Nombre químico |
| 57 |  | BRD4 | D | 727,16 y
729,16 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ² , ⁹]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(5-[(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino)pentil]acetamida |
| 58 |  | BRD4 | E | 784,18 y
786,18 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ² , ⁹]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[3-(3-{[3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metil-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il]amino}propoxi)propil]acetamida |
| 59 |  | BRD4 | E | 874,18 y
876,18 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ² , ⁹]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(3S)-1-[4-(2-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}etoxi)benzoil]piperolidin-3-il]acetamida |
| 60 |  | BRD4 | E | 805,17 y
807,17 | 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0 ² , ⁹]trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1R)-1-[3-(2-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}etoxi)fenil]etil]acetamida |

(continuación)

| n.º | Estructura | Diana | cMyc
Cl ₅₀ | MH ⁺ | Nombre químico |
|-----|---|---------|--------------------------|-----------------|---|
| 61 | | ERRalfa | F | 918,2
(M+23) | 4-(4-[[[(5Z)-3-{1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-il]-4,7,10,13-tetraoxa-1-azapentadecan-15-il]-2,4-dioxo-1,3-tiazolidin-5-iliden]metil]-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo |
| 62 |  | ERRalfa | F | 874,3
(M+23) | 4-(4-[[[(5Z)-3-{1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-il]-4,7,10-trioxa-1-azadodecan-12-il]-2,4-dioxo-1,3-tiazolidin-5-iliden]metil]-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo |
| 63 | | ERRalfa | F | 940,2 | 4-(4-[[[(5Z)-3-{1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-il]-4,7,10,13,16-pentaoxa-1-azaoctadecan-18-il]-2,4-dioxo-1,3-tiazolidin-5-iliden]metil]-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo |
| 64 |  | ERRalfa | F | 984,3 | 4-(4-[[[(5Z)-3-{1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isindol-4-il]-4,7,10,13,16,19-hexaoxa-1-azahenicasan-21-il]-2,4-dioxo-1,3-tiazolidin-5-iliden]metil]-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo |

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en:

- 5 2-[(9R)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[4-((1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-4,7,10-trioxa-1-azadodecan-12-il)oxi)fenil]acetamida;
- 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1S)-1-(4-{5-[2-(2-[(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino)etoxi]etoxi]pirimidin-2-il}fenil)etil]acetamida;
- 10 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-{2-[2-(2-[(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino)etoxi]etoxi]etil]acetamida;
- 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1R)-1-(4-[2-(2-[(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino)etoxi]etoxi]fenil)etil]acetamida;
- 15 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-trideca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[2-(2-[(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino)etoxi]etil]acetamida;
- 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1S)-1-(4-[5-(3-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino)propoxi]pirimidin-2-il)fenil]etil]acetamida;
- 20 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1S)-1-(4-[3-(2-[(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino)etoxi]propoxi]fenil)etil]acetamida;
- 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1S)-1-(4-[2-(2-[(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino)etoxi]etoxi]fenil)etil]acetamida;
- 25 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(4-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}butil]acetamida;
- 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(2-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}etil]acetamida;
- 30 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(5-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}pentil]acetamida;
- 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(3-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}propil]acetamida;
- 35 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(4-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}butil]acetamida;
- 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1S)-1-(4-[2-(2-[(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino)etoxi]etoxi]-3-fluorofenil)etil]acetamida;
- 40 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[4-((1-[2-(3-metil-2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-4,7,10-trioxa-1-azadodecan-12-il)oxi)fenil]acetamida;
- 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[4-((1-[2-(1-metil-2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-4,7,10-trioxa-1-azadodecan-12-il)oxi)fenil]acetamida;
- 45 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1R)-1-[3-(3-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}propoxi]fenil)etil]acetamida;
- 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(3S)-1-(4-[2-(2-[(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino)etoxi]etoxi]benzoil]pirrolidin-3-il]acetamida;
- 50 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[2-(2-[(3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metil-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il]amino)etoxi]etil]acetamida;
- 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[3-(3-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}propoxi)propil]acetamida;
- 55 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(3S)-1-(4-[2-(2-[(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino)etoxi]benzoil]pirrolidin-3-il]acetamida;
- 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(4-{2-[2-(2-[(3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metil-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il]amino)etoxi]etoxi]fenil]acetamida;
- 60 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-(5-{[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino}pentil]acetamida;
- 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[3-(3-{[3-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-2-metil-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-5-il]amino}propoxi)propil]acetamida;
- 65 2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]-tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(3S)-1-(4-[2-(2-[(2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino)etoxi]benzoil]pirrolidin-3-il]acetamida;

il]acetamida;

2-[(9S)-7-(4-clorofenil)-4,5,13-trimetil-3-tia-1,8,11,12-tetraazatriciclo[8.3.0.0²,⁶]tri-deca-2(6),4,7,10,12-pentaen-9-il]-N-[(1R)-1-[3-(2-[(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]amino)etoxi]fenil]etil]acetamida;

4-(4-[(5Z)-3-{1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-4,7,10,13-tetraoxa-1-azapentadecan-15-il]-2,4-dioxo-1,3-tiazolidin-5-iliden]metil]-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo;

4-(4-[(5Z)-3-{1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-4,7,10,13-trioxa-1-azadodecan-12-il]-2,4-dioxo-1,3-tiazolidin-5-iliden]metil]-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo;

4-(4-[(5Z)-3-{1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-4,7,10,13,16-pentaoxa-1-azaoctadecan-18-il]-2,4-dioxo-1,3-tiazolidin-5-iliden]metil]-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo; y

4-(4-[(5Z)-3-{1-[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-il]-4,7,10,13,16,19-hexaoxa-1-azahenicosan-21-il]-2,4-dioxo-1,3-tiazolidin-5-iliden]metil]-2-metoxifenoxi)-3-(trifluorometil)benzonitrilo, incluyendo formas de sal farmacéuticamente aceptables del mismo.

2. Una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1.

3. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 y un vehículo, un aditivo y/o un excipiente farmacéuticamente aceptables.

4. La composición farmacéutica de la reivindicación 3, que comprende además un agente bioactivo adicional, preferentemente un agente anticáncer, más preferentemente un agente anticáncer seleccionado del grupo que consiste en everolimus, trabectedina, abraxano, TLK 286, AV-299, DN-101, pazopanib, GSK690693, RTA 744, ON 0910.Na, AZD 6244 (ARRY-142886), AMN-107, TKI-258, GSK461364, AZD 1152, enzastaurina, vandetanib, ARQ-197, MK-0457, MLN8054, PHA-739358, R-763, AT-9263, un inhibidor de FLT-3, un inhibidor de VEGFR, un inhibidor de EGFR TK, un inhibidor de aurora quinasa, un modulador de PIK-1, un inhibidor de Bcl-2, un inhibidor de HDAC, un inhibidor de c-MET, un inhibidor de PARP, un inhibidor de Cdk, un inhibidor de EGFR TK, un inhibidor de IGFR-TK, un anticuerpo anti-HGF, unos inhibidores de PI3 quinasa, un inhibidor de AKT, un inhibidor de mTORC1/2, un inhibidor de JAK/STAT, un inhibidor de los puntos de control 1 o 2, un inhibidor de la quinasa de adhesión focal, un inhibidor de Map quinasa quinasa (mek), un anticuerpo trampa de VEGF, pemetrexed, erlotinib, dasatanib, nilotinib, decatanib, panitumumab, amrubicina, oregovomab, Lep-etu, nolatrexed, azd2171, batabulina, ofatumumab, zanolimumab, edotecarina, tetrandrina, rubitecán, tesmilifeno, oblimersen, ticilimumab, ipilimumab, gosipol, Bio 111, 131-I-TM-601, ALT-110, BIO 140, CC 8490, cilengitida, gimatecán, IL13-PE38QQR, INO 1001, IPdR₁, KRX-0402, lucantona, LY 317615, neuradiab, vitespán, Rta 744, Sdx 102, talampanel, atrasentán, Xr 311, romidepsina, ADS-100380, sunitinib, 5-fluorouracilo, vorinostat, etopósido, gemcitabina, doxorubicina, doxorubicina liposómica, 5'-desoxi-5-fluorouridina, vincristina, temozolomida, ZK-304709, seliciclib; PD0325901, AZD-6244, capecitabina, Ácido L-glutámico, N-[4-[2-(2-amino-4,7-dihidro-4-oxo-1H-pirrol-2,3-d)pirimidin-5-il]etil]benzoil]-, sal disódica, heptahidrato, camptotecina, irinotecán marcado con PEG, tamoxifeno, citrato de toremifeno, anastrozol, exemestano, letrozol, DES (dietilestilbestrol), estradiol, estrógeno, estrógeno conjugado, bevacizumab, IMC-1C11, CHIR-258; 3-[5-(metilsulfonilpiperadinometil)-indolil-quinolona, vatalanib, AG-013736, AVE-0005, la sal de acetato de [D-Ser(But)6,Azgly10] (piro-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser(But)-Leu-Arg-Pro-Azgly-NH₂ acetato [C₅₉H₈₄N₁₈Oi₄ - (C₂H₄O₂)_x donde x = 1 a 2,4], acetato de goserelina, acetato de leuprolida, pamoato de triptorelina, acetato de medroxiprogesterona, caproato de hidroxiprogesterona, acetato de megestrol, raloxifeno, bicalutamida, flutamida, nilutamida, acetato de megestrol, CP-724714; TAK-165, HKI-272, erlotinib, lapatanib, canertinib, anticuerpo ABX-EGF, erbitux, EKB-569, PKI-166, GW-572016, lonafarnib, BMS-214662, tipifarnib, amifostina, NVP-LAQ824, ácido hidroxámico analida de suberoilo, ácido valproico, tricostatina A, FK-228, SU11248, sorafenib, KRN951, aminoglutetimida, arnsacrino, anagrelida, L-asparaginasa, vacuna del bacilo de Calmette-Guerin (BCG), adriamicina, bleomicina, buserelina, busulfán, carboplatino, carmustina, clorambucilo, cisplatino, cladribina, clodronato, ciproterona, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daunorubicina, dietilestilbestrol, epirubicina, fludarabina, fludrocortisona, fluoximasterona, flutamida, gleevac, gemcitabina, hidroxiurea, idarrubicina, ifosfamida, imatinib, leuprolida, levamisol, lomustina, mecloretamina, melfalán, 6-mercaptopurina, mesna, metotrexato, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, nilutamida, octreotida, oxaliplatino, pamidronato, pentostatina, plicamicina, porfímero, procarbazona, raltitrexed, rituximab, estreptozocina, tenipósido, testosterona, talidomida, tioguanina, tiotepa, tretinoína, vindesina, ácido 13-cis-retinoico, mostaza de fenilalanina, mostaza de uracilo, estramustina, altretamina, floxuridina, 5-desoxiuridina, arabinósido de citosina, 6-mecaptopurina, desoxicoformicina, calcitriol, valrubicina, mitramicina, vinblastina, vinorelbina, topotecán, razoxina, marimastat, COL-3, neovastat, BMS-275291, escualamina, endostatina, SU5416, SU6668, EMD121974, interleucina-12, IM862, angiostatina, vitaxina, droloxifeno, idoxifeno, espironolactona, finasterida, cimitidina, trastuzumab, denileucina difitox, gefitinib, bortezomib, paclitaxel, paclitaxel sin cremóforo, docetaxel, epitilona B, BMS-247550, BMS-310705, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, pipendoxifeno, ERA-923, arzoxifeno, fulvestrant, acolbifeno, lasofoxifeno, idoxifeno, TSE-424, HMR-3339, ZK186619, topotecán, PTK787/ZK 222584, VX-745, PD 184352, rapamicina, 40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina, temsirolimus, AP-23573, RAD001, ABT-578, BC-210, LY294002, LY292223, LY292696, LY293684, LY293646, wortmanina, ZM336372, L-779.450, PEG-filgrastim, darbepoetina, eritropoyetina, factor estimulador de colonias de granulocitos, zolendronato, prednisona, cetuximab, factor estimulador de colonia de granulocitos y macrófagos, histrelinina, interferón alfa-2a pegilado, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b pegilado, interferón alfa-2b, azacitidina, PEG-L-asparaginasa, lenalidomida, gemtuzumab, hidrocortisona, interleucina-11, dextrazoxano, alemtuzumab, ácido todo-transretinoico, cetoconazol, interleucina-2, megestrol, inmunoglobulina, mostaza de nitrógeno, metilprednisolona, ibritgumomab tiuxetan, andrógenos, decitabina, hexametilmelamina, bexaroteno, tositumomab, trióxido de arsénico, cortisona, editronato, mitotano, ciclosporina,

daunorrubicina liposómica, Edwina-asparaginasa, estroncio 89, casopitant, netupitant, unos antagonistas del receptor de NK-1, palonosetrón, aprepitant, difenhidramina, hidroxizina, metoclopramida, lorazepam, alprazolam, haloperidol, droperidol, dronabinol, dexametasona, metilprednisolona, proclorperazina, granisetron, ondansetrón, dolasetron, tropisetron, pegfilgrastim, eritropoyetina, epoetina alfa, darbepoetin alfa y mezclas de los mismos.

- 5 5. Un método *in vitro* para inducir la degradación de una proteína diana en una célula, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 a la célula, en donde el compuesto produce la degradación de la proteína diana.
- 10 6. Una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en un método para tratar el cáncer, comprendiendo dicho método administrar la composición a un paciente que lo necesite, en donde la composición es eficaz para el tratamiento o alivio de al menos un síntoma de cáncer en el paciente.
- 15 7. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el cáncer es carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinomas hepatocelulares y carcinomas de células renales, cáncer de la vejiga, intestino, mama, cuello del útero, colon, esófago, cabeza, riñón, hígado, pulmón, cuello, ovario, páncreas, próstata y estómago; leucemias; linfomas benignos y malignos, particularmente, linfoma de Burkitt y linfoma no Hodgkiniano; melanomas benignos y malignos; enfermedades mieloproliferativas; mieloma múltiple, sarcomas, incluyendo sarcoma de Ewing, hemangiosarcoma, sarcoma de Kaposi, liposarcoma, miosarcomas, neuroepitelioma periférico, sarcoma sinovial, gliomas, astrocitomas, oligodendrogliomas, ependimomas, glioblastomas, neuroblastomas, ganglioneuromas, gangliogliomas, meduloblastomas, tumores de células pineales, meningiomas, sarcomas menígeos, neurofibromas y Schwannomas; cáncer de intestino, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de cuello de útero, cáncer de útero, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, cáncer testicular, cáncer de tiroides, astrocitoma, cáncer esofágico, cáncer pancreático, cáncer de estómago, cáncer de hígado, cáncer de colon, melanoma; carcinosarcoma, enfermedad de Hodgkin, tumor de Wilms o teratocarcinomas, Leucemia linfoblástica aguda de linaje T (T-ALL), Linfoma linfoblástico de linaje T (T-LL), Linfoma periférico de células T, Leucemia de células T del adulto, ALL Pre-B, Linfomas pre-B, Linfoma de células B grandes, Linfoma de Burkitt, ALL de células B, ALL con cromosoma Philadelphia positivo y LMC con cromosoma Philadelphia positivo.
- 20
- 25

Figura 1A

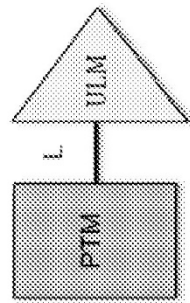


Figura 1B

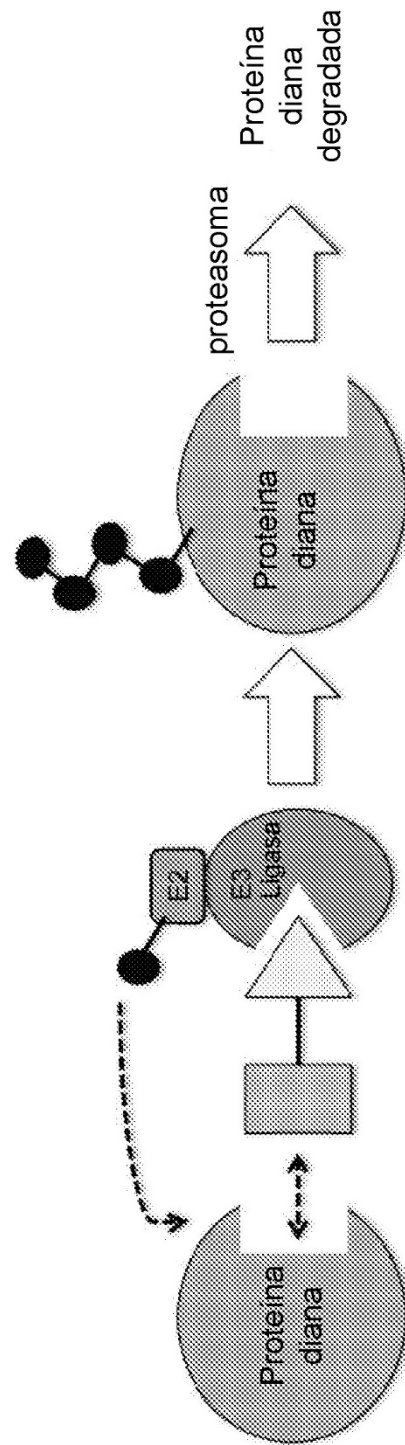


Figura 2

Resto de reclutamiento de Cereblon
(basado en Pomalidomida)

Resto de unión BRD4
(basado en OTX-15)

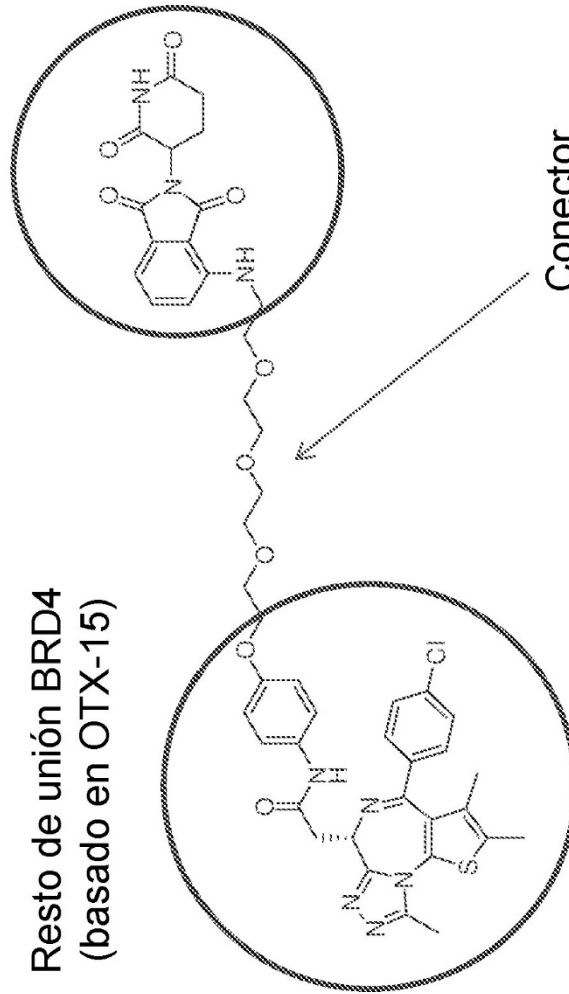


Figura 3A

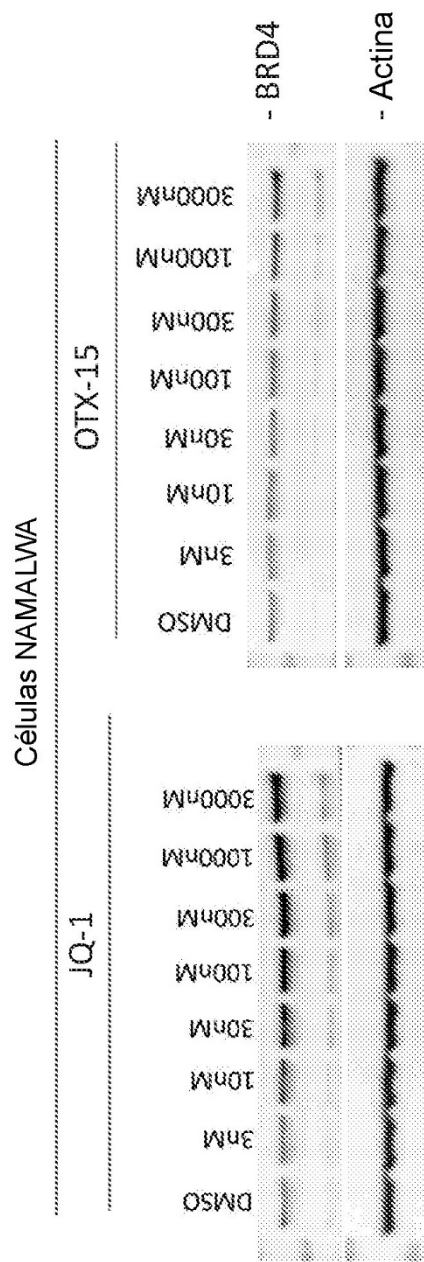
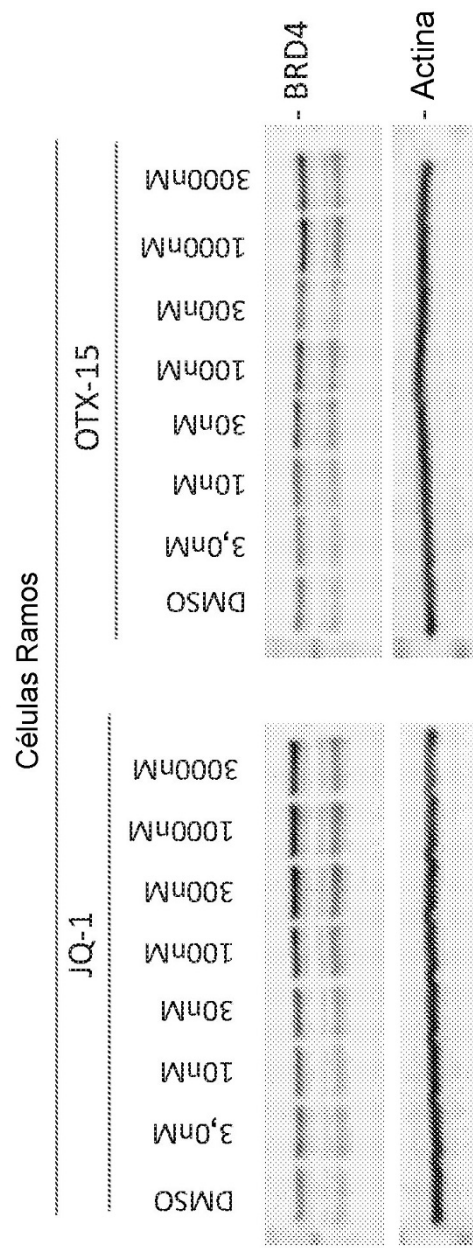


Figura 3B



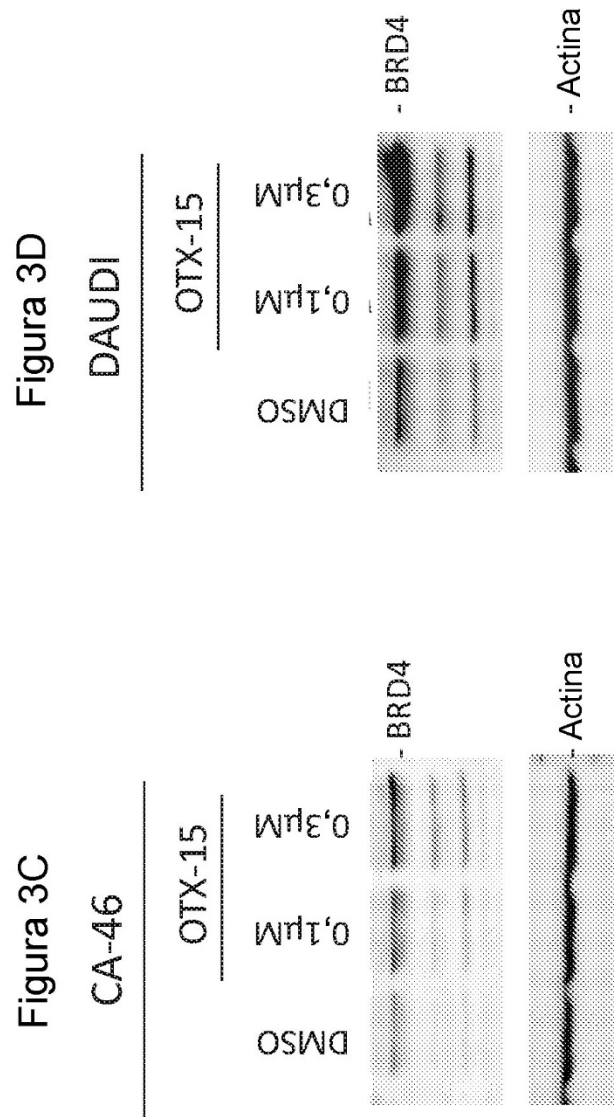


Figura 3F

RAMOS

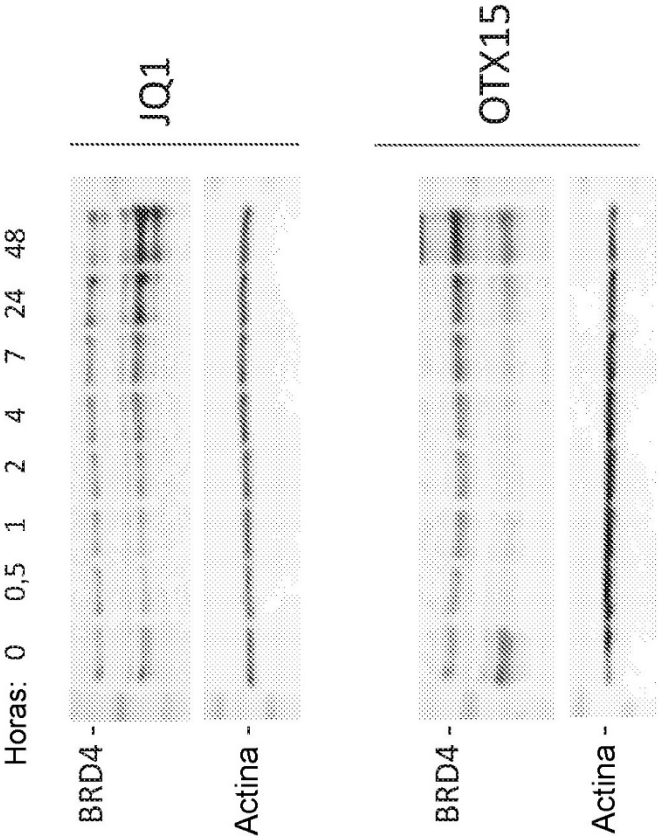


Figura 3E

NAMALWA

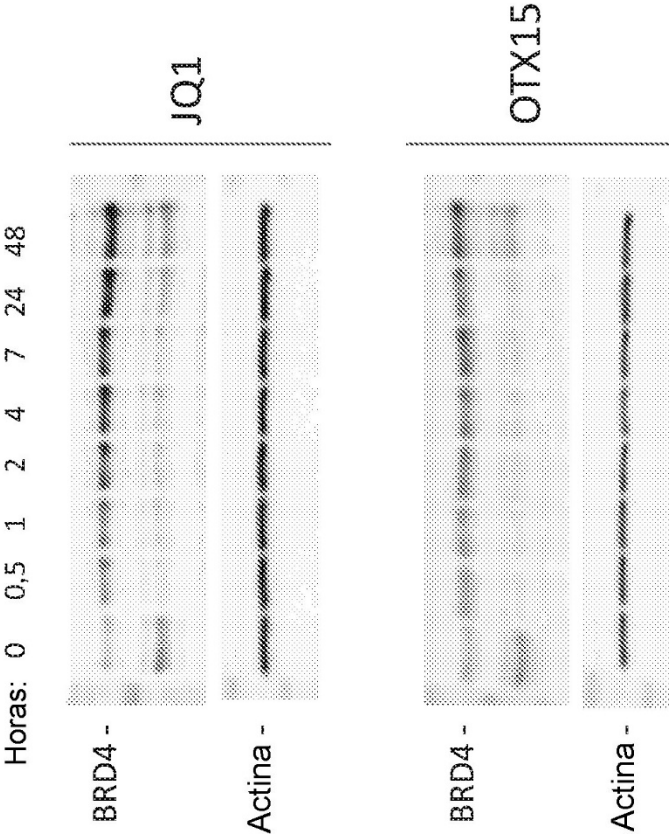


Figura 3G

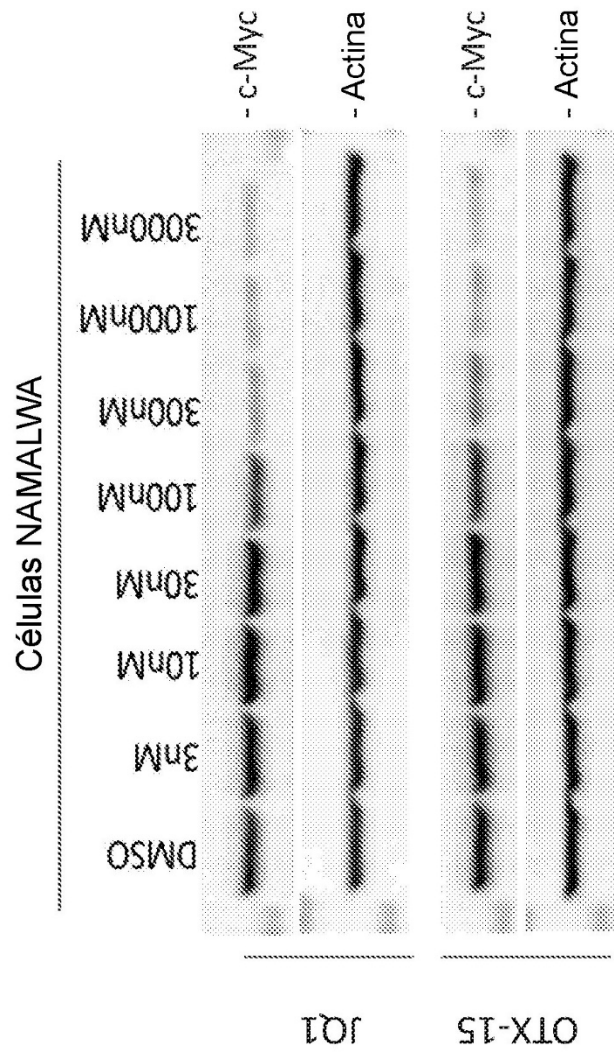


Figura 3H

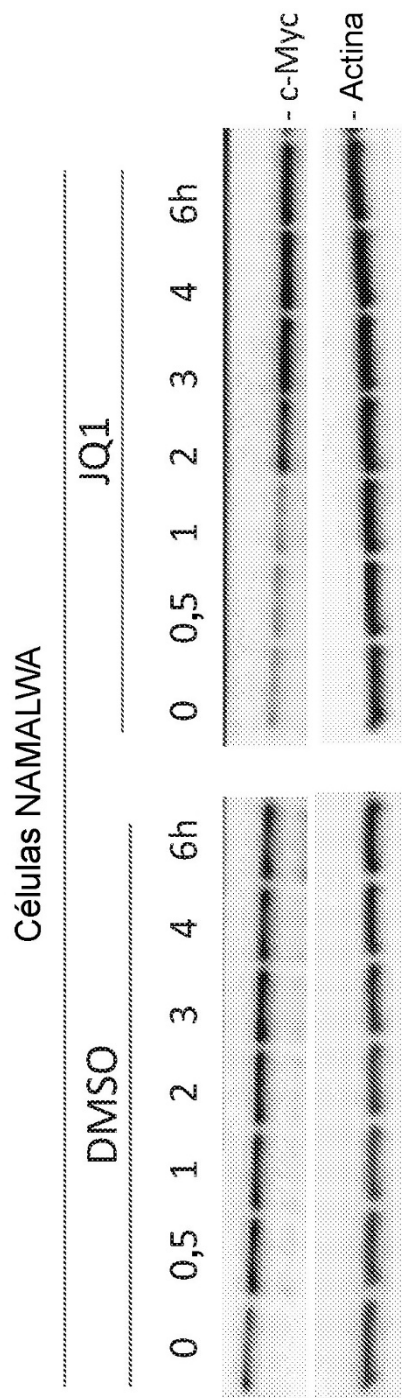


Figura 31

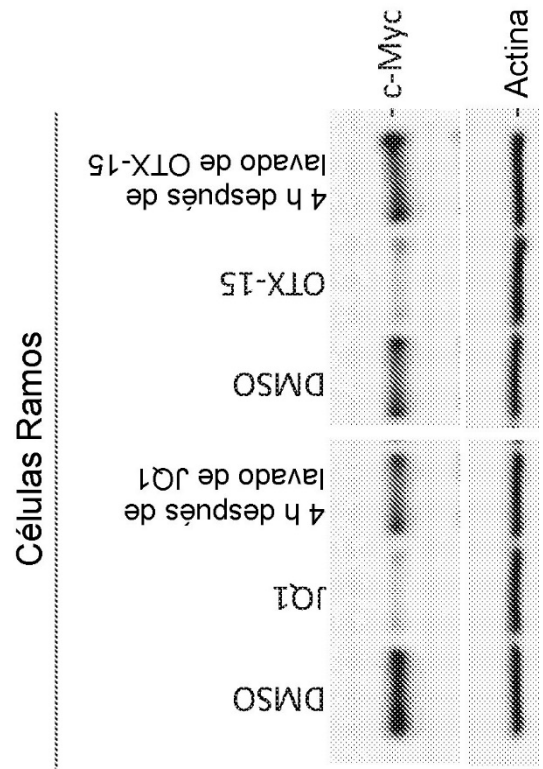


Figura 4A

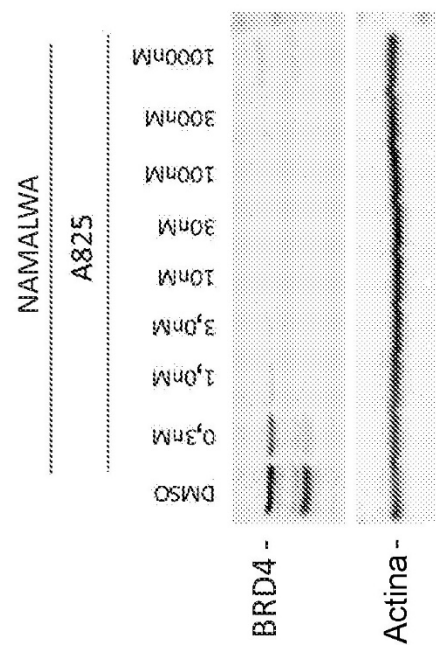


Figura 4B

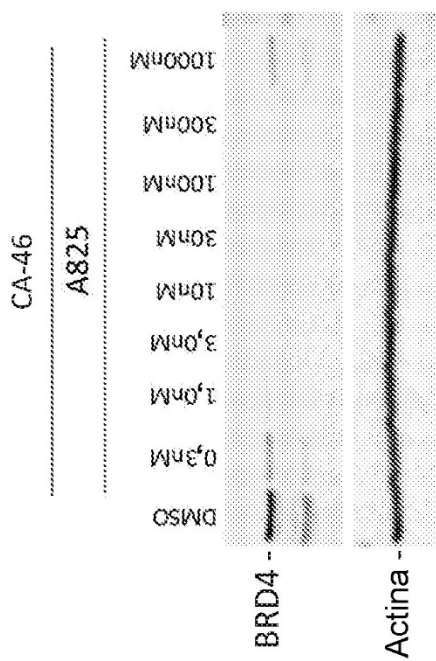


Figura 4C

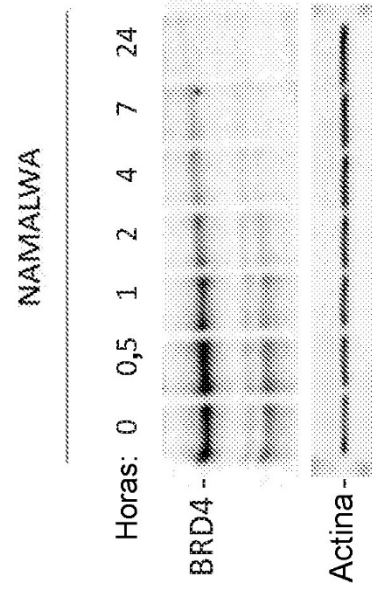


Figura 4D

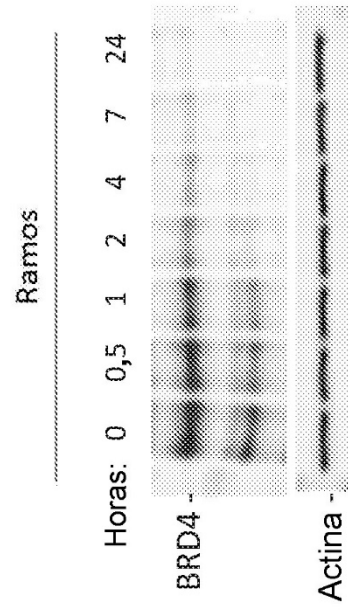


Figura 4E

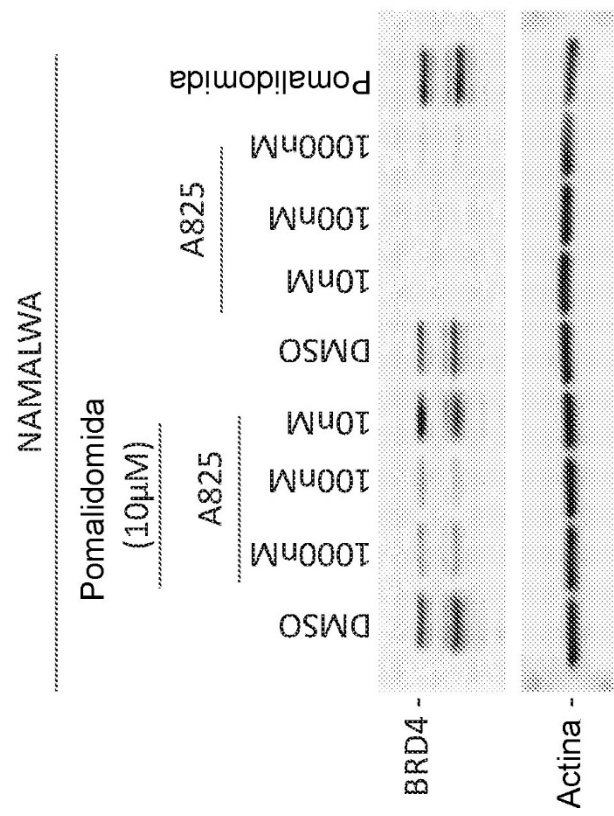


Figura 4F

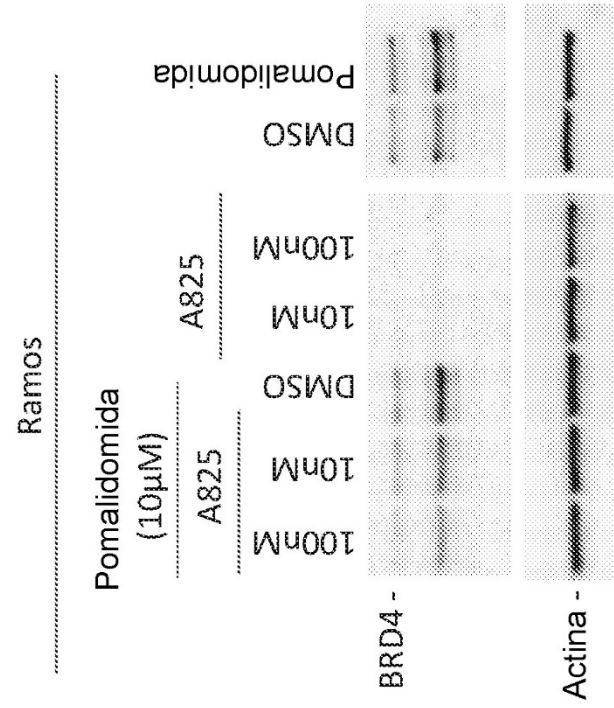


Figura 5A

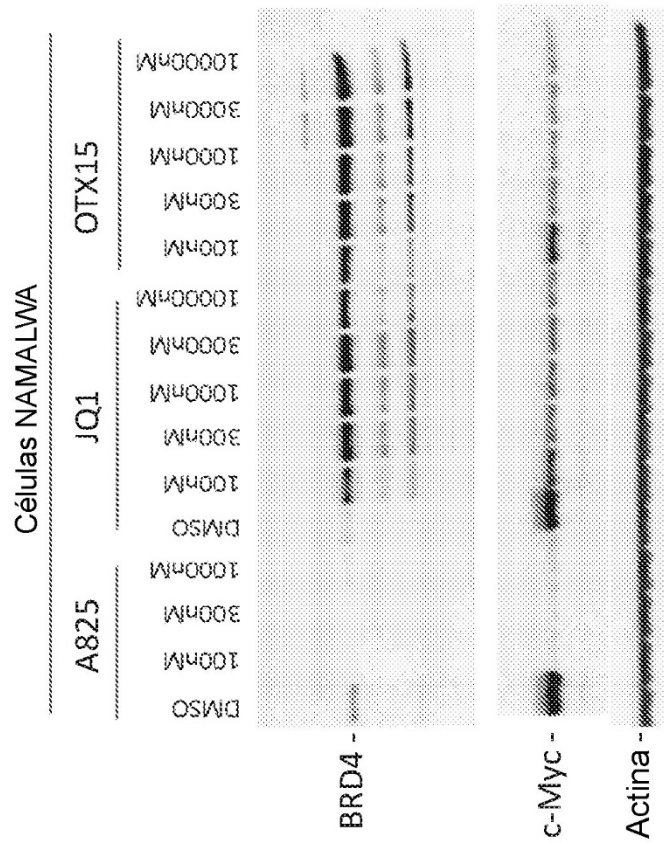


Figura 5B

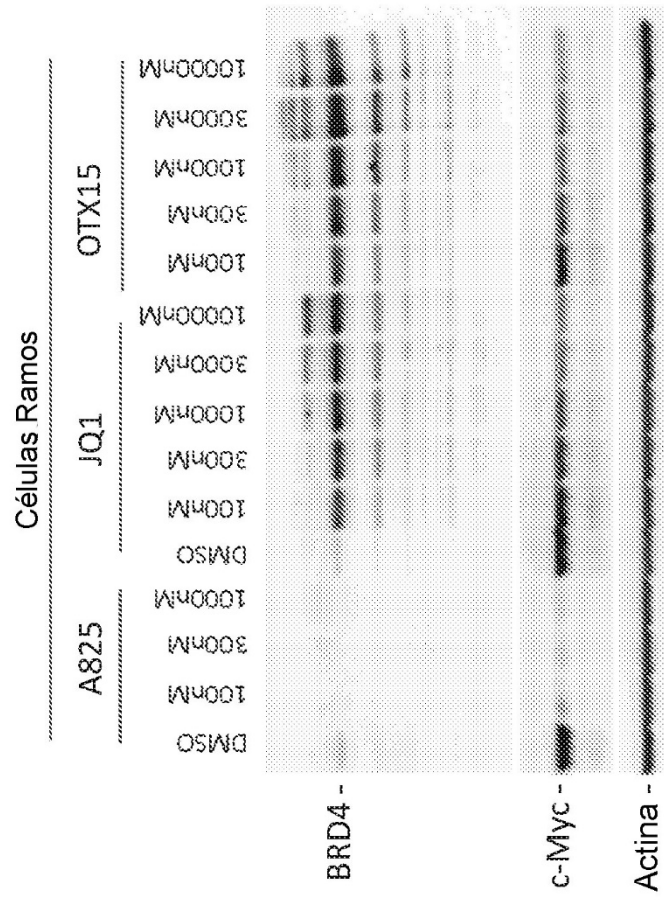


Figura 5C

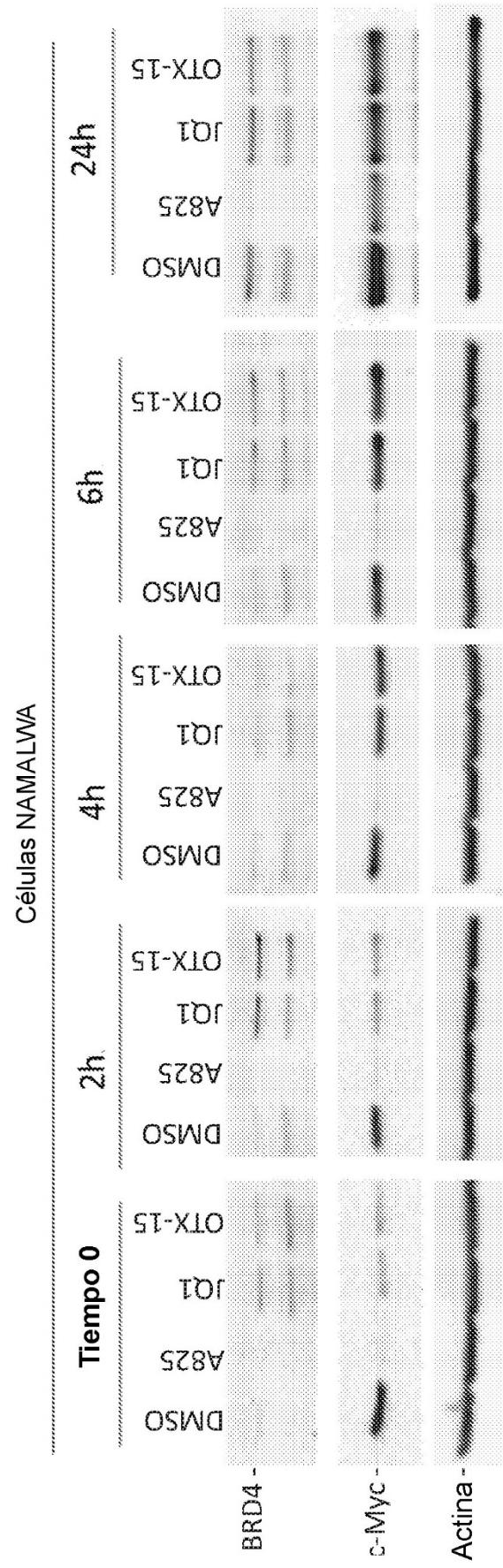


Figura 5D

SLC19A1
0h lavado

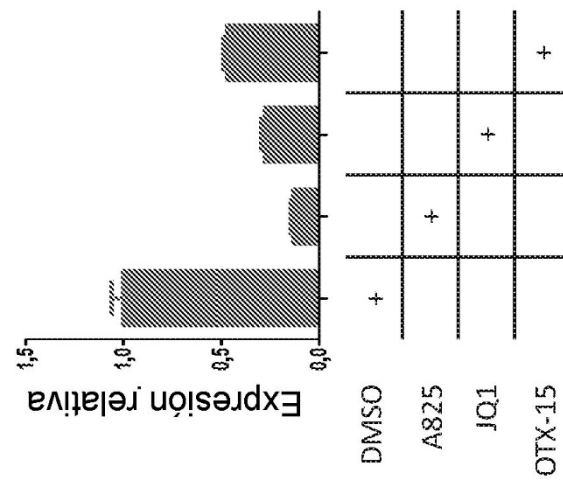


Figura 5E

SLC19A1
6h lavado

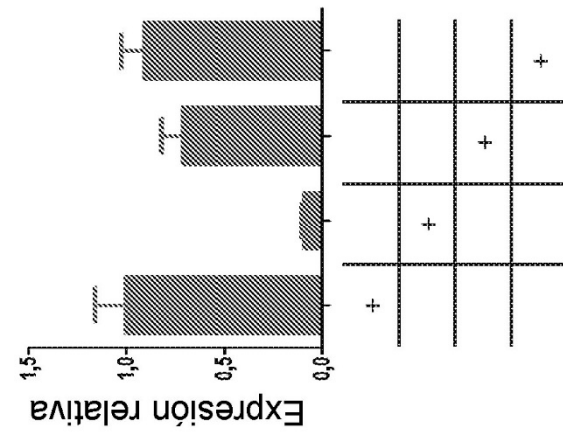


Figura 5F

SLC19A1
24h lavado

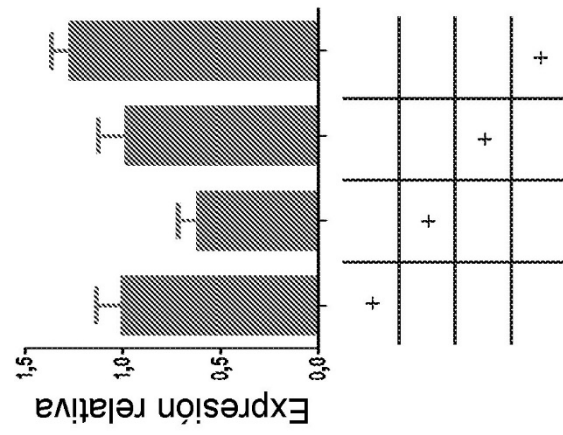


Figura 6A

Namalwa

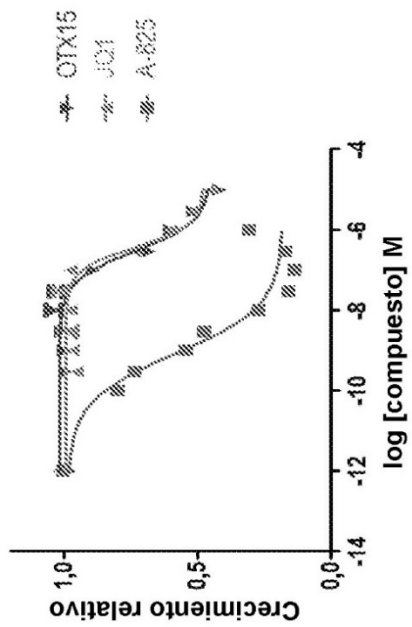


Figura 6B

Ramos

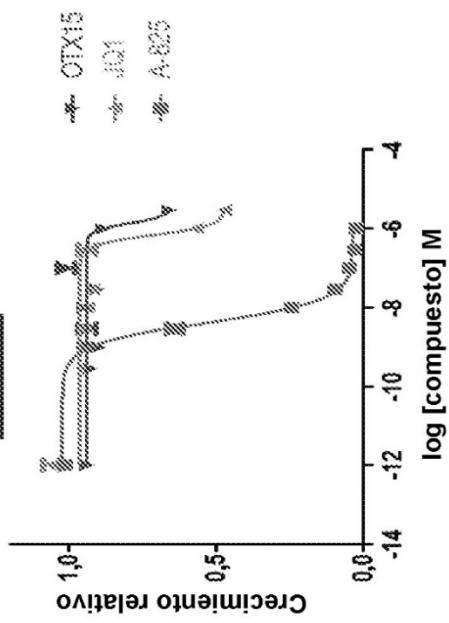


Figura 6C

CA-46

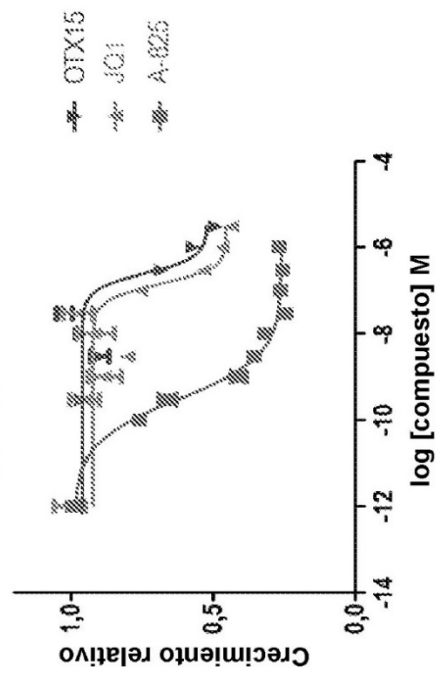


Figura 6D

Daudi

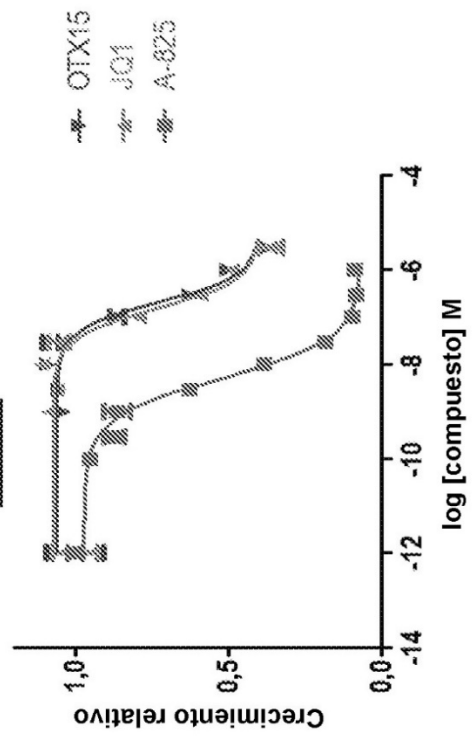


Figura 6E

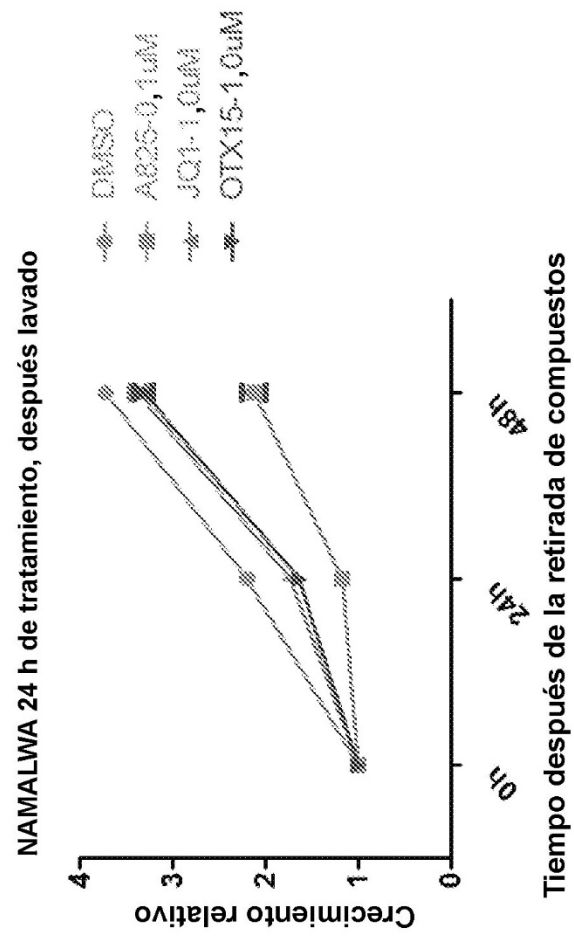


Figura 6F

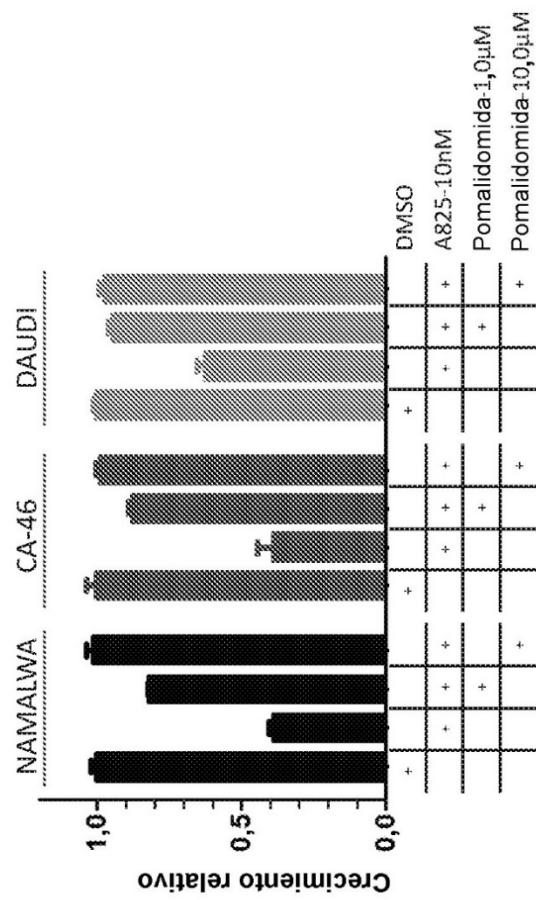


Figura 6G

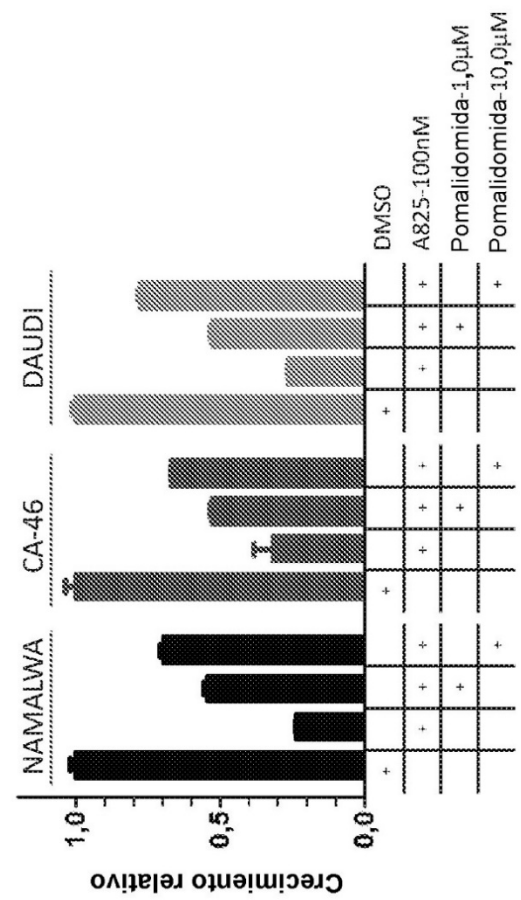


Figura 6H

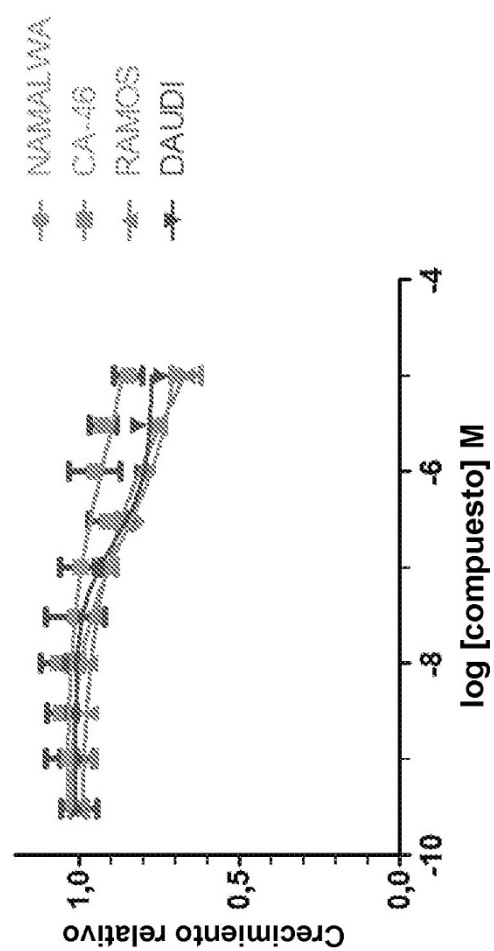


Figura 7A

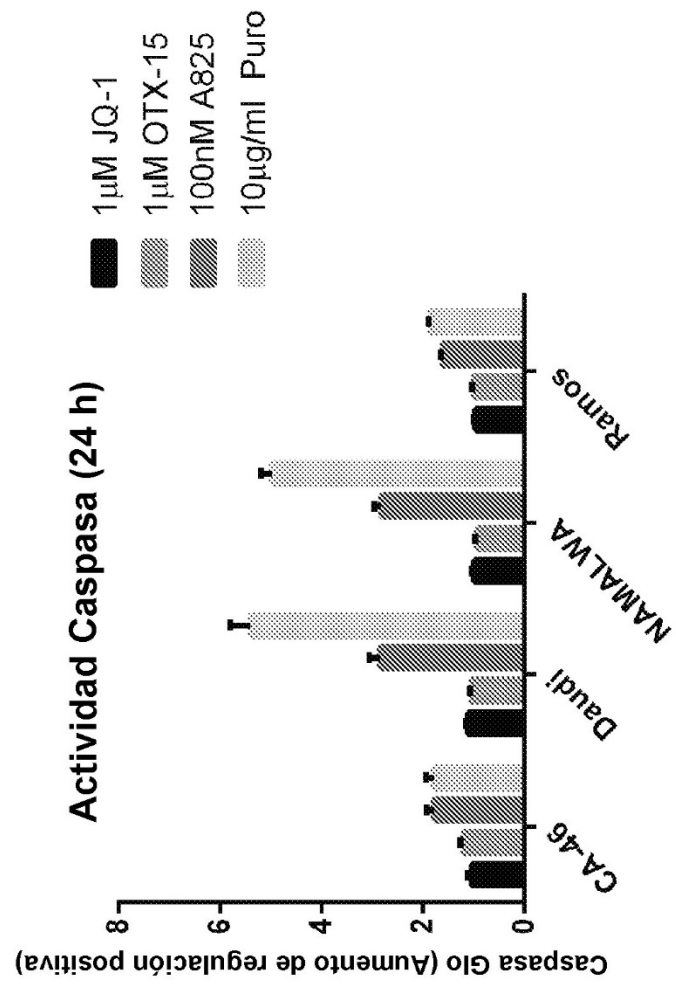


Figura 7B

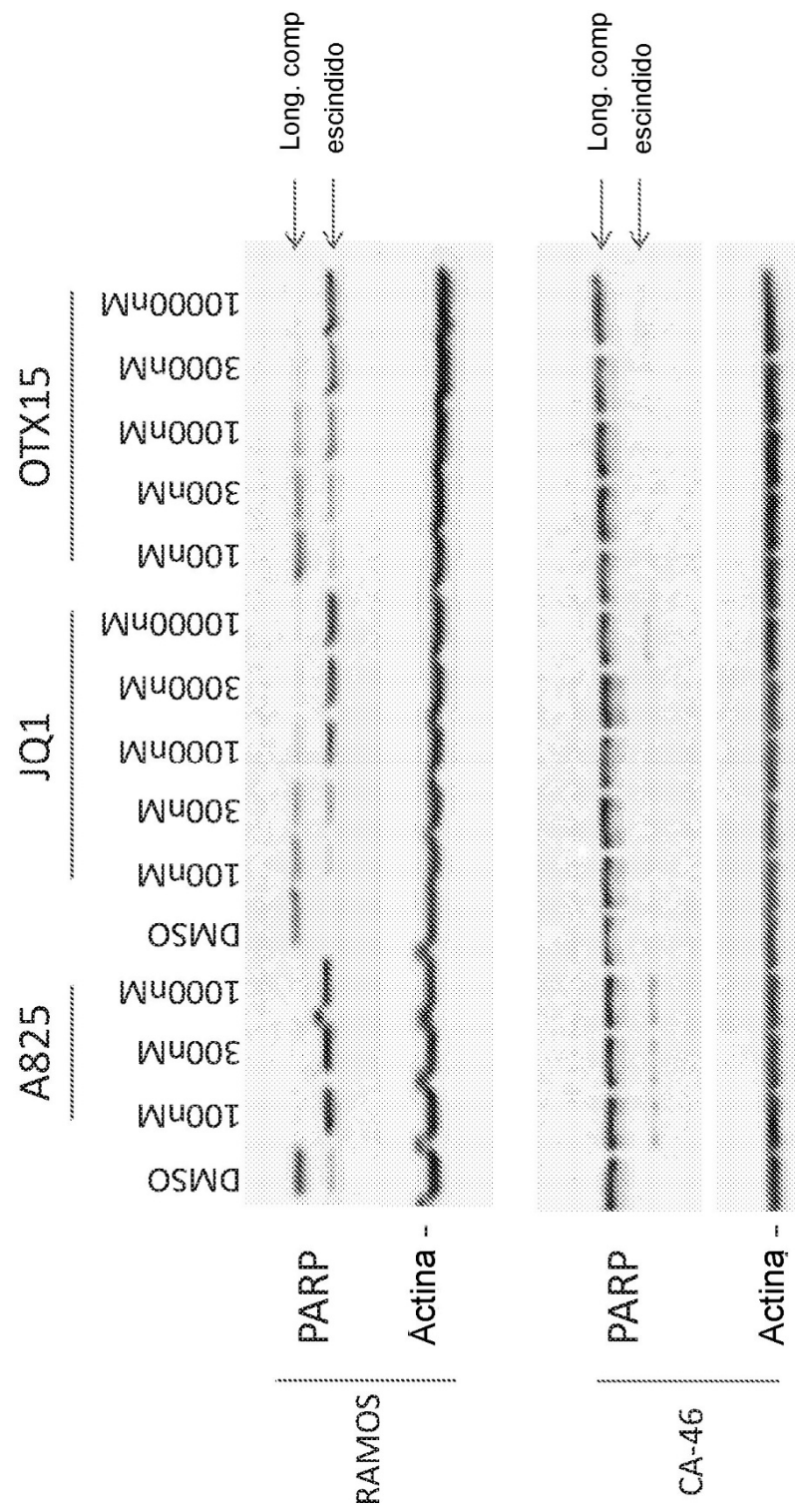


Figura 8A



Figura 8B

