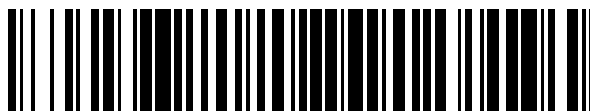


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 818 531**

51 Int. Cl.:

C07D 215/26 (2006.01)

A61K 31/4704 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.12.2016 PCT/IL2016/051347**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.06.2017 WO17103932**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.12.2016 E 16875067 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.07.2020 EP 3390364**

54 Título: **Moléculas pequeñas para inhibir la actividad de las quimiocinas y/o el crecimiento de células cancerosas**

30 Prioridad:

17.12.2015 US 201562268586 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.04.2021

73 Titular/es:

**BIOKINE THERAPEUTICS LTD. (100.0%)
Building 13a Einstein Street, Science Park Kiryat
Weizmann
70400 Nes Ziona, IL**

72 Inventor/es:

**PELED, AMNON;
ABRAHAM, MICHAL y
EIZENBERG, ORLY**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 818 531 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

Moléculas pequeñas para inhibir la actividad de las quimiocinas y/o el crecimiento de células cancerosas

5 Campo y antecedentes de la invención

La presente invención, en algunas realizaciones de la misma, se refiere a la terapia y más particularmente, pero no exclusivamente, a compuestos de moléculas pequeñas que son útiles en la modulación de la actividad biológica de una quimiocina, en la muerte de células cancerosas, en la inhibición de una quinasa, en la inhibición de la migración celular dependiente de quimiocinas y/o en el tratamiento de enfermedades y trastornos asociados a actividades biológicas de quimiocinas y/o migración celular y/o actividad quinasa, tales como cáncer y enfermedades y trastornos inflamatorios.

15 Las quimiocinas se encuentran entre los muchos factores biológicos que participan en el proceso de la enfermedad inflamatoria. Las quimiocinas pertenecen a un grupo de proteínas de unión a heparina pequeñas, de aproximadamente 8-14 kDa, mayormente básicas, que están relacionadas tanto en su estructura primaria como en la presencia de cuatro restos de cisteína conservados.

20 Las quimiocinas son citocinas quimiotácticas que han demostrado ser quimioatrayentes selectivos para subpoblaciones de leucocitos *in vitro* y que provocan la acumulación de células inflamatorias *in vivo*. Además de la quimiotaxis, las quimiocinas median la desgranulación de los leucocitos [Baggiolini y Dahinden, Immunol Today 1994, 15:127-133], la regulación positiva de los receptores de adhesión [Vaddi y Newton, J Immunol 1994, 153:4721-4732] y la supresión de la replicación del virus de la inmunodeficiencia humana [Cocchi *et al.*, Science 1995, 270:1811-1815].

25 Las quimiocinas juegan un papel esencial en el reclutamiento y la activación de células del sistema inmunológico. También tienen una amplia gama de efectos en muchos tipos de células diferentes más allá del sistema inmunológico, incluyendo, por ejemplo, en diversas células del sistema nervioso central [Ma *et al.*, PNAS 1998, 95:9448-9453] y en células endoteliales, donde dan lugar a efectos angiogénicos o angiostáticos [Strieter *et al.*, J Biol Chem 1995, 270:27348-27357]. Las quimiocinas particulares pueden tener múltiples efectos sobre los tumores, incluyendo angiogénesis, promoción del crecimiento y metástasis y supresión de la respuesta inmunitaria al cáncer, mientras que otras quimiocinas inhiben la angiogénesis mediada por tumores y promueven respuestas inmunitarias antitumorales.

30 Los receptores de quimiocinas han recibido una atención cada vez mayor debido a su papel fundamental en la progresión de la inflamación y afecciones asociadas tales como asma, aterosclerosis, rechazo de injerto, SIDA y afecciones autoinmunes (por ejemplo, esclerosis múltiple, artritis, miastenia gravis, lupus).

35 SDF-1 (factor 1 derivado de células estromales), también conocido como CXCL12 (quimiocina 12 con motivo CXC), es una quimiocina que es fuertemente quimiotáctica para los linfocitos. SDF-1 juega un papel importante en la angiogénesis, incluyendo angiogénesis asociada a la progresión del tumor, mediante el reclutamiento de células progenitoras endoteliales de la médula ósea, un efecto mediado por el CXCR4, el receptor de SDF-1 [Zheng *et al.*, Cardiovasc Pharmacol 2007, 50:274-280; Kryczek *et al.*, Am J Physiol Cell Physiol 2007, 292:C987-C995]. Además, las células cancerosas que expresan CXCR4 son atraídas por los tejidos diana de metástasis que liberan SDF-1.

45 Plerixafor, un antagonista de CXCR4, se usa en combinación con G-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos) para movilizar células madre hematopoyéticas en pacientes con cáncer, particularmente pacientes con linfoma y mieloma múltiple. Posteriormente, las células madre se trasplantan de nuevo al paciente después de la quimioterapia o la radioterapia.

50 En estudios con animales, también se ha informado que el plerixafor reduce la metástasis [Smith *et al.*, Cancer Res 2004, 64:8604-8612], reduce la recurrencia del glioblastoma asociado a vasculogénesis [Kioi *et al.*, J Clin Investigation 2010, 120:694-705] y contrarresta la hiperalgesia inducida por opioides [Wilson *et al.*, Brain Behav Immun 2011, 25:565-573].

55 Las quinasas son una familia de enzimas que median en la transferencia de un resto fosfato de una molécula de alta energía (tal como el ATP) a un sustrato. Las quinasas están implicadas en muchas rutas de señalización celular. Las proteína quinasas actúan sobre las proteínas, fosforilando restos de serina, treonina, tirosina o histidina en la proteína y, por lo tanto, afectando a la actividad de la proteína.

60 Las proteína quinasas activadas por mitógenos (MAPK) constituyen una familia de serina/treonina quinasas dirigidas por prolina que activan sus sustratos por fosforilación dual. Las p38 MAPK (p38 α , p38 β , p38 γ y p38 δ), por ejemplo, son responsables de la fosforilación y activación de factores de transcripción (tales como ATF-2, MAX, CHOP y C/ERPB) así como otras quinasas (tales como MAPKAP-K2/3 o MK2/3) y se activan ellas mismas por estrés físico y químico (por ejemplo, UV, estrés osmótico), citocinas proinflamatorias y lipopolisacárido bacteriano (LPS) [Stein *et al.*, Ann Rep Med Chem 1996, 31:289-298; Herlaar y Brown, Molecular Medicine Today 1999, 5:439-447]. Se ha demostrado que los productos de la fosforilación de p38 median en la producción de citocinas proinflamatorias.

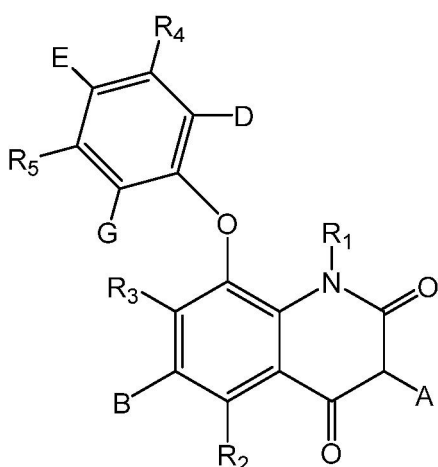
Se ha descrito en la técnica la implicación de las rutas de las quinasas en diversas enfermedades y trastornos y una actividad antiinflamatoria de los inhibidores de quinasas. Por ejemplo, se han informado actividades antiinflamatorias para los inhibidores de la quinasa p38 [Badger *et al.*, J Pharm Exp Thera 1996, 279:1453-1461; Griswold *et al.*, Pharmacol Comm 1996, 7:323-229]. En particular, los inhibidores de la quinasa p38 se han descrito como agentes potenciales para el tratamiento de la artritis reumatoide y para mostrar efectos beneficiosos en modelos de enfermedades de las vías respiratorias tales como EPOC y asma [Haddad *et al.*, Br J Pharmacol 2001, 132:1715-1724; Underwood *et al.*, Am J Physiol Lung Cell Mol 2000, 279:895-902; Duan *et al.*, Am J Respir Crit Care Med 2005, 171:571-578; Escott *et al.*, Br J Pharmacol 2000, 131:173-176; Underwood *et al.*, J Pharmacol Exp Ther 2000, 293:281-288]. La implicación de la ruta de p38MAPK en diversas enfermedades se ha revisado por Chopra *et al.* [Expert Opinion on Investigational Drugs 2008, 17:1411-1425].

El compuesto 8-(2,4-dihidroxi-6-(2-oxoheptil)-fenoxi)-6-hidroxi-3-pentil-1H-isocromen-1-ona se aisló de musgo de roble y se informó que exhibe una potente actividad antibacteriana contra *Legionella*, pero no contra otras bacterias [Nomura *et al.*, Biol Pharm Bull 2012, 35:1560-1567].

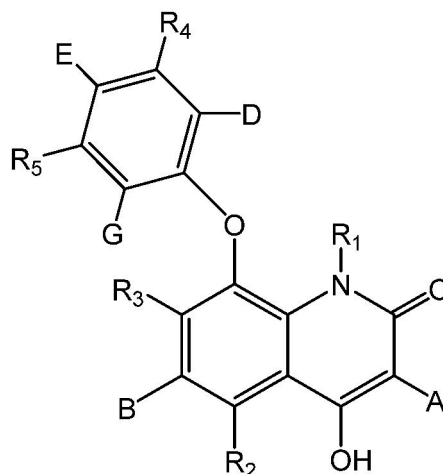
Algunos agentes antitumorales se desvelan en los documentos no de patente Kim *et al.*, "Isolation and characterization of antitumor agents from Dictamnus albus", Saengyak Hakhoe chi (19971231), Vol. 28, N.º 4, páginas: 209-214 y Sulaiman *et al.*, "In Vitro and In Silico Studies of Lunacridine from Lunasia Amara Blanco as Anticancer", Journal of Life Sciences (30 de agosto de 2011), Vol. 5, No.8, páginas: 639-645.

Sumario de la invención

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, se proporciona un compuesto representado por la Fórmula la y/o Ib:



Fórmula Ia



Fórmula Ib

en donde:

- A es un alquilo que tiene al menos 4 átomos de carbono de longitud como se define en la reivindicación 1;
- B se selecciona entre hidroxilo y alcoxi;
- D, E y G cada uno de se selecciona independientemente entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi y alquilo, siempre que (i) no más de uno de D, E y G es el alquilo, (ii) no más de dos de D, E y G son el alcoxi, y (iii) si dos de D, E y G son el alcoxi, ninguno de D, E y G es el alquilo;
- R₁ se selecciona entre hidrógeno y alquilo; y
- cada uno de R₂-R₅ se selecciona independientemente entre hidrógeno, hidroxilo, halo, alcoxi, tioalcoxi, tiol, tioalcoxi y amina.

De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, B es alcoxi.

De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, E es alcoxi.

De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, D es alcoxi.

De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, G es alcoxi.

De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, D es alcoxi y D y E son los dos hidrógeno.

De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, E es alcoxi y D y G son los dos hidrógeno.

- 5 De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, G es alcoxi y D y E son los dos hidrógeno.

De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, E y D son cada uno independientemente alcoxi y G es hidrógeno.

- 10 De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, G es hidrógeno.

De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, D es el alquilo.

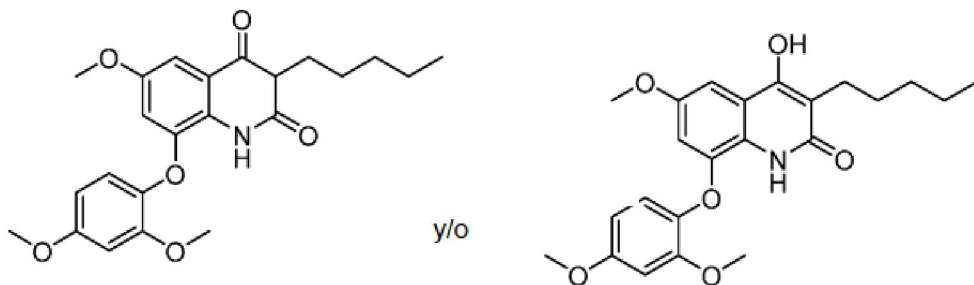
- 15 De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, G es hidrógeno.

De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, cuando uno de D, E y G es alquilo, el alquilo tiene al menos 4 átomos de carbono de longitud.

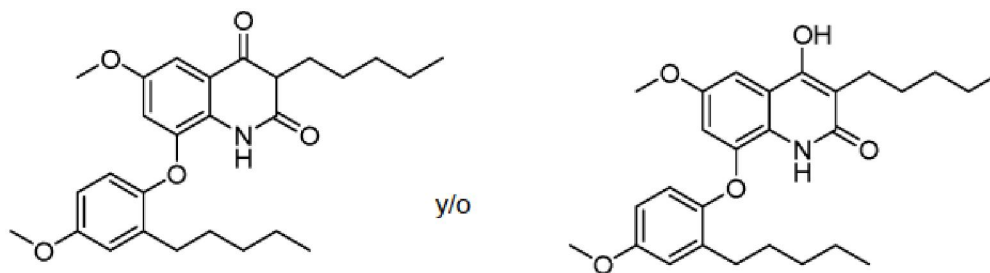
- 20 De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, R₁ es hidrógeno.

De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, cada uno de R₂-R₅ es hidrógeno.

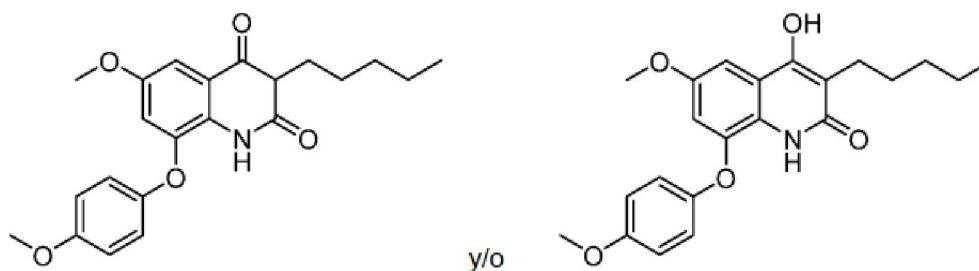
- 25 De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el compuesto es:



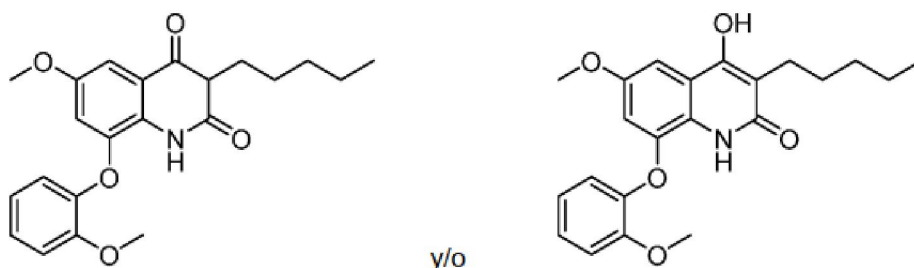
- 30 De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el compuesto es:



De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el compuesto es:



- 35 De acuerdo con alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el compuesto es:



De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el compuesto es capaz de inducir la muerte de las células.

De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el compuesto es capaz de inducir la apoptosis en las células.

De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la apoptosis está asociada a la escisión de caspasa-3.

De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el compuesto es capaz de inducir la detención del crecimiento de células cancerosas en la fase G2M de las células cancerosas.

De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el compuesto es capaz de inhibir la migración celular inducida por quimiocinas.

De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el compuesto es capaz de inhibir una actividad de una quinasa.

De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la quinasa se selecciona del grupo que consiste en DYRK3, EPHA8, GRK4, GRK5, MAP4K1, MAP4K2, MAP4K4, MELK, PAK7, SGK2, SRC N1, ACVRL1, BMPR1A, CDC7/DBF4, CDK1/ciclina A2, CDK11, CDK8/ciclina C, CLK4, DAPK2, DURK2, ICK, MAPK10, MLCK, MYLK, NUA2, STK17A, STK17B, STK38, STK38L, TGFB2, TTK, DAPK1 y PI3K.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, un compuesto representado por la Fórmula la y/o Ib como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas y cualquier combinación de las mismas es para su uso en el tratamiento del cáncer en un sujeto que lo necesite.

De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el cáncer es una leucemia.

De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el cáncer se selecciona de una leucemia, un melanoma, un cáncer de pulmón, un linfoma, un mieloma, un cáncer de ovario, un cáncer de cerebro y cáncer de próstata.

De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el cáncer se caracteriza por la expresión de CXCR4.

De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, tratar el cáncer comprende además administrar al sujeto un agente anti-cáncer adicional.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, un compuesto representado por la Fórmula la y/o Ib como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas y cualquier combinación de las mismas es para su uso en la modulación de una actividad biológica de una quimiocina en un sujeto que lo necesite.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, un compuesto representado por la Fórmula la y/o Ib como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas y cualquier combinación de las mismas es para su uso en el tratamiento de una afección tratable modulando una actividad biológica de una quimiocina.

De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la quimiocina es MCP-1 y/o SDF-1.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, un compuesto representado por la Fórmula la y/o Ib como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas y

cualquier combinación de las mismas es para su uso en la inhibición de una quinasa y/o en el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociados a una actividad de una quinasa.

5 De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la quinasa se selecciona del grupo que consiste en DYRK3, EPHA8, GRK4, GRK5, MAP4K1, MAP4K2, MAP4K4, MELK, PAK7, SGK2, SRC N1, ACVRL1, BMPR1A, CDC7/DBF4, CDK1/ciclina A2, CDK11, CDK8/ciclina C, CLK4, DAPK2, DURK2, ICK, MAPK10, MLCK, MYLK, NUA2, STK17A, STK17B, STK38, STK38L, TGFBR2, TTK, DAPK1 y PI3K.

10 De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la quinasa se selecciona del grupo que consiste en MAP4K4, MELK y PI3K.

De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la enfermedad o trastorno es cáncer.

15 De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, un compuesto representado por la Fórmula la y/o Ib como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas y cualquier combinación de las mismas es para su uso en el tratamiento de inflamación.

20 De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, un compuesto representado por la Fórmula la y/o Ib como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas y cualquier combinación de las mismas es para su uso en el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa distinta de cáncer.

25 De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, un compuesto representado por la Fórmula la y/o Ib como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas y cualquier combinación de las mismas es para su uso en la inducción de muerte celular.

30 De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, un compuesto representado por la Fórmula la y/o Ib como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas y cualquier combinación de las mismas es para su uso en la inducción de apoptosis en las células.

De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la apoptosis está asociada a la escisión de caspasa-3.

35 De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, las células son células cancerosas.

40 De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, un compuesto representado por la Fórmula la y/o Ib como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas y cualquier combinación de las mismas es para su uso en la inducción de la detención del crecimiento de células cancerosas en la fase G2M de células cancerosas.

45 A menos que se definan de otra manera, todos los términos técnicos y/o científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente un experto en la materia a la que pertenece la invención. Aunque en la práctica o el ensayo de realizaciones de la invención pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento, a continuación se describen métodos y/o materiales ejemplares. En caso de conflicto, la memoria descriptiva de la patente, incluyendo las definiciones, prevalecerá. Además, los materiales, métodos y ejemplos son solo ilustrativos y no se pretende que sean necesariamente limitantes.

50 Breve descripción de las varias vistas de los dibujos

55 Algunas realizaciones de la invención se describen en el presente documento, a modo de ejemplo solamente, con referencia a los dibujos adjuntos. Con referencia específica ahora a los dibujos en detalle, se enfatiza que los particulares mostrados son a modo de ejemplo y con fines de análisis ilustrativo de realizaciones de la invención. En este sentido, la descripción tomada junto con los dibujos hace evidente para los expertos en la materia cómo pueden ponerse en práctica realizaciones de la invención.

En los dibujos:

60 La FIGURA 1 es un gráfico de barras que muestra el efecto del Compuesto BKT300 (al 78 % de pureza) (a concentraciones de 10 y 50 µg/ml) sobre la migración de células CD4+ hacia MIP3a (* indica p < 0,05 frente a concentración cero).

65 Las FIGURAS 2A-C son gráficos de barras que muestran el efecto de 10 y 50 µg/ml de BKT300 (al 78 % de pureza) (FIGURA 2A); de 1 y 10 µg/ml de Compuesto BKT300 (al 98 % de pureza) (FIGURA 2B); y de 1 y 10 µg/ml de Compuesto BKT400 (FIGURA 2C) en la migración de células Jurkat hacia SDF-1 (* indica p < 0,05 frente a

concentración cero).

La FIGURA 3 es un gráfico de barras que muestra el efecto de 10 y 50 µg/ml del Compuesto BKT300 (al 78 % de pureza) sobre la migración de células THP-1 hacia MCP-1 (* indica $p < 0,05$ frente a concentración cero).

Las FIGURAS 4A y 4B son gráficos de barras que muestran el efecto de 0, 2, 4, 6, 8 y 10 µg/ml de BKT300 (al 78 % de pureza) sobre la viabilidad de las células MV4-11, como se expresa por porcentaje de células muertas (FIGURA 4A) y el número de células viables (FIGURA 4B), como se determina por tinción con yoduro de propidio (* indica $p < 0,05$ frente a concentración cero).

Las FIGURAS 5A-5D son gráficos de barras que muestran el efecto de 0, 2, 125, 4,25 y 8,5 µg/ml de BKT300 (al 78 % de pureza (FIGURAS 5A y 5B) y con una pureza del 98 % (FIGURAS 5C y 5D) sobre la viabilidad de células MV4-11, como se expresa por el porcentaje de células muertas (FIGURAS 5A y 5C) y el número de células viables (FIGURAS 5B y 5D), como se determina por tinción con yoduro de propidio (* indica $p < 0,05$ frente a concentración cero).

Las FIGURAS 6A y 6B son gráficos de barras que muestran el efecto de 0, 2, 4, 6, 8 y 10 µg/ml de BKT300 (al 78 % de pureza) sobre la viabilidad de las células RPMI, como se expresa por porcentaje de células muertas (FIGURA 6A) y el número de células viables (FIGURA 6B), como se determina por tinción con yoduro de propidio (* indica $p < 0,05$ frente a concentración cero).

Las FIGURAS 7A y 7B son gráficos de barras que muestran el efecto de 0, 2, 4, 6, 8 y 10 µg/ml de BKT300 (al 78 % de pureza) sobre la viabilidad de las células Jurkat, como se expresa por porcentaje de células muertas (FIGURA 7A) y el número de células viables (FIGURA 7B), como se determina por tinción con yoduro de propidio (* indica $p < 0,05$ frente a concentración cero).

Las FIGURAS 8A y 8B son gráficos de barras que muestran el efecto de 0, 2, 125, 4,25 y 8,5 µg/ml de BKT300 (al 78 % de pureza) sobre la viabilidad de las células Raji, como se expresa por porcentaje de células muertas (FIGURA 8A) y el número de células viables (FIGURA 8B), como se determina por tinción con yoduro de propidio (* indica $p < 0,05$ frente a concentración cero).

Las FIGURAS 9A y 9B son gráficos de barras que muestran el efecto de 0, 2, 125, 4,25 y 8,5 µg/ml de BKT300 (al 78 % de pureza) sobre la viabilidad de las células Bjab, como se expresa por porcentaje de células muertas (FIGURA 9A) y el número de células viables (FIGURA 9B), como se determina por tinción con yoduro de propidio (* indica $p < 0,05$ frente a concentración cero).

Las FIGURAS 10A y 10B son gráficos de barras que muestran el efecto de 0, 0,1, 1 y 10 µg/ml de BKT300 (al 78 % de pureza) sobre la viabilidad de las células H-460, como se expresa por porcentaje de células muertas (FIGURA 10A) y el número de células viables (FIGURA 10B), como se determina por tinción con yoduro de propidio (* indica $p < 0,05$ frente a concentración cero).

Las FIGURAS 11A y 11B son gráficos de barras que muestran el efecto de 0, 2, 125, 4,25 y 8,5 µg/ml de BKT300 (al 78 % de pureza) sobre la viabilidad de las células H345, como se expresa por porcentaje de células muertas (FIGURA 11A) y el número de células viables (FIGURA 11B), como se determina por tinción con yoduro de propidio (* indica $p < 0,05$ frente a concentración cero).

Las FIGURAS 12A-C presentan gráficos de barras que muestran el efecto de la administración intraperitoneal de BKT300 (al 98 % de pureza) sobre el porcentaje de células CD45 positivas en la médula ósea de ratones inyectados con 10×10^6 células cancerosas MV4-11 21 días antes de la administración de BKT300 (FIGURA 12A) y datos del análisis FACS que muestran células cancerosas MV4-11 humanas en la médula ósea de ratón sin tratar (FIGURA 12B) y tratado con BKT300 (FIGURA 12C) 21 días después del trasplante de 10×10^6 células cancerosas MV4-11.

La FIGURA 13 presenta un esquema que muestra los principios de un ensayo FRET para determinar la unión de un compuesto (inhibidor) a un sitio activo de quinasas, en donde la transferencia de energía resonante de energía de un anticuerpo marcado con europio (Eu) que se une a la quinasa a un trazador marcado con Alexa Fluor® que se une al sitio activo está impedida por un compuesto (inhibidor) que se une al sitio activo.

La FIGURA 14 presenta una ilustración del alineamiento de los sitios activos de MELK y MAPK4K; MELK se muestra en azul (PDB 4BKY); MAPK4K se muestra en verde (PDB 4OBQ); la molécula pequeña es un inhibidor de MAPK4K (PDB 4OBQ).

La FIGURA 15 es una ilustración de BKT300 acoplado en el bolsillo de unión de ATP de MELK.

La FIGURA 16 es una ilustración que muestra BKT300 (en rosa) superpuesto a un inhibidor de molécula pequeña representativo de MAPK4K (PDB 4OBQ; en verde) y un inhibidor de molécula pequeña representativo de MELK (PDB 4BKY; en azul); los átomos de los inhibidores conocidos que están cerca de las colas alifáticas de BKT300 están marcados como bolas.

La FIGURA 17 presenta esquemas que representan una síntesis de BKT300-3-c5, de acuerdo con algunas realizaciones de la presente invención.

La FIGURA 18 presenta esquemas que representan una síntesis de BKT300-11-a5, de acuerdo con algunas realizaciones de la presente invención.

Las FIGURAS 19A-B son gráficos de barras que muestran el efecto de 1, 5, 10 y 50 µM de BKT300-3-c5 (FIGURA 19A) y de 1, 5, 10 y 50 µM de Compuesto BKT300-11-a5 (FIGURA 19B), sobre la migración de células Jurkat hacia SDF-1.

Las FIGURAS 20A-B son gráficos de barras comparativos que muestran el efecto de 1,5, 10 y 20 µM de Compuesto BKT300-3-c5 y de IPI-145 sobre la migración de células Jurkat hacia SDF-1 (FIGURA 20A) y de 0,1, 0,5, 1 y 10 µM de Compuesto BKT300-3-c5 y de IPI-145 en la migración de células THP-1 hacia MCP-1 (FIGURA 20B).

Las FIGURAS 21A-B presentan un gráfico de barras (FIGURA 21A) que muestra el efecto de 0,1, 0,5, 1, 5, 10 y 20 µM de Compuesto BKT300-3-c5 y de IPI-145 sobre la viabilidad de las células MV4-11, expresado por el número

de células viables, como se determina por tinción con yoduro de propidio (FIGURA 21A) y un gráfico que muestra el porcentaje de células MV4-11 viables después de una incubación de 24 horas con 0,1, 0,5, 1,5, 10 y 20 μM de Compuesto BKT300-3-c5, como se determina mediante tinción con yoduro de propidio (FIGURA 21B).

Las FIGURAS 22A-B son gráficos de barras que muestran el efecto de 1, 5, 10 y 20 μM de Compuesto BKT300-3-c5 y de IPI-145 sobre la viabilidad de las células U937, como se expresa por el porcentaje de células muertas (FIGURA 22A) y el número de células viables (FIGURA 22B), como se determina por tinción con yoduro de propidio.

Las FIGURAS 23A-B son gráficos de barras que muestran el efecto de 1, 5, 10 y 20 μM de Compuesto BKT300-3-c5 y de IPI-145 sobre la viabilidad de las células REH, como se expresa por el porcentaje de células muertas (FIGURA 23A) y el número de células viables (FIGURA 23B), como se determina por tinción con yoduro de propidio.

Las FIGURAS 24A-B son gráficos de barras que muestran el efecto de 1, 5, 10 y 20 μM de Compuesto BKT300-3-c5 y de IPI-145 sobre la viabilidad de las células THP-1, como se expresa por el porcentaje de células muertas (FIGURA 24A) y el número de células viables (FIGURA 24B), como se determina por tinción con yoduro de propidio.

Las FIGURAS 25A-B son gráficos de barras que muestran el efecto de 1, 5, 10 y 20 μM de Compuesto BKT300-3-c5 y de IPI-145 sobre la viabilidad de las células NB4, como se expresa por el porcentaje de células muertas (FIGURA 25A) y el número de células viables (FIGURA 25B), como se determina por tinción con yoduro de propidio.

La FIGURA 26 es un gráfico de barras que muestra el efecto de 1, 5, 10 y 20 μM de Compuesto BKT300-3-c5 y de IPI-145 sobre la viabilidad de las células PC-3, expresado por el número de células viables, como se determina por tinción con yoduro de propidio.

La FIGURA 27 es un gráfico de barras que muestra el efecto de 1, 5, 10 y 20 μM de Compuesto BKT300-3-c5 y de IPI-145 sobre la viabilidad de las células B16-F10, expresado por el número de células viables, como se determina por tinción con yoduro de propidio. Las FIGURAS 28A-B son gráficos de barras que muestran el efecto de 0, 1,328, 6,64, 13,28 y 26,56 μM de Compuesto BKT300-11-a5 sobre la viabilidad de las células MV4-11, como se expresa por el porcentaje de células muertas (FIGURA 28A) y el número de células viables (FIGURA 28B), como se determina por tinción con yoduro de propidio.

La FIGURA 29 presenta los datos obtenidos tras la tinción 7-ADD de diversas líneas celulares después de una incubación de 24 horas con BKT300-3-c5 (1 μM). El gráfico superior derecho muestra datos comparativos para células incubadas con IPI-145 (1 μM).

La FIGURA 30 presenta los datos obtenidos tras 24 horas de incubación de células MV4-11 con y sin BKT300-3-c5 (1 μM), tras la tinción con PI y Anexina V.

Las FIGURAS 31A-C presentan una transferencia Western que muestra el efecto de la incubación de 24 horas de BKT300-3-c5 (1 μM) sobre la presencia de caspasa-3 escindida en células U937, MV4-11 y NB4 (FIGURA 31A) y gráficos de barras que muestran el efecto de la incubación de 24 horas de BKT300-3-c5 (1 μM) sobre la presencia de caspasa-3 escindida en células U937 (FIGURA 31B) y células MV4-11 (FIGURA 31C), como se determina mediante ensayo ELISA y se expresa mediante Densidad Óptica (DO).

Las FIGURAS 32A-C presentan los datos obtenidos tras la incubación de células U937 con Compuesto B1, a una concentración de 0, 0,1, 1 y 10 μM , durante 24 horas, tras la tinción con 7-ADD de las células (FIGURA 32A) y tras la tinción de las células con PI y Anexina V (FIGURA 32B, que muestra el número de células viables; y FIGURA 32C que muestra el número de células apoptóticas).

Las FIGURAS 33A-C presentan los datos obtenidos tras la incubación de células U937 con Compuesto D1, a una concentración de 0, 0,1, 1 y 10 μM , durante 24 horas, tras la tinción con 7-ADD de las células (FIGURA 33A) y tras la tinción de las células con PI y Anexina V (FIGURA 33B, que muestra el número de células viables; y FIGURA 33C que muestra el número de células apoptóticas).

Las FIGURAS 34A-C presentan los datos obtenidos tras la incubación de células U937 con Compuesto BKT300-3-c5, a una concentración de 0, 0,1, 1 y 10 μM , durante 24 horas, tras la tinción con 7-ADD de las células (FIGURA 34A) y tras la tinción de las células con PI y Anexina V (FIGURA 34B, que muestra el número de células viables; y FIGURA 34C que muestra el número de células apoptóticas).

Las FIGURAS 35A-C presentan los datos obtenidos tras la incubación de células U937 con Compuesto A1, a una concentración de 0, 0,1, 1 y 10 μM , durante 24 horas, tras la tinción con 7-ADD de las células (FIGURA 35A) y tras la tinción de las células con PI y Anexina V (FIGURA 35B, que muestra el número de células viables; y FIGURA 35C que muestra el número de células apoptóticas).

Las FIGURAS 36A-C presentan los datos obtenidos tras la incubación de células U937 con Compuesto A3, a una concentración de 0, 0,1, 1 y 10 μM , durante 24 horas, tras la tinción con 7-ADD de las células (FIGURA 36A) y tras la tinción de las células con PI y Anexina V (FIGURA 36B, que muestra el número de células viables; y FIGURA 36C que muestra el número de células apoptóticas).

Las FIGURAS 37A-C presentan los datos obtenidos tras la incubación de células U937 con DMSO, a una concentración de 0, 0,1, 1 y 10 μM , durante 24 horas, tras la tinción con 7-ADD de las células (FIGURA 37A) y tras la tinción de las células con PI y Anexina V (FIGURA 37B, que muestra el número de células viables; y FIGURA 37C que muestra el número de células apoptóticas).

Descripción de realizaciones específicas de la invención

La presente invención, en algunas realizaciones de la misma, se refiere a la terapia y más particularmente, pero no exclusivamente, a compuestos que son útiles en la modulación de la actividad biológica de una quimiocina, en la muerte de células cancerosas, en la inhibición de una quinasas, en la inhibición de la migración celular dependiente de quimiocinas y/o en el tratamiento de enfermedades y trastornos asociados a actividades biológicas de quimiocinas y/o migración celular y/o actividad quinasas, tales como cáncer y enfermedades y trastornos inflamatorios.

Antes de explicar al menos una realización de la invención en detalle, debe entenderse que la invención no está limitada necesariamente en su aplicación a los detalles expuestos en la siguiente descripción o ejemplificada por los Ejemplos. La invención es susceptible de otras realizaciones o de ponerse en práctica o de llevarse a cabo de diversas maneras.

En una búsqueda de compuestos adecuados para modular la actividad de las quimiocinas y tratar afecciones asociadas a la actividad biológica de las quimiocinas, los presentes inventores han examinado una biblioteca de aproximadamente 3.500 compuestos naturales para la actividad de unión de quimiocinas y después examinaron además las moléculas de unión de quimiocinas para una capacidad de modular el efecto de las quimiocinas individuales en las células, así como para una capacidad de afectar las células cancerosas (por ejemplo, mediante la muerte de células cancerosas, la inhibición del crecimiento de células cancerosas y/o la inhibición de la migración de células cancerosas dependiente de quimiocinas) y/o la muerte de células patógenas tales como células cancerosas.

Usando este laborioso proceso de detección, los presentes inventores han identificado el compuesto al que se hace referencia en el presente documento como BKT300 (véase la sección de Ejemplos que sigue) como un modulador prometedor de la actividad de las quimiocinas, un inhibidor selectivo de la actividad de SDF-1/CXCR4 y/o como un potenciador de la muerte de células cancerosas. Se hace referencia a las FIGURAS 1, 2A, 2B y 3, que muestran inhibición de la migración celular hacia la quimiocina MIP3a, SDF-1, o hacia la quimiocina MCP-1, por BKT300; y a las FIGURAS 4A-12C que demuestran que la molécula pequeña BKT300 induce la muerte celular en las células cancerosas y reduce el número de células cancerosas en un modelo de ratón *in vivo*.

La molécula pequeña BKT300 también se examinó por su efecto en una lista seleccionada de quinasas humanas y se demostró que inhibe la actividad de ciertas quinasas (véase, Tabla 2, Ejemplo 4, en la sección de Ejemplos que sigue).

Animados por la pronunciada actividad de BKT300, los presentes inventores han estudiado las interacciones de BKT300 con el sitio de unión de las quinasas, usando modelado computacional (véanse, por ejemplo, las FIGURAS 14-16) y basándose en los datos recuperados en este estudio computacional, han diseñado pequeñas moléculas que son análogos estructurales de BKT300, que mantienen al menos algunas de las características estructurales de BKT300 que se consideraron atribuibles a su actividad (véanse, para ejemplos no limitantes, las FIGURAS 17 y 18).

Los presentes inventores han demostrado que tales análogos estructurales ejemplares de BKT300 actúan modulando una actividad biológica de quimiocinas y como agentes anticancerígenos induciendo la muerte de las células cancerosas y/o efectuando la cancelación de la migración celular. Se hace referencia, por ejemplo, a las FIGURAS 19A-37C.

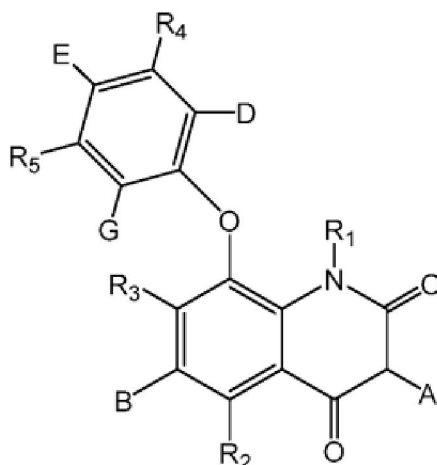
Los análogos estructurales descritos en el presente documento son útiles para modular la actividad biológica de las quimiocinas y, en consecuencia, para tratar enfermedades o trastornos asociados a la actividad biológica de una quimiocina. Los análogos estructurales descritos en el presente documento son particularmente útiles como agentes anticancerígenos, induciendo la muerte de las células cancerosas y/o efectuando la migración de las células cancerosas (inhibiendo la angiogénesis y/o metástasis), como se describe con más detalle a continuación. Los análogos estructurales descritos en el presente documento son además útiles para inhibir la actividad de una quinasa, por ejemplo, MELK, MAPK4K e IP3K y en el tratamiento de enfermedades o trastornos en los que la inhibición de una quinasa es beneficiosa, tales como cáncer e inflamación.

El efecto general de los compuestos de algunas realizaciones de la invención se muestra en diversos fenotipos biológicos que incluyen la migración celular inducida por quimiocinas y la apoptosis. Estos descubrimientos ubican a los compuestos descritos en este documento como productos farmacéuticos, que pueden usarse en el tratamiento de diversas afecciones médicas incluyendo inflamación (por ejemplo, enfermedades autoinmunitarias), cáncer y enfermedades hiperproliferativas no cancerosas.

Las realizaciones de la presente invención se refieren generalmente a moléculas pequeñas nuevamente diseñadas y a usos de las mismas.

Compuestos (pequeñas moléculas):

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, se proporcionan moléculas pequeñas (compuestos) de nuevo diseño que se pueden representar colectivamente mediante la Fórmula la:

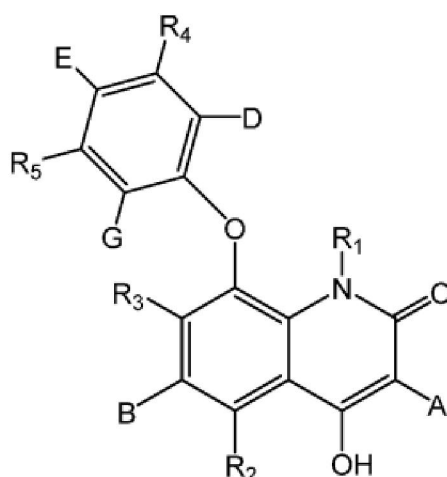


Fórmula Ia

en donde:

- 5 A es un alquilo que tiene al menos 4 átomos de carbono de longitud;
 B se selecciona entre hidroxilo, alcoxi y ariloxi o entre hidroxilo y alcoxi;
 D, E y G cada uno de se selecciona independientemente entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi, ariloxi y alquilo;
 R₁ se selecciona entre hidrógeno, alquilo y cicloalquilo o entre hidrógeno y alquilo; y
 10 cada uno de R₂-R₅ se selecciona independientemente entre hidrógeno, hidroxilo, halo, alcoxi, tioalcoxi, tiol, tioalcoxi, amina, y opcionalmente alquino, ariloxi, tioariloxi, carboxilato, carbonilo, sulfonilo, sulfonato, sulfinilo, ciano, nitro y otros sustituyentes, como se describe en el presente documento.

El compuesto de Fórmula Ia presenta un grupo cetona (carbonilo), y puede sufrir una tautomerización ceto-enol en la forma "enol", y por lo tanto representarse alternativamente por la Fórmula Ib:



Fórmula Ib.

La tautomerización ceto-enol se conoce en la técnica por describir el equilibrio rápido entre un grupo carbonilo (C=O) y su tautómero enólico.

En la mayoría de los casos, la tautomerización de ceto-enol es impulsada termodinámicamente y, a temperatura ambiente, el equilibrio típicamente favorece la formación de la forma ceto. Sin embargo, las condiciones ambientales como, por ejemplo, el pH o la fuerza iónica de una solución, la concentración del compuesto, la temperatura, la presencia de un agente que estabiliza la forma enólica, pueden desplazar el equilibrio hacia la forma enólica que está igualmente presente o predominante.

En algunas realizaciones, y dependiendo de las condiciones ambientales, los compuestos de acuerdo con las presentes realizaciones pueden estar en forma de ceto tautómero (Fórmula Ia), o en forma de enol (Fórmula Ib), o pueden estar equilibrando entre las formas ceto y enol, y por tanto toman ambas formas de Fórmula Ia y Ib.

5 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, al menos uno de B, D, E y G es alcoxi o ariloxi, preferentemente alcoxi, y en algunas realizaciones, al menos dos de B, D, E y G son alcoxi y/o ariloxi, preferentemente cada uno es alcoxi.

10 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el alcoxi es de 1-6 átomos de carbono, preferentemente 1-4 átomos de carbono. Los ejemplos incluyen, sin limitación, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi e isobutoxi.

En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el alcoxi es metoxi.

15 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, B es alcoxi (por ejemplo, metoxi).

En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, no más de uno de D, E y G es un alquilo.

20 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, no más de dos de D, E y G son alcoxi o ariloxi.

En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, cuando dos de D, E y G son alcoxi y/o ariloxi, ninguno de D, E y G es un alquilo.

25 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, uno de D, E y G es hidrógeno y los otros dos son alcoxi, ariloxi y/o alquilo, preferentemente alcoxi y/o alquilo.

30 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, D es hidrógeno, E es alcoxi y G es alquilo.

En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, D es hidrógeno, y E y G son cada uno independientemente un alcoxi, por ejemplo, E y G son cada uno metoxi.

35 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, D y E son cada uno independientemente un alcoxi, por ejemplo, D y E son cada uno metoxi y G es hidrógeno.

En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, D y G son cada uno independientemente un alcoxi, por ejemplo, D y G son cada uno metoxi y E es hidrógeno.

40 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, D es hidrógeno, E es alquilo y G es alcoxi, por ejemplo, metoxi.

45 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, E es hidrógeno, D es alquilo y G es alcoxi, por ejemplo, metoxi.

En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, G es hidrógeno, E es alquilo y D es alcoxi, por ejemplo, metoxi.

50 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, D es hidrógeno, G es alquilo y E es alcoxi, por ejemplo, metoxi.

En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, E es hidrógeno, G es alquilo y D es alcoxi, por ejemplo, metoxi.

55 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, G es hidrógeno, D es alquilo y E es alcoxi, por ejemplo, metoxi.

En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, E es alcoxi (por ejemplo, metoxi).

60 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, cada uno de B y E es alcoxi (por ejemplo, metoxi).

En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, D es alcoxi (por ejemplo, metoxi).

65 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, G es hidrógeno.

En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, E es alcoxi (por ejemplo, metoxi), D es alcoxi (por ejemplo, metoxi) y G es hidrógeno. En algunas de estas realizaciones, B es alcoxi (por ejemplo, metoxi).

5 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, E es alcoxi (por ejemplo, metoxi), G es alcoxi (por ejemplo, metoxi) y D es hidrógeno. En algunas de estas realizaciones, B es alcoxi (por ejemplo, metoxi).

En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, E es alcoxi (por ejemplo, metoxi) y D y G son los dos hidrógeno. En algunas de estas realizaciones, B es alcoxi (por ejemplo, metoxi).

10 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, D es alcoxi (por ejemplo, metoxi) y E y G son los dos hidrógeno. En algunas de estas realizaciones, B es alcoxi (por ejemplo, metoxi).

15 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, G es alcoxi (por ejemplo, metoxi) y D y E son los dos hidrógeno. En algunas de estas realizaciones, B es alcoxi (por ejemplo, metoxi).

En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, D es dicho alquilo.

20 En algunas de estas realizaciones, uno de G y E es hidrógeno. En algunas de estas realizaciones, G es hidrógeno y E es alcoxi.

En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, E es alcoxi (por ejemplo, metoxi), D es alquilo y G es hidrógeno. En algunas de estas realizaciones, B es alcoxi (por ejemplo, metoxi).

25 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, siempre que uno de D, E y G sea alquilo, el alquilo tiene al menos 4 átomos de carbono de longitud.

30 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, un alquilo que tiene al menos 4 átomos de carbono de longitud puede ser, por ejemplo, de 4 a 20, o de 4 a 10, o de 4 a 8 átomos de carbono de longitud. De acuerdo con la invención, los alquilos que tienen al menos 4 átomos de carbono de longitud incluyen butilo sustituido o sin sustituir, pentilo sustituido o sin sustituir, hexilo sustituido o sin sustituir, heptilo sustituido o sin sustituir, octilo sustituido o sin sustituir, nonilo sustituido o sin sustituir, decilo sustituido o sin sustituir, undecilo sustituido o sin sustituir, docecil sustituido o sin sustituir y así sucesivamente.

35 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el alquilo que tiene 4 átomos de carbono de longitud es un alquilo sin sustituir. En algunas realizaciones, es hexilo y, en algunas realizaciones, un hexilo sin sustituir.

40 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, A es un alquilo que tiene al menos 4 átomos de carbono de longitud y opcionalmente uno de D, E y G es un alquilo que tiene al menos 4 átomos de carbono de longitud.

45 Cuando tanto A como uno de D, E y G son un alquilo de 4 átomos de carbono de longitud, estos alquilos pueden ser iguales o diferentes.

En algunas de estas realizaciones, tanto A como uno de D, E y G son un alquilo sin sustituir y, en algunas realizaciones, ambos son hexilo sin sustituir.

50 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, R₁ es hidrógeno.

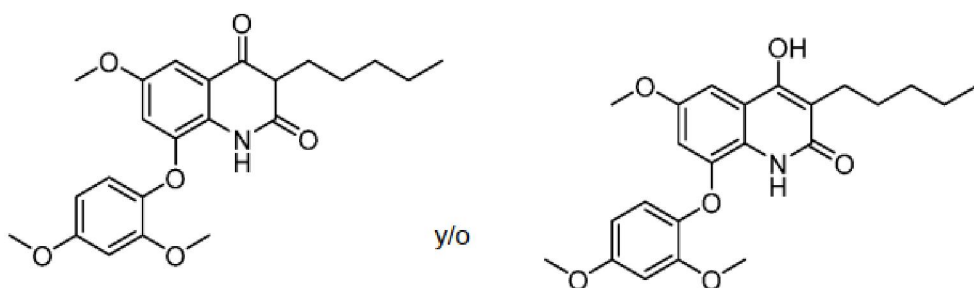
En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, cada uno de R₂-R₅ se selecciona independientemente entre hidrógeno, hidroxilo, halo, alcoxi, tioalcoxi, tiol, tioalcoxi y amina.

55 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, cada uno de R₂-R₅ es hidrógeno.

En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, cada uno de R₁-R₅ es hidrógeno.

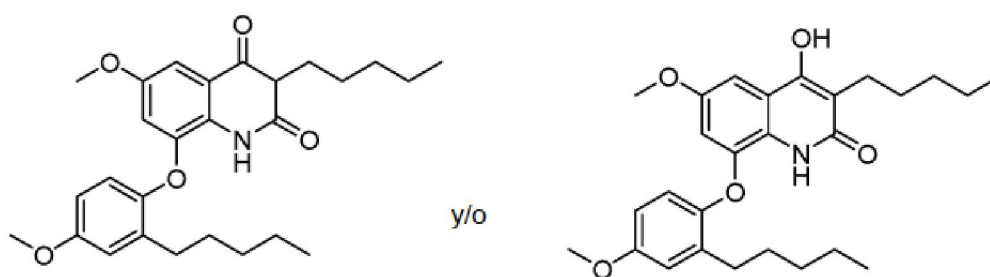
60 Como alternativa, uno o más de R₁-R₅ es distinto de hidrógeno y la naturaleza de los respectivos sustituyente o sustituyentes, es tal que no interfiere con las interacciones de la molécula pequeña con sus dianas biológicas (por ejemplo, unión de quimiocinas y/o inhibición de la quinasa).

En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, un compuesto como se describe en el presente documento tiene la siguiente estructura química, representada por sus tautómeros ceto y enol:



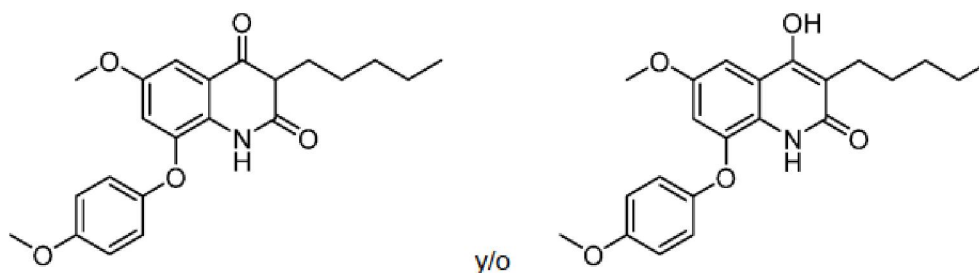
Este compuesto se designa en el presente documento como BKT300-3-c5.

- 5 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, un compuesto como se describe en el presente documento tiene la siguiente estructura química, representada por sus tautómeros ceto y enol:

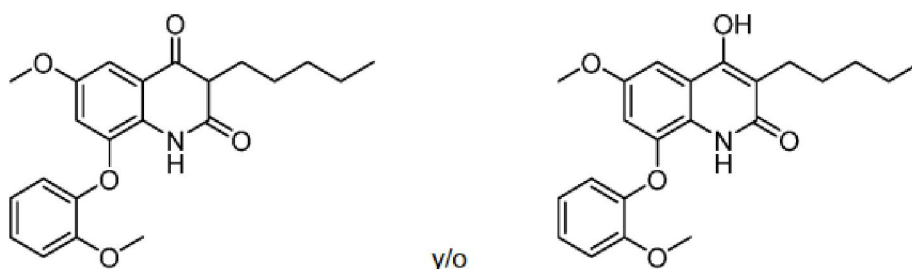


- 10 Este compuesto se designa en el presente documento como BKT300-11-a5.

En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, un compuesto como se describe en el presente documento tiene la siguiente estructura química, representada por sus tautómeros ceto y enol:



- 15 Este compuesto se designa en el presente documento B1.
- 20 En alguna cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, un compuesto como se describe en el presente documento tiene la siguiente estructura química, representada por sus tautómeros ceto y enol:



Este compuesto se designa en el presente documento D1.

Aplicaciones terapéuticas:

Los compuestos como se describen en el presente documento, en una cualquiera de las realizaciones respectivas, y cualquier combinación de las mismas, pueden considerarse análogos estructurales de BKT300, que se muestran en el presente documento para actuar como un compuesto de unión a quimiocinas, modulando la actividad biológica de

las quimiocinas, como un inhibidor de la migración celular dependiente de quimiocinas, como un inhibidor de células cancerosas (por ejemplo, como inhibidor del crecimiento de células cancerosas y/o como inductor de apoptosis y/o como inhibidor de la migración de células cancerosas) y/o como inhibidor de quinasas.

Cada uno de los compuestos descritos en el presente documento es por lo tanto capaz de, o es útil en, inhibir una actividad biológica de una quinasa y/o inhibir las células cancerosas y/o matar las células cancerosas y/o inducir la apoptosis y/o inducir la detención del crecimiento y/o inhibir la migración celular dependiente de quimiocinas y/o modular una actividad biológica de una quimiocina, por ejemplo, migración celular y/o tratamiento de enfermedades y trastornos asociados a la actividad quinasa y/o migración celular, tales como cáncer y enfermedades y trastornos inflamatorios; y/o tratamiento de enfermedades o trastornos proliferativos (donde es deseable la inducción de apoptosis y/o detención del crecimiento).

Como la inflamación y el cáncer generalmente se rigen por la migración celular (por ejemplo, infiltración, metástasis) y la actividad quinasa, que a menudo se asocia a la proliferación celular, tales afecciones se contemplan para el tratamiento usando los compuestos de algunas realizaciones de la invención.

Las enfermedades y los trastornos proliferativos como se describe en el presente documento, incluyendo afecciones médicas distintas del cáncer (también denominadas en el presente documento "enfermedades hiperproliferativas no cancerosas"), también se contemplan para el tratamiento usando los compuestos de algunas realizaciones de la invención, debido al efecto inductor de apoptosis de los compuestos.

Sin desear quedar ligados a teoría alguna particular, se cree que los compuestos descritos en el presente documento son particularmente útiles como agentes anticancerígenos al inducir la muerte de las células cancerosas, afectando a la migración de células cancerosas dependientes de quimiocinas (por ejemplo, inhibiendo metástasis) y/o angiogénesis y/o inhibiendo la actividad quinasa (por ejemplo, actividad quinasa pro-proliferación) y/o induciendo apoptosis de células cancerosas y/o induciendo detención del crecimiento de células cancerosas; y/o como agentes antiinflamatorios al afectar la migración de células inmunes dependientes de quimiocinas (por ejemplo, infiltración de células inmunes) y/o inhibiendo la actividad quinasa (por ejemplo, actividad quinasa proinflamatoria), como se describe con más detalle a continuación.

En alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, un compuesto de molécula pequeña de Fórmula la y/o Ib, como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas, es capaz de, o es usable en, inducir la muerte de células patógenas (por ejemplo, células cancerosas o células inmunitarias o células hiperproliferativas).

En alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, un compuesto de molécula pequeña de Fórmula la y/o Ib, como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas, es capaz de, o es usable en, inducir la muerte celular de células patógenas.

Como se usa en el presente documento, el término "apoptosis" se refiere a un programa de autodestrucción o suicidio celular intrínseco. En respuesta a un estímulo desencadenante, las células experimentan una cascada de eventos que incluyen la contracción celular, la formación de ampollas de membranas celulares y condensación y fragmentación cromática. Estos eventos culminan en la conversión celular en grupos de partículas unidas a la membrana (cuerpos apoptóticos), que a partir de entonces son engullidos por macrófagos.

Los métodos para controlar los cambios celulares inducidos por los compuestos se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, la prueba MTT, que se basa en la capacidad selectiva de las células vivas para reducir la sal amarilla MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazolil-2)-2,5-difeniltetrazolio) (Sigma, Aldrich St Louis, MO, EE. UU.) a un precipitado de formazán insoluble de color azul púrpura; el ensayo BrDu [Cell Proliferation ELISA BrdU colorimetric kit (Roche, Mannheim, Alemania); el ensayo TUNEL [Roche, Mannheim, Alemania]; el ensayo de Anexina V [ApoAlert® Annexin V Apoptosis Kit (Clontech Laboratories, Inc., CA, EE. UU.)]; el ensayo de β -galactosidasa asociada a senescencia (Dimri GP, Lee X, *et al.* 1995. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin *in vivo*. Proc Natl Acad Sci EE. UU. 92:9363-9367); la tinción de viabilidad 7-ADD (disponible de MD systems), ensayo de caspasa-3 (disponible de MD systems) así como diversos métodos de detección de ARN y proteínas (que detectan el nivel de expresión y/o actividad) que se describen además anteriormente en el presente documento.

En alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, un compuesto de molécula pequeña de Fórmula la y/o Ib, como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas, el cambio celular es la apoptosis tal como a través de la escisión de la caspasa-3.

En alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, un compuesto de molécula pequeña de Fórmula la y/o Ib, como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas, es capaz de, o es usable en, inducir apoptosis a través de la escisión de caspasa-3.

En alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, un compuesto de molécula pequeña de Fórmula la y/o Ib, como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas, es

capaz de, o es usable en, inducir la detención del crecimiento de las células y, en algunas realizaciones, la detención es en la fase G2M del ciclo celular. En algunas de estas realizaciones, las células son células cancerosas.

Modulación de quimiocinas:

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, un compuesto de molécula pequeña de Fórmula la y/o Ib, como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas y cualquier combinación de las mismas, es capaz de, o es usable, en la modulación de la actividad biológica de una quimiocina, como se describe en el presente documento.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones que no son parte de la presente invención, se proporciona un método para modular la actividad biológica de una quimiocina, comprendiendo el método poner en contacto la quimiocina con un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en la fabricación de un medicamento para modular la actividad biológica de una quimiocina.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en la modulación de la actividad biológica de una quimiocina.

En algunas realizaciones, el uso para modular la actividad de una quimiocina se efectúa *in vivo*, por ejemplo, administrando una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto a un sujeto que lo necesite.

En algunas realizaciones, se efectúa el uso para modular la actividad de una quimiocina *ex vivo* (por ejemplo, *in vitro*), por ejemplo, en investigación.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso o medicamento para modular la actividad biológica de una quimiocina, el uso o medicamento es para tratar una enfermedad o trastorno asociado a una actividad biológica de una quimiocina en un sujeto que lo necesita, por ejemplo, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

En alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, modular una actividad biológica de una quimiocina incluye inhibir una actividad biológica de una quimiocina. Esto puede evidenciarse por la capacidad de una molécula pequeña como se describe en el presente documento para inhibir la migración celular inducida por quimiocinas como se ejemplifica en el presente documento en una pluralidad de tipos celulares de diferentes tipos.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso o medicamento para modular la actividad biológica de una quimiocina, el uso o medicamento es para tratar una enfermedad o trastorno en el que es beneficioso modular (por ejemplo, inhibir) una actividad biológica de una quimiocina, en un sujeto que lo necesita, por ejemplo, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso o medicamento para modular la actividad biológica de una quimiocina, el uso o medicamento es para tratar una enfermedad o trastorno tratable modulando (por ejemplo, inhibiendo) una actividad biológica de una quimiocina, en un sujeto que lo necesita, por ejemplo, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso o medicamento para modular la actividad biológica de una quimiocina, el compuesto descrito en el presente documento (de acuerdo con cualquiera de las realizaciones respectivas) es eficaz en la modulación de la migración celular dependiente de quimiocinas. En algunas de estas realizaciones, la migración celular dependiente de quimiocinas está asociada a cáncer y/o inflamación, como se describe en el presente documento.

En alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la quimiocina es MIP3a.

Los ejemplos de enfermedades y trastornos asociados a una actividad de MIP3a (por ejemplo, en los que la inhibición de la actividad de MIP3a es beneficiosa) incluyen, sin limitación, enfermedades y trastornos autoinmunitarios tales como psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), artritis reumatoide, esclerosis múltiple (MS), dermatitis atópica, enfermedad del ojo seco y degeneración macular relacionada con la edad (AMD).

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento relacionadas con el

tratamiento de una enfermedad o trastorno, la enfermedad o trastorno no es una infección bacteriana.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso para modular una actividad biológica de una quimiocina, la quimiocina es MCP-1 y/o SDF-1. En algunas de tales realizaciones, la quimiocina es MCP-1. En algunas de tales realizaciones, la quimiocina es SDF-1.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con la modulación de una actividad de quimiocina, el compuesto y/o medicamento (de acuerdo con cualquiera de las realizaciones respectivas descritas en el presente documento) es para inhibir una actividad biológica de una quimiocina. En algunas de tales realizaciones, la quimiocina es MCP-1 y/o SDF-1. En algunas de tales realizaciones, la quimiocina es MCP-1. En algunas de tales realizaciones, la quimiocina es SDF-1.

Inhibición de MCP-1:

De acuerdo con algunas realizaciones, un compuesto de molécula pequeña de Fórmula la y/o Ib, como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas y cualquier combinación de las mismas, es capaz de, o es usable, en la modulación de la actividad biológica de MCP-1, como se describe en el presente documento.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones que no son parte de la presente invención, se proporciona un método para inhibir una actividad biológica de MCP-1, comprendiendo el método poner en contacto el MCP-1 con un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento descritas en el presente documento.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, se proporciona un uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en la fabricación de un medicamento para inhibir una actividad biológica de MCP-1.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, se proporciona un uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en la modulación de una actividad biológica de MCP-1.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones en relación con un uso para inhibir una actividad biológica de MCP-1, el uso se efectúa *in vivo*, por ejemplo, administrando una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto a un sujeto que lo necesite.

En algunas realizaciones, el uso para inhibir una actividad biológica de MCP-1 se efectúa *ex vivo* (por ejemplo, *in vitro*), por ejemplo, en investigación.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso o medicamento para inhibir una actividad biológica de MCP-1, el uso o medicamento es para tratar una enfermedad o trastorno asociado a una actividad biológica de MCP-1 en un sujeto que lo necesita, por ejemplo, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento descritas en el presente documento.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso o medicamento para inhibir una actividad biológica de MCP-1, el uso o medicamento es para tratar una enfermedad o trastorno en el que es beneficioso inhibir una actividad biológica de un MCP-1, en un sujeto que lo necesita, por ejemplo, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento descritas en el presente documento.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso o medicamento para inhibir una actividad biológica de MCP-1, el uso o medicamento es para tratar una enfermedad o trastorno tratable inhibiendo una actividad biológica de un MCP-1, en un sujeto que lo necesita, por ejemplo, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento descritas en el presente documento.

Los ejemplos de enfermedades y trastornos asociados a una actividad de MCP-1 (por ejemplo, en los que la inhibición de la actividad de MCP-1 es beneficiosa) incluyen, sin limitación, enfermedades y trastornos que se caracterizan por infiltrados monocíticos.

De acuerdo con algunas realizaciones, los ejemplos de enfermedades y trastornos asociados a una actividad de MCP-1 (por ejemplo, en los que la inhibición de la actividad de MCP-1 es beneficiosa) incluyen, sin limitación, tuberculosis; VIH-1; glomerulonefritis proliferativa; defectos del tubo neural; pielonefritis xantogranulomatosa; escleritis; glomerulonefritis de progresión rápida; neumoconiosis; encefalitis; peritonitis; aterosclerosis; psoriasis; síndrome de choque por dengue; arteritis temporal; policondritis recidivante; angiopatía diabética; glomerulonefritis proliferativa

mesangial; oftalmia del simpático; enfermedad ureteral; nefritis lúpica; neumonía; granuloma periapical; enfermedad de Erdheim-Chester; glomerulonefritis; enfermedad arterial; encefalitis vírica; amiloidosis cutánea primaria; arteriosclerosis; neumonía intersticial inespecífica; glomerulonefritis posestreptocócica aguda; arteriopatía coronaria; encefalitis equina venezolana; edema macular diabético; tuberculosis extrapulmonar; nefritis; artritis reumatoide; enfermedad de Kawasaki; artritis; malaria; obesidad; trastornos psiquiátricos; cáncer (por ejemplo, como se describe en el presente documento); inflamación (por ejemplo, enfermedad y trastornos inflamatorios como se describe en el presente documento); trastornos neurodegenerativos; y degeneración macular relacionada con la edad (AMD, por ejemplo, forma seca o húmeda), como se describe en el presente documento.

De acuerdo con una realización específica, la enfermedad incluye, sin limitación, psoriasis, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, aterosclerosis, glomerulonefritis, epilepsia, enfermedad de Alzheimer, isquemia cerebral, lesión cerebral traumática, diabetes tipo II y AMD.

Inhibición de SDF-1 y/o CXCR4:

De acuerdo con algunas realizaciones, un compuesto de molécula pequeña de Fórmula la y/o Ib, como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas y cualquier combinación de las mismas, es capaz de, o es usable, en la modulación de una actividad biológica de SDF-1 y/o CXCR4, como se describe en el presente documento.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones que no son parte de la presente invención, se proporciona un método para inhibir una actividad biológica de SDF-1 y/o CXCR4, comprendiendo el método poner en contacto el SDF-1 y/o CXCR4 con un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento descritas en el presente documento.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, se proporciona un uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en la fabricación de un medicamento para inhibir una actividad biológica de SDF-1 y/o CXCR4.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, se proporciona un uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en la modulación de una actividad biológica de SDF-1 y/o CXCR4.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones en relación con un uso para inhibir una actividad biológica de SDF-1 y/o CXCR4, el uso se efectúa *in vivo*, por ejemplo, administrando una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto a un sujeto que lo necesite.

En algunas realizaciones, el uso para inhibir una actividad biológica de SDF-1 y/o CXCR4 se efectúa *ex vivo* (por ejemplo, *in vitro*), por ejemplo, en investigación.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso o medicamento para inhibir una actividad biológica de SDF-1 y/o CXCR4, el uso o medicamento es para tratar una enfermedad o trastorno asociado a una actividad biológica de SDF-1 y/o CXCR4 en un sujeto que lo necesita, por ejemplo, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento descritas en el presente documento.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso o medicamento para inhibir una actividad biológica de SDF-1 y/o CXCR4, el uso o medicamento es para tratar una enfermedad o trastorno en el que es beneficioso inhibir una actividad biológica de un SDF-1 y/o CXCR4, en un sujeto que lo necesita, por ejemplo, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento descritas en el presente documento.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso o medicamento para inhibir una actividad biológica de SDF-1 y/o CXCR4, el uso o medicamento es para tratar una enfermedad o trastorno tratable inhibiendo una actividad biológica de un SDF-1 y/o CXCR4, en un sujeto que lo necesita, por ejemplo, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento descritas en el presente documento.

El experto en la materia apreciará que CXCR4 es un receptor que media la actividad de SDF-1 y que las actividades de SDF-1 y las actividades de CXCR4 normalmente se solapan.

Los ejemplos de enfermedades y trastornos asociados a una actividad de SDF-1 y/o CXCR4 (por ejemplo, en donde la inhibición de la actividad de SDF-1 y/o CXCR4 es beneficiosa) incluyen, sin limitación, Síndrome de Whim; Adenocarcinoma de cuello uterino; Cáncer de mama; Bursitis; Tuberculosis; Linfoma intraocular; Retinitis por citomegalovirus; Polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica; Hipertensión ocular;

- Polirradiculoneuropatía; Tumor de células dendríticas; Hemangioblastoma retiniano; Malaria; Endotelitis; Leucemia; Artritis reumatoide; Artritis; Prostatitis; Cáncer de próstata; Cáncer colorrectal; Leucemia linfocítica crónica; Pancreatitis; Neuronitis; Cáncer de pulmón; Osteoartritis; Hipoxia; Adenocarcinoma; Cáncer pancreático; Mieloma múltiple; Neuroblastoma; Leucemia mieloide; Astrocitoma; Periodontitis; Glioblastoma; Pre-eclampsia; Melanoma; Hepatitis; Esofagitis; Mieloma; Eclampsia; Cervicitis; Enfermedad periodontal; Linfoma del sistema nervioso central; Cáncer de mama esporádico; Carcinoma hepatocelular; Lupus eritematoso sistémico; Asma; Carcinoma de células renales; Infarto de miocardio; Meduloblastoma; Cáncer de endometrio; Lupus eritematoso; Cáncer de esófago; Insuficiencia ovárica prematura; Peritonitis; Enfermedad vascular; Hepatitis alcohólica; Enfermedad renal; Leishmaniasis cutánea; Encefalitis; Alopecia areata; Leucemia linfoblástica; Adenoma; Linfoma de células del manto; Oligodendroglioma; Linfoma de Malt; Tosferina; Isquemia; Melanoma uveal; Gingivitis; Adenoma pituitario; Bronquiolititis; neuromielitis óptica; Mesotelioma; Alopecia; Cáncer de cuello uterino, Somático; Glioblastoma multiforme; Bronquiolititis obliterante; Lesión cerebral; Adenoma colorrectal; Carcinoma de células escamosas de lengua; Linfomas de linfocitos B; Lesión cerebral traumática; Linfoma de linfocitos B grandes intravascular; Asma alérgica; Encefalitis transmitida por garrapatas; Célula dendrítica plasmocitoide blástica; Oligoastrocitoma; Dermatomiositis de tipo infantil; Oncocitoma renal; Adenocarcinoma endometrial; Neuritis óptica; Seminoma; Síndrome de Sjogren; Pleuresía; Neuritis; Enfermedad inflamatoria intestinal; Infección por citomegalovirus; Mesotelioma pleural maligno; Carcinoma oral de células escamosas; Regeneración del músculo esquelético; Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, Tipo dominante.
- En algunas realizaciones, las enfermedades y trastornos ejemplares asociados a una actividad de SDF-1 y/o CXCR4 (por ejemplo, en donde la inhibición de la actividad de SDF-1 y/o CXCR4 es beneficiosa) incluyen, sin limitación, angiogénesis dañina, metástasis tumoral, Síndrome de WHIM, Macrogluobuliniemia de Waldenstrom (WM) e hiperalgesia inducida por opioides.
- En el presente documento, la frase "angiogénesis perjudicial" se refiere a la angiogénesis asociada a un resultado clínica y/o cosméticamente indeseable.
- La angiogénesis asociada a un tumor es un ejemplo no limitante de angiogénesis perjudicial.
- Como se usa en el presente documento, la frase "metástasis tumoral" se refiere a un tumor maligno que se extiende desde su ubicación principal a otras partes del cuerpo, por ejemplo, cáncer de mama que hace metástasis a los pulmones. La metástasis tumoral a menudo implica la migración de células tumorales.
- En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso para modular una actividad biológica de una quimiocina, la modulación comprende inhibir una actividad biológica de SDF-1 y/o CXCR4, de acuerdo con cualquiera de las realizaciones correspondientes descritas en el presente documento.
- En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con la inhibición de una actividad biológica de SDF-1 y/o CXCR4, inhibir una actividad biológica de SDF-1 y/o CXCR4 es para efectuar la inmunoestimulación.
- En algunas realizaciones, la inmunoestimulación se efectúa como parte de un tratamiento contra el cáncer, por ejemplo, para estimular la actividad inmunitaria contra las células cancerosas.
- En algunas realizaciones, la inmunoestimulación comprende aumentar el nivel de células madre hematopoyéticas en la sangre periférica de un sujeto.
- En algunas realizaciones, el aumento de un nivel de células madre hematopoyéticas en la sangre periférica de un sujeto se efectúa como una parte preliminar del trasplante de células madre hematopoyéticas (por ejemplo, para generar células madre hematopoyéticas disponibles para la recolección y posterior trasplante de vuelta al sujeto). Los ejemplos de afecciones que pueden tratarse mediante el trasplante de células madre hematopoyéticas incluyen, sin limitación, leucemia (por ejemplo, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica), linfoma (por ejemplo, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkiniano), mieloma (por ejemplo, mieloma múltiple), neuroblastoma, tumor desmoplásico de células redondas pequeñas, sarcoma de Ewing, coriocarcinoma, mielodisplasia, anemias (por ejemplo, hemoglobinuria paroxística nocturna, anemia aplásica, anemia de Diamond-Blackfan, anemia de Fanconi, aplasia pura de glóbulos rojos adquirida), hemoglobinopatía, enfermedad de células falciformes, beta-talasemia mayor, trastornos mieloproliferativos (por ejemplo, policitemia vera, trombocitosis esencial, mielofibrosis), amiloidosis de cadena ligera amiloide, envenenamiento por radiación, enfermedades víricas (por ejemplo, HTLV y/o infección por VIH), lipofuscinosis ceroides neuronal, enfermedad de Niemann-Pick, enfermedad de Gaucher, leucodistrofias (adrenoleucodistrofia, leucodistrofia metacromática, enfermedad de Krabbe), mucopolisacaridosis, glucoproteinosas (por ejemplo, mucopolisacaridosis II, fucosidosis, aspartilglucosaminuria, alfa-manosidosis, enfermedad de Wolman, inmunodeficiencias (por ejemplo, ataxia telangiectasia, síndrome de DiGeorge, inmunodeficiencia combinada grave, síndrome de Wiskott-Aldrich, síndrome de Kostmann, síndrome de Shwachman-Diamond, síndrome de Griscelli, deficiencia de modulador esencial NF-kappa-B), trombocitopenia amegacariocítica y linfocitosis hemofagocítica.

En algunas realizaciones, el trasplante de células madre hematopoyéticas es para el tratamiento de una enfermedad proliferativa, por ejemplo, cáncer (por ejemplo, cáncer como se describe en el presente documento de acuerdo con cualquiera de las realizaciones respectivas).

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento relacionadas con células madre hematopoyéticas, el tratamiento comprende aumentar el nivel de células madre hematopoyéticas en la sangre periférica del sujeto, obtener células madre hematopoyéticas de sangre periférica del sujeto, administrar una terapia citotóxica al sujeto (por ejemplo, quimioterapia antiproliferativa y/o radioterapia) y trasplantar al menos una parte de las células madre al paciente, posterior a la terapia citotóxica.

Inhibición de quinasa:

De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, un compuesto representado por la Fórmula Ia y/o Ib en el presente documento es capaz de, o es usable en, la inhibición de una actividad biológica de una quinasa.

De acuerdo con alguna de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, un compuesto representado por la Fórmula Ia y/o Ib en el presente documento es capaz de, o es usable en, tratar enfermedades o trastornos en los cuales es beneficioso inhibir la actividad biológica de una quinasa, o una enfermedad o trastorno que puede tratarse inhibiendo la actividad biológica de una quinasa.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, es para su uso en la inhibición de una actividad biológica de una quinasa.

De acuerdo con otro aspecto de algunas realizaciones que no son parte de la presente invención, se proporciona un método para inhibir una actividad biológica de una quinasa, comprendiendo el método poner en contacto la quinasa con un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

En algunas realizaciones, el uso para inhibir una quinasa se efectúa *ex vivo* (por ejemplo, *in vitro*), por ejemplo, en investigación.

En algunas realizaciones, el uso para inhibir una quinasa se efectúa *in vivo*, por ejemplo, administrando una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto a un sujeto que lo necesite.

De acuerdo con otro aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en la fabricación de un medicamento para su uso en la inhibición de una actividad biológica de una quinasa en un sujeto que lo necesite.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso y/o medicamento para inhibir una actividad biológica de una quinasa, el uso y/o medicamento (de acuerdo con cualquiera de las realizaciones respectivas descritas en el presente documento) es para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado a una actividad biológica de una quinasa en un sujeto que lo necesite.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso y/o medicamento para inhibir una actividad biológica de una quinasa, el uso y/o medicamento es para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno en el que es beneficiosa la inhibición de una actividad biológica de una quinasa.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso y/o medicamento para inhibir una actividad biológica de una quinasa, el uso y/o medicamento es para el tratamiento de una enfermedad o trastorno que es tratable mediante la inhibición de una actividad biológica de una quinasa.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso para inhibir una actividad biológica de una quinasa, la quinasa inhibida puede ser una quinasa presentada en la Tabla 2 a continuación, por ejemplo, DYRK3, EPHA8, GRK4, GRK5, MAP4K1, MAP4K2, MAP4K4, MELK, PAK7, SGK2, SRC N1, ACVRL1, BMPR1A, CDC7/DBF4, CDK1/ciclina A2, CDK11, CDK8/ciclina C, CLK4, DAPK2, DUK2, ICK, MAPK10, MLCK, MYLK, NUA2, STK17A, STK17B, STK38, STK38L, TGFB2, TTK, DAPK1, PIK3CA y/o PIK3CD.

De acuerdo con una realización específica, la quinasa es una PI3K.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso para inhibir una actividad biológica de una quinasa, la quinasa inhibida es una serina/treonina quinasa. En

algunas realizaciones, la serina/treonina quinasa es una serina/treonina quinasa presentada en la Tabla 2 a continuación.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso para inhibir una actividad biológica de una quinasa, la quinasa inhibida es una tirosina quinasa. En algunas realizaciones, la tirosina quinasa es una serina/treonina quinasa presentada en la Tabla 2 a continuación.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con un uso para inhibir una actividad biológica de una quinasa, la quinasa es MELK, MAP4K4 y/o PI3K.

Tratamiento del cáncer:

De acuerdo con algunas realizaciones, un compuesto de molécula pequeña de Fórmula Ia y/o Ib, como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas y cualquier combinación de las mismas, es capaz de, o es usable, en el tratamiento de cáncer.

De acuerdo con algunas realizaciones, un compuesto de molécula pequeña de Fórmula Ia y/o Ib, como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas y cualquier combinación de las mismas, es capaz de, o es usable, en la inducción de la muerte de las células cancerosas (matar las células cancerosas).

De acuerdo con algunas realizaciones, un compuesto de molécula pequeña de Fórmula Ia y/o Ib, como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas y cualquier combinación de las mismas, es capaz de, o es usable, inducir apoptosis en células cancerosas.

De acuerdo con algunas realizaciones, un compuesto de molécula pequeña de Fórmula Ia y/o Ib, como se describe en el presente documento en cualquiera de las realizaciones respectivas y cualquier combinación de las mismas, es capaz de, o es usable, en la inducción de la detención del crecimiento de las células cancerosas y, en algunas realizaciones, la detención es en la fase G2M del ciclo celular.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones que no son parte de la presente invención, se proporciona un método para tratar un cáncer en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de molécula pequeña de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, tratando de esta manera el cáncer.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto de molécula pequeña de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en la fabricación de un medicamento para tratar el cáncer.

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto de molécula pequeña de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en el tratamiento de cáncer.

Como se usa en el presente documento, los términos "cáncer" y "tumor" se usan indistintamente. Los términos se refieren a un crecimiento maligno y/o tumor provocado por una proliferación celular anormal y descontrolada (división celular). El término "cáncer" abarca las metástasis tumorales. La frase "célula cancerosa" describe las células que forman el tumor o crecimiento maligno.

Los ejemplos no limitantes de cánceres y/o metástasis tumorales que pueden tratarse de acuerdo con algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento relacionadas con el cáncer (incluyendo cualquiera de los aspectos descritos en el presente documento) incluyen cualquier cáncer y/o metástasis de tumor sólido o no sólido, incluyendo, pero no limitado a, tumores del tracto gastrointestinal (por ejemplo, carcinoma de colon, carcinoma rectal, carcinoma colorrectal, cáncer colorrectal, adenoma colorrectal, no poliposis hereditaria tipo 1, no poliposis hereditaria tipo 2, no poliposis hereditaria tipo 3, no poliposis hereditaria tipo 6; cáncer colorrectal, no poliposis hereditaria tipo 7, carcinoma de intestino delgado y/o grueso, carcinoma esofágico, tilosis con cáncer de esófago, carcinoma de estómago, carcinoma pancreático, tumores endocrinos pancreáticos), carcinoma de endometrio, dermatofibrosarcoma protuberans, carcinoma de vesícula biliar, tumores del tracto biliar, cáncer de próstata, adenocarcinoma de próstata, cáncer renal (por ejemplo, tumor de Wilms tipo 2 o tipo 1), cáncer de hígado (por ejemplo, hepatoblastoma, carcinoma hepatocelular, cáncer hepatocelular), cáncer de vejiga, rhabdomyosarcoma embrionario, tumor de células germinales, tumor trofoblástico, tumor testicular de células germinales, teratoma inmaduro de ovario, uterino, epitelial del ovario, tumor sacrococcígeo, coriocarcinoma, tumor trofoblástico del sitio placentario, tumor epitelial del adulto, carcinoma de ovario, cáncer de ovario seroso, tumores del cordón sexual ovárico, carcinoma de cuello uterino, carcinoma de cérvix uterino, carcinoma de pulmón de células microcíticas y no microcíticas, nasofaríngeo, carcinoma de mama (por ejemplo, cáncer de mama ductal, cáncer de mama intraductal invasivo, cáncer de mama esporádico, susceptibilidad al cáncer de mama, cáncer de mama tipo 4, cáncer de mama-1, cáncer de mama-3, cáncer de mama-ovario), carcinoma de células escamosas (por ejemplo, en cabeza y cuello), tumor neurogénico, astrocitoma, ganglioblastoma, neuroblastoma, linfomas (por ejemplo, enfermedad de Hodgkin,

linfoma no Hodgkiniano, linfoma de linfocitos B, Linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), linfoma de Burkitt, linfoma cutáneo de linfocitos T, linfoma histiocítico, linfoma linfoblástico, linfoma de linfocitos T, linfoma tímico), gliomas, adenocarcinoma, tumor suprarrenal, carcinoma adrenocortical hereditario, neoplasia cerebral (tumor), diversos otros carcinomas (por ejemplo, células grandes broncogénicas, ductal, ascitis de Ehrlich-Lettré, epidermoide, de células grandes, de pulmón de Lewis, medular, mucoepidermoide, célula de avena, de célula microcítica, de célula en huso, espinocelular, de célula de transición, indiferenciado, carcinosarcoma, coriocarcinoma, cistadenocarcinoma), ependimoblastoma, epiteloma, eritroleucemia (por ejemplo, de Friend, de linfoblasto), fibrosarcoma, tumor de células gigantes, tumor glial, glioblastoma (por ejemplo, multiforme, astrocitoma), glioma, hepatoma, heterohibridoma, heteromieloma, histiocitoma, hibridoma (por ejemplo, de linfocitos B), hipernefoma, insulinoma, tumor de islote, queratoma, leiomioblastoma, leiomiosarcoma, leucemia (por ejemplo, leucemia linfática aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia aguda linfoblástica de linfocitos pre-B, leucemia aguda linfoblástica de linfocitos T, leucemia megacarioblástica aguda, leucemia monocítica, leucemia mielógena aguda, leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide aguda con eosinofilia, leucemia de linfocitos B, leucemia basófila, leucemia mieloide crónica, leucemia crónica de células B, leucemia eosinófila, leucemia de Friend, leucemia granulocítica o mielocítica, tricoleucemia, leucemia linfocítica, leucemia megacarioblástica, leucemia monocítica, leucemia monocítica-macrófagos, leucemia mieloblástica, leucemia mieloide, leucemia mielomonocítica, leucemia de células plasmáticas, leucemia de linfocitos pre-B, leucemia promielocítica, leucemia subaguda, leucemia de linfocitos T, neoplasia linfoide, predisposición a la malignidad mieloide, leucemia no linfocítica aguda), linfosarcoma, melanoma, tumor mamario, mastocitoma, meduloblastoma, mesotelioma, tumor metastásico, tumor de monocitos, mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico, mieloma, nefroblastoma, tumor glial del tejido nervioso, tumor neuronal del tejido nervioso, neurinoma, neuroblastoma, oligodendroglioma, osteocondroma, osteomieloma, osteosarcoma (por ejemplo, de Ewing), papiloma, de célula de transición, feocromocitoma, tumor pituitario (invasivo), plasmacitoma, retinoblastoma, rabdomiosarcoma, sarcoma (por ejemplo, de Ewing, de célula histiocítica, de Jensen, osteogénico, de célula del retículo), schwannoma, tumor subcutáneo, teratocarcinoma (por ejemplo, pluripotente), teratoma, tumor testicular, timoma y tricoepitelioma, cáncer gástrico, fibrosarcoma, glioblastoma multiforme, tumores glómicos múltiples, síndrome de Li-Fraumeni, liposarcoma, síndrome de la familia del cáncer de Lynch II, tumor de células germinales masculinas, leucemia de mastocitos, tiroides medular, meningioma múltiple, mixosarcoma de neoplasia endocrina, paraganglioma, no cromafines familiares, pilomatricoma, papilar, familiar y esporádico, síndrome de predisposición rabdoide, familiar, tumores rabdoide, sarcoma de tejidos blandos y síndrome de Turcot con glioblastoma.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento relacionadas con cáncer, el cáncer es una leucemia, un linfoma, cáncer de ovario, neuroblastoma, un cáncer de próstata y/o un cáncer de pulmón. Los ejemplos de leucemias que pueden tratarse en el contexto de algunas realizaciones de la invención incluyen, sin limitación, leucemias agudas, por ejemplo, leucemia mieloide aguda (AML), leucemia mieloide crónica (CML) y leucemia linfoblástica aguda.

Los ejemplos de linfomas que pueden tratarse en el contexto de algunas realizaciones de la invención incluyen, sin limitación, Linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), mieloma múltiple y linfomas no Hodgkinianos. El linfoma de Burkitt es un ejemplo no limitante de un linfoma no Hodgkiniano.

Los ejemplos de cánceres de pulmón que pueden tratarse en el contexto de algunas realizaciones de la invención incluyen, sin limitación, cáncer de pulmón de células macrocíticas y cáncer de pulmón de células microcíticas.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento relacionadas con cáncer, el cáncer se caracteriza por células que expresan CXCR4. En algunas de tales realizaciones, el compuesto para su uso en el tratamiento del cáncer es cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento para su uso en la inhibición de la actividad de SDF-1 y/o CXCR4.

Sin desear quedar ligados a teoría alguna particular, se cree que en los cánceres caracterizados por la expresión de CXCR4, la actividad de SDF-1 y CXCR4 generalmente se asocia a metástasis y, por lo tanto, el tratamiento con un inhibidor de la actividad de SDF-1 y/o CXCR4 es particularmente ventajoso.

En algunas realizaciones de una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento relacionadas con el tratamiento de cáncer, el cáncer comprende además la administración de al menos un agente anticanceroso adicional (es decir, además del compuesto descrito anteriormente en el presente documento).

El agente anti-cáncer adicional puede ser cualquier agente usado en la técnica médica para tratar un cáncer. Los ejemplos de agentes anti-cáncer incluyen, sin limitación, acivicina; aclarrubicina; clorhidrato de acodazol; acronina; adriamicina; adozelesina; aldesleucina; altretamina; ambomicina; acetato de ametantrona; aminoglutetimida; amsacrina; anastrozol; antramicina; asparaginasa; asperlina; azacidina; azetepa; azotomicina; batimastat; benzodepa; bicalutamida; clorhidrato de bisantreno; dimesilato de bisnafida; bizelesina; sulfato de bleomicina; brequinar sódico; bropirimina; busulfán; cactinomicina; calusterona; caracemida; carbetímero; carboplatino; carmustina; clorhidrato de carrubicina; carzelesina; cedefingol; clorambucilo; cirolemicina; cisplatino; cladribina; fosfato de combrestatina A-4; mesilato de crisnatol; ciclofosfamida; citarabina; dacarbazina; dactinomicina; clorhidrato de daunorrubicina; decitabina; dexamplatinato; dezaguanina; mesilato de dezaguanina; diaziouona; docetaxel; doxorubicina; clorhidrato de doxorubicina; droloxifeno; citrato de droloxifeno; propionato de dromostanolona;

duazomicina; edatrexato; clorhidrato de eflornitina; elsamitrucina; enloplatino; enpromato; epipropidina; clorhidrato de epirubicina; erbulozol; clorhidrato de esorubicina; estramustina; fosfato sódico de estramustina; etanidazol; etopósido; fosfato de etopósido; etoprina; clorhidrato de fadrozol; fazarabina; fenretinida; floxuridina; fosfato de fludarabina; fluorouracilo; flurocitabina; fosquidona; fostriecina sódica; gemcitabina; clorhidrato de gemcitabina; hidroxixiurea; clorhidrato de idarrubicina; ifosfamida; ilmofofina; interferón alfa-2a; interferón alfa-2b; interferón alfa-n1; interferón alfa-n3; interferón beta-1a; interferón gamma-1b; iproplatino; clorhidrato de irinotecán; acetato de lanreótido; letrozol; acetato de leuprólido; clorhidrato de liarozol; lometrexol sódico; lomustina; clorhidrato de losoxantrona; masoprocol; maitansina; clorhidrato de mecloretamina; acetato de megestrol; acetato de melengestrol; melfalán; menogaril; mercaptopurina; metotrexato; metotrexato sódico; metoprina; meturedpa; mitindomida; mitocarcina; mitocromina; mitogilina; mitomalcina; mitomicina; mitosper; mitotano; clorhidrato de mitoxantrona; ácido micofenólico; nocodazol; nogalamicina; ombrabulina; ormaplatino; oxisuran; paclitaxel; pegaspargasa; peliomicina; pentamustina; sulfato de peplomicina; perfosfamida; pipobromano; piposulfán; clorhidrato de piroxantrona; plicamicina; plomestano; porfímero sódico; porfiromicina; prednimustina; clorhidrato de procarbazona; puomicina; clorhidrato de puomicina; pirazofurina; riboprina; roglitimida; safingol; clorhidrato de safingol; semustina; simtrazeno; esparfosato sódico; esparsomicina; clorhidrato de espirogermanio; espiromustina; espiroplatino; estreptonigrina; estreptozocina; sulofenur; talisomicina; tecogalán sódico; tegafur; clorhidrato de teloxantrona; temoporfina; tenipósido; teroxirona; testolactona; tiamiprina; tioguanina; tiotepa; tiazofurina; tirapazamina; clorhidrato de topotecán; citrato de toremifeno; acetato de trestolona; fosfato de triciribina; trimetrexato; glucuronato de trimetrexato; triptorelina; clorhidrato de tubulozol; mostaza de uracilo; uredepa; vaporeotida; verteporfina; vinblastina; sulfato de vincristina; vindesina; sulfato de vindesina; vinepidinea; vinglicinato; vinleurosina; tartrato de vinorelbina; vinrosidina; vinzolidina; vorozol; zeniplatino; zinostatina; y clorhidrato de zorrubicina. Los agentes anti-cáncer adicionales incluyen aquellos descritos en el Capítulo 52, Antineoplastic Agents (Paul Calabresi y Bruce A. Chabner) y la introducción del mismo, 1202-1263, de "The Pharmacological Basis of Therapeutics" de Goodman y Gilman, octava edición, 1990, McGraw-Hill, Inc. (Health Professions Division).

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el agente anti-cáncer adicional se caracteriza por que la resistencia de las células cancerosas al agente está asociada a una actividad de SDF-1 y/o CXCR4 y/o una cualquiera de las quinasas descritas en la Tabla 2 en el presente documento. En algunas de tales realizaciones, el compuesto para su uso en combinación con el agente anti-cáncer adicional es cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el al menos un agente anti-cáncer adicional comprende fosfato de combrestatina A-4, ombrabulina y/o cualquier otro derivado de combrestatina.

Sin desear quedar ligados a teoría alguna particular, se cree que el efecto antiterapéutico de los derivados de combrestatina tales como combrestatina A-4 fosfato y ombrabulina se reduce por la actividad de SDF-1/CXCR4.

Enfermedades hiperproliferativas no cancerosas:

Las enfermedades hiperproliferativas no cancerosas también denominadas "enfermedades proliferativas no neoplásicas" y las "enfermedades proliferativas no cancerosas" se refieren a enfermedades o trastornos cuyo inicio o progresión está asociado a la proliferación de células no malignas. Los ejemplos de tales afecciones médicas incluyen, pero no se limitan a aterosclerosis, artritis reumatoide, psoriasis, fibrosis, fibrosis pulmonar idiopática, esclerodermia y cirrosis del hígado.

Enfermedades y trastornos inflamatorios:

Las enfermedades y trastornos inflamatorios generalmente abarcan enfermedades y trastornos asociados a inflamación.

El término "inflamación" como se usa en el presente documento se refiere al término general para la acumulación local de fluidos, proteínas plasmáticas y glóbulos blancos iniciada por una lesión física, infección o una respuesta inmunitaria local. La inflamación puede estar asociada a varios signos, por ejemplo, enrojecimiento, dolor, calor, hinchazón y/o pérdida de función. La inflamación es un aspecto de muchas enfermedades y trastornos, incluyendo pero no limitado a enfermedades relacionadas con trastornos inmunitarios, infección vírica y bacteriana, artritis, enfermedades autoinmunitarias, enfermedades del colágeno, alergia, asma, polinosis y atopía (como se describe con más detalle a continuación).

Por lo tanto, la inflamación puede estar provocada por una lesión, por ejemplo lesiones en la piel, el músculo, los tendones o los nervios. La inflamación puede desencadenarse como parte de una respuesta inmunitaria, por ejemplo, respuesta autoinmunitaria patológica. La inflamación también puede desencadenarse por una infección, donde el reconocimiento de patógenos y el daño tisular pueden iniciar una respuesta inflamatoria en el sitio de la infección.

La inflamación de acuerdo con las presentes enseñanzas puede estar asociada a enfermedades o trastornos inflamatorios crónicos (a largo plazo) o enfermedades o trastornos inflamatorios agudos (a corto plazo).

De acuerdo con una realización específica, la inflamación está asociada a una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en una enfermedad infecciosa, una enfermedad autoinmunitaria, una inflamación asociada a hipersensibilidad, un rechazo del injerto y una lesión.

- 5 De acuerdo con una realización específica, la inflamación comprende una inflamación de la piel.

De acuerdo con una realización específica, la inflamación de la piel es psoriasis.

- 10 Las enfermedades caracterizadas por inflamación de la piel, incluyen pero no se limitan a dermatitis, dermatitis atópica (eccema, atopia), dermatitis de contacto, dermatitis herpetiforme, dermatitis exfoliativa generalizada, dermatitis seborreica, erupciones por fármacos, eritema multiforme, eritema nodoso, granuloma anular, hiedra venenosa, roble venenoso, necrolisis epidérmica tóxica, rosácea, psoriasis y acné. La inflamación también puede resultar de lesiones físicas en la piel.

- 15 La inflamación puede desencadenarse por diversos tipos de lesiones en los músculos, los tendones o los nervios. Por lo tanto, por ejemplo, la inflamación puede estar causada por movimientos repetitivos de una parte del cuerpo, es decir, lesión por esfuerzo repetitivo (RSI). Las enfermedades caracterizadas por la inflamación desencadenada por RSI incluyen, pero no se limitan a, bursitis, síndrome del túnel carpiano, contractura de Dupuytren, epicondilitis (por ejemplo, codo de tenista), ganglio (es decir, inflamación en un quiste que se ha formado en la vaina del tendón, produciéndose habitualmente en la muñeca), síndrome del manguito rotador, tendinitis (por ejemplo, inflamación del tendón de Aquiles), tenosinovitis y dedo en gatillo (inflamación de las vainas de los tendones de los dedos o del pulgar acompañada de inflamación del tendón).

- 25 Muchas enfermedades relacionadas con enfermedades infecciosas incluyen respuestas inflamatorias, donde las respuestas inflamatorias son típicamente parte del sistema inmunológico innato desencadenado por el patógeno invasor. La inflamación también puede desencadenarse por una lesión física (mecánica) de las células y los tejidos como resultado de la infección. Los ejemplos de enfermedades infecciosas incluyen, pero no se limitan a, enfermedades infecciosas crónicas, enfermedades infecciosas subagudas, enfermedades infecciosas agudas, enfermedades víricas, enfermedades bacterianas, enfermedades por protozoos, enfermedades parasitarias, enfermedades fúngicas, enfermedades por micoplasma y enfermedades por priones. De acuerdo con una realización, los ejemplos de infecciones caracterizadas por inflamación incluyen, pero no se limitan a, encefalitis; meningitis; encefalomiелitis; gastroenteritis vírica; hepatitis vírica.

- 35 Adicionalmente, muchos trastornos inmunitarios incluyen inflamación aguda o crónica. Por ejemplo, la artritis se considera un trastorno inmunitario caracterizado por la inflamación de las articulaciones, pero la artritis también se considera un trastorno inflamatorio caracterizado por un ataque inmunitario sobre los tejidos articulares.

- 40 La inflamación de acuerdo con las presentes enseñanzas puede estar asociada a una respuesta inmunitaria deficiente (por ejemplo, VIH, SIDA) o con una respuesta inmunitaria hiperactiva (por ejemplo, alergia, trastornos autoinmunitarios). Por lo tanto, La inflamación de acuerdo con las presentes enseñanzas puede estar asociada a cualquiera de los siguientes:

Enfermedades inflamatorias asociadas a hipersensibilidad:

- 45 Los ejemplos de hipersensibilidad incluyen, pero no se limitan a, hipersensibilidad de tipo I, hipersensibilidad de tipo II, hipersensibilidad de tipo III, hipersensibilidad de tipo IV, hipersensibilidad inmediata, hipersensibilidad mediada por anticuerpos, hipersensibilidad mediada por inmunocomplejos, hipersensibilidad mediada por linfocitos T y DTH.

- 50 Hipersensibilidad inmediata o de tipo I, tal como asma.

- La hipersensibilidad de tipo II incluye, pero no se limita a, enfermedades reumáticas, enfermedades reumáticas autoinmunitarias, artritis reumatoide (Krenn V. *et al.*, *Histol Histopathol* 2000 Jul;15 (3):791), espondilitis, espondilitis anquilosante (Jan Voswinkel *et al.*, *Arthritis Res* 2001; 3 (3): 189), enfermedades sistémicas, enfermedades sistémicas autoinmunitarias, lupus eritematoso sistémico (Erikson J. *et al.*, *Immunol Res* 1998; 17 (1-2):49), esclerosis, esclerosis sistémica (Renaudineau Y. *et al.*, *Clin Diagn Lab Immunol*. marzo de 1999;6 (2):156); Chan OT. *et al.*, *Immunol Rev* 1999 Jun;169:107), enfermedades glandulares, enfermedades glandulares autoinmunitarias, enfermedades pancreáticas autoinmunitarias, diabetes, diabetes tipo I (Zimmet P. *Diabetes Res Clin Pract* 1996 Oct;34 Suppl:S125), enfermedades tiroideas, enfermedades tiroideas autoinmunitarias, enfermedad de Graves (Orgiazzi J. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2000 Jun;29 (2):339), tiroiditis, tiroiditis autoinmunitaria espontánea (Braley-Mullen H. y Yu S, *J Immunol* 15 de diciembre de 2000;165 (12):7262), tiroiditis de Hashimoto (Toyoda N. *et al.*, *Nippon Rinsho* 1999 Aug;57 (8):1810), mixedema, mixedema idiopático (Mitsuma T. *Nippon Rinsho*. agosto de 1999;57 (8):1759); enfermedades reproductivas autoinmunitarias, enfermedades ováricas, autoinmunidad ovárica (Garza KM. *et al.*, *J Reprod Immunol* febrero de 1998;37 (2):87), infertilidad autoinmunitaria anti-espermatozoides (Diekman AB. *et al.*, *Am J Reprod Immunol*. marzo de 2000;43 (3):134), pérdida fetal repetida (Tincani A. *et al.*, *Lupus* 1998;7 Suppl 2:S 107-9), enfermedades neurodegenerativas, enfermedades neurológicas, enfermedades neurológicas autoinmunitarias, esclerosis múltiple (Cross AH. *et al.*, *J Neuroimmunol* 1 de enero de 2001; 112 (1-2):1), enfermedad de Alzheimer

(Oron L. *et al.*, J Neural Transm Suppl. 1997;49:77), miastenia grave (Infante AJ. y Kraig E, Int Rev Immunol 1999; 18 (1-2):83), neuropatías motoras (Kornberg AJ. J Clin Neurosci. mayo de 2000;7 (3):191), síndrome de Guillain-Barre, neuropatías y neuropatías autoinmunitarias (Kusunoki S. Am J Med Sci. abril de 2000;319 (4):234), enfermedades miasténicas, síndrome miasténico de Lambert-Eaton (Takamori M. Am J Med Sci. abril de 2000;319 (4):204), enfermedades neurológicas paraneoplásicas, atrofia cerebelosa, atrofia cerebelosa paraneoplásica, síndrome del hombre rígido no paraneoplásico, atrofas cerebelosas, atrofas cerebelosas progresivas, encefalitis, encefalitis de Rasmussen, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Sydeham, síndrome de Gilles de la Tourette, poliendocrinopatías, poliendocrinopatías autoinmunitarias (Antoine JC. y Honnorat J. Rev Neurol (París) enero de 2000;156 (1):23); neuropatías, neuropatías disimunitarias (Nobile-Orazio E. *et al.*, Electroencephalogr Clin Neurophysiol Supl. 1999;50:419); neuromiotonía, neuromiotonía adquirida, artrogriposis múltiple congénita (Vincent A. *et al.*, Ann NY Acad Sci. 13 de mayo de 1998;841:482), enfermedades cardiovasculares, enfermedades cardiovasculares autoinmunitarias, aterosclerosis (Matsuura E. *et al.*, Lupus. 1998;7 Supl. 2:S135), infarto de miocardio (Vaarala O. Lupus. 1998; 7 Supl 2: S132), trombosis (Tincani A. *et al.*, Lupus 1998; 7 Supl 2: S107-9), granulomatosis, granulomatosis de Wegener, arteritis, arteritis de Takayasu y síndrome de Kawasaki (Praprotnik S. *et al.*, Wien Klin Wochenschr, 25 de agosto de 2000; 112 (15-16):660); enfermedad autoinmunitaria anti-factor VIII (Lacroix-Desmazes S. *et al.*, Semin Thromb Hemost.2000;26 (2):157); vasculitis, vasculitis necrosante de vasos pequeños, poliangeítis microscópica, síndrome de Churg y Strauss, glomerulonefritis, glomerulonefritis necrosante focal pauci-inmunitaria, glomerulonefritis con semilunas (Noel LH. Ann Med Interne (París). mayo de 2000; 151 (3): 178); síndrome antifosfolipídico (Flamholz R. *et al.*, J Clin Apheresis 1999; 14 (4): 171); insuficiencia cardíaca, anticuerpos adrenérgicos β de tipo agonista en la insuficiencia cardíaca (Wallukat G. *et al.*, Am J Cardiol. 17 de junio de 1999;83 (12A):75H), púrpura trombocitopénica (Moccia F. Ann Ital Med Int. abril-junio de 1999;14 (2):114); anemia hemolítica, anemia hemolítica autoinmunitaria (Efremov DG. *et al.*, Leuk Lymphoma enero de 1998;28 (3-4):285), enfermedades gastrointestinales, enfermedades autoinmunitarias del tracto gastrointestinal, enfermedades intestinales, enfermedad intestinal inflamatoria crónica (García Herola A. *et al.*, Gastroenterol Hepatol. enero de 2000;23 (1):16) enfermedad celíaca (Landau YE. y Shoenfeld Y. Harefuah 16 de enero de 2000;138 (2):122), enfermedades autoinmunitarias de la musculatura, miositis, miositis autoinmunitaria, síndrome de Sjogren (Feist E. *et al.*, Int Arch Allergy Immunol septiembre de 2000;123 (1):92); enfermedad autoinmunitaria del músculo liso (Zauli D. *et al.*, Biomed Pharmacother junio de 1999;53 (5-6):234), enfermedades hepáticas, enfermedades hepáticas autoinmunitarias, hepatitis autoinmunitaria (Manns MP. J Hepatol agosto de 2000;33 (2):326) y cirrosis biliar primaria (Strassburg CP. *et al.*, Eur J Gastroenterol Hepatol. junio de 1999;11 (6):595).

La hipersensibilidad mediada por linfocitos T o de tipo IV, incluye, pero no se limita a, enfermedades reumáticas, artritis reumatoide (Tisch R, McDevitt HO. Proc Natl Acad Sci EE. UU. 18 de enero de 1994;91 (2):437), enfermedades sistémicas, enfermedades sistémicas autoinmunitarias, lupus eritematoso sistémico (Datta SK., Lupus 1998; 7 (9):591), enfermedades glandulares, enfermedades glandulares autoinmunitarias, enfermedades pancreáticas, enfermedades pancreáticas autoinmunitarias, diabetes de tipo 1 (Castano L. y Eisenbarth GS. Ann. Rev. Immunol. 8:647); enfermedades tiroideas, enfermedades tiroideas autoinmunitarias, enfermedad de Graves (Sakata S. *et al.*, Mol Cell Endocrinol marzo de 1993;92 (1):77); enfermedades de los ovarios (Garza KM. *et al.*, J Reprod Immunol febrero de 1998;37 (2):87), prostatitis, prostatitis autoinmunitaria (Alexander RB. *et al.*, Urology diciembre de 1997;50 (6):893), síndrome poliglandular, síndrome poliglandular autoinmunitario, síndrome poliglandular autoinmunitario de tipo I (Hara T. *et al.*, Blood. 1 de marzo de 1991;77 (5):1127), enfermedades neurológicas, enfermedades autoinmunitarias neurológicas, esclerosis múltiple, neuritis, neuritis óptica (Soderstrom M. *et al.*, J Neurol Neurosurg Psychiatry mayo de 1994;57 (5):544), miastenia grave (Oshima M. *et al.*, Eur J Immunol diciembre de 1990;20 (12):2563), síndrome del hombre rígido (Hiemstra HS. *et al.*, Proc Natl Acad Sci EE. UU. 27 de marzo de 2001;98 (7):3988), enfermedades cardiovasculares, autoinmunidad cardíaca en la enfermedad de Chagas (Cunha-Neto E. *et al.*, J Clin Invest 15 de octubre de 1996;98 (8):1709), púrpura trombocitopénica autoinmunitaria (Semple JW. *et al.*, Blood 15 de mayo de 1996;87 (10):4245), autoinmunidad de anti-linfocitos T auxiliares (Caporossi AP. *et al.*, Viral Immunol 1998; 11 (1):9), anemia hemolítica (Sallah S. *et al.*, Ann Hematol marzo de 1997;74 (3):139), enfermedades hepáticas, enfermedades hepáticas autoinmunitarias, hepatitis, hepatitis activa crónica (Franco A. *et al.*, Clin Immunol Immunopathol marzo de 1990;54 (3):382), cirrosis biliar, cirrosis biliar primaria (Jones DE. Clin Sci (Colch) noviembre de 1996; 91 (5):551), enfermedades nefríticas, enfermedades nefríticas autoinmunitarias, nefritis, nefritis intersticial (Kelly CJ. J Am Soc Nephrol agosto de 1990;1 (2):140), enfermedades del tejido conectivo, enfermedades del oído, enfermedades autoinmunitarias del tejido conjuntivo, enfermedad autoinmunitaria del oído (Yoo TJ. *et al.*, Cell Immunol agosto de 1994;157 (1):249), enfermedad del oído interno (Gloddek B. *et al.*, Ann N Y Acad Sci 29 de diciembre de 1997;830:266), enfermedades de la piel, enfermedades cutáneas, enfermedades dérmicas, dermatosis ampulosas, pénfigo vulgar, pénfigoide ampuloso y pénfigo foliáceo.

Los ejemplos de hipersensibilidad de tipo retardada incluyen, pero no se limitan a, dermatitis de contacto y erupción asociada a fármacos.

Los ejemplos de tipos de hipersensibilidad mediada por linfocitos T incluyen, pero no se limitan a, linfocitos T auxiliares y linfocitos T citotóxicos.

Los ejemplos de hipersensibilidad mediada por linfocitos T auxiliares incluyen, pero no se limitan a, hipersensibilidad mediada por linfocitos T_H1 e hipersensibilidad mediada por linfocitos T_H2 .

De acuerdo con una realización específica, la enfermedad ocular es degeneración macular relacionada con la edad (AMD).

De acuerdo con una realización específica, la degeneración macular relacionada con la edad (AMD) es atrófica, no neovascular (aAMD).

De acuerdo con una realización específica, la degeneración macular relacionada con la edad (AMD) es neovascular.

Enfermedades autoinmunitarias:

Las enfermedades autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, enfermedades cardiovasculares, enfermedades reumáticas, enfermedades glandulares, gastroenteropatías, enfermedades cutáneas, enfermedades hepáticas, enfermedades neurológicas, enfermedades musculares, enfermedades nefríticas, enfermedades relacionadas con la reproducción, enfermedades del tejido conjuntivo y enfermedades sistémicas.

Los ejemplos de enfermedades cardiovasculares autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a aterosclerosis (Matsuura E. *et al.*, Lupus. 1998;7 Supl. 2:S135), infarto de miocardio (Vaarala O. Lupus. 1998; 7 Supl 2: S132), trombosis (Tincani A. *et al.*, Lupus 1998;7 Supl 2:S 107-9), granulomatosis de Wegener, arteritis de Takayasu, síndrome de Kawasaki (Praprotnik S. *et al.*, Wien Klin Wochenschr, 25 de agosto de 2000; 112 (15-16):660), enfermedad autoinmunitaria anti-factor VIII (Lacroix-Desmazes S. *et al.*, Semin Thromb Hemost.2000;26 (2): 157), vasculitis necrosante de vasos pequeños, poliangeítis microscópica, síndrome de Churg y Strauss, glomerulonefritis necrosante focal pauci-inmunitaria y con semilunas (Noel LH. Ann Med Interne (París). mayo de 2000; 151 (3):178), síndrome antifosfolípido (Flamholz R. *et al.*, J Clin Apheresis 1999; 14 (4):171), insuficiencia cardíaca inducida por anticuerpos (Wallukat G. *et al.*, Am J Cardiol. 17 de junio de 1999;83 (12A):75H), púrpura trombocitopénica (Moccia F. Ann Ital Med Int. abril-junio de 1999;14 (2): 114; Semple JW. *et al.*, Blood 15 de mayo de 1996;87 (10):4245), anemia hemolítica autoinmunitaria (Efremov DG. *et al.*, Leuk Lymphoma enero de 1998;28 (3-4):285; Sallah S. *et al.*, Ann Hematol marzo de 1997;74 (3):139), autoinmunidad cardíaca en la enfermedad de Chagas (Cunha-Neto E. *et al.*, J Clin Invest 15 de octubre de 1996;98 (8):1709) y autoinmunidad anti-linfocitos T auxiliares (Caporossi AP. *et al.*, Viral Immunol 1998; 11 (1):9).

Los ejemplos de enfermedades reumáticas autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a artritis reumatoide (Krenn V. *et al.*, Histol Histopathol julio de 2000;15 (3):791; Tisch R, McDevitt HO. Proc Natl Acad Sci units S A 18 de enero de 1994;91 (2):437) y espondilitis anquilosante (Jan Voswinkel *et al.*, Arthritis Res 2001; 3 (3): 189).

Los ejemplos de enfermedades glandulares autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, enfermedad pancreática, diabetes tipo I, enfermedad de tiroides, enfermedad de Graves, tiroiditis, tiroiditis autoinmunitaria espontánea, tiroiditis de Hashimoto, mixedema idiopático, autoinmunidad ovárica, infertilidad autoinmunitaria anti-espermatozoides, prostatitis autoinmunitaria y síndrome poliglandular autoinmunitario de tipo I. Las enfermedades incluyen, pero no se limitan a enfermedades autoinmunitarias del páncreas, diabetes de tipo 1 (Castano L. y Eisenbarth GS. Ann. Rev. Immunol. 8:647; Zimmet P. Diabetes Res Clin Pract octubre de 1996;34 Suppl:S125), enfermedades autoinmunitarias tiroideas, enfermedad de Graves (Orgiazzi J. Endocrinol Metab Clin North Am junio de 2000;29 (2): 339; Sakata S. *et al.*, Mol Cell Endocrinol marzo de 1993;92 (1):77), tiroiditis autoinmunitaria espontánea (Braley-Mullen H. y Yu S, J Immunol 15 de diciembre de 2000;165 (12):7262), tiroiditis de Hashimoto (Toyoda N. *et al.*, Nippon Rinsho, agosto de 1999;57 (8): 1810), mixedema idiopático (Mitsuma T.Nippon Rinsho. agosto de 1999;57 (8):1759), autoinmunidad ovárica (Garza KM. *et al.*, J Reprod Immunol febrero de 1998;37 (2):87), infertilidad autoinmunitaria anti-espermatozoides (Diekman AB. *et al.*, Am J Reprod Immunol. marzo de 2000;43 (3):134), prostatitis autoinmunitaria (Alexander RB. *et al.*, Urology diciembre de 1997;50 (6):893) y síndrome poliglandular autoinmunitario de tipo I (Hara T. *et al.*, Blood. 1 de marzo de 1991;77 (5):1127).

Los ejemplos de enfermedades gastrointestinales autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, enfermedades intestinales inflamatorias crónicas (García Herola A. *et al.*, Gastroenterol Hepatol. enero de 2000;23 (1):16) enfermedad celíaca (Landau YE. y Shoenfeld Y. Harefuah 16 de enero de 2000;138 (2):122), colitis, ileítis y enfermedad de Crohn.

Los ejemplos de enfermedades cutáneas autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, enfermedades cutáneas ampulosas autoinmunitarias, tales como, pero no se limitan a, pénfigo vulgar, pénfigoide ampuloso y pénfigo foliáceo.

Los ejemplos de enfermedades hepáticas autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, hepatitis, hepatitis activa crónica autoinmunitaria (Franco A. *et al.*, Clin Immunol Immunopathol marzo de 1990;54 (3):382), cirrosis biliar primaria (Jones DE. Clin Sci (Colch) noviembre de 1996;91 (5):551; Strassburg CP. *et al.*, Eur J Gastroenterol Hepatol. junio de 1999;11 (6):595) y hepatitis autoinmunitaria (Manns MP. J Hepatol agosto de 2000;33 (2):326).

Los ejemplos de enfermedades neurológicas autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, esclerosis múltiple (Cross AH. *et al.*, J Neuroimmunol 1 de enero de 2001;112 (1-2):1), enfermedad de Alzheimer (Oron L. *et al.*, J Neural Transm Suppl. 1997;49:77), miastenia grave (Infante AJ. y Kraig E, Int Rev Immunol 1999;18 (1-2):83; Oshima M. *et al.*, Eur J Immunol diciembre de 1990;20 (12):2563), neuropatías, neuropatías motoras (Kornberg AJ. J Clin Neurosci. mayo de

2000;7 (3): 191); síndrome de Guillain-Barre y neuropatías autoinmunitarias (Kusunoki S. Am J Med Sci. abril de 2000;319 (4):234), miastenia, síndrome miasténico de Lambert-Eaton (Takamori M. Am J Med Sci. abril de 2000;319 (4):204); enfermedades neurológicas paraneoplásicas, atrofia cerebelosa, atrofia cerebelosa paraneoplásica y síndrome del hombre rígido (Hiemstra HS. *et al.*, Proc Natl Acad Sci units S A 27 de marzo DE 2001;98 (7):3988);
5 síndrome del hombre rígido no paraneoplásico, atrofas cerebelosas progresivas, encefalitis, encefalitis de Rasmussen, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Sydeham, síndrome de Gilles de la Tourette y poliendocrinopatías autoinmunitarias (Antoine JC. y Honnorat J. Rev Neurol (París) enero de 2000;156 (1):23); neuropatías disimunitarias (Nobile-Orazio E. *et al.*, Electroencephalogr Clin Neurophysiol Supl. 1999;50:419); neuromiotonía adquirida, artrogriposis múltiple congénita (Vincent A. *et al.*, Ann NY Acad Sci. 13 de mayo de 1998;841:482), neuritis, neuritis
10 óptica (Soderstrom M. *et al.*, J Neurol Neurosurg Psychiatry mayo de 1994;57 (5):544) y enfermedades neurodegenerativas.

Los ejemplos de enfermedades musculares autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, miositis, miositis autoinmunitaria y síndrome de Sjogren primario (Feist E. *et al.*, Int Arch Allergy Immunol septiembre de 2000;123 (1):92) y enfermedad autoinmunitaria del músculo liso (Zauli D. *et al.*, Biomed Pharmacother junio de 1999;53 (5-6):234).

Los ejemplos de enfermedades nefríticas autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, nefritis y nefritis intersticial autoinmunitaria (Kelly CJ. J Am Soc Nephrol, agosto de 1990;1 (2):140).

Los ejemplos de enfermedades autoinmunitarias relacionadas con la reproducción incluyen, pero no se limitan a, pérdida fetal repetida (Tincani A. *et al.*, Lupus 1998;7 Supl 2:S 107-9).

Los ejemplos de enfermedades del tejido conjuntivo autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, enfermedades del oído, enfermedades autoinmunitarias del oído (Yoo TJ. *et al.*, Cell Immunol agosto de 1994;157 (1):249) y enfermedades autoinmunitarias del oído interno (Gloddek B. *et al.*, Ann N Y Acad Sci 29 de diciembre de 1997;830:266).

Los ejemplos de enfermedades sistémicas autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a, lupus eritematoso sistémico (Erikson J. *et al.*, Immunol Res 1998;17 (1-2):49) y esclerosis sistémica (Renaudineau Y. *et al.*, Clin Diagn Lab Immunol. marzo de 1999;6 (2):156); Chan OT. *et al.*, Immunol Rev junio de 1999;169:107).

De acuerdo con una realización, la enfermedad autoinmunitaria es enfermedad de Crohn, psoriasis, esclerodermia o artritis reumatoide.

Enfermedades de rechazo de injerto:

Los ejemplos de enfermedades asociadas al trasplante de un injerto incluyen, pero no se limitan a, rechazo de injerto, rechazo crónico de injerto, rechazo subagudo de injerto, rechazo hiperagudo de injerto, rechazo agudo de injerto y enfermedad de injerto contra hospedador.

Enfermedades alérgicas:

Los ejemplos de enfermedades alérgicas incluyen, pero no se limitan a, asma, habones, urticaria, alergia al polen, alergia a los ácaros del polvo, alergia al veneno, alergia a los cosméticos, alergia al látex, alergia química, alergia a fármacos, alergia a las picaduras de insectos, alergia a la caspa animal, alergia a las plantas urticantes, alergia a la hiedra venenosa y alergia alimentaria.

Composiciones farmacéuticas:

Los compuestos descritos en el presente documento de acuerdo con cualquiera de los aspectos de las realizaciones de la invención descritas en el presente documento pueden utilizarse (por ejemplo, administrarse a un sujeto) en sí mismas o en una composición farmacéutica donde el compuesto se mezcla con vehículos o excipientes adecuados.

Como se usa en el presente documento una "composición farmacéutica" se refiere a una preparación de uno o un compuesto de acuerdo con cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento con otros componentes químicos tales como vehículos y excipientes fisiológicamente adecuados. El fin de una composición farmacéutica es facilitar la administración de un compuesto a un organismo.

En lo sucesivo en el presente documento, las frases "vehículo fisiológicamente aceptable" y "vehículo farmacéuticamente aceptable", que pueden usarse indistintamente, se refieren a un vehículo o un diluyente que no provoca irritación significativa a un organismo y no anula la actividad biológica y las propiedades del compuesto administrado. Se incluye un adyuvante bajo estas frases.

En el presente documento el término "excipiente" se refiere a una sustancia inerte añadida a una composición farmacéutica para facilitar adicionalmente la administración de un principio activo. Los ejemplos, sin limitación, de

excipientes incluyen carbonato cálcico, fosfato cálcico, diversos azúcares y tipos de almidón, derivados de celulosa, gelatina, aceites vegetales y polietilenglicoles.

5 Cuando se utiliza en sí mismo o en una composición farmacéuticamente aceptable, el compuesto en sí mismo (es decir, sin incluir, peso de vehículos o excipientes co-formulados con el compuesto, como se describe en el presente documento) es opcionalmente al menos un 80 % puro (en peso seco), opcionalmente al menos un 90 % puro (en peso seco), al menos un 95 % puro (en peso seco), al menos un 98 % puro (en peso seco) y opcionalmente al menos un 99 % puro (en peso seco). Puede mejorarse la pureza, por ejemplo, retirando las impurezas asociadas a la síntesis del compuesto o el aislamiento del compuesto de una fuente natural, mediante cualquier técnica adecuada conocida en la técnica. Como se ejemplifica en el presente documento, las impurezas de un compuesto descrito en el presente documento (por ejemplo, BKT300) pueden debilitar un efecto biológico del compuesto.

Pueden encontrarse técnicas para la formulación y administración de fármacos en "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Co., Easton, PA, última edición.

15 Las vías de administración adecuadas pueden, por ejemplo, incluir administración oral, rectal, transmucosa, especialmente transnasal, intestinal o parenteral, incluyendo inyecciones intramusculares, subcutáneas e intramedulares, así como inyecciones intratecales, intraventriculares directas, intracardiacas, por ejemplo, en la cavidad ventricular derecha o izquierda, en la arteria coronaria común, intravenosas, intraperitoneales, intranasales o intraoculares.

Alternativamente, puede administrarse la composición farmacéutica de una manera local en lugar de sistémica, por ejemplo, mediante inyección de la composición farmacéutica directamente en una región tisular de un paciente.

25 El término "tejido" se refiere a parte de un organismo que consiste en células diseñadas para realizar una función o funciones. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, tejido cerebral, retina, tejido cutáneo, tejido hepático, tejido pancreático, tejido mamario, hueso, cartílago, tejido conectivo, tejido sanguíneo, tejido muscular, tejido cardíaco, tejido cerebral, tejido vascular, tejido renal, tejido pulmonar, tejido gonadal, tejido hematopoyético.

30 Las composiciones farmacéuticas de algunas realizaciones de la invención pueden fabricarse mediante procesos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, por medio de procesos convencionales de mezcla, disolución, granulación, preparación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o procesos de liofilización.

35 Las composiciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con algunas realizaciones de la invención pueden formularse de esta forma de manera convencional usando uno o más vehículos fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y auxiliares, que facilitan el procesamiento de los principios activos en preparaciones que, pueden usarse farmacéuticamente. La formulación adecuada depende de la vía de administración elegida.

40 Para inyección, los principios activos de la composición farmacéutica pueden formularse en soluciones acuosas, preferentemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como solución de Hank, solución de Ringer o tampón salino fisiológico. Para administración transmucosa, se usan en la formulación penetrantes apropiados para la barrera a permear. Dichos penetrantes son generalmente conocidos en la técnica.

45 Para administración oral, la composición farmacéutica puede formularse fácilmente combinando el compuesto activo con vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Tales vehículos permiten que la composición farmacéutica se formule como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, pastas, suspensiones y similares, para la ingesta oral por un paciente. Pueden prepararse preparaciones farmacológicas para su uso oral usando un excipiente sólido, opcionalmente moliendo la mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos, después de añadir auxiliares adecuados si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Son excipientes adecuados, en particular, cargas tales como azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma de tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica; y/o polímeros fisiológicamente aceptables tales como polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, pueden añadirse agentes disgregantes, tales como polivinilpirrolidona reticulada, agar o ácido algínico o una sal de los mismos tales como alginato sódico.

50 Los núcleos de grageas se proporcionan con recubrimientos adecuados. Para este fin, pueden usarse soluciones concentradas de azúcar que opcionalmente pueden contener goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, gel de carbopol, polietilenglicol, dióxido de titanio, soluciones de laca y disolventes orgánicos o mezclas de disolventes adecuados. Pueden añadirse colorantes o pigmentos a los comprimidos o recubrimientos de grageas para la identificación o para caracterizar distintas combinaciones de dosis de compuestos activos.

65 Las composiciones farmacéuticas que pueden usarse por vía oral incluyen cápsulas de ajuste rápido hechas de gelatina, así como cápsulas blandas, cápsulas selladas hechas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas de ajuste por presión pueden contener los principios activos en mezcla con una carga tal como lactosa, aglutinantes tales como almidones, lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente,

estabilizantes. En las cápsulas blandas, los principios activos pueden disolverse o suspenderse en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicoles líquidos. Además, pueden añadirse estabilizantes. Todas las formulaciones para administración oral deben estar en dosificaciones adecuadas para la vía de administración elegida.

Para la administración bucal, las composiciones pueden tomar la forma de comprimidos o grageas formulados de forma convencional.

Para la administración mediante inhalación nasal, los principios activos para su uso de acuerdo con algunas realizaciones de la invención se suministran convenientemente en forma de una presentación de pulverización en aerosol de un envase presurizado o un nebulizador con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano o dióxido de carbono. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para suministrar una cantidad medida. Las cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina, para su uso en un dosificador pueden formularse conteniendo una mezcla de polvo del compuesto activo y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

La composición farmacéutica descrita en el presente documento puede formularse para administración parenteral, por ejemplo, por inyección en bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma farmacéutica unitaria, por ejemplo, en ampollas o en recipientes multidosis con, opcionalmente, un conservante añadido. Las composiciones pueden ser suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleaginosos o acuosos y pueden comprender agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes.

Las composiciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de la preparación de principio activo en forma hidrosoluble. Adicionalmente, pueden prepararse suspensiones de los principios activos como suspensiones para inyección de base oleaginosa o acuosa apropiadas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo o ésteres de ácidos grasos sintéticos tales como oleato de etilo, triglicéridos o liposomas. Las suspensiones de inyección acuosas pueden contener sustancias, que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa sódica, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes o agentes adecuados que aumenten la solubilidad de los principios activos para permitir la preparación de soluciones altamente concentradas.

Alternativamente, el principio activo puede estar en forma de polvo para constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, solución basada en agua estéril, apirógena, antes de su uso.

La composición farmacéutica de algunas realizaciones de la invención también puede formularse en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, usando, por ejemplo, bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para su uso en el contexto de algunas realizaciones de la invención incluyen composiciones en donde los principios activos están contenidos en una cantidad eficaz para lograr el fin pretendido. Más específicamente, una cantidad terapéuticamente eficaz significa una cantidad del principio o principios activos eficaz para prevenir, aliviar o mejorar síntomas de un trastorno (por ejemplo, cáncer o cáncer metastásico) o prolongar la supervivencia del sujeto que se trate.

La determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz se encuentra dentro de la capacidad de los expertos en la materia, especialmente a la luz de la divulgación detallada proporcionada en el presente documento.

Para cualquier preparación usada en los métodos que no son parte de la invención, la cantidad o dosis terapéuticamente eficaz puede estimarse inicialmente a partir de ensayos de cultivo *in vitro* y celulares. Por ejemplo, puede formularse una dosis en modelos animales para conseguir una concentración o un título deseado. Dicha información puede usarse para determinar de forma más precisa las dosis útiles en seres humanos.

La toxicidad y la eficacia terapéutica de los principios activos descritos en el presente documento pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos convencionales *in vitro*, en cultivos celulares o animales experimentales. Los datos obtenidos de estos ensayos *in vitro* y de cultivo celular y estudios animales pueden usarse en la formulación de un intervalo de dosificación para su uso en el ser humano. La dosificación puede variar dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada. La formulación exacta, la vía de administración y la dosificación pueden seleccionarse por el médico individual a la vista del estado del paciente (véase, por ejemplo, Fingl *et al.* (1975), en "The Pharmacological Basis of Therapeutics", C. 1 pág. 1).

La cantidad y el intervalo de la dosis pueden ajustarse individualmente para proporcionar niveles inhibitorios de proteínas (por ejemplo, MCP-1, SDF-1 y/o CXCR4) del principio activo que son suficientes para inducir o suprimir el efecto biológico (concentración eficaz mínima, CEM). La CEM variará para cada preparación, pero puede estimarse a partir de datos *in vitro*, por ejemplo, basándose en los resultados del ensayo de inhibición de la migración inducida por quimiocinas (por ejemplo, inducida por MCP-1 y/o SDF-1) descrito en el presente documento. Las dosificaciones necesarias para lograr la CEM dependerán de las características individuales y de la vía de administración. Pueden

usarse ensayos de detección para determinar las concentraciones plasmáticas.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una cantidad eficaz del compuesto es menos de 100 μM . En algunas realizaciones, una cantidad eficaz es menos de 10 μM . En algunas realizaciones, una cantidad eficaz es menos de 5 μM . En algunas realizaciones, una cantidad eficaz es menos de 2,5 μM .

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una cantidad eficaz es al menos el 100 % de la CI50 del compuesto hacia una quimiocina que se pretende inhibir (por ejemplo, MCP-1 y/o SDF-1). En algunas realizaciones, una cantidad eficaz es al menos el 200 % de la CI50 del compuesto hacia la quimiocina. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz es al menos el 300 % de la CI50 del compuesto hacia la quimiocina. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz es al menos el 500 % de la CI50 del compuesto hacia la quimiocina. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz es al menos el 1000 % de la CI50 del compuesto hacia la quimiocina.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una cantidad eficaz es al menos el 100 % de la CI50 del compuesto hacia la inducción de la muerte celular de las células cancerosas a inhibir. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz es al menos el 200 % de la CI50 del compuesto hacia las células cancerosas. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz es al menos el 300 % de la CI50 del compuesto hacia las células cancerosas.

Dependiendo de la gravedad y el grado de respuesta de la afección a tratar, la dosificación puede ser de una única administración o una pluralidad de administraciones, durando el ciclo de tratamiento de varios días a varias semanas o hasta que se efectúe la curación o se logre la disminución de la patología.

La cantidad de una composición a administrar será, por supuesto, dependiente del sujeto que se esté tratando, la gravedad de la afección, la forma de administración, el criterio del médico que la receta, etc.

Las composiciones de algunas realizaciones de la invención pueden, si se desea, presentarse en un envase o dispositivo dosificador, tal como un kit aprobado por la FDA, que puede contener una o más formas de dosificación unitarias que contienen el principio activo. El envase puede, por ejemplo, comprender papel metálico o de plástico, tal como un envase de tipo blíster. El envase o dispositivo dosificador puede estar acompañado de instrucciones para la administración. El envase o dosificador también puede estar acompañado de una nota asociada con el recipiente en una forma prescrita por un organismo público que regule la fabricación, el uso o la venta de productos farmacéuticos, reflejando dicha nota la aprobación por parte del organismo de la forma de las composiciones o la administración humana o veterinaria. Dicha nota, por ejemplo, puede ser un etiquetado aprobado por la Food and Drug Administration de EE. UU. para fármacos con receta o de un prospecto de producto aprobado. También pueden prepararse composiciones que comprenden una preparación de la invención formulada en un vehículo farmacéutico compatible, colocarse en un recipiente adecuado y marcarse para el tratamiento de una afección indicada, como se detalla además en el presente documento.

Se apreciará que los compuestos descritos en el presente documento pueden proporcionarse solos o en combinación con otros principios activos, que son bien conocidos en la técnica para aliviar la afección médica.

Por lo tanto, por ejemplo, el compuesto puede administrarse con un inmunomodulador, ya sea juntos en una coformulación o en formulaciones separadas.

De acuerdo con una realización específica, el tratamiento del cáncer (y otros trastornos hiperproliferativos) se efectúa en combinación con un agente inmunomodulador anti-cáncer.

Como se usa en el presente documento, la frase "agente inmunomodulador anti-cáncer" se refiere a un agente capaz de provocar una respuesta inmunitaria (por ejemplo, linfocito T, linfocito NK) contra una célula cancerosa.

De acuerdo con una realización específica, el agente se selecciona del grupo que consiste en un antígeno de cáncer, una vacuna contra el cáncer, un anticuerpo anti-cáncer, una citocina capaz de inducir la activación y/o proliferación de una célula T y un regulador del punto de control inmunitario.

Alternativa o adicionalmente, dichos moduladores pueden ser estimuladores inmunitarios tales como reguladores de puntos de control inmunitario que tienen un valor específico en el tratamiento del cáncer.

Como se usa en el presente documento la frase "regulador del punto de control inmunitario" se refiere a una molécula que modula la actividad de una o más proteínas del punto de control inmunitario de una manera agonista o antagonista dando como resultado la activación de una célula inmunitaria.

Como se usa en el presente documento la frase "proteína de punto de control inmunitario" se refiere a una proteína que regula la activación o función de una célula inmunitaria. Las proteínas de punto de control inmunitario pueden ser

proteínas co-estimuladoras (es decir, que transmiten una señal estimulante que da como resultado la activación de una célula inmunitaria) o proteínas inhibitoras (es decir, que transmiten una señal inhibitora que da como resultado la supresión de la actividad de una célula inmunitaria). De acuerdo con una realización específica, la proteína del punto de control inmunitario regula la activación o función de una célula T. Se conocen en la técnica numerosas proteínas de puntos de control e incluyen, pero no limitadas a, PD1, PDL-1, B7H2, B7H4, CTLA-4, CD80, CD86, LAG-3, TIM-3, KIR, IDO, CD19, OX40, 4-1BB (CD137), CD27, CD70, CD40, GITR, CD28 e ICOS (CD278).

De acuerdo con realizaciones específicas, el regulador del punto de control inmunitario se selecciona del grupo que consiste en anti-CTLA4, anti-PD-1 y agonista de CD40.

De acuerdo con realizaciones específicas, el regulador del punto de control inmunitario se selecciona del grupo que consiste en anti-CTLA4, anti-PD-1, anti-PDL-1, agonista de CD40, agonista de 4-1BB, agonista de GITR y agonista de OX40.

CTLA4 es un miembro de la superfamilia de inmunoglobulinas, que se expresa en la superficie de linfocitos T auxiliares y transmite una señal inhibitora a los linfocitos T al unirse al ligando. Como se usa en el presente documento, el término "anti-CTLA4" se refiere a una molécula antagonista que se une a CTLA4 (CD152) y suprime su actividad supresora. Por lo tanto, un anti-CTLA4 previene la transmisión de la señal inhibitora y por lo tanto actúa como una molécula co-estimuladora. De acuerdo con una realización específica, la molécula anti-CDLA4 es un anticuerpo.

PD-1 (Muerte programada 1) es un miembro de la familia extendida CD28/CTLA-4 de reguladores de linfocitos T que se expresa en la superficie de linfocitos T activados, linfocitos B y macrófagos y transmite una señal inhibitora tras la unión del ligando. Como se usa en el presente documento, el término "anti-PD1" se refiere a una molécula antagonista que se une a PD-1 y suprime su actividad supresora. Por lo tanto, un anti-PD-1 previene la transmisión de la señal inhibitora y por lo tanto actúa como una molécula coestimuladora. De acuerdo con una realización específica, la molécula anti-PD1 es un anticuerpo. Se conocen en la técnica numerosos anticuerpos anti-PD-1, véase, por ejemplo, Topalian, *et al.* NEJM 2012.

PDL-1 es un ligando de PD-1. La unión de PDL-1 a su receptor PD-1 transmite una señal inhibitora a la célula que expresa PD-1. Como se usa en el presente documento, el término "anti-PDL-1" se refiere a una molécula antagonista que inhibe la señalización de PD-1 uniéndose o inhibiendo que PD-L1 se una a y/o active PD-1. Por lo tanto, un anti-PD-1 previene la transmisión de la señal inhibitora y por lo tanto actúa como una molécula co-estimuladora. De acuerdo con realizaciones específicas, el anti-PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-L1. Se conocen en la técnica numerosos anticuerpos anti-PDL-1, véase, por ejemplo, Brahmer, *et al.* NEJM 2012.

CD40 (CD154) es un receptor co-estimulador que se encuentra en las células presentadoras de antígeno y transmite una señal de activación al unirse al ligando. Como se usa en el presente documento, la frase "agonista de CD40" se refiere a una molécula agonista que se une a CD40 (CD154) y de ese modo induce la activación de la célula presentadora de antígeno.

OX40 pertenece a la superfamilia de receptores de TNF y conduce a la expansión de las células T CD4+ y CD8+. Como se usa en el presente documento, la frase "agonista de OX40" se refiere a una molécula agonista que se une a y activa OX40.

GITR (receptor del factor de necrosis tumoral inducido por glucocorticoides) es una molécula receptora de superficie que se ha demostrado que participa en la inhibición de la actividad supresora de las células T reguladoras y en la extensión de la supervivencia de las células T efectoras. Como se usa en el presente documento, la frase "agonista de GITR" se refiere a una molécula agonista que se une a y activa GITR. De acuerdo con una realización específica, el agonista de GITR es un anticuerpo.

De acuerdo con otro aspecto descrito en el presente documento, se proporciona un kit para el tratamiento de una afección (por ejemplo, tratamiento de cáncer o prevención de metástasis tumoral o tratamiento de enfermedad proliferativa no cancerosa o trastorno o tratamiento de inflamación) descrito en el presente documento, comprendiendo el kit un material de envasado que envuelve el compuesto descrito en el presente documento.

En algunas realizaciones, el compuesto se identifica como un inhibidor de una actividad de SDF-1 y/o CXCR4 asociada a la aparición o progresión de la afección, como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones, el compuesto se identifica como un inhibidor de una actividad quinasa asociada a la aparición o progresión de la afección, como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones, el compuesto se identifica como que induce apoptosis y/o detiene el crecimiento celular de las células asociadas a la afección, como se describe en el presente documento.

Definiciones:

Como se usa en el presente documento, el término "tratar" incluye anular, inhibir sustancialmente, ralentizar o invertir la progresión de una afección, mejorar sustancialmente los síntomas clínicos o estéticos de una afección o prevenir sustancialmente la aparición de síntomas clínicos o estéticos de una afección. Por ejemplo, en el contexto de la prevención de metástasis y/o angiogénesis, el término "prevenir" se refiere a arrestar, detener, inhibir el proceso metastásico y/o angiogénético o la progresión y la metástasis y/o angiogénesis posteriores.

Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a un mamífero (por ejemplo, un ser humano), por ejemplo, alguien que ha sido diagnosticado con una afección descrita en el presente documento (por ejemplo, cáncer).

Las expresiones "comprende", "que comprende", "incluye", "que incluye", "que tiene" y sus conjugaciones significan "que incluye pero no se limita a".

La expresión "que consiste en" significa "que incluye y se limita a".

La frase "que consiste esencialmente en" significa que la composición o estructura puede incluir ingredientes, etapas y/o partes adicionales, pero solo si los ingredientes, etapas y/o partes adicionales no alteran materialmente las características básicas y novedosas de la composición o estructura reivindicada.

Como se usa en el presente documento, la forma singular "un", "una", "el" y "la" incluyen las referencias en plural a menos que el contexto indique claramente otra cosa. Por ejemplo, la expresión "un compuesto" o "al menos un compuesto" puede incluir una pluralidad de compuestos, incluyendo mezclas de los mismos.

A lo largo de la presente solicitud, pueden presentarse diversas realizaciones de la presente invención en un formato de intervalo. Debe comprenderse que la descripción en formato de intervalo es meramente por conveniencia y brevedad, y no debe interpretarse como una limitación inflexible del alcance de la invención. En consecuencia, debe considerarse que la descripción de un intervalo ha desvelado específicamente todos los subintervalos posibles, así como los valores numéricos individuales dentro de ese intervalo. Por ejemplo, debe considerarse que la descripción de un intervalo tal como de 1 a 6 ha desvelado específicamente subintervalos tales como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 4, de 2 a 6, de 3 a 6 etc., así como números individuales dentro de ese intervalo, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Esto se aplica independientemente de la amplitud del intervalo.

Siempre que se indique un intervalo numérico en el presente documento, se pretende incluir cualquier número citado (fraccionario o entero) dentro del intervalo indicado. Las frases "que varía/varía entre" un primer número indicado y un segundo número indicado y "que varía/varía de" un primer número indicado "a" un segundo número indicado se usan indistintamente en el presente documento y se pretende que incluyan los números indicados primero y segundo, y todos los números fraccionarios y enteros entre ellos.

Como se usa en el presente documento, el término "método" se refiere a maneras, medios, técnicas y procedimientos para realizar una tarea dada, incluyendo, pero no limitadas a, esas maneras, medios, técnicas y procedimientos conocidos o desarrollados fácilmente a partir de maneras, medios, técnicas y procedimientos conocidos por profesionales de la técnica química, farmacológica, biológica, bioquímica y médica.

Durante todo el presente documento, la frase "grupo de enlace" describe un grupo (un sustituyente) que está unido a otro resto en el compuesto a través de dos o más átomos del mismo. Con el fin de diferenciar un grupo de enlace de un sustituyente que está unido a otro resto del compuesto mediante un átomo del mismo, este último se denominará en el presente documento y en todo el documento como "grupo terminal".

Como se usa en el presente documento, el término "amina" describe tanto un grupo terminal -NR'R" como un grupo de enlace -NR'-, en donde R' y R" cada uno es independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, arilo, como estos términos se definen a continuación.

Por lo tanto, el grupo amina puede ser una amina primaria, en donde tanto R' como R" son hidrógeno, una amina secundaria, en donde R' es hidrógeno y R" es alquilo, cicloalquilo o arilo, o una amina terciaria, en donde cada uno de R' y R" es independientemente alquilo, cicloalquilo o arilo.

Como alternativa, R' y R" pueden ser, cada uno independientemente, hidroxialquilo, trihaloalquilo, cicloalquilo, alquenoilo, alquinoilo, arilo, heteroarilo, heterocíclico, amina, haluro, sulfonato, sulfóxido, fosfonato, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, ciano, nitro, azo, sulfonamida, carbonilo, C-carboxilato, O-carboxilato, N-tiocarbamato, O-tiocarbamato, urea, tiourea, N-carbamato, O-carbamato, C-amida, N-amida, guanilo, guanidina e hidrazina.

El término "amina" se usa en el presente documento para describir un grupo -NR'R" en los casos en donde la amina es un grupo terminal, como se define a continuación, y se usa en el presente documento para describir un grupo -NR'- en los casos en donde la amina es o forma parte de un grupo de enlace.

El término "alquilo" describe un hidrocarburo alifático saturado que incluye grupos de cadena lineal y de cadena ramificada. Preferentemente, el grupo alquilo tiene de 1 a 20 átomos de carbono. Siempre que sea un intervalo numérico; por ejemplo, "1-20", como se indica en el presente documento, implica que el grupo, en este caso el grupo alquilo, puede contener 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, etc., hasta 20 átomos de carbono inclusive. En algunas realizaciones, el alquilo es un alquilo de tamaño medio que tiene de 1 a 10 átomos de carbono. A menos que se indique otra cosa, el alquilo es un alquilo inferior que tiene de 1 a 4 átomos de carbono. En algunas realizaciones, el alquilo tiene al menos 4 átomos de carbono, por ejemplo, el alquilo tiene de 4 a 12 o de 4 a 10 o de 4 a 8 átomos de carbono. El grupo alquilo puede estar sustituido o no sustituido. El alquilo sustituido puede tener uno o más sustituyentes, por lo que cada grupo sustituyente puede ser independientemente, por ejemplo, hidroxialquilo, trihaloalquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, amina, haluro, sulfinato, sulfato, sulfonato, sulfóxido, fosfonato, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, oxo, carbonilo, ciano, nitro, azo, sulfonamida, C-carboxilato, O-carboxilato, N-tiocarbamato, O-tiocarbamato, urea, tiourea, N-carbamato, O-carbamato, C-amida, N-amida, guanilo, guanidina e hidrazina.

El grupo alquilo puede ser un grupo terminal, como esta frase se define en el presente documento anteriormente, en donde está unido a un solo átomo adyacente, o un grupo de enlace, como esta frase se define en el presente documento anteriormente, que conecta dos o más restos mediante al menos dos carbonos en su cadena. Cuando un alquilo es un grupo de enlace, también se denomina en el presente documento "alquilenilo", por ejemplo, metileno, etileno, propileno, etc.

El término "alqueno" describe un alquilo, como se define en el presente documento, en el cual al menos un par de átomos de carbono están unidos entre sí mediante un doble enlace.

El término "alquino" o "alquino" describe un alquilo, como se define en el presente documento, en el cual al menos un par de átomos de carbono están unidos entre sí mediante un triple enlace.

El término cicloalquilo describe un grupo de anillo condensado o monocíclico de carbono (es decir, anillos que comparten un par adyacente de átomos de carbono) en donde uno o más de los anillos no tiene un sistema de electrones pi completamente conjugado. El grupo cicloalquilo puede estar sustituido o sin sustituir. El cicloalquilo sustituido puede tener uno o más sustituyentes, por lo que cada grupo sustituyente puede ser independientemente, por ejemplo, hidroxialquilo, trihaloalquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, amina, haluro, sulfinato, sulfato, sulfonato, sulfóxido, fosfonato, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, oxo, carbonilo, ciano, nitro, azo, sulfonamida, C-carboxilato, O-carboxilato, N-tiocarbamato, O-tiocarbamato, urea, tiourea, N-carbamato, O-carbamato, C-amida, N-amida, guanilo, guanidina e hidrazina. El grupo cicloalquilo puede ser un grupo terminal, como esta frase se define en el presente documento anteriormente, en donde está unido a un solo átomo adyacente, o un grupo de enlace, como esta frase se define en el presente documento anteriormente, conectando dos o más restos en dos o más posiciones del mismo.

El término "heteroalíclico" describe un grupo de anillo monocíclico o condensado que tiene en el anillo o anillos, uno o más átomos, tales como nitrógeno, oxígeno y azufre. Los anillos también pueden tener uno o más dobles enlaces. Sin embargo, los anillos no tienen un sistema de electrones pi completamente conjugado. El heteroalíclico puede estar sustituido o sin sustituir. El heteroalíclico sustituido puede tener uno o más sustituyentes, por lo que cada grupo sustituyente puede ser independientemente, por ejemplo, hidroxialquilo, trihaloalquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, amina, haluro, sulfinato, sulfato, sulfonato, sulfóxido, fosfonato, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, oxo, carbonilo, ciano, nitro, azo, sulfonamida, C-carboxilato, O-carboxilato, N-tiocarbamato, O-tiocarbamato, urea, tiourea, O-carbamato, N-carbamato, C-amida, N-amida, guanilo, guanidina e hidrazina. El grupo heteroalíclico puede ser un grupo terminal, como esta frase se define en el presente documento anteriormente, en donde está unido a un solo átomo adyacente, o un grupo de enlace, como esta frase se define en el presente documento anteriormente, conectando dos o más restos en dos o más posiciones del mismo. Los ejemplos representativos son piperidina, piperazina, tetrahidrofurano, tetrahidropirano, morfolino y similares.

El término "arilo" describe grupos monocíclicos o policíclicos de anillo condensado (es decir, anillos que comparten pares adyacentes de átomos de carbono) que tienen un sistema de electrones pi completamente conjugado. El grupo arilo puede estar sustituido o sin sustituido o sin sustituir. El arilo sustituido puede tener uno o más sustituyentes, por lo que cada grupo sustituyente puede ser independientemente, por ejemplo, hidroxialquilo, trihaloalquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, amina, haluro, sulfinato, sulfato, sulfonato, sulfóxido, fosfonato, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, ciano, nitro, azo, sulfonamida, C-carboxilato, O-carboxilato, N-tiocarbamato, O-tiocarbamato, urea, tiourea, N-carbamato, O-carbamato, C-amida, N-amida, guanilo, guanidina e hidrazina. El grupo arilo puede ser un grupo terminal, como este término define en el presente documento anteriormente, en donde está unido a un solo átomo adyacente, o un grupo de enlace, como este término define en el presente documento anteriormente, conectando dos o más restos en dos o más posiciones del mismo. Preferentemente, el arilo es fenilo. Opcionalmente, el arilo es naftalenilo.

El término "heteroarilo" describe un grupo de anillo monocíclico o condensado (es decir, anillos que comparten un par de átomos adyacentes) que tiene en el anillo o anillos, uno o más átomos, tales como, por ejemplo, nitrógeno, oxígeno y azufre y, además, que tiene un sistema de electrones pi completamente conjugado. Los ejemplos, sin limitación, de

- grupos heteroarilo incluyen pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, pirazol, piridina, pirimidina, triazina, tetrazina, quinolina, isoquinolina y purina. El grupo heteroarilo puede estar sustituido o sin sustituir. El heteroarilo sustituido puede tener uno o más sustituyentes, por lo que cada grupo sustituyente puede ser independientemente, por ejemplo,
- 5 sulfato, sulfonato, sulfóxido, fosfonato, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, ciano, nitro, azo, sulfonamida, C-carboxilato, O-carboxilato, N-tiocarbamato, O-tiocarbamato, urea, tiourea, O-carbamato, N-carbamato, C-amida, N-amida, guanilo, guanidina e hidrazina. El grupo heteroarilo puede ser un grupo terminal, como esta frase se define en el presente documento anteriormente, en donde está unido a un solo átomo adyacente, o un grupo de enlace, como esta frase se define en el presente documento anteriormente, conectando dos o más restos en dos o
- 10 más posiciones del mismo.
- El término "alcarilo" describe un alquilo, como se define en el presente documento, el cual está sustituido con uno o más grupos arilo o heteroarilo. Un ejemplo de alcarilo es bencilo.
- 15 El término "haluro" y "halo" describe flúor, cloro, bromo o yodo.
- El término "haloalquilo" describe un grupo alquilo como se definió anteriormente, además sustituido con uno o más haluros.
- 20 El término "sulfato" describe un grupo terminal $-O-S(=O)_2-OR'$, como se define este término en el presente documento anteriormente, o un grupo de enlace $-OS(=O)_2-O-$, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, en donde R' es como se ha definido en el presente documento anteriormente.
- 25 El término "tiosulfato" describe un grupo terminal $-OS(=S)(=O)-OR'$ o un grupo de enlace $-OS(=S)(=O)-O-$, como se definen estas frases en el presente documento anteriormente, en donde R' es como se define en el presente documento anteriormente.
- El término "sulfito" describe un grupo terminal $-O-S(=O)-O-R'$ o un grupo de enlace $-O-S(=O)-O-$, como se definen estas frases en el presente documento anteriormente, en donde R' es como se define en el presente documento anteriormente.
- 30 El término "tiosulfito" describe un grupo terminal $-O-S(=S)-O-R'$ o un grupo de enlace de grupo $-O-S(=S)-O-$, como se definen estas frases en el presente documento anteriormente, en donde R' es como se define en el presente documento anteriormente.
- 35 El término "sulfonato" o "sulfonilo" describe un grupo terminal $-OS(=S)(=O)-OR'$ o un grupo de enlace $-S(=O)-O-$, como se definen estas frases en el presente documento anteriormente, en donde R' es como se define en el presente documento anteriormente.
- 40 El término "sulfóxido" describe un grupo terminal $-S(=O)R'$ o un grupo de enlace $-S(=O)-$, como se definen estas frases en el presente documento anteriormente, en donde R' es como se define en el presente documento anteriormente.
- 45 El término "sulfonato" o "sulfonilo" describe un grupo terminal $-S(=O)_2-OR'$ (también denominado en el presente documento como $-SO_3R'$ o $-SO_3H$) o un grupo de enlace $-OS(=O)_2-$, como se definen estas frases en el presente documento anteriormente, en donde R' es como se define en el presente documento.
- El término "S-sulfonamida" describe un grupo terminal $-S(=O)_2-NR'R''$ o un grupo de enlace $-S(=O)_2-NR'-$, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, con R' y R'' como se define en el presente documento.
- 50 El término "N-sulfonamida" describe un grupo terminal $R'S(=O)_2-NR''$ o un grupo de enlace $-S(=O)_2-NR'-$, como se definen estas frases en el presente documento anteriormente, en donde R' y R'' son como se definen en el presente documento.
- 55 El término "disulfuro" se refiere a un grupo terminal $-S-SR'$ o un grupo de enlace $-S-S-$, como se definen estas frases en el presente documento anteriormente, en donde R' es como se define en el presente documento.
- El término "fosfonato" describe un grupo terminal $-P(=O)(OR')(OR'')$ o un grupo de enlace $-P(=O)(OR')(O)-$, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, con R' y R'' como se definen en el presente documento.
- 60 El término "tiofosfonato" describe un grupo terminal $-P(=S)(OR')(OR'')$ o un grupo de enlace $-P(=S)(OR')(O)-$, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, con R' y R'' como se definen en el presente documento.
- 65 El término "carbonilo" o "carbonato" o "cetona" como se usa en el presente documento, describe un grupo terminal $-C(=O)-R'$ o un grupo de enlace $-C(=O)-$, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, con R' como se define en el presente documento.

El término "tiocarbonilo" como se usa en el presente documento, describe un grupo terminal $-C(=S)-R'$ o un grupo de enlace $-C(=S)-$, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, con R' como se define en el presente documento. El término "oxo" como se usa en el presente documento, describe un grupo terminal $=O$.

El término "tiooxo", como se usa en el presente documento, describe un grupo terminal $=S$.

El término "oxima" describe un grupo terminal $=N-OH$ o un grupo de enlace $=N-O-$, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente.

El término "hidroxilo" o "hidroxi" describe un grupo $-OH$.

El término "alcoxi" describe tanto un grupo $-O$ -alquilo como un grupo $-O$ -cicloalquilo, como se define en el presente documento.

El término "ariloxi" describe tanto un grupo $-O$ -arilo como un grupo $-O$ -heteroarilo, como se define en el presente documento.

El término "tiohidroxi" o "tio" describe un grupo $-SH$.

El término "tioalcoxi" describe tanto un grupo $-S$ -alquilo como un grupo $-S$ -cicloalquilo, como se define en el presente documento.

El término "tioariloxi" describe tanto un grupo $-S$ -arilo como un grupo $-S$ -heteroarilo, como se define en el presente documento.

El término "ciano" o "nitrilo" describe un grupo $-C\equiv N$.

El término "isocianato" describe un grupo $-N=C=O$.

El término "nitro" describe un grupo $-NO_2$.

El término "carboxilato" como se usa en el presente documento, abarca C-carboxilato y O-carboxilato.

El término "C-carboxilato" describe un grupo terminal $-C(=O)-OR'$ o un grupo de enlace $-C(=O)-O-$, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, en donde R' es como se define en el presente documento.

El término "O-carboxilato" describe un grupo terminal $-OC(=O)R'$ o un grupo de enlace $-OC(=O)-$, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, en donde R' es como se define en el presente documento.

El término "tiocarboxilato" como se usa en el presente documento, abarca "C-tiocarboxilato y O-tiocarboxilato.

El término "C-tiocarboxilato" describe un grupo terminal $-C(=S)-OR'$ o un grupo de enlace $-C(=S)-O-$, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, en donde R' es como se define en el presente documento.

El término "O-tiocarboxilato" describe un grupo terminal $-OC(=S)R'$ o un grupo de enlace $-OC(=S)-$, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, en donde R' es como se define en el presente documento.

El término "carbamato" como se usa en el presente documento, abarca N-carbamato y O-carbamato.

El término "N-carbamato" describe un grupo terminal $R''OC(=O)-NR'$ o un grupo de enlace $-OC(=O)-NR'$, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, con R' y R'' como se definen en el presente documento.

El término "O-carbamato" describe un grupo terminal $-OC(=O)-NR'R''$ o un grupo de enlace $-OC(=O)-NR'$, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, con R' y R'' como se definen en el presente documento.

El término "tiocarbamato" como se usa en el presente documento, abarca N-tiocarbamato y O-tiocarbamato.

El término "O-tiocarbamato" describe un grupo terminal $-OC(=S)-NR'R''$ o un grupo de enlace $-OC(=S)-NR'$, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, con R' y R'' como se definen en el presente documento.

El término "N-tiocarbamato" describe un grupo terminal $R''OC(=S)NR'$ o un grupo de enlace $-OC(=S)NR'$, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, con R' y R'' como se definen en el presente documento.

El término "ditiocarbamato" como se usa en el presente documento, abarca N-ditiocarbamato y S-ditiocarbamato.

- El término "S-ditiocarbamato" describe un grupo terminal $-SC(=S)-NR'R''$ o un grupo de enlace $-SC(=S)NR'$ -, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, con R' y R'' como se definen en el presente documento.
- 5 El término "N-ditiocarbamato" describe un grupo terminal $R''SC(=S)NR'$ - o un grupo de enlace a $-SC(=S)NR'$ -, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, con R' y R'' como se definen en el presente documento.
- 10 El término "urea", el cual también se denomina en el presente documento como "ureido", describe un grupo terminal $-NR'C(=O)-NR''R'''$ o un grupo de enlace $-NR'C(=O)-NR''$ -, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, en donde R' y R'' son como se definen en el presente documento y R''' es como se define en el presente documento para R' y R''.
- 15 El término "tiourea", el cual también se denomina en el presente documento como "tioureido", describe un grupo terminal $-NR'-C(=S)-NR''R'''$ o un grupo de enlace $-NR'-C(=S)-NR''$ -, con R', R'' y R''' como se definen en el presente documento.
- 20 El término "amida" como se usa en el presente documento, abarca C-amida y N-amida.
- El término "C-amida" describe un grupo terminal $-C(=O)-NR'R''$ o un grupo de enlace $-C(=O)-NR'$ -, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, en donde R' y R'' son como se definen en el presente documento.
- 25 El término "N-amida" describe un grupo terminal $R'C(=O)-NR''$ - o un grupo de enlace $R'C(=O)-N$ -, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, en donde R' y R'' son como se definen en el presente documento.
- El término "guanilo" describe un grupo terminal $R'R''NC(=N)$ - o un grupo de enlace $-R'NC(=N)$ -, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, en donde R' y R'' son como se definen en el presente documento.
- 30 El término "guanidina" describe un grupo terminal $-R'NC(=N)-NR''R'''$ o un grupo de enlace $-R'NC(=N)-NR''$ -, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, en donde R', R'' y R''' son como se definen en el presente documento.
- 35 El término "hidrazina" describe un grupo terminal $-NR'-NR''R'''$ o un grupo de enlace $-NR'-NR''$ -, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, con R', R'' y R''' como se definen en el presente documento.
- Como se usa en el presente documento, el término "hidrazida" describe un grupo terminal $-C(=O)-NR'-NR''R'''$ o un grupo de enlace $-C(=O)-NR'-NR''$ -, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, en donde R', R'' y R''' son como se definen en el presente documento.
- 40 Como se usa en el presente documento, el término "tiohidrazida" describe un grupo terminal $-C(=S)-NR'-NR''R'''$ o un grupo de enlace $-C(=S)-NR'-NR''$ -, como estas frases se definen en el presente documento anteriormente, en donde R', R'' y R''' son como se definen en el presente documento.
- 45 Para cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el compuesto descrito en el presente documento puede estar en forma de una sal del mismo, por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y/o en forma de un profármaco del mismo.
- 50 Como se usa en el presente documento, la frase "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una especie cargada del compuesto original y su contraión, que se usa típicamente para modificar las características de solubilidad del compuesto original y/o para reducir cualquier irritación significativa en un organismo por el compuesto original, sin anular la actividad biológica y las propiedades del compuesto administrado.
- 55 En el contexto de algunas de las presentes realizaciones, una sal farmacéuticamente aceptable de los compuestos descritos en el presente documento puede ser opcionalmente una sal de adición de base que comprende al menos un grupo ácido (por ejemplo, fenol y/o ácido carboxílico) del compuesto que está en forma negativa. forma cargada (por ejemplo, en donde el grupo ácido está desprotonado), en combinación con al menos un contraión, obtenido a partir de la base seleccionada, que forma una sal farmacéuticamente aceptable.
- 60 Por tanto, las sales de adición de base de los compuestos descritos en el presente documento pueden ser complejos formados entre uno o más grupos ácidos del fármaco y uno o más equivalentes de una base.
- 65 Las sales de adición de bases pueden incluir una variedad de contraiones y bases orgánicos e inorgánicos, tales como, pero sin limitación, sodio (por ejemplo, mediante la adición de NaOH), potasio (por ejemplo, mediante la adición de KOH), calcio (por ejemplo, mediante la adición de $Ca(OH)_2$), magnesio (por ejemplo, mediante la adición de $Mg(OH)_2$), aluminio (por ejemplo, mediante la adición de $Al(OH)_3$) y amonio (por ejemplo, mediante la adición de

amoniaco). Cada una de estas sales de adición de ácido puede ser una sal de adición única o una sal de adición múltiple, como se definen estos términos en el presente documento.

En el contexto de algunas de las presentes realizaciones, una sal farmacéuticamente aceptable de los compuestos descritos en el presente documento puede ser opcionalmente una sal de adición de ácido que comprende al menos un grupo base (por ejemplo, grupo amina o amida) del compuesto, el cual está en una forma cargada positivamente (por ejemplo, en donde un grupo -NH- está protonado), en combinación con al menos un contraión, obtenido a partir del ácido seleccionado, que forma una sal farmacéuticamente aceptable.

Por tanto, las sales de adición de ácido de los compuestos descritos en el presente documento pueden ser complejos formados entre uno o más grupos básicos del fármaco y uno o más equivalentes de un ácido.

Las sales de adición de ácido pueden incluir una variedad de ácidos orgánicos e inorgánicos, tales como, pero sin limitación, ácido clorhídrico, el cual proporciona una sal de adición de ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, el cual proporciona una sal de adición de ácido bromhídrico, ácido acético, el cual proporciona una sal de adición de ácido acético, ácido ascórbico, el cual proporciona una sal de adición de ácido ascórbico, ácido bencenosulfónico, el cual proporciona una sal de adición de ácido bencenosulfónico, ácido alcanforsulfónico, el cual proporciona una sal de adición de ácido alcanforsulfónico, ácido cítrico, el cual proporciona una sal de adición de ácido cítrico, ácido maleico, el cual proporciona una sal de adición de ácido maleico, ácido málico, el cual proporciona una sal de adición de ácido málico, ácido metanosulfónico, el cual proporciona una sal de adición de ácido metanosulfónico (mesilato), ácido naftalenosulfónico, el cual proporciona una sal de adición de ácido naftalenosulfónico, ácido oxálico, el cual proporciona una sal de adición de ácido oxálico, ácido fosfórico, el cual proporciona una sal de adición de ácido fosfórico, ácido toluenosulfónico, el cual proporciona una sal de adición de ácido p-toluenosulfónico, ácido succínico, el cual proporciona una sal de adición de ácido succínico, ácido sulfúrico, el cual proporciona una sal de adición de ácido sulfúrico, ácido tartárico, el cual proporciona una sal de adición de ácido tartárico y ácido trifluoroacético, el cual proporciona una sal de adición de ácido trifluoroacético. Cada una de estas sales de adición de ácido puede ser una sal de mono adición o una sal de poli adición, como se definen estos términos en el presente documento.

Dependiendo de las proporciones estequiométricas entre el/los grupo/s cargado/s en el compuesto y el contraión en la sal, las sales de adición de ácido o base pueden ser sales de mono adición o sales de poli adición.

La frase "sal de mono-adición", como se usa en el presente documento, se refiere a una sal en la cual la relación estequiométrica entre el contraión y la forma cargada del compuesto es 1:1, de manera que la sal de adición incluya un equivalente molar del contraión por equivalente molar del compuesto.

La frase "sal de poli adición", como se usa aquí, se refiere a una sal en la cual la relación estequiométrica entre el contraión y la forma cargada del compuesto es mayor que 1:1 y es, por ejemplo, 2:1, 3:1, 4:1 y así sucesivamente, de manera que la sal de adición incluya dos o más equivalentes molares del contraión por equivalente molar del compuesto.

Como se usa en el presente documento, el término "profármaco" se refiere a un compuesto que se convierte en el cuerpo en un compuesto activo (por ejemplo, el compuesto de la fórmula descrita en el presente anteriormente). Un profármaco se diseña típicamente para facilitar la administración, por ejemplo, mejorando la absorción. Un profármaco puede comprender, por ejemplo, el compuesto activo modificado con grupos éster, por ejemplo, en donde uno o más cualesquiera de los grupos hidroxilo de un compuesto están modificados por un grupo acilo, opcionalmente grupo acilo (C_{1-4}) (por ejemplo, acetilo) para formar un grupo éster, y/o uno o más cualesquiera de los grupos ácido carboxílico del compuesto están modificados por un grupo alcoxi o ariloxi, opcionalmente grupo alcoxi (C_{1-4}) (por ejemplo, metilo, etilo) para formar un grupo éster.

Además, cada uno de los compuestos descritos en el presente documento, incluidas sus sales, puede estar en forma de solvato o hidrato del mismo.

El término "solvato" se refiere a un complejo de estequiometría variable (por ejemplo, di-, tri-, tetra-, penta-, hexa-, etc.), que está formado por un soluto (los compuestos heterocíclicos descritos en el presente documento) y un disolvente, por lo que el disolvente no interfiere con la actividad biológica del soluto.

El término "hidrato" se refiere a un solvato, como se define en el presente documento anteriormente, en donde el disolvente es agua.

Los compuestos descritos en el presente documento se pueden usar como polimorfos y las presentes realizaciones abarcan además cualquier isomorfo de los compuestos y cualquier combinación de los mismos.

Las presentes realizaciones abarcan además cualquier enantiómero y diastereómero de los compuestos descritos en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, el término "enantiómero" se refiere a un estereoisómero de un compuesto

que es superponible con respecto a su contraparte solo por una inversión/reflexión completa (imagen especular) entre sí. Se dice que los enantiómeros tienen "lateralidad", ya que se refieren entre sí como la mano derecha y la izquierda. Los enantiómeros tienen propiedades químicas y físicas idénticas, excepto cuando están presentes en un entorno que por sí mismo tiene la lateralidad, como todos los sistemas vivos. En el contexto de las presentes realizaciones, un compuesto puede exhibir uno o más centros quirales, cada uno de los cuales puede presentar una configuración *R* o *S* y cualquier combinación, y compuestos de acuerdo con algunas realizaciones de la presente invención, puede tener cualquiera de sus centros quirales que presenten una configuración *R* o *S*.

El término "diastereómeros", como se usa en el presente documento, se refiere a estereoisómeros que no son enantiómeros entre sí. El diastereoisómero aparece cuando dos o más estereoisómeros de un compuesto tienen configuraciones diferentes en uno o más, pero no en todos los estereocentros equivalentes (relacionados) y no son imágenes especulares entre sí. Cuando dos diastereoisómeros difieren entre sí en un solo estereocentro, son epímeros. Cada estereocentro (centro quiral) da lugar a dos configuraciones diferentes y, por tanto, a dos estereoisómeros diferentes. En el contexto de la presente invención, las realizaciones de la presente invención abarcan compuestos con múltiples centros quirales que aparecen en cualquier combinación de estereoconfiguración, a saber, cualquier diastereoisómero.

Se aprecia que determinadas características de la invención, que son, por claridad, se describen en el contexto de realizaciones separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una sola realización. Por el contrario, diversas características de la invención, que son, por brevedad, se describen en el contexto de una sola realización, también pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación adecuada o según sea adecuado en cualquier otra realización descrita de la invención. Determinadas características descritas en el contexto de diversas realizaciones no han de considerarse características esenciales de esas realizaciones, a menos que la realización no funcione sin esos elementos.

Diversas realizaciones y aspectos de la presente invención como se han delineado anteriormente en el presente documento y como se reivindica más adelante en la sección de reivindicaciones encuentran apoyo experimental en los siguientes ejemplos.

Ejemplos

Se hace referencia ahora a los siguientes ejemplos, que junto con las descripciones anteriores ilustran algunas realizaciones de la invención de una manera no limitante.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales:

El anticuerpo anti-IgG-XL665 humano se obtuvo de Cisbio Bioassays.

Ficoll Histopaque® 1077 se obtuvo de Sigma (Israel).

La biotina se obtuvo de Sigma (Israel).

El MIP3a biotinilado se obtuvo de Almac Sciences (Reino Unido).

La estreptavidina conjugada con criptato de terbio (Lumi4®) se obtuvo de Cisbio Bioassays.

BKT130 se preparó como se describe en la publicación de solicitud internacional WO2010/146584, en la cual BKT130 se denomina "BKT-P2-FC". Allí también se presenta la secuencia de BKT130.

El compuesto BKT300 se obtuvo de AnalytiCon Discovery GmbH con un 78 % de pureza y alta pureza. Usando espectroscopia de RMN, se determinó que la muestra de alta pureza tenía una pureza de aproximadamente el 98 %, mientras que se confirmó que la otra muestra tenía un 78 % de pureza.

Las síntesis químicas de BKT300-3-c5 y BKT300-11-a5 se describen a continuación en el presente documento, en el Ejemplo 6. Todos los reactivos se obtuvieron de proveedores conocidos.

Ensayo de migración:

Se añadieron 600 µl de medio RPMI a las cámaras inferiores de las placas de trans migración Transwell®, suplementadas con 2 µg/ml de MIP3a, 100 ng/ml de SDF-1 o 10 ng/ml de MCP-1. La molécula pequeña probada se añadió a las cámaras inferiores a la concentración indicada, excepto en las muestras control. El MIP3a, SDF-1 o MCP-1 se incubó con la molécula pequeña durante 30 minutos a temperatura ambiente antes del inicio del ensayo de migración. Después de 30 minutos de incubación se añadieron 2x10⁵ células inmunitarias a las cámaras superiores de las placas de trans migración en un volumen total de 100 µl. Las células que migraron en 3 horas a la cámara inferior

de las placas Transwell® se contaron usando un citómetro de flujo FACScalibur™.

Para evaluar la migración hacia MIP3a, se aislaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de sangre venosa heparinizada mediante centrifugación sobre Ficoll Histopaque® 1077. Las células T CD4+ se aislaron adicionalmente con el cóctel de enriquecimiento de células T CD4+ humanas RosetteSep™ (StemCell Technologies Inc.), de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Para evaluar la migración hacia SDF-1, las células Jurkat se resuspendieron en medio RPMI que contenía suero de ternero fetal (FCS) al 1 %.

Para evaluar la migración hacia MCP-1, las células JTHP-1 se resuspendieron en medio RPMI que contenía suero de ternero fetal (FCS) al 1 %.

Ensayos de viabilidad de células cancerosas:

Las células cancerosas se incubaron en medio celular con suero de ternero fetal (FCS) al 1 % a una concentración de 2×10^5 células/pocillo a un volumen final de 250 µl en placa de 96 pocillos. La molécula pequeña probada se añadió a las células a las concentraciones indicadas. Las células se incubaron durante 24 horas y después se evaluó el número de células muertas y viables mediante clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS), usando tinción con yoduro de propidio (PI). La CI50 de la muerte celular inducida por moléculas pequeñas se determinó usando el software GraphPad Prism.

Estudios in vivo:

Los protocolos de los estudios *in vivo* se describen en detalle en el Ejemplo 3 a continuación en el presente documento.

EJEMPLO 1

Ensayos de detección y ensayos de actividad que identifican moléculas pequeñas que se unen y afectan a la migración de MIP3a

Se diseñó un ensayo de fluorescencia homogénea de resolución temporal (HTRF) como plataforma para la detección de alto rendimiento (HTS). Este ensayo detectó la interacción de BKT130 con MIP3a, usando BKT130, MIP3a biotinilado, anticuerpo antiIgG humana-XL665 (que se une al dominio Fc de BKT130) y estreptavidina conjugada con criptato de terbio Lumi4® (que se une al resto de biotina unido a MIP3a).

Se diluyó biotina o MIP3a biotinilado en un tampón de ensayo de tampón fosfato salino (PBS) con albúmina de suero bovino (BSA) al 0,1 % hasta una concentración final de 16,7 nM. Se formó una mezcla de detección diluyendo BKT130, estreptavidina conjugada con terbio y anticuerpo anti-IgG humana-XL665 en el tampón de ensayo a concentraciones de 92,5 nM, 0,01 ng/ml y 0,9 ng/ml, respectivamente. Se incubaron reacciones de 23 µl en placas negras de 384 pocillos sin unión (Greiner 784900) a temperatura ambiente durante 45 minutos y después se leyeron en un lector de microplacas de alto rendimiento PHERAstar FS® (BMG LABTECH) con una excitación láser HTRF dedicada. Las lecturas de HTRF son una función de la transferencia de energía resonante del donador de terbio (que emite a una longitud de onda de 625) al aceptor XL665, que se excita y emite una señal fluorescente a una longitud de onda de 665 nm. Solo los pares donante/aceptor que se acercan mediante la unión de MIP3a a BKT130 darán como resultado una transferencia de energía resonante. La unión se expresa como la relación entre la señal a 665 nm y la señal a 625 nm ($\times 10.000$).

La detección de alto rendimiento (HTS) se realizó usando una estación de trabajo automatizada con una herramienta de clavija de 50 nl integrada y un dispensador BioTek™ EL406. Los compuestos de una biblioteca natural de aproximadamente 3500 compuestos naturales se mantuvieron en soluciones madre de DMSO de aproximadamente 10 mM y después se transfirieron a una mezcla de ensayo que contenía biotina-MIP3a (o control de biotina) y se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente para permitir la unión del compuesto. Después se añadió la mezcla de detección, después las placas se incubaron durante 45 minutos más a temperatura ambiente y después se leyeron como se describe anteriormente en el presente documento.

Los compuestos con una inhibición significativa de la unión se seleccionaron y se cogieron de la biblioteca para ensayos repetidos en diluciones en serie para obtener curvas de respuesta a la dosis.

El análisis de la detección y el ajuste de la curva se realizó utilizando el paquete de software Genedata Screener®.

En presencia de BKT130 y MIP3a biotinilado sin compuestos adicionales, la relación de señal fue 3621 (± 409), que correspondía al 0 % de inhibición de la unión (control neutro). En presencia de biotina sola y BKT130, la relación de señal obtenida fue 763 (± 23), correspondiente al 100 % de inhibición de la unión (control inhibidor).

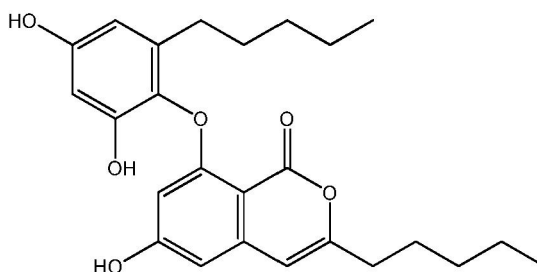
De los 3.500 compuestos seleccionados, 32 moléculas pequeñas inhibieron la unión de BKT130 a MIP3a (como se

expresa por la relación entre la señal a 665 nm y la señal a 625 nm) en más del 40 %.

De estas 32 moléculas pequeñas, Se descubrió que 18 moléculas pequeñas inhibían significativamente la interacción entre BKT130 y MIP3a en el cribado de alto rendimiento y mostraban una curva de respuesta a la dosis en el ensayo de dilución en serie y se seleccionaron para un análisis adicional.

Los 18 compuestos descubiertos por el ensayo de selección se probaron adicionalmente para determinar su capacidad, a concentraciones finales de 10 y 50 µg/ml, para inhibir la migración de células T CD4+ humanas hacia MIP3a; e inhibir la migración de células inmunes en respuesta a MCP-1 y SDF-1, usando los procedimientos descritos en la sección Materiales y métodos anteriormente en el presente documento.

En estos ensayos se identificó un compuesto denominado BKT300 como altamente potente.



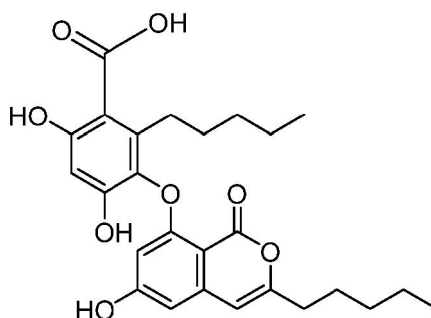
BKT300

La FIGURA 1 muestra que BKT300 (al 78 % de pureza), a una concentración de 50 µg/ml, inhibió completamente la migración de células T CD4+ hacia MIP3a, lo que indica que la unión del compuesto a MIP3a (como se detecta en el ensayo HTS) está asociada a la inhibición de la actividad de MIP3a.

Las FIGURAS 2A y 2B muestran que BKT300, a una pureza del 78 % (FIGURA 2A) y del 98 % (FIGURA 2B) a una concentración de 10 µg/ml, inhibió significativamente la migración de células Jurkat linfocíticas hacia SDF-1.

Estos resultados indican que BKT300 es un inhibidor eficaz de la función de SDF-1 y sugieren que este compuesto es eficaz para tratar afecciones asociadas a la actividad de SDF-1 y CXCR4 (el receptor de SDF-1).

Un compuesto estructuralmente similar a BKT300, denominado BKT400, también se encontró que inhibe la migración de células Jurkat linfocíticas hacia SDF-1, como se muestra en la FIGURA 2C.



BKT400

Como se muestra adicionalmente en la FIGURA 3, a una concentración de 50 µg/ml, el compuesto BKT300 (78 % de pureza) mostró una fuerte inhibición de la migración de células THP-1 monocíticas hacia MCP-1, pero no tuvo ningún efecto aparente sobre la migración hacia MCP-1 a una concentración de 10 µg/ml.

Tomados en conjunto, los resultados anteriores indican que el Compuesto BKT300 inhibe potentemente la función SDF-1 de una manera relativamente selectiva, con una inhibición considerablemente más débil de la función de MCP-1 y/o MIP3a (por ejemplo, a una concentración de aproximadamente 10 µg/ml) y sugieren que el Compuesto BKT300 es particularmente eficaz para tratar afecciones asociadas a la actividad de SDF-1 y CXCR4 (el receptor de SDF-1).

EJEMPLO 2

Efecto de BKT300 sobre las células cancerosas

Los estudios *in vitro* e *in vivo* adicionales sobre el efecto en las células cancerosas confirmaron aún más el efecto potencial de BKT300 en las células cancerosas.

Para evaluar el efecto de BKT300 sobre la viabilidad de las células cancerosas, se evaluó el efecto *in vitro* sobre las células de leucemia mieloide aguda humana MV4-11. Las células cancerosas MV4-11 se incubaron en medio celular RPMI con suero de ternero fetal (FCS) al 1 % a una concentración de 2×10^5 células/pocillo a un volumen final de 250 μ l en placa de 96 pocillos. Se añadió BKT300 a las células a las concentraciones indicadas. Las células se incubaron durante 24 horas y después se evaluó el número de células muertas y viables mediante clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS), usando tinción con yoduro de propidio (PI). La CI_{50} de la muerte celular inducida por quimiocinas se determinó utilizando el software GraphPad Prism.

Como se muestra en las FIGURAS 4A-4B, BKT300 (al 78 % de pureza) indujo la muerte celular de las células de leucemia mieloide aguda humana MV4-11 a concentraciones tan bajas como 2 μ g/ml (la concentración más baja probada). La CI_{50} para la muerte inducida por BKT300 (78 % de pureza) de células MV4-11 fue de 2,72 μ g/ml.

Se repitió la inducción de la muerte celular por BKT300 mientras se compararon los efectos de una muestra de BKT300 al 78 % de pureza con una muestra de BKT300 al 98 % de pureza.

Como se muestra en las FIGURAS 5A-5D, BKT300 al 98 % de pureza fue significativamente más eficaz que BKT300 al 78 % de pureza en la inducción de muerte celular. Por ejemplo, BKT300 (al 98 % de pureza) indujo un grado considerablemente mayor de muerte celular a 4,25 μ g/ml que BKT300 al 78 % de pureza.

Estos resultados sugieren que las impurezas presentes en BKT300 (por ejemplo, BKT300 al 78 % de pureza) pueden reducir la muerte celular inducida por BKT300 en sí mismo y que BKT300 con un alto grado de pureza (por ejemplo, 98 %) es particularmente potente en comparación con otros compuestos descritos en el presente documento.

Estos resultados indican que la actividad de unión a quimiocinas de BKT300 está asociada a la actividad anticáncer.

El efecto de BKT300 *in vitro* (al 78 % de pureza) sobre la viabilidad de las células cancerosas se evaluó adicionalmente usando una diversidad de líneas celulares cancerosas adicionales, usando los procedimientos descritos anteriormente con respecto a las células MV4-11.

Como se muestra en las FIGURAS 6A y 6B, BKT300 (al 78 % de pureza) indujo la muerte celular de las células de mieloma múltiple humano RPMI a concentraciones tan bajas como 2 μ g/ml (la concentración más baja probada).

Como se muestra en las FIGURAS 7A y 7B, BKT300 (al 78 % de pureza) indujo la muerte celular de las células de leucemia linfoblástica aguda humana Jurkat a concentraciones tan bajas como 2 μ g/ml (la concentración más baja probada). La CI_{50} para la muerte de células Jurkat inducida por BKT300 fue de 3,5 μ g/ml.

Como se muestra en las FIGURAS 8A-9B, BKT300 (al 78 % de pureza) indujo la muerte celular de aproximadamente el 30 % de Raji (FIGURAS 8A y 8B) y Bjab (FIGURAS 9A y 9B) células de linfoma humano a una concentración de 8,5 μ g/ml y además indujeron una ligera muerte celular de las células Raji a una concentración de 4,25 μ g/ml (FIGURAS 8A y 8B).

Como se muestra en las FIGURAS 10A y 10B, BKT300 (al 78 % de pureza) indujo la muerte celular de aproximadamente el 80 % de las células de cáncer de pulmón de células macrocíticas humanas H460 a una concentración de 10 μ g/ml.

Como se muestra en las FIGURAS 11A y 11B, BKT300 (al 78 % de pureza) indujo la muerte celular de aproximadamente el 90 % de las células de cáncer de pulmón de células microcíticas humanas H345 a una concentración de 8,5 μ g/ml.

EJEMPLO 3*Estudios in vivo*

El efecto de BKT300 (al 98 % de pureza) sobre la proliferación de células de AML *in vivo* se examinó mediante el tratamiento de ratones NOD Scid gamma (NSG) trasplantados con células MV4-11 (*FLT3-ITD*).

Los ratones se sometieron a irradiación con 300 rad y al día siguiente se trasplantaron mediante inyección intravenosa con células MV4-11 (*FLT3-ITD*), 10×10^6 células/ratón. 21 días después del trasplante, al grupo tratado se le inyectó por vía intraperitoneal 1 mg/kg de BKT300 (98 % de pureza) por inyección durante tres días consecutivos. El día 25 después del trasplante, los ratones se sacrificaron y se evaluó la supervivencia de los blastos de AML humanos en la sangre, el bazo y la médula ósea usando anti CD45 humano.

La Tabla 1 a continuación presenta el protocolo del estudio y algunos de los resultados se presentan en las FIGURAS 12A-C.

5

Tabla 1

Día (-1)	Día 0	Tratamientos				Fin del Exp.
		Día 21	Día 22	Día 23	Día 24	Día 25
Irradiación 300 rad	Trasplante de células 10x10 ⁶					Sacrificio de ratones Sangre BM bazo
MV4-11 (IV) 1 mg/Kg/ratón		+	+	+	+	

Como se muestra en la FIGURA 12B, la administración de BKT300 redujo drásticamente el número y el porcentaje de células AML en la médula ósea de los ratones.

10 Las FIGURAS 12B y 12C presentan datos obtenidos en un análisis FACS representativo que muestra la presencia de células MV4-11 humanas en el surco óseo de ratones no tratados (FIGURA 12C) y de ratones tratados con BKT300, que demuestran además la capacidad de BKT300 para erradicar las células leucémicas.

15 EJEMPLO 4

15

Inhibición de la actividad quinasa por BKT300

Para caracterizar además más el efecto de BKT300 en la señalización celular, se realizó el perfil de quinasa de BKT300 (al 78 % de pureza) (por el Life Technologies SelectScreen @ Biochemical Profiling Lab) usando un ensayo de unión de europio a quinasa LanthaScreen® para seleccionar 440 quinasas.

20

El principio del ensayo LanthaScreen® se representa en la FIGURA 13. La unión de un conjugado o "trazador" de Alexa Fluor® a una quinasa se detecta mediante la adición de un anticuerpo anti-etiqueta marcado con europio (Eu). La unión del indicador y el anticuerpo a una quinasa da como resultado un alto grado de FRET, mientras que el desplazamiento del indicador con un inhibidor de quinasa da como resultado una pérdida de FRET. Los trazadores de quinasas se basan en inhibidores de quinasas competitivos con ATP, haciéndolos adecuados para la detección de cualquier compuesto que se una al sitio ATP. Los inhibidores que se unen al sitio de ATP incluyen tanto inhibidores de quinasa de tipo I, que se unen únicamente al sitio de ATP, como inhibidores de tipo II (por ejemplo, imatinib, sorafenib, BIRB-796), que se unen tanto al sitio de ATP como a un segundo sitio a menudo denominado el sitio alostérico.

25

30

De las 440 quinasas examinadas, BKT300 inhibió 36 quinasas en más del 40 %. Estas quinasas se presentan en la Tabla 2 a continuación.

35 Como se muestra en la Tabla 2, la mayoría de las quinasas inhibidas por BKT300 fueron serina/treonina quinasas.

Muchas de estas quinasas están implicadas en el cáncer y algunas en la regulación inmunitaria. Estos resultados sugieren que la inhibición de la quinasa por BKT300 puede utilizarse para tratar el cáncer, particularmente por inmunoterapia contra el cáncer.

40

Tabla 2: Inhibición de quinasas por BKT300

Quinasa	% de inhibición	Tipo de quinasa
DYRK3	47	ST
EPHA8	50	ND
GRK4	63	ST
GRK5	65	ST
MAP4K2 (GCK)	48	ND
MAP4K4 (HGK)	40	ST
MELK	41	ST
PAK7 (KIAA1264)	40	ST
SGK2	43	ST
SRC N1	41	TK
ACVRL1 (ALK1)	47	ST
BMPR1A (ALK3)	58	ST

(continuación)

Quinasa	% de inhibición	Tipo de quinasa
CDC7/DBF4	53	ST
CDK1/ciclina A2	45	ST
CDK11 (inactivo)	57	ST
CDK8/ciclina C	64	ND
CLK4	73	ST
DAPK2	65	ST
DYRK2	62	ST
ICK	41	ST
KIT D820E	42	TK*
KIT T670E	51	TK*
MAP4K1 (HPK1)	45	ST
MAPK10 (JNK3)	49	ST
MLCK (MLCK2)	58	ST
MYLK (MLCK)	63	ST
NUAK2	89	ST
STK17A (DRAK1)	48	ST
STK17B (DRAK2)	107	ST
STK38 (NDR)	41	ST
STK38L (NDR2)	45	ST
TGFR2	43	ST

TTK	52	STTK
DAPK1	43	ST
PIK3CA	64	
PIK3CD	77	
ST = serina/treonina quinasa TK = tirosina quinasa STTK = serina/treonina tirosina quinasa ND = tipo de quinasa no determinado		

(Tabla 2; Cont.)

EJEMPLO 5**5 Modelo de unión computacional de BKT300 a quinasas**

Todo el trabajo de modelado se realizó usando el paquete de software de Accelrys "Discovery Studio".

Los modelos de farmacóforo se construyeron manualmente (sin utilizar las herramientas de farmacóforo automatizadas del paquete).

Todas las conformaciones de moléculas pequeñas se generaron usando el algoritmo de búsqueda conformacional "BEST".

El mapeo de farmacóforo se realizó usando la herramienta "Mapeo de farmacóforo" de Discovery Studio, con la opción "flexible" activada.

Todos los resultados del mapeo de farmacóforos se inspeccionaron visualmente para elegir las mejores posturas candidatas.

Diseño de un modelo de unión a quinasas:

Como se demostró en los Ejemplos 1-3 anteriormente en el presente documento, BKT300 se identificó mediante un ensayo celular como un agente activo prometedor contra las líneas celulares de leucemia. Como se muestra en el Ejemplo 4 anteriormente en el presente documento, en un cribado de inhibición contra el quinoma humano, se demostró que inhibe una selección de quinasas. Basado en estos datos de inhibición, junto con datos de expresión génica y consideraciones biológicas, se eligieron cuatro quinasas como dianas potenciales que podrían, posiblemente

en alguna combinación, mediar el efecto anti-leucemia de BKT300: MELK, MAP4K4 y dos Pi3-quinasas (Pik3Cα y Pik3Cδ; también denominadas PIK3CA y PIK3CD), resaltadas en la Tabla 2 anteriormente en el presente documento.

El análisis estructural de estas cuatro quinastas se realizó usando todas las estructuras disponibles en el dominio público (PDB). Para una construcción preliminar de modelos farmacofóricos, las dos proteína quinastas, MELK y MAP4K4, fueron seleccionadas.

Se realizó una búsqueda en la bibliografía para identificar "puntos calientes" verificados experimentalmente (restos de aminoácidos que, si mutan, dan como resultado una pérdida de un orden de magnitud o más en la actividad) para cada una de las quinastas. Se identificaron dos de estos restos de aminoácidos: Lys40 y Asp150, ambos posicionados dentro del sitio de unión de ATP de las quinastas.

A continuación, se alinearon las dos proteína quinastas para lograr el mejor alineamiento posible del bolsillo de unión de ATP, y en particular de Lys40 y Asp150. La alineación se muestra en la FIGURA 14.

Los inhibidores de estas dos quinastas conocidos en la técnica se usaron tanto para desarrollar un modelo de unión como para desarrollar una función de puntuación para clasificar compuestos potenciales con respecto a su capacidad predicha para inhibir MELK y MAP4K4.

Se compilaron dos conjuntos de datos: (i) un conjunto de datos de inhibidores de MELK que incluye 76 compuestos con afinidades por la enzima en el intervalo de 4,9 a más de 10000 nM; y (ii) un conjunto de datos de inhibidores de MAPK4K que incluye 8 compuestos con afinidades por la enzima en el intervalo de 140 a más de 10000 nM.

Usando las estructuras cristalinas de los inhibidores MELK y MAPK4K disponibles, se construyó un modelo de unión que contiene un farmacóforo y la forma general de los ligandos. El farmacóforo se diseñó de manera que se requiera que los ligandos unidos interactúen con Lys40 y Asp150.

La validación del modelo se realizó mapeando los inhibidores conocidos de MELK y MAPK4K de los conjuntos de datos anteriores en el modelo. El 90 % de todos los inhibidores de MELK evaluados se mapearon con éxito al farmacóforo, por lo que para los inhibidores de alta afinidad, con KD inferior a 1000 nM, el 100 % se mapeó correctamente al modelo. Para los inhibidores de MAPK4K, todos los 8 inhibidores se mapearon con éxito en el modelo.

Estos resultados indicaron que el modelo de unión diseñado es válido y puede usarse para predecir el modo de unión de BKT300.

Predecir la conformación de unión de BKT300 a quinastas:

BKT300 se mapeó al modelo de unión diseñado: Se generaron todas las conformaciones de baja energía de BKT300 y se mapearon en el modelo. Después todos los conformeros mapeados con éxito se acoplaron al sitio de unión de MELK usando el modelo como guía, y el complejo acoplado se minimizó energéticamente, permitiendo que las cadenas laterales de la proteína se ajusten a cada pose. Se obtuvieron 165 conformaciones/poses exitosas y cada una se inspeccionó visualmente para evaluar la interacción del ligando con MELK, para seleccionar así la conformación y pose más adecuadas, que se muestra en la FIGURA 15.

Para brindar apoyo adicional para esta pose, se seleccionaron estructuras cristalinas conocidas de inhibidores de MELK para identificar compuestos que presentan grupos que ocupan las mismas posiciones de la quinasa que los grupos alifáticos ("colas") de BKT300, flanqueando el esqueleto de 3 anillos.

Se encontraron dos de esas estructuras: N-[3-(4-aminoquinazolin-6-il)-5-fluorofenil]-2-(pirrolidin-1-il)acetamida (PDB 4OBQ) y 3'-{[(4-bromo-1-metil-1H -pirrol-2-il)carbonil]amino}-N-[(1S)-1-fenil-2-(pirrolidin-1-il)etil]-1',4'-dihidro-5'H-espiro[ciclopropan-1,6'-pirrolo[3,4-c]pirazol]-5'-carboxamida (PDB 4BKY). Estas estructuras se superpusieron en la pose seleccionada de BKT300, como se muestra en la FIGURA 16.

Se observa que la naturaleza química de los grupos flanqueantes ("colas") de estos inhibidores difieren de los grupos alquilo flanqueantes de BKT300, sin embargo, ocupan los mismos sub-bolsillos en la proteína quinasa. Se observa además que la afinidad de BKT300 es relativamente baja (unas pocas decenas de μM en base al ensayo de detección de quinastas resumido en la Tabla 2 anterior), por lo que las afinidades de los inhibidores superpuestos son significativamente mayores (en el intervalo nM).

EJEMPLO 6

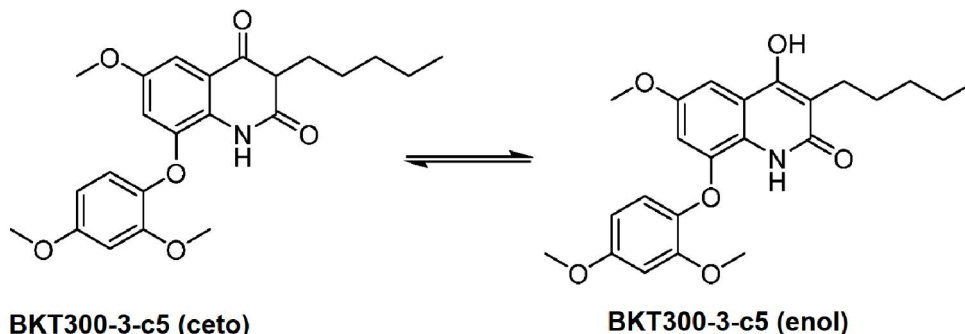
Preparación de análogos BKT300

Usando el modelo de unión descrito anteriormente, se diseñaron análogos estructurales de BKT300.

Las síntesis químicas de tales análogos ejemplares, indicados en el presente documento BKT300-3-c5 y BKT300-11-a5, son las siguientes.

BKT300-3-c5:

La estructura química de BKT300-3-c5 se puede presentar como dos tautómeros:



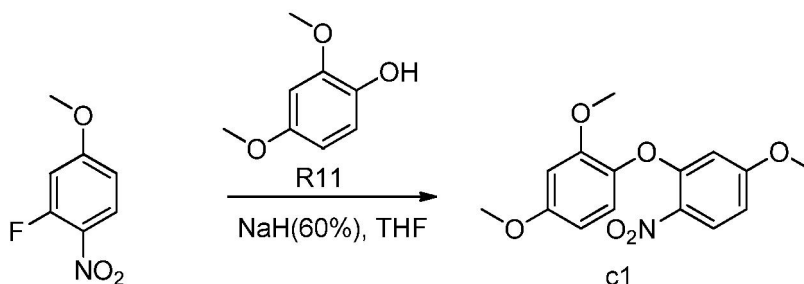
El nombre químico del ceto tautómero es 8-(2,4-dimetoxifenoxi)-6-metoxi-3-pentilquinolin-2,4(1H,3H)-diona.

El nombre químico del enol tautómero es 8-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-hidroxi-6-metoxi-3-pentilquinolin-2(1H)-ona.

Por simplicidad, en lo que sigue a continuación, solo se hace referencia al ceto tautómero. Sin embargo, cabe señalar que los dos tautómeros pueden estar presentes, dependiendo de las condiciones ambientales, en equilibrio o como uno de los tautómeros.

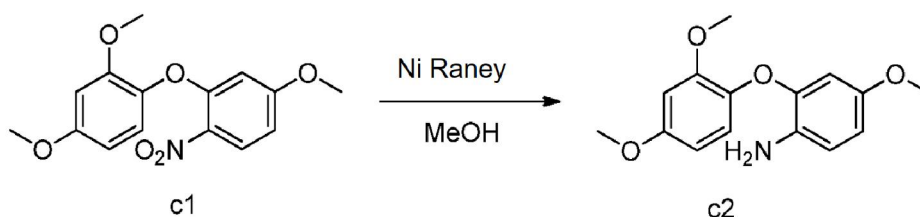
La síntesis química de BKT300-3-c5 se representa en la FIG. 17.

Preparación de 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxi-1-nitrobenceno (BKT300-3-c1):



A una solución de 2,4-dimetoxifenol (R11) (2,0 gramos, 13,00 mmol) en THF (50 ml) se le añadió NaH (60 %) (450 mg, 26,00 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 minutos. Después, se añadió 2-fluoro-4-metoxi-1-nitrobenceno (2,22 gramos, 13,00 mmol) a 0 °C, y la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La finalización de la reacción se controló por TLC (EtOAc:Éter de petróleo = 1:10). La mezcla de reacción se vertió en agua enfriada con hielo y se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 50 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para dar el producto 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxi-1-nitrobenceno (BKT300-3-c1) (3,04 gramos, rendimiento del 76,8 %) en forma de un aceite de color amarillo.

Preparación de 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxianilina (BKT300-3-c2):

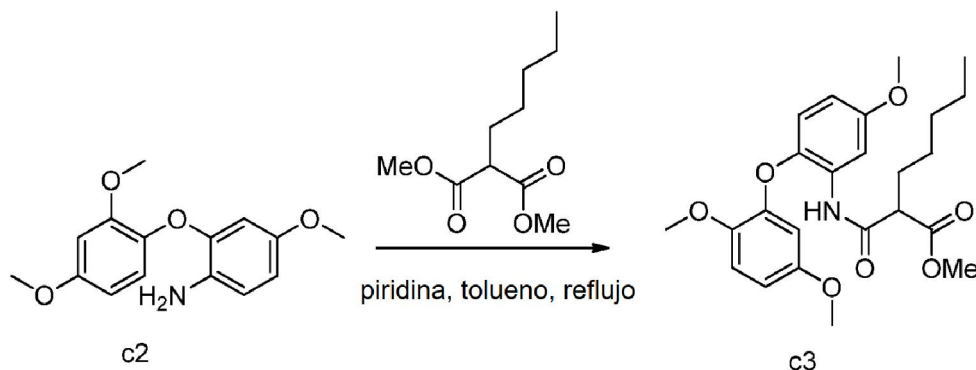


Una mezcla de 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxi-1-nitrobenceno (BKT300-3-c1) (3,04 gramos, 10,00 mmol) y Ni Raney

(770 mg) en MeOH (100 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La finalización de la reacción se controló por CL-EM. Después de eso, la mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró al vacío para dar el producto 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxianilina (BKT300-3-c2) (2,58 gramos, rendimiento del 94,2 %) en forma de un aceite de color oscuro. CL-EM: m/z 276,0 ($M^+ + H$)

5

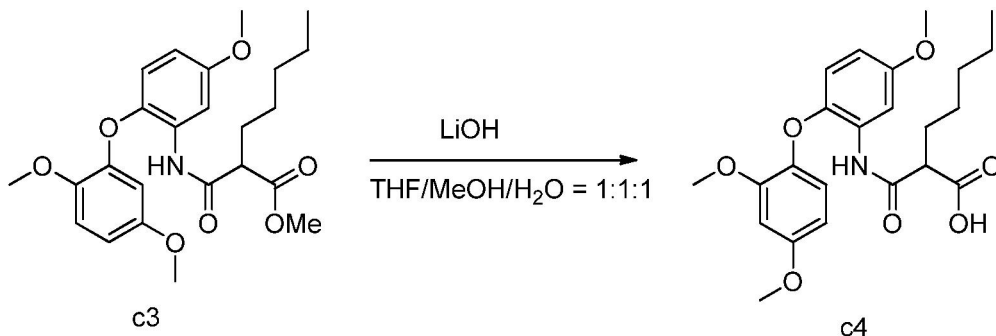
Preparación de 2-((2-(2,5-dimetoxifenoxi)-5-metoxifenil)carbamoil)heptanoato de metilo (BKT300-3-c3)



Una mezcla de 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxianilina (BKT300-3-c2) (3,75 gramos, 13,62 mmol), 2-pentilmalonato de dimetilo (5,5 gramos, 27,2 mmol) y piridina (2,15 gramos, 27,2 mmol) en tolueno (40 ml) se agitó a la temperatura de reflujo durante 40 horas. La finalización de la reacción se controló por CL-EM. después de eso, la mezcla de reacción se concentró al vacío, y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con una mezcla de EtOAc:Éter de petróleo (1:20-1:10) para dar el producto 2-((2-(2,5-dimetoxifenoxi)-5-metoxifenil)carbamoil)heptanoato de metilo (BKT300-3-c3) (5,0 gramos, rendimiento del 82,45 %) en forma de un aceite de color amarillo. CL-EM: m/z 446,0 ($M^+ + H$)

15

Preparación de ácido 2-((2-(2,4-dimetoxifenoxi)-5-metoxifenil)carbamoil)heptanoico (BKT300-3-c4):



20

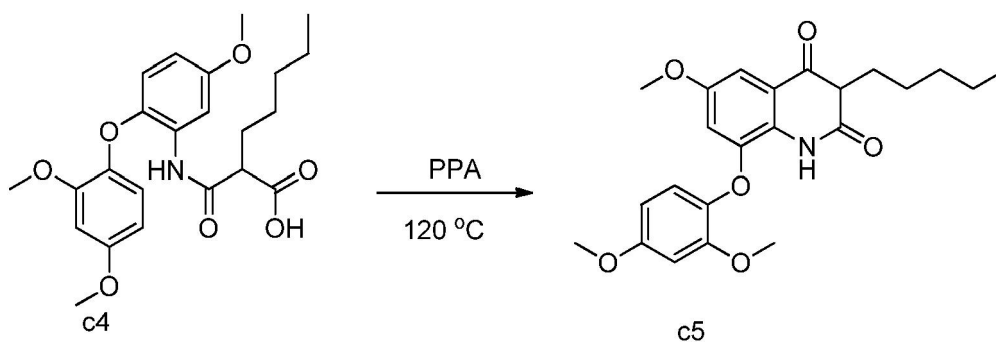
A una solución de 2-((2-(2,5-dimetoxifenoxi)-5-metoxifenil)carbamoil)heptanoato de metilo (BKT300-3-c3) (5,0 gramos, 11,23 mmol) en una solución mezcla de THF (10 ml), MeOH (10 ml) y H₂O (10 ml) se le añadió LiOH-H₂O (944 mg, 22,46 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La finalización de la reacción se controló por CL-EM. Después de eso, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se disolvió en H₂O (50 ml) y se acidificó a pH 2-3 usando HCl concentrado. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml) y la capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 50 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para dar el producto, ácido 2-((2-(2,4-dimetoxifenoxi)-5-metoxifenil)carbamoil)heptanoico (BKT300-3-c4) (4,85 gramos, rendimiento del 100 %) en forma de un sólido de color amarillo.

25

CL-EM: m/z 432,0 ($M^+ + H$)

30

Preparación de 8-(2,4-dimetoxifenoxi)-6-metoxi-3-pentilquinolin-2,4(1H,3H)-diona (BKT300-3-c5):



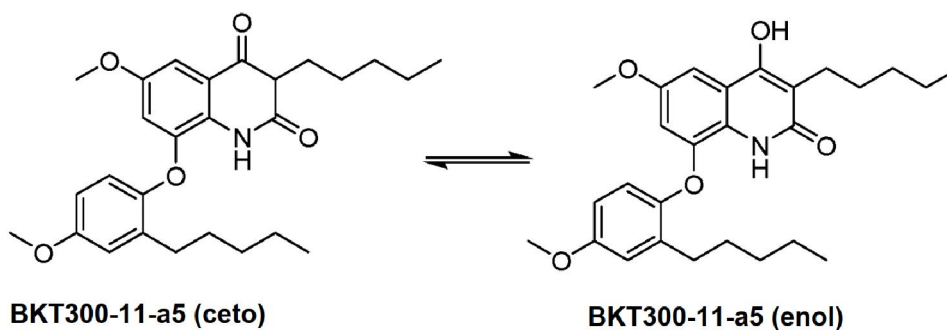
A una solución de PPA (8 ml) a 120 °C, se le añadió en porciones ácido 2-((2-(2,4-dimetoxifenoxi) -5-metoxifenil)carbamoyl)heptanoico (BKT300-3-c4) (2,0 gramos, 4,64 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 120 °C durante 6 horas. La finalización de la reacción se controló por CL-EM. La mezcla de reacción se vertió en H₂O (100 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 50 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice usando una mezcla de EtOAc:Éter de petróleo (1:10-1:5) como eluyente, para dar el producto 8-(2,4-dimetoxifenoxi)-6-metoxi-3-pentilquinolin-2,4(1H,3H)-diona (BKT300-3-c5) (240 mg, rendimiento del 12,5 %) en forma de un sólido de color amarillo.

CL-EM: m/z 414,7 (M⁺+H)

La estructura del compuesto se verificó adicionalmente por RMN ¹H (usando DMSO deuterado como un disolvente).

BKT300-11-a5:

La estructura química de BKT300-11-a5 se puede presentar como dos tautómeros:



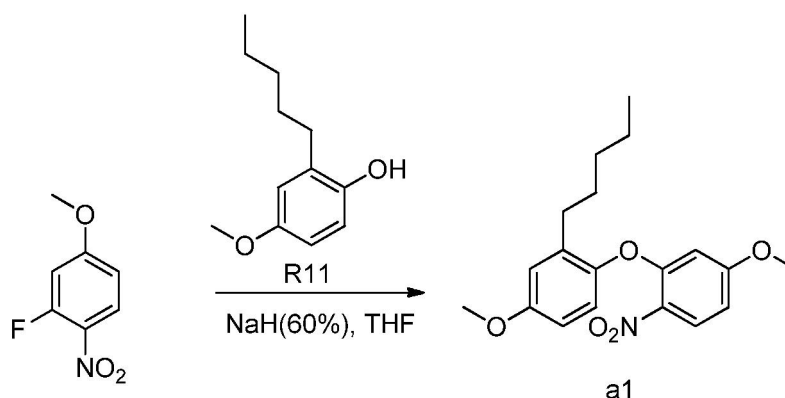
El nombre químico del ceto tautómero es 6-metoxi-8-(4-metoxi-2-pentilfenoxi)-3-pentilquinolin-2,4(1H,3H)-diona.

El nombre químico del enol tautómero es 4-hidroxi-6-metoxi-8-(4-metoxi-2-pentilfenoxi)-3-pentilquinolin-2(1H)-ona.

Por simplicidad, en lo que sigue a continuación, solo se hace referencia al ceto tautómero. Sin embargo, cabe señalar que los dos tautómeros pueden estar presentes, dependiendo de las condiciones ambientales, en equilibrio o como uno de los tautómeros.

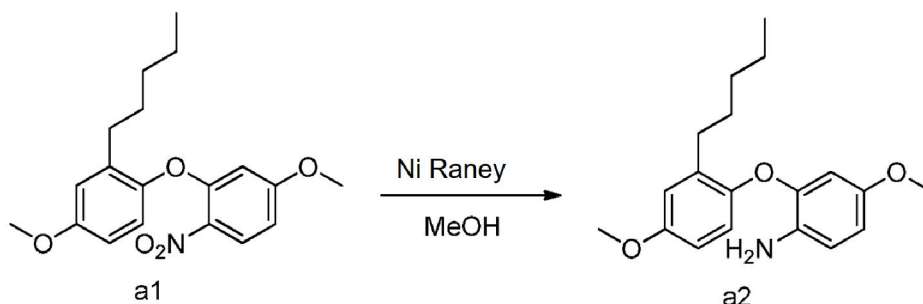
La síntesis química de BKT300-11-a5 se representa en la FIG. 18.

Preparación de 4-metoxi-1-(5-metoxi-2-nitrofenoxi)-2-pentilbenceno (BKT300-11-a1):



A una solución de 4-metoxi-2-pentilfenol (R11) (2,5 gramos, 11,15 mmol) en THF (50 ml) se le añadió NaH (60%) (892 mg, 22,30 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 minutos. Después, se añadió 2-fluoro-4-metoxi-1-nitrobenceno (1,91 gramos, 11,15 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Se controló que la reacción se había completado por TLC (EtOAc:Éter de petróleo 1:10). Después de eso, la mezcla de reacción se vertió en agua enfriada con hielo y se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 50 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para dar el producto 4-metoxi-1-(5-metoxi-2-nitrofenoxi)-2-pentilbenceno (BKT300-11-a1) (3,85 gramos, rendimiento del 100 %) en forma de un aceite de color amarillo.

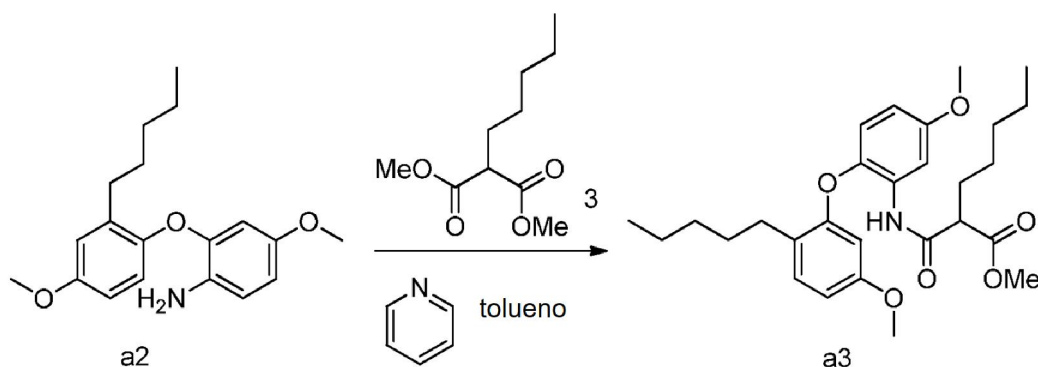
Preparación de 4-metoxi-2-(4-metoxi-2-pentilfenoxi)anilina (BKT300-11-a2):



Una mezcla de 4-metoxi-1-(5-metoxi-2-nitrofenoxi)-2-pentilbenceno (BKT300-11-a1) (3,85 gramos, 11,15 mmol, 1,0 equiv.) y Ni Raney (770 mg) en MeOH (100 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La finalización de la reacción se controló por CL-EM. Después de eso, la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío para dar el producto 4-metoxi-2-(4-metoxi-2-pentilfenoxi)anilina (BKT300-11-a2) (4,41 gramos, rendimiento del 100 %) en forma de un aceite de color oscuro.

CL-EM: m/z 316,0 (M⁺+H)

Preparación de 2-((5-metoxi-2-(5-metoxi-2-pentilfenoxi) fenil)carbamoi)l)heptanoato de metilo (BKT300-11-a3):



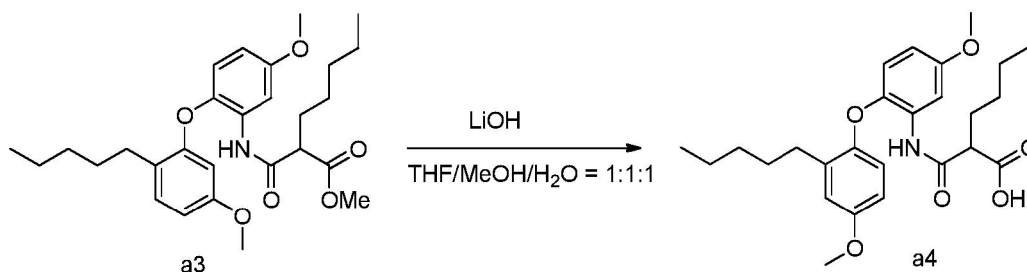
Una mezcla de 4-metoxi-1-(5-metoxi-2-nitrofenoxi)-2-pentilbenceno (BKT300-11-a1) (4,145 gramos, 13,14 mmol), 2-pentilmalonato de dimetilo (3,98 gramos, 19,71 mmol) y piridina (2,08 gramos, 26,28 mmol) en tolueno (80 ml) se agitó a la temperatura de reflujo durante 40 horas. La finalización de la reacción se controló por CL-EM. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice usando una mezcla de

EtOAc: Éter de petróleo (1:20-1:10) como eluyente, para dar el producto 2-((5-metoxi-2-(5-metoxi-2-pentilfenoxi)fenil)carbamoil)heptanoato de metilo (BKT300-11-a3) (7,2 gramos, rendimiento del 100 %) en forma de un aceite de color amarillo.

CL-EM: m/z 486,0 ($M^+ + H$)

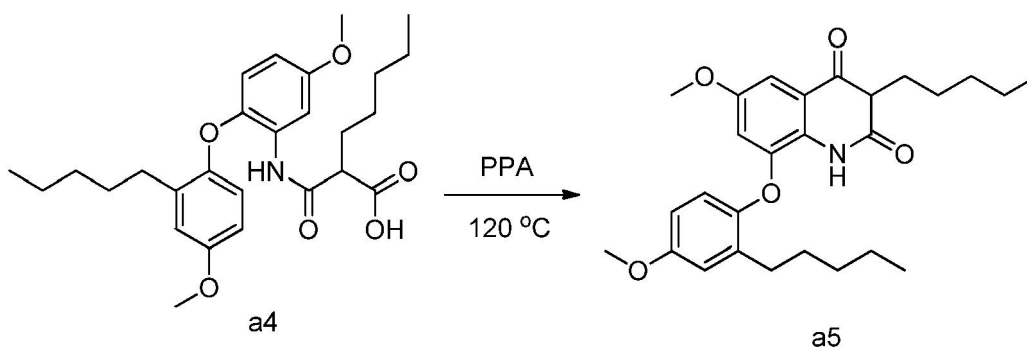
5

Preparación de ácido 2-((5-metoxi-2-(4-metoxi-2-pentilfenoxi)fenil)carbamoil)heptanoico (BKT300-11-a4):



A una solución de 2-((5-metoxi-2-(5-metoxi-2-pentilfenoxi)fenil)carbamoil)heptanoato de metilo (BKT300-11-a3) (3,0 gramos, 6,19 mmol) en una solución mezcla de THF (10 ml), MeOH (10 ml) y H₂O (10 ml) se le añadió LiOH-H₂O (520 mg, 12,37 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La finalización de la reacción se controló por CL-EM. Después de eso, la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se disolvió en H₂O (50 ml) y se acidificó a pH 2-3 usando HCl concentrado. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 50 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para dar el producto ácido 2-((5-metoxi-2-(4-metoxi-2-pentilfenoxi)fenil)carbamoil)heptanoico (BKT300-11-a4) (2,5 gramos, rendimiento del 85,6 %) en forma de un sólido de color amarillo.

Preparación de 6-metoxi-8-(4-metoxi-2-pentilfenoxi)-3-pentilquinolin-2,4(1H,3H)-diona (BKT300-11-a5):



A una solución de PPA (8 ml) a 120 °C se le añadió en porciones ácido 2-((5-metoxi-2-(4-metoxi-2-pentilfenoxi)fenil)carbamoil)heptanoico (BKT300-11-a4) (1,0 gRAM, 2,12 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 120 °C durante 6 horas. La finalización de la reacción se controló por CL-EM. Después de eso, la mezcla de reacción se vertió en H₂O (100 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 50 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se concentró al vacío, y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice usando una mezcla de EtOAc: Éter de petróleo (1:10-1:5) como eluyente, para dar el producto 6-metoxi-8-(4-metoxi-2-pentilfenoxi)-3-pentilquinolin-2,4(1H,3H)-diona (BKT300-11-a5) (260 mg, rendimiento del 27,1 %) en forma de un sólido de color amarillo.

CL-EM: m/z 454,7 ($M^+ + H$)

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 11,76 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 4,05 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 1,63-1,56 (m, 2H), 1,36-1,27 (m, 4H), 0,88 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H).

35

EJEMPLO 7

Actividad de los análogos BKT300

Migración mediada por quimiocinas:

Los análogos de BKT300 se probaron en un ensayo de migración celular como se describe anteriormente en el presente documento, en la sección "métodos", para determinar su efecto sobre una actividad biológica de las quimiocinas probadas y, por tanto, su actividad en el tratamiento de enfermedades asociadas a la quimiocina.

45

Las FIGURAS 19A-B presentan el efecto de BKT300-3-c5 (FIGURA 19A) y de BKT300-11-a5 sobre la migración de

células T Jurkat en respuesta a SDF-1, y muestran la modulación de SDF-1 por estos compuestos, reflejada por la inhibición de la migración de células Jurkat mediada por SDF-1/CXCR4.

El efecto de BKT300-3-c5 se probó además en la migración de células T Jurkat en respuesta a SDF-1 y de THP-1 en respuesta a MCP-1, fue probado y comparado con el de IPI-145.

IPI-145 es una pequeña molécula desarrollada por Infinity Pharmaceuticals con el nombre de Duvelisib, y actualmente se investiga en un ensayo clínico de fase III. El IPI-145 es un inhibidor biodisponible por vía oral de las isoformas delta y gamma de la fosfoinositido-3 quinasa (PI3K) y se dice que exhibe actividades inmunomoduladoras y antineoplásicas potenciales.

Los datos comparativos obtenidos se presentan en la FIGURA 20A, para SDF-1 y en la FIGURA 20B, para MCP-1, y muestran claramente que BKT300-3-c5 es más eficaz que IPI-145 en la inhibición de tanto la migración de células Jurkat (TLL) mediada por SDF-1/CXCR4 como la migración inducida por MCP-1 de THP-1 (células mielomonocíticas).

Efecto sobre las células cancerosas:

Se ha probado el efecto de BKT300-3-c5 sobre la viabilidad de diversas células cancerosas, como se describe en la sección "método" anteriormente en el presente documento y en comparación con el efecto del IPI-145.

Las FIGURAS 21A-B presentan el efecto de BKT300-3-c5 e IPI-145 sobre la viabilidad de las células MV4-11 (FIGURA 21A) y un gráfico que muestra el efecto de BKT300-3-c5 sobre la viabilidad de células AML MV4-11 después de 24 horas de tratamiento y demostrando un valor de CI50 de 0,85 μ M para BKT300-3-c5 (FIGURA 21B).

Las FIGURAS 22A-B, 23A-B, 24A-B y 25A-B presentan el efecto de BKT300-3-c5 e IPI-145 en diversas células leucémicas: U937, REH, THP-1 y NB4, respectivamente.

La FIGURA 26 presenta el efecto de BKT300-3-c5 e IPI-145 sobre las células PC-3 de cáncer de próstata.

La FIGURA 27 presenta el efecto de BKT300-3-c5 e IPI-145 sobre las células de melanoma B16-F10.

Se muestra que en todas las líneas celulares variables probadas, BKT300-3-c5 tiene un efecto superior en comparación con IPI-145 en la reducción de la supervivencia de las células cancerosas.

Las FIGURAS 28A-B presentan el efecto de BKT300-11-a5 sobre la viabilidad de MV4-11 y muestran que este análogo de BKT300 también afecta a la viabilidad de las células cancerosas.

Mientras se estudia además la actividad de BKT300-3-c5, se incubaron diversas células cancerosas con BKT300-3-c5 1 μ M, y sin él (control), y después se tiñeron para 7-ADD.

Los datos obtenidos se presentan en la FIG. 29, y muestran que en todas las células analizadas, BKT300-3-c5 detiene el crecimiento en la fase G2M del ciclo celular e induce la muerte celular apoptótica. También mostrado en la FIGURA 29 son datos obtenidos para I PI-145 (fila superior, derecha), demostrando que no afecta la detención del crecimiento ni la apoptosis.

El efecto de BKT300-3-c5 (también denominado BKT300 (S)) también se demostró para líneas celulares adicionales de diferentes cánceres: Leucemia mieloide crónica (CML), Leucemia mieloide aguda (AML), Linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), Mieloma, Cáncer de ovario, Neuroblastoma, Cáncer de pulmón. Los datos se presentan en la Tabla 3 a continuación.

Tabla 3

Línea celular	Origen	1,0 Micromolar BKT300 (S) Inhibición del crecimiento celular (%)
K562	CML	71,0
HL60	AML	94,9
RPMI8826	Mieloma	90,6
SU-DHL-4	DLBCL	34
SU-DHL-6	DLBCL	50
Farage	DLBCL	40
Toledo	DLBCL	4
OVCAR3	Ovárico	93,7
SKNBE	Neuroblastoma	73
H460	Pulmón	78

Estos resultados indican además que BKT300 es eficaz en la inducción de la muerte celular de una amplia diversidad de tipos de células cancerosas.

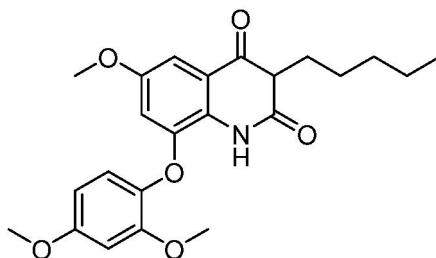
- 5 En estudios adicionales, la inducción de apoptosis por BKT300-3-c5 se estableció incubando células MV4-11 con y sin BKT300-3-c5 (1 μ M) durante 24 horas, seguido de tinción de las células para anexina-V y yoduro de propidio (PI). Los datos obtenidos se presentan en la FIGURA 30 y muestran claramente una reducción en el porcentaje de células viables a través de apoptosis.
- 10 En más estudios adicionales, se probó el papel de la caspasa-3 (CASP3) en la apoptosis inducida por BKT300-3-c5 de las líneas celulares de AML NB4, U937 y MV4-11. Las células se incubaron con BKT300-3-c5 (1 μ M) durante 24 horas y después se probaron para la presencia de escindido usando mAb contra caspasa 3 humana escindida mediante transferencia Western y ensayo Elisa para caspasa-3.
- 15 La proteína CASP3 es un miembro de la familia de las proteasas de cisteína-ácido aspártico (caspasa). La activación secuencial de las caspasas juega un papel central en la fase de ejecución de la apoptosis celular. Las caspasas existen como proenzimas inactivas que se someten a un procesamiento proteolítico en restos aspárticos conservados para producir dos subunidades, grande y pequeña, que se dimerizan para formar la enzima activa. La enzima activa escinde y activa las caspasas 6 y 7 y se procesa y se activada por las caspasas 8, 9 y 10.
- 20 Los datos obtenidos se presentan en las FIGURAS 31A-C y muestran claramente que la apoptosis inducida por BKT300-3-c5 es a través de la activación de caspasa-3.

EJEMPLO 8

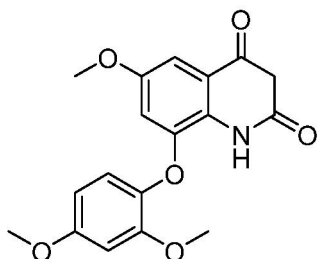
25 Análogos de BKT300-3-c5

Síntesis química:

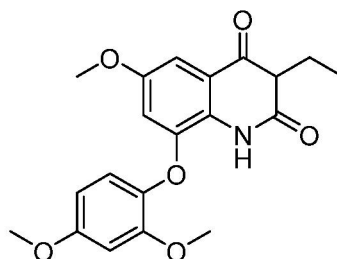
- 30 Los siguientes análogos de BKT300-3-c5 se sintetizaron, de manera similar a BKT300-3-c5, mientras se modificaban los reactivos usados durante la preparación de c1 y/o c3 (véase la Figura 17) de acuerdo con la estructura final del análogo.
- 35 Las estructuras siguientes se presentan en su forma "ceto", sin embargo, también se contemplan la forma "enol" correspondiente y las formas equilibrantes.



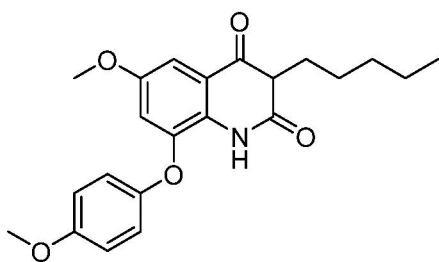
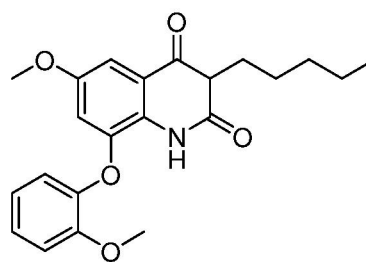
BKT300-3-c5



A1

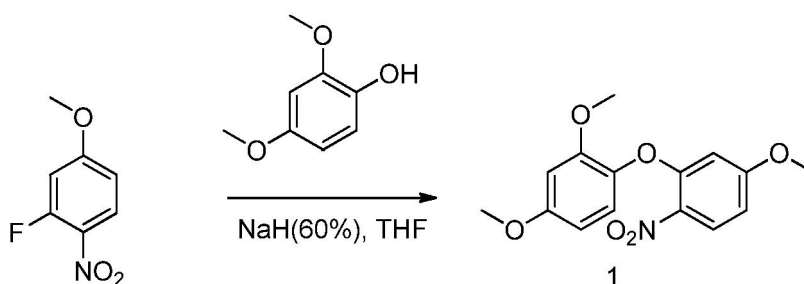


A3

**B1****D1**

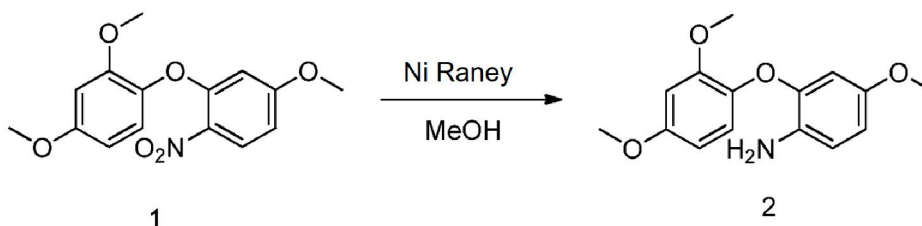
Preparación del Compuesto A1:

5 *Preparación de 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxi-1-nitrobenceno (Compuesto A1-1):*

**1**

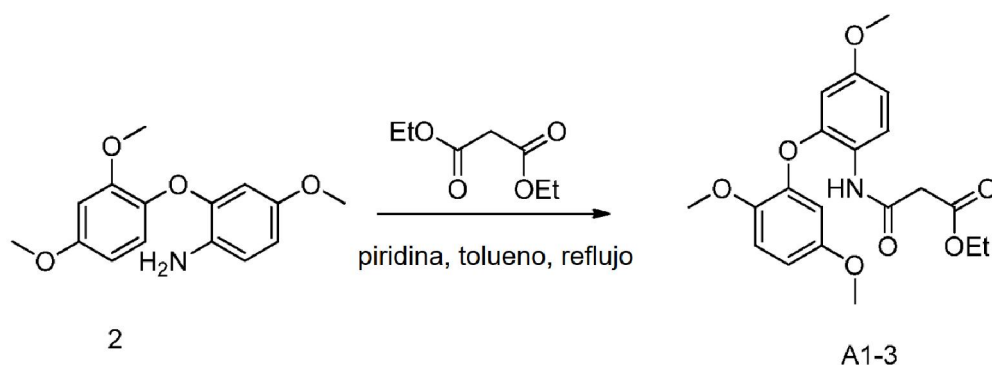
10 A una solución de 2,4-dimetoxifenol (5,0 gramos, 32,4 mmol) en THF (125 ml) se le añadió NaH (60 %) (112,5 mg, 64,8 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 minutos. Después, se añadió 2-fluoro-4-metoxi-1-nitrobenceno (5,5 gramos, 32,4 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La TLC mostró que la reacción se había completado (Éter de petróleo:EtOAc = 10:1). La mezcla de reacción se vertió en agua enfriada con hielo y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con PE:EA = 10:1 para dar el producto 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxi-1-nitrobenceno (Compuesto 1) (8,3 gramos, rendimiento del 83,8 %) en forma de un aceite de color amarillo.

Preparación de 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxianilina (Compuesto A1-2):

**1****2**

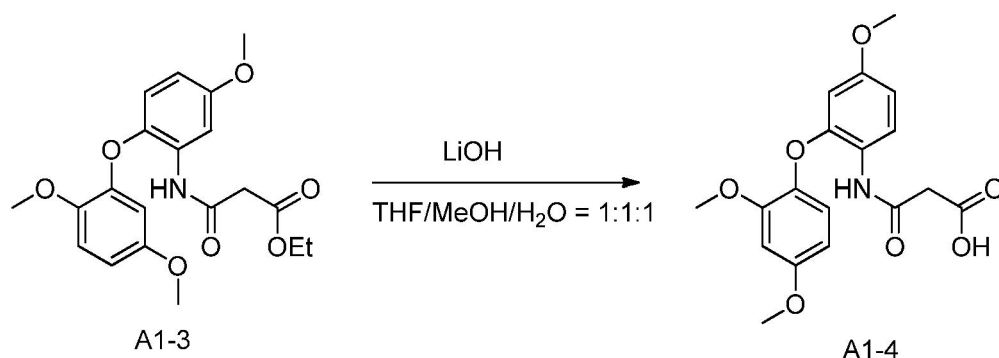
20 Una mezcla de 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxi-1-nitrobenceno (Compuesto 1) (8,3 gramos, 27,2 mmol) y Ni Raney (400 mg) en MeOH (300 ml) se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La TLC mostró que la reacción se había completado (PE:EA = 2:1). La mezcla de reacción se filtró. El filtrado se concentró al vacío para dar el producto 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxianilina (Compuesto 2) (8,0 gramos, rendimiento >100 %) en forma de un aceite oscuro, el cual se usó sin más purificación. CL-EM: m/z 276,0 (M⁺+H)

Preparación de 3-((2-(2,5-dimetoxifenoxi)-4-metoxifenil)amino)-3-oxopropanoato de etilo (A1-3):



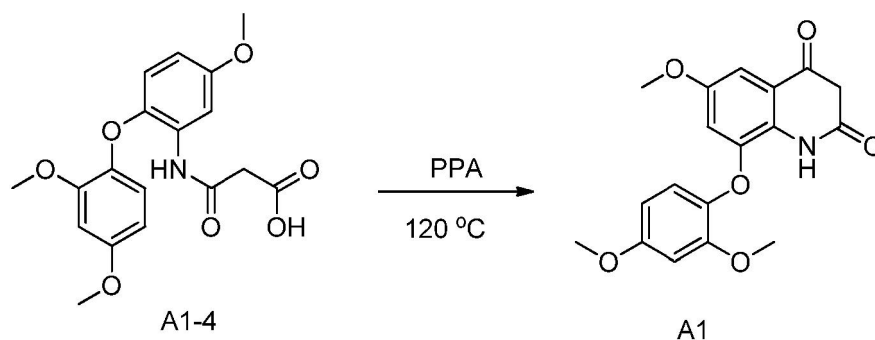
Una mezcla de 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxianilina (Compuesto 2) (800 mg, 2,91 mmol), malonato de dietilo (960 mg, 5,81 mmol) y piridina (460 mg, 5,81 mmol) en tolueno (20 ml) se agitó a la temperatura de reflujo durante 24 horas. Una vez completada la reacción, como se controlaba por CLEM, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con (PE:EA = 20:1-10:1) para dar el producto 3-((2-(2,5-dimetoxifenoxi)-4-metoxifenil)amino)-3-oxopropanoato de etilo (A1-3) (740 mg, rendimiento del 65,3 %) en forma de un aceite de color amarillo. CL-EM: m/z 390 (M⁺+H)

Preparación de ácido 3-((2-(2,5-dimetoxifenoxi)-4-metoxifenil)amino)-3-oxopropanoico (A1-4):



A una solución de 3-((2-(2,5-dimetoxifenoxi)-4-metoxifenil)amino)-3-oxopropanoato de etilo (A1-3) (740 mg, 1,90 mmol) en una solución mezcla de THF (15 ml), MeOH (15 ml) y H₂O (15 ml) se le añadió LiOH-H₂O (798 mg, 19 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche y después de eso, se concentró al vacío. El residuo se disolvió en H₂O (100 ml) y se acidificó a pH 2-3 usando HCl conc. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para dar el producto ácido 3-((2-(2,5-dimetoxifenoxi)-4-metoxifenil)amino)-3-oxopropanoico (A1-4) (680 mg, rendimiento del 98 %) en forma de un aceite de color amarillo. CL-EM: m/z 362 (M⁺+H)

Preparación de 8-(2,4-dimetoxifenoxi)-6-metoxiquinolin-2,4(1H,3H)-diona (A1):



A una solución de PPA (30,0 gramos) a 120 °C se le añadió en porciones ácido 3-((2-(2,5-dimetoxifenoxi)-4-metoxifenil)amino)-3-oxopropanoico (A1-4) (680 mg, 1,88 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 120 °C durante 2 horas. Una vez completada la reacción, como se controlaba por CLEM, la mezcla de reacción se vertió en H₂O (250 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con (PE:EA = 2:1) para dar el producto 8-(2,4-dimetoxifenoxi)-6-metoxiquinolin-2,4(1H,3H)-diona (A1) (65 mg,

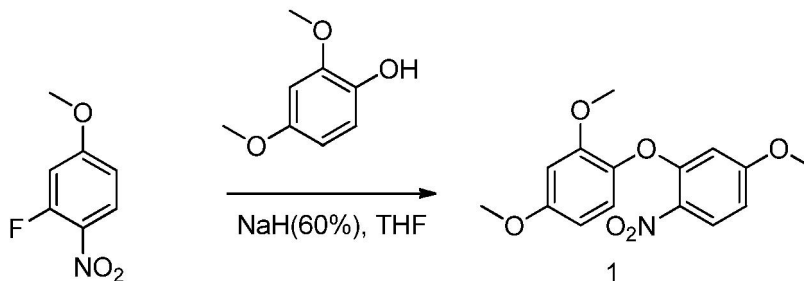
rendimiento del 10 %) en forma de un sólido de color amarillo.

CL-EM: m/z 344,1 ($M^+ + H$).

RMN 1H (400 MHz, DMSO): δ = 11,39 (s, 1H), 10,31 (s, 1H), 7,11 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,89 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 6,76 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 6,57 (m, 1H), 6,16 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 5,81 (s, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,76 (s, 3H), 3,73 (s, 3H).

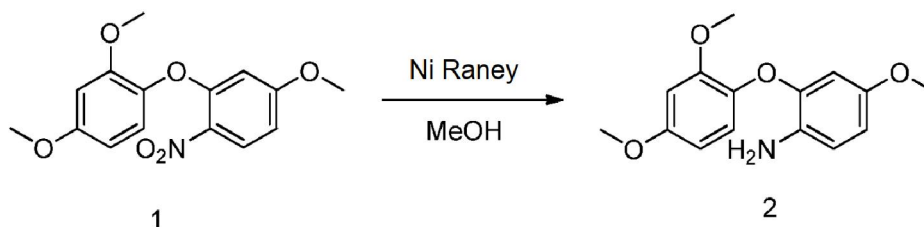
Preparación del Compuesto A3:

Preparación de 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxi-1-nitrobenceno (Compuesto A3-1):



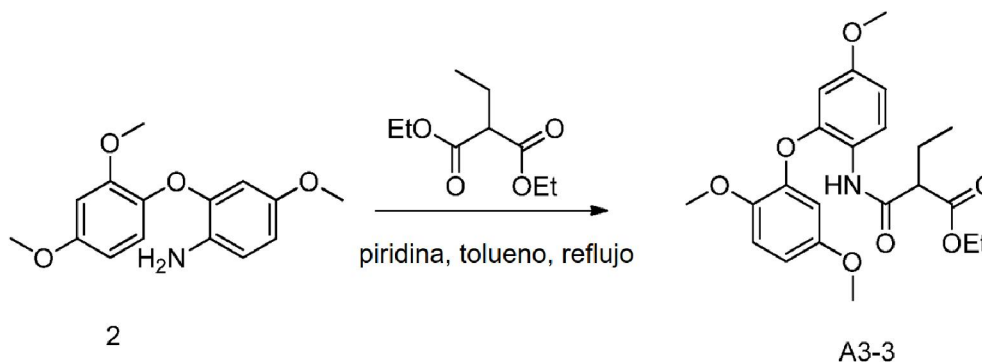
A una solución de 2,4-dimetoxifenol (5,0 gramos, 32,4 mmol) en THF (125 ml) se le añadió NaH (60 %) (112,5 mg, 64,8 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 minutos. Después, se añadió 2-fluoro-4-metoxi-1-nitrobenceno (5,5 gramos, 32,4 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La TLC mostró que la reacción se había completado (Éter de petróleo:EtOAc = 10:1). La mezcla de reacción se vertió en agua enfriada con hielo y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 100 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se filtró. El filtrado se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con PE:EA = 10:1 para dar el producto 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxi-1-nitrobenceno (Compuesto A3-1) (8,3 gramos, rendimiento del 83,8 %) en forma de un aceite de color amarillo.

Preparación de 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxianilina (Compuesto A3-2):



Una mezcla de 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxi-1-nitrobenceno (Compuesto A3-1) (8,3 gramos, 27,2 mmol) y Ni Raney (400 mg) en MeOH (300 ml) se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La TLC mostró que la reacción se había completado (PE:EA = 2:1). La mezcla de reacción se filtró. El filtrado se concentró al vacío para dar el producto 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxianilina (Compuesto A3-2) (8,0 gramos, rendimiento >100 %) en forma de un aceite de color oscuro, el cual usó sin más purificación. CL-EM: m/z 276,0 ($M^+ + H$).

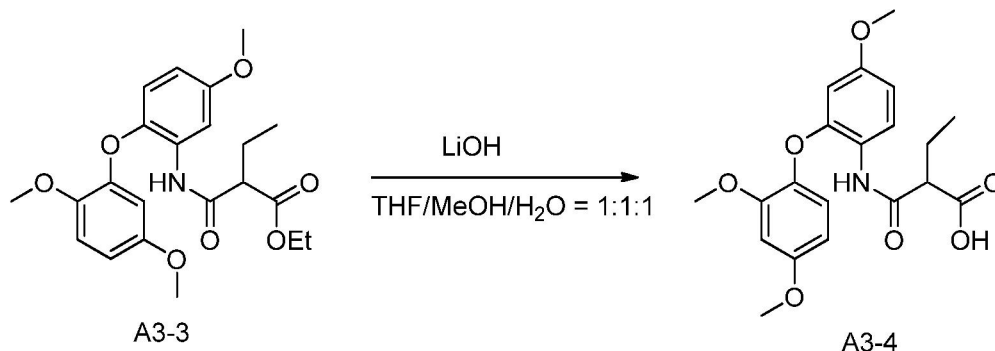
Preparación de 3-((2-(2,5-dimetoxifenoxi)-4-metoxifenil)amino)-3-oxopropanoato de etilo (A3-3):



Una mezcla de 2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxianilina (Compuesto A3-2) (800 mg, 2,91 mmol), 2-etilmalonato de dietilo (1,10 gramos, 5,81 mmol) y piridina (460 mg, 5,81 mmol) en tolueno (20 ml) se agitó a la temperatura de reflujo durante 24 horas. Una vez completada la reacción, como se controlaba por CLEM, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con PE:EA=20:1-10:1 para dar el

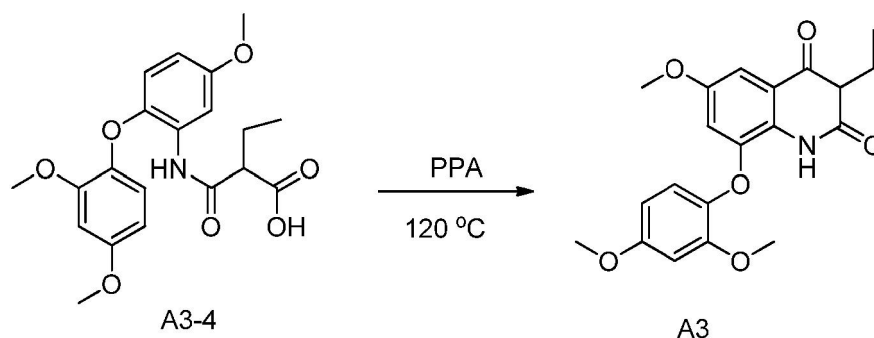
producto 3-((2-(2,5-dimetoxifenoxi)-4-metoxifenil)amino)-3-oxopropanoato de etilo (A3-3) (840 mg, rendimiento del 69,2 %) en forma de un aceite de color amarillo. CL-EM: m/z 417 ($M^+ + H$)

Preparación de ácido 2-((2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxifenil)carbamoil)butanoico (A3-4):



10 A una solución de 3-((2-(2,5-dimetoxifenoxi)-4-metoxifenil)amino)-3-oxopropanoato de etilo (A3-3) (840 mg, 2,0 mmol) en una solución mezcla de THF (15 ml), MeOH (15 ml) y H₂O (15 ml), se le añadió LiOH-H₂O (798 mg, 19 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche y después de eso, se concentró al vacío. El residuo se disolvió en H₂O (100 ml) y se acidificó a pH 2-3 usando HCl conc. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para dar el producto ácido 2-((2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxifenil) carbamoil)butanoico (A3-4) (650 mg, rendimiento del 83 %) en forma de un aceite de color amarillo. CL-EM: m/z 389 ($M^+ + H$)

15 Preparación de 8-(2,4-dimetoxifenoxi)-3-etil-6-metoxiquinolin-2,4(1H,3H)-diona (A3):



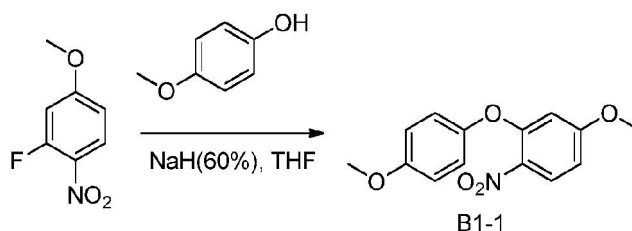
20 A una solución de PPA (30 gramos) a 120 °C se le añadió en porciones ácido 2-((2-(2,4-dimetoxifenoxi)-4-metoxifenil)carbamoil)butanoico (A3-4) (650 mg, 1,67 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 120 °C durante 2 horas. Una vez completada la reacción, como se controlaba por CLEM, la mezcla de reacción se vertió en H₂O (250 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con (PE:EA = 2:1) para dar el producto 8-(2,4-dimetoxifenoxi)-3-etil-6-metoxiquinolin-2,4(1H,3H)-diona (A3) (93 mg, rendimiento del 15 %) en forma de un sólido de color amarillo.

CL-EM: m/z 372,1 ($M^+ + H$).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO): δ = 10,32 (s, 1H), 10,06 (s, 1H), 7,10 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 7,03 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 6,76 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 6,57 (m, 1H), 6,13 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 5,81 (s, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,73 (s, 3H), 3,69 (s, 3H), 3,26 (m, 2H), 1,03 (m, 3H).

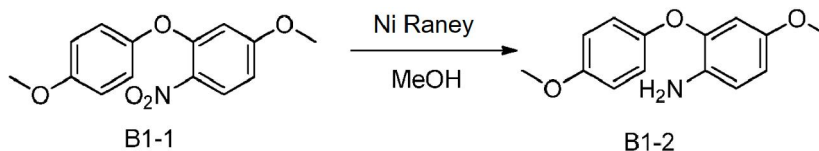
Preparación del Compuesto B1:

Preparación del compuesto B1-1:



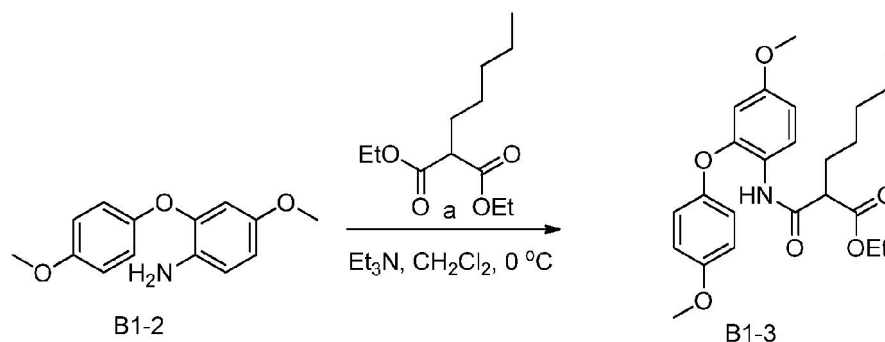
A una solución de 4-metoxifenol (2,3 gramos, 18,5 mmol) en THF (30 ml) enfriada a 0 °C, se le añadió lentamente NaH (1,48 gramos, 37,09 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 minutos, y después se añadió 2-fluoro-4-metoxi-1-nitrobenceno (3,17 gramos, 18,5 mmol) a 0 °C, y después de eso, la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se mantuvo durante una noche. Después de eso, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con EA. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con NaSO₄, se concentró al vacío y se purificó por cromatografía ultrarrápida, para dar el compuesto B1-1 (4-metoxi-2-(4-metoxifenoxi)-1-nitrobenceno) (4,6 gramos, rendimiento del 90,2 %).

Preparación del Compuesto B1-2:



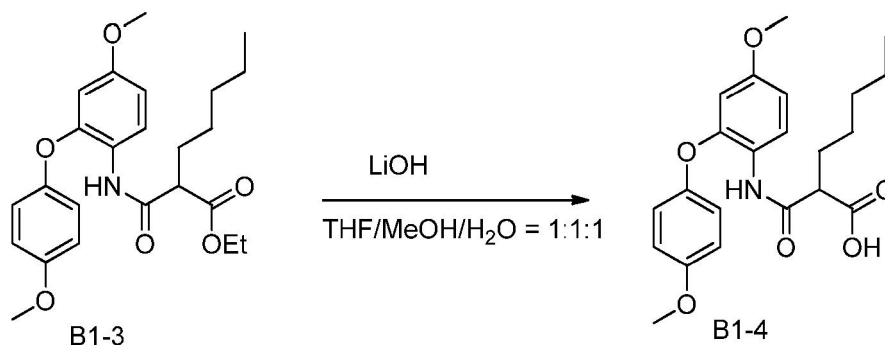
A una solución de 4-metoxi-2-(4-metoxifenoxi)-1-nitrobenceno (4,6 gramos, 16,73 mmol) en MeOH se le añadió Pd/C (400 mg) en H₂. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se filtró a través de un filtro de vidrio y el filtrado se concentró al vacío, se purificó por cromatografía ultrarrápida para dar el producto 4-metoxi-2-(4-metoxifenoxi)anilina (2,3 gramos, rendimiento del 56,3 %).

Preparación del Compuesto B1-3:

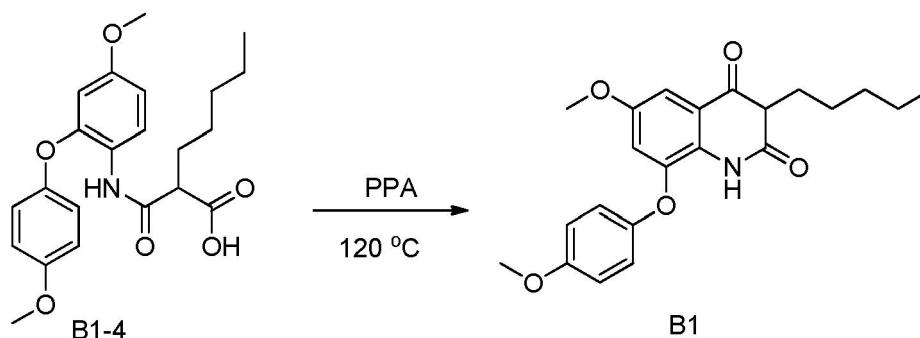


Una mezcla de 4-metoxi-2-(4-metoxifenoxi)anilina (2,3 gramos, 9,39 mmol), 2-pentilmalonato de dimetilo (9,48 gramos, 46,94 mmol) y piridina (1,48 gramos, 18,78 mmol) en tolueno (40 ml) se agitó a la temperatura de reflujo durante 40 horas. Después de eso, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida para dar el producto 2-((4-metoxi-2-(4-metoxifenoxi)fenil)carbamoil)heptanoato de metilo (2,76 gramos, rendimiento del 69,8 %).

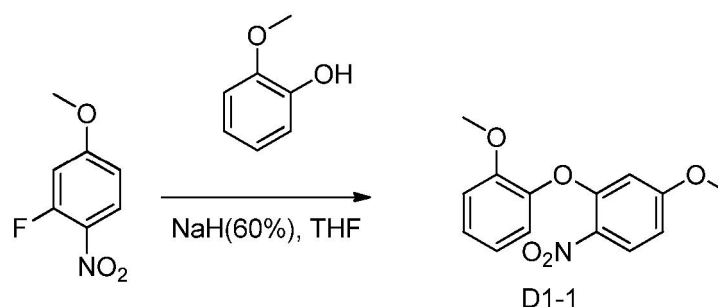
Preparación del Compuesto B1-4:



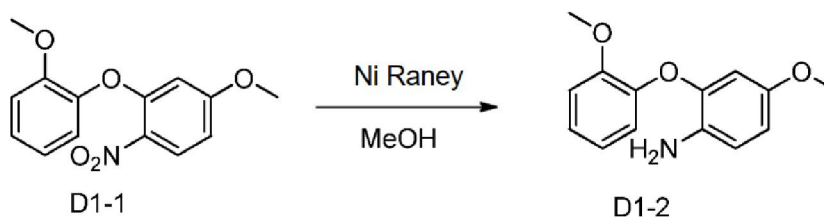
A una solución de 2-((4-metoxi-2-(4-metoxifenoxi)fenil)carbamoil)heptanoato de metilo (2,76 gramos, 6,43 mmol) en una solución mezcla de THF (10 ml), MeOH (10 ml) y H₂O (10 ml), se le añadió LiOH-H₂O (1,08 gramos, 25,73 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas y después de eso, se concentró al vacío. El residuo se disolvió en H₂O (50 ml) y se acidificó a pH 2-3 usando HCl conc. La mezcla de reacción se extrajo con EA (2 x 20 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 50 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se concentró al vacío dar el producto ácido 2-((4-metoxi-2-(4-metoxifenoxi)fenil)carbamoil)heptanoico (2,6 gramos, 100 por ciento) el cual se usó sin purificación adicional.

Preparación del Compuesto B1:

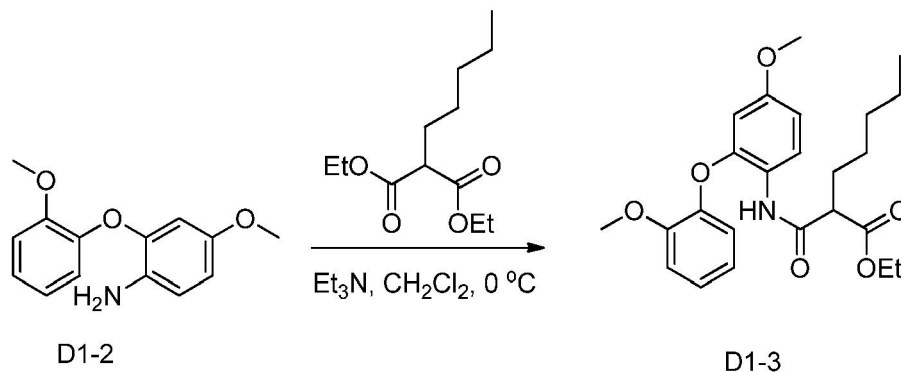
A una solución de PPA (8 ml) a 120 °C, se le añadió ácido 2-((4-metoxi-2-(4-metoxifenoxi)fenil)carbamoil)heptanoico (2,6 gramos, 6,48 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 120 °C durante 6 horas. Después, la mezcla de reacción se vertió en H₂O (100 ml) y se extrajo con EA (2 x 20 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 50 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida para dar el producto 6-metoxi-8-(4-metoxifenoxi)-3-pentilquinolin-2,4(1H,3H)-diona (200 mg, rendimiento del 8,1 %).
 RMN ¹H (400 MHz, MeOD): δ = 7,14 (s, 1H), 7,09-7,06 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,99-6,97 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,41 (s, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,77 (s, 3H), 2,68-2,64 (t, J = 7,6 Hz, 15,2 Hz, 2H), 1,54 (m, 2H), 1,39 (m, 4H), 0,94-0,90 (m, 3H).
 HPLC: pureza: a 254 nm = 95,76 %; a 214 nm = 95,07 %.
 CLEM: m/z [M-1]⁻ 382,2.

*Preparación del Compuesto D1:**Preparación del Compuesto D1-1:*

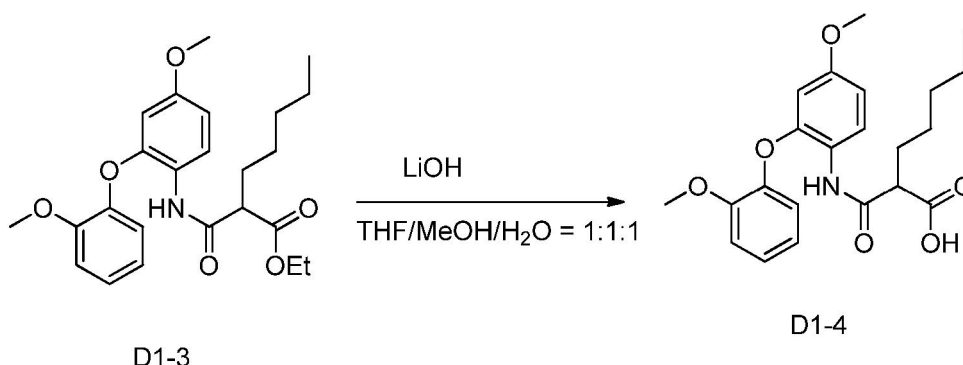
A una solución de 2-metoxifenol (2,3 gramos, 18,5 mmol) en THF (30 ml), enfriada a 0 °C, se le añadió lentamente NaH (1,48 gramos, 37,09 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 minutos, después se añadió 2-fluoro-4-metoxi-1-nitrobenzene (3,17 gramos, 18,5 mmol) a 0 °C, y después de eso, la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se mantuvo durante una noche. Después, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con EA. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con NaSO₄, se concentró al vacío y se purificó por cromatografía ultrarrápida, para dar el compuesto D1-1 (4-metoxi-2-(2-metoxifenoxi)-1-nitrobenzene) (4,6 gramos, rendimiento del 90,2 %).

Preparación del Compuesto D1-2:

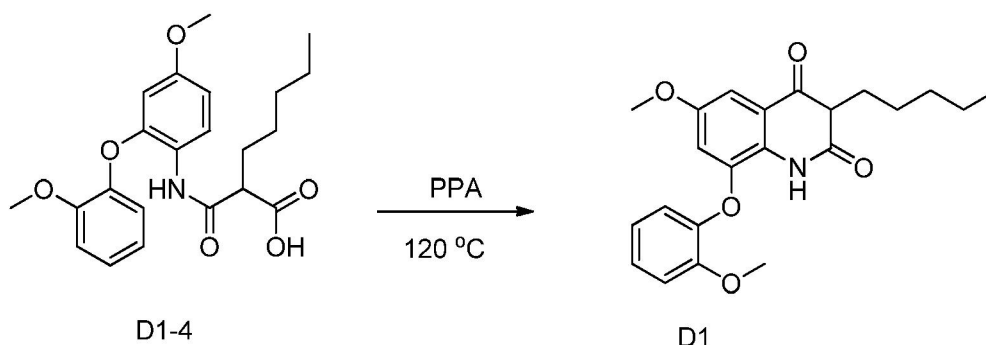
A una solución de 4-metoxi-2-(2-metoxifenoxi)-1-nitrobenzene (2,4 gramos, 8,73 mmol) en MeOH se le añadió Pd/C (200 mg) en H₂. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después, la mezcla se filtró a través de un filtro de vidrio. El filtrado se concentró al vacío, y se purificó por cromatografía ultrarrápida para dar el producto 4-metoxi-2-(2-metoxifenoxi)anilina (1,3 gramos, rendimiento del 61,9 %).

Preparación del Compuesto D1-3:

- 5 Una mezcla de 4-metoxi-2-(2-metoxifenoxi)anilina (1,3 gramos, 5,31 mmol), 2-pentilmalonato de dimetilo (6,1 gramos, 26,53 mmol) y piridina (0,84 gramos, 10,61 mmol) en tolueno (20 ml) se agitó a la temperatura de reflujo durante 40 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida para dar el producto 2-((4-metoxi-2-(2-metoxifenoxi)fenil)carbamoil)heptanoato de metilo (920 mg, rendimiento del 39,6 %).

10 *Preparación del Compuesto D1-4:*

- 15 A una solución de 2-((4-metoxi-2-(2-metoxifenoxi) fenil)carbamoil)heptanoato de metilo (920 mg, 2,14 mmol) en una solución mezcla de THF (10 ml), MeOH (10 ml) y H₂O (10 ml), se le añadió LiOH-H₂O (360 gramos, 8,58 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se disolvió en H₂O (50 ml) y se acidificó a pH 2-3 usando HCl conc. La mezcla de reacción se extrajo con EA (2 x 20 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 50 ml), se secó con Na₂SO₄ y se filtró. El filtrado se concentró al vacío para dar el producto ácido 2-((4-metoxi-2-(2-metoxifenoxi)fenil)carbamoil)heptanoico (850 mg, rendimiento del 100 %), el cual se usó sin purificación adicional.
- 20

Preparación del Compuesto D1:

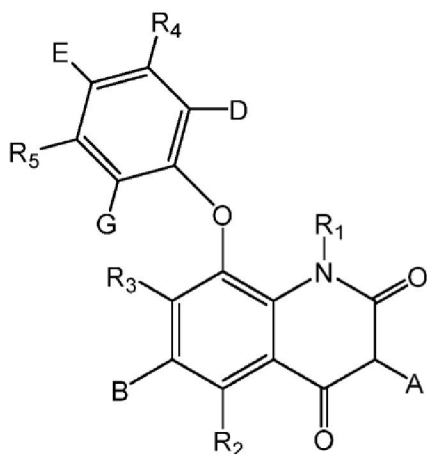
- 25 A una solución de PPA (5 ml) a 120 °C se le añadió ácido 2-((4-metoxi-2-(2-metoxifenoxi)fenil)carbamoil)heptanoico (850 mg, 22,07 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 120 °C durante 6 horas. Después, la mezcla de reacción se vertió en H₂O (100 ml) y se extrajo con EA (2 x 20 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 50 ml), se secó con Na₂SO₄ y se filtró. El filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida para dar el producto 6-metoxi-8-(2-metoxifenoxi)-3-pentilquinolin-2,4(1H,3H)-diona (50 mg, rendimiento del 6,2 %).
- 30

RMN ¹H (400 MHz, MeOD): δ = 7,28 (m, 1H), 7,19-7,16 (m, 2H), 7,12 (s, 1H), 7,05-7,01 (m, 1H), 6,29 (s, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,76 (s, 3H), 3,72 (s, 1H), 2,69-2,65 (t, J = 7,6 Hz, 15,2 Hz, 2H), 1,55 (m, 2H), 1,39 (m, 4H), 0,94-0,90 (m, 3H).
HPLC: pureza: a 254 nm = 98,76 %, a 214 nm = 97,26 %.
CLEM: m/z [M-1]⁻ 382,2.

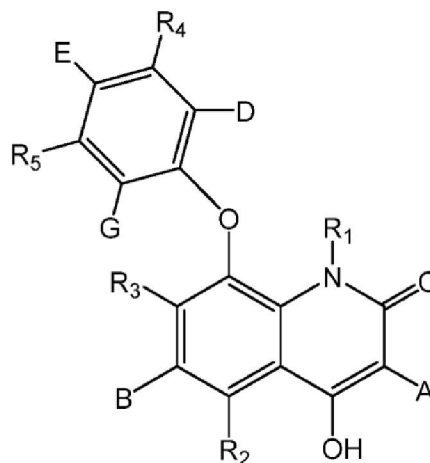
- 5 Ensayos de actividad:
- 10 Las células U937 se incubaron durante 24 horas con FC al 1 % de medio RPMI en presencia de 0,1, 1 y 10 μM de los compuestos A1, A3, B1, D1 y BKT300-3-c5, usando DMSO como disolvente.
- 10 La apoptosis y la viabilidad celular se midieron usando el ensayo de anexina-V/PI.
- El ciclo celular se midió usando el ensayo 7-AAD.
- 15 Los datos obtenidos para el Compuesto B1 se presentan en las Figuras 32A-C. Como se muestra en la Figura 32A, el compuesto B1 demuestra la detención del ciclo celular a 10 μM, con algún efecto ya observado a una concentración de 1 μM. Como se muestra en las Figuras 32B y 32C, un efecto del compuesto B1 sobre la viabilidad celular y la apoptosis, respectivamente, se observó a una concentración de 1 μM.
- 20 Los datos obtenidos para el Compuesto D1 se presentan en las Figuras 33A-C. Como se muestra en la Figura 33A, El compuesto D1 demuestra la detención del ciclo celular a 1 μM. Como se muestra en las Figuras 33B y 33C, un efecto del compuesto D1 sobre la viabilidad celular y la apoptosis, respectivamente, se observó a una concentración de 0,1 μM.
- 25 Los datos obtenidos para el Compuesto BKT300-3-c5 se presentan en las Figuras 34A-C. Como se muestra en la Figura 34A, El compuesto BKT300-3-c5 demuestra la detención del ciclo celular a 0,1 μM. Como se muestra en las Figuras 34B y 34C, un efecto del compuesto BKT300-3-c5 sobre la viabilidad celular y la apoptosis, respectivamente, se observó a una concentración de 0,1 μM.
- 30 Los datos obtenidos para el Compuesto A1 se presentan en las Figuras 35A-C.
- Los datos obtenidos para el Compuesto A3 se presentan en las Figuras 36A-C.
- 35 Como se muestra en las Figuras 35A-C y 36A-C, no se observó ningún efecto sobre el ciclo celular y la apoptosis para los Compuestos A1 y A3 en ninguna de las concentraciones ensayadas.
- No se observó ningún efecto cuando las células se incubaron solo con el disolvente (DMSO), como se muestra en las Figuras 37A-C.
- 40 Estos datos indican que la presencia de un alquilo moderado a largo (como variable A en las Fórmulas Ia y Ib), es esencial para la actividad de BKT300-3-C5 y compuestos estructuralmente relacionados (análogos), posiblemente debido a su papel de promover/facilitar la entrada de la molécula en la célula. Parte de la actividad también se atribuye a los grupos alcoxi como variables D, E y G en las Fórmulas Ia y Ib.
- 45 Aunque la invención se ha descrito junto con realizaciones específicas de la misma, es evidente que muchas alternativas, modificaciones y variaciones serán evidentes para los expertos en la materia. En consecuencia, se pretende que abarque la totalidad de tales alternativas, modificaciones y variaciones que caen dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.
- 50 La cita o identificación de cualquier referencia en esta solicitud no debería interpretarse como una admisión de que dicha referencia está disponible como técnica anterior a la presente invención. En la medida en que se usan encabezamientos de sección, no deberían interpretarse como necesariamente limitantes.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la Fórmula Ia y/o Ib:



Fórmula Ia



Fórmula Ib

en donde:

A es un alquilo que tiene al menos 4 átomos de carbono de longitud, seleccionándose dicho alquilo entre butilo sustituido o sin sustituir, pentilo sustituido o sin sustituir, hexilo sustituido o sin sustituir, heptilo sustituido o sin sustituir, octilo sustituido o sin sustituir, nonilo sustituido o sin sustituir, decilo sustituido o sin sustituir, undecilo sustituido o sin sustituir, dodecilo sustituido o sin sustituir;

B se selecciona entre hidroxilo y alcoxi;

D, E y G cada uno de se selecciona independientemente entre hidrógeno, hidroxilo, alcoxi y alquilo, siempre que (i) no más de uno de D, E y G sea dicho alquilo, (ii) no más de dos de D, E y G son dichos alcoxi, y (iii) si dos de D, E y G son dichos alcoxi, ninguno de D, E y G es dicho alquilo;

R₁ se selecciona entre hidrógeno y alquilo; y

cada uno de R₂-R₅ se selecciona independientemente entre hidrógeno, hidroxilo, halo, alcoxi, tioalcoxi, tiol, tioalcoxi y amina.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde B es alcoxi.

3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, en donde E es alcoxi.

4. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde D es alcoxi.

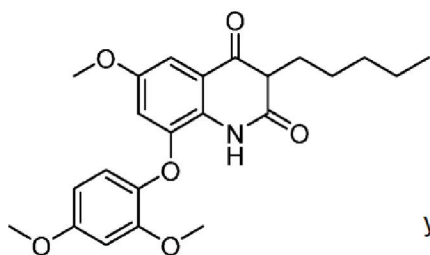
5. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde G es alcoxi o hidrógeno.

6. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde D es dicho alquilo.

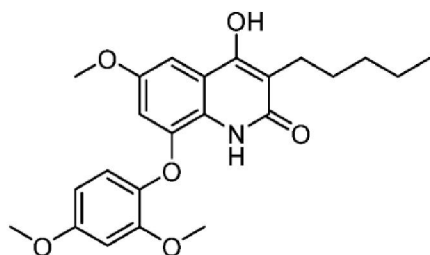
7. El compuesto de la reivindicación 6, en donde G es hidrógeno.

8. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde cuando uno de D, E y G es alquilo, dicho alquilo tiene al menos 4 átomos de carbono de longitud.

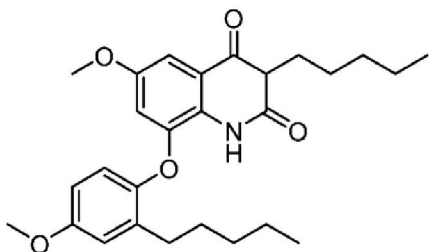
9. El compuesto de la reivindicación 1, que se selecciona entre:



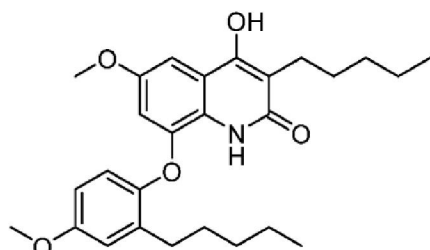
y/o



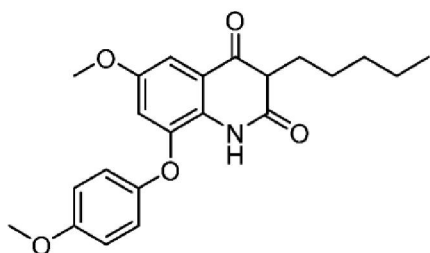
;



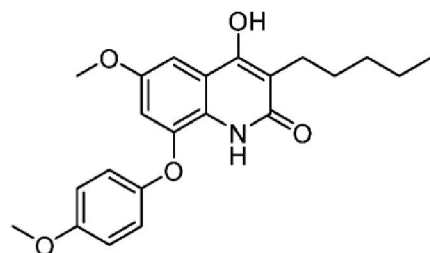
y/o



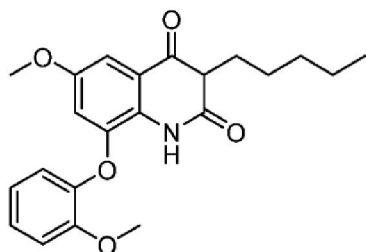
;



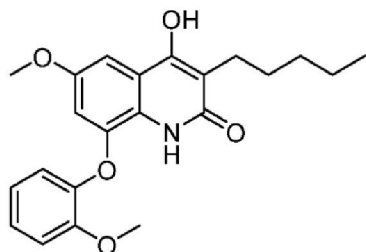
y/o



;



y/o



;

y

10. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para su uso en el tratamiento de cáncer en un sujeto que lo necesite.

11. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para su uso en la modulación de la actividad biológica de una quimiocina y/o en el tratamiento de una afección tratable mediante la modulación de una actividad biológica de una quimiocina, en un sujeto que lo necesite.

12. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para su uso en la inhibición de una quinasa y/o en el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado a una actividad de una quinasa.

13. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para su uso en el tratamiento de inflamación.

14. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para su uso en el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa no cancerosa.

15. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para su uso en la inducción de muerte celular, en la inducción de apoptosis en las células y/o en la inducción de la detención del crecimiento de células cancerosas en la fase G2M de las células cancerosas.

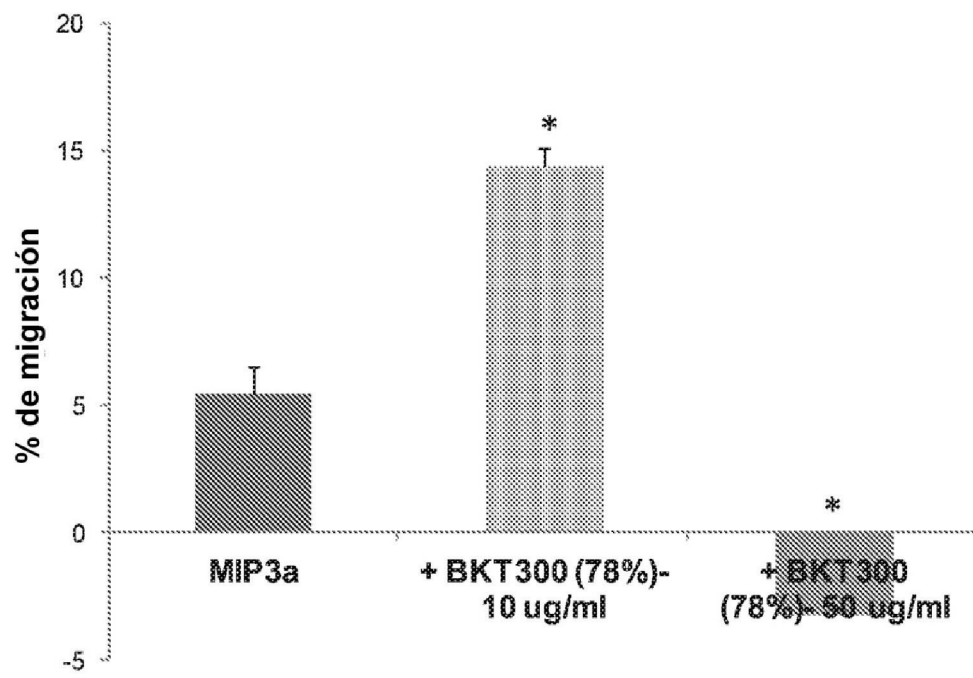


FIG. 1

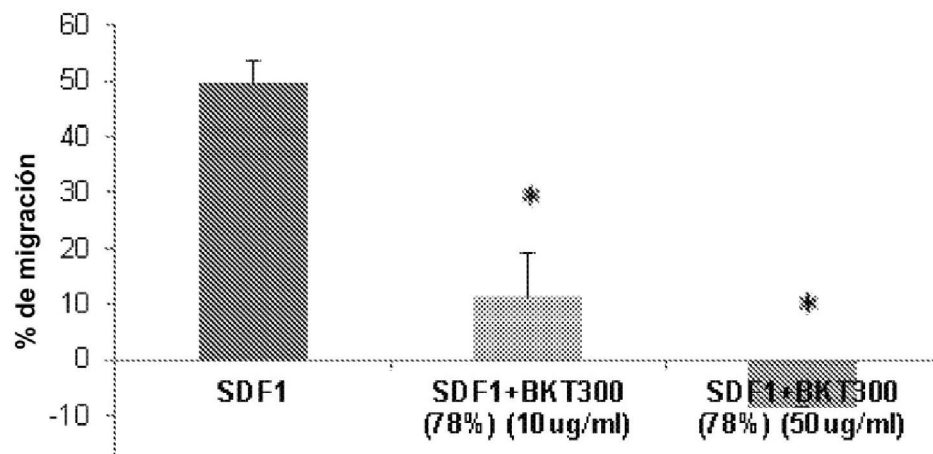


FIG. 2A

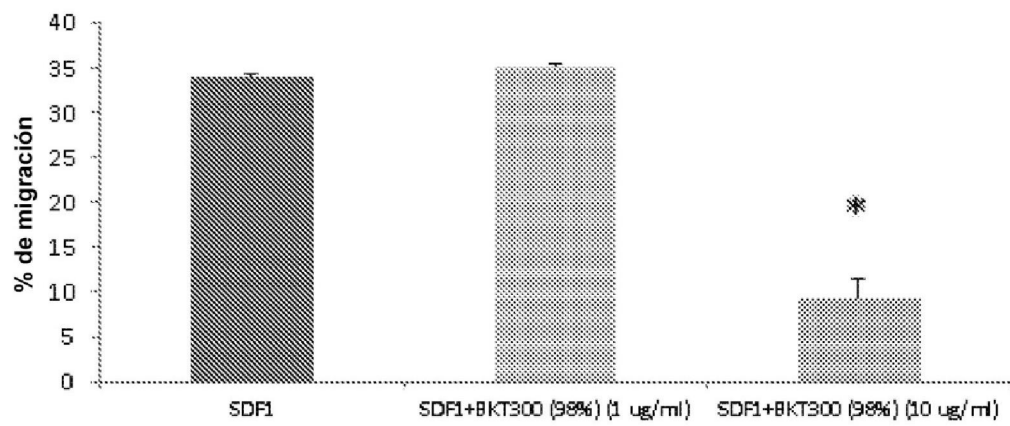


FIG. 2B

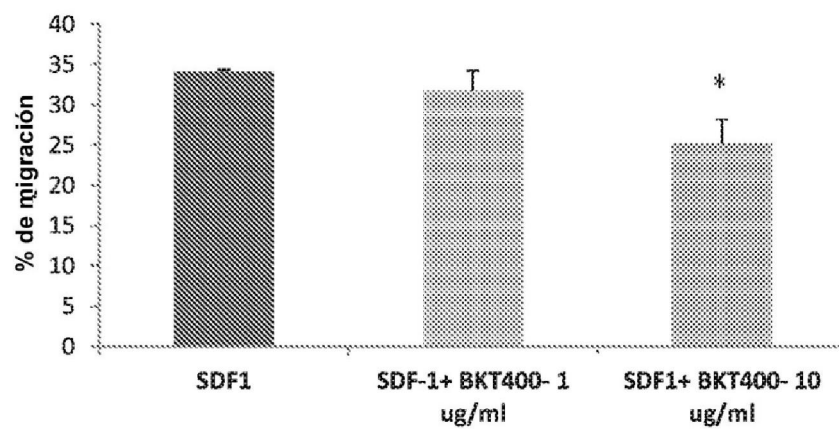


FIG. 2C

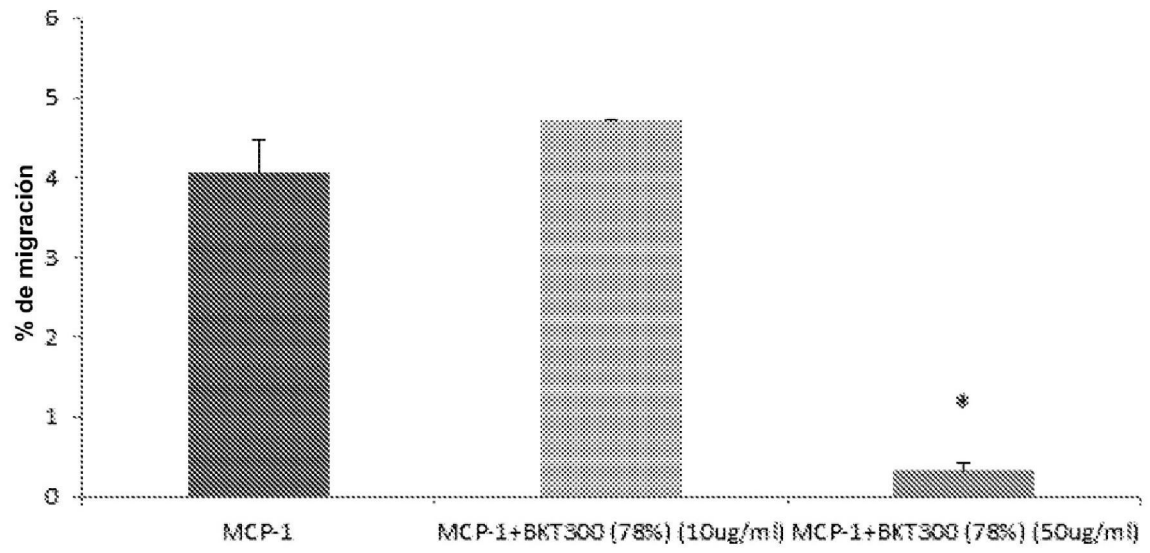


FIG. 3

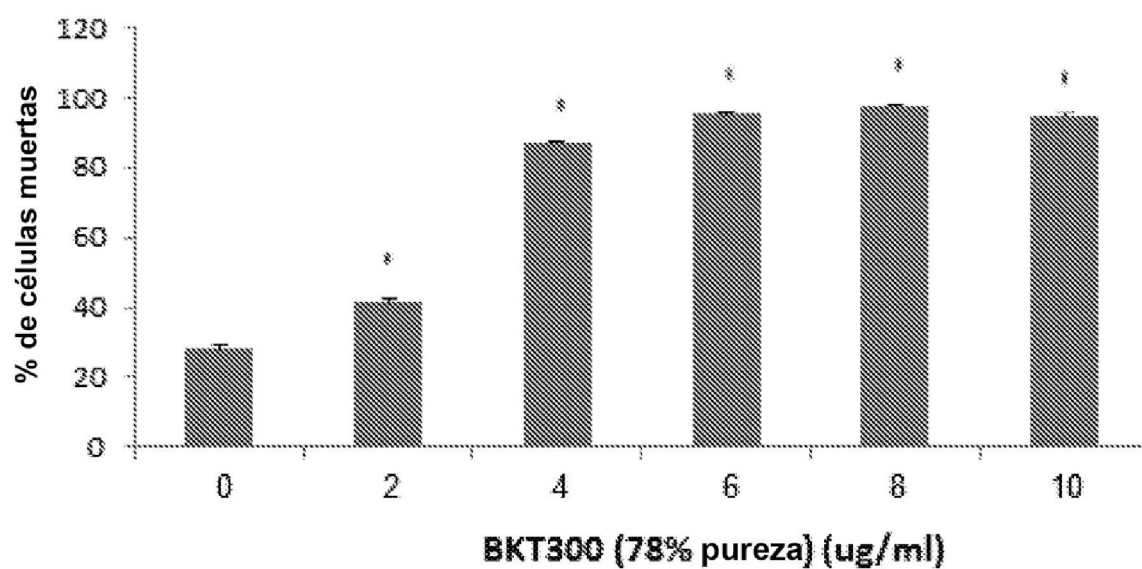


FIG. 4A

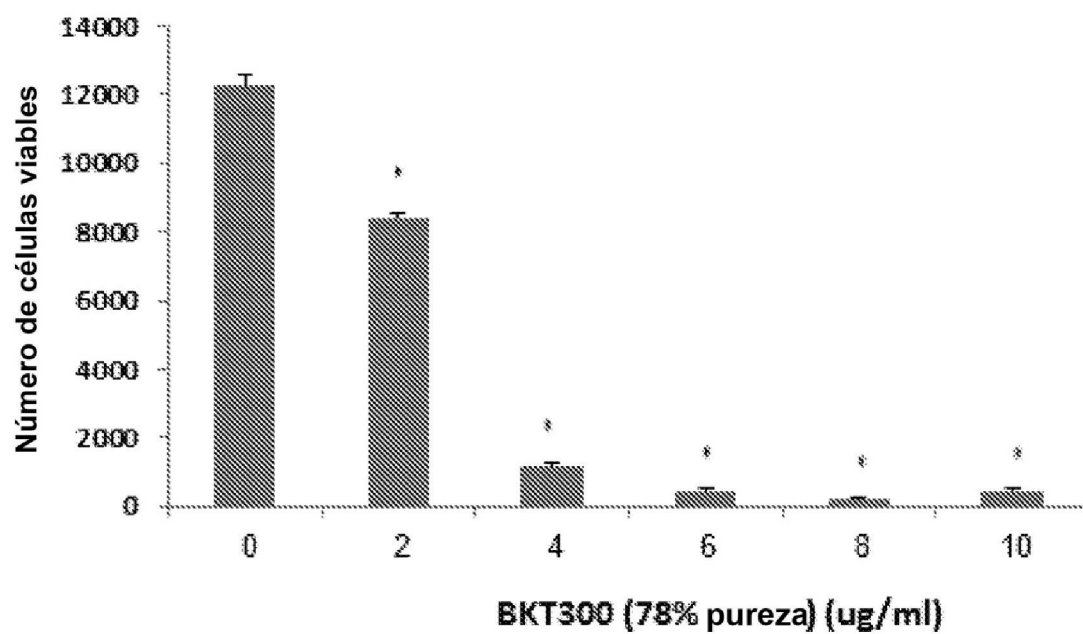


FIG. 4B

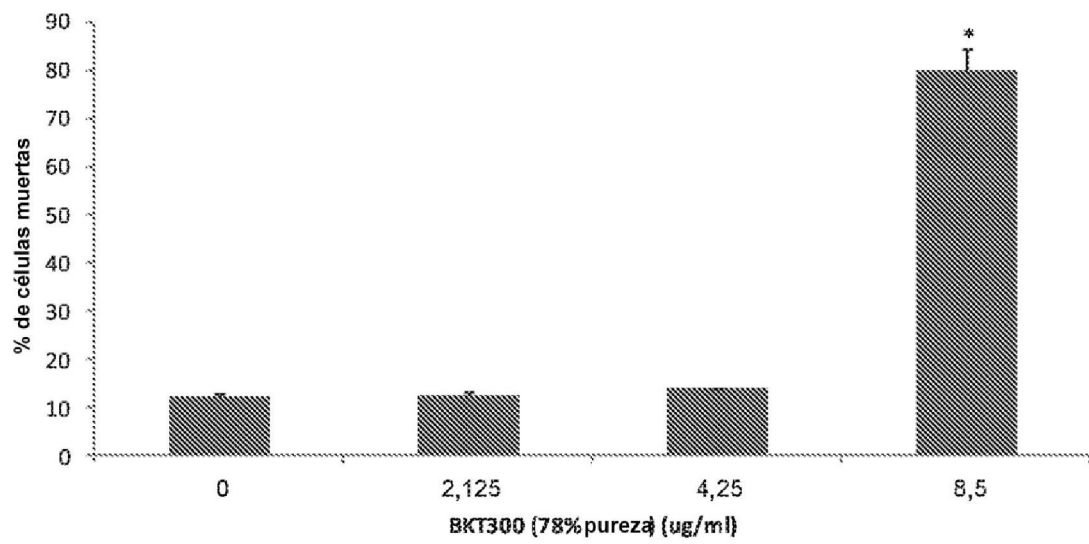


FIG. 5A

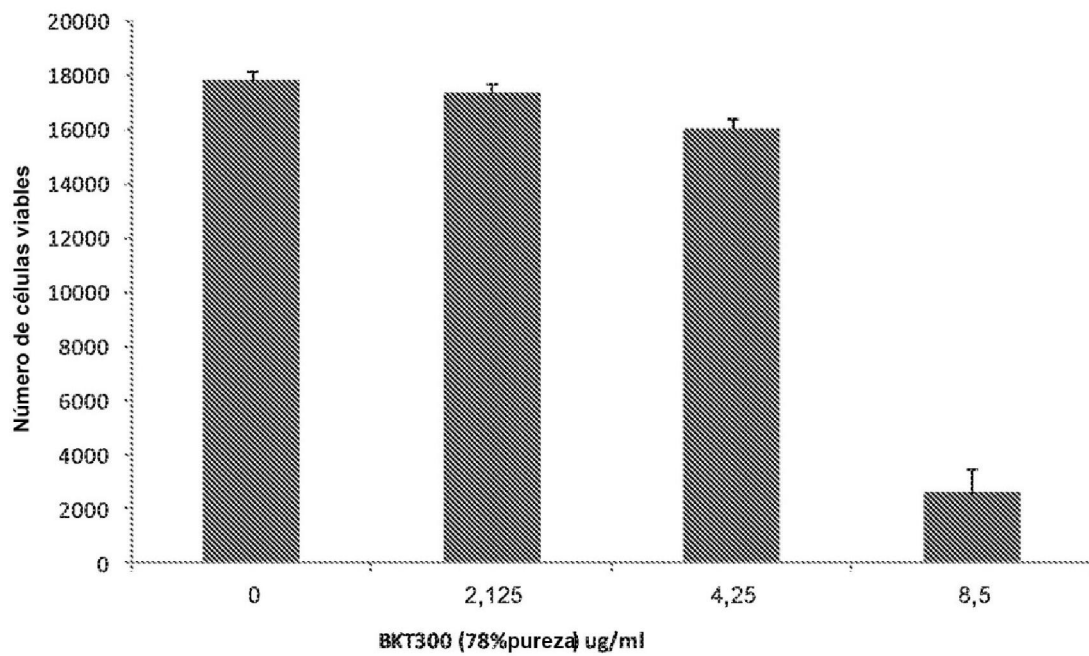


FIG. 5B

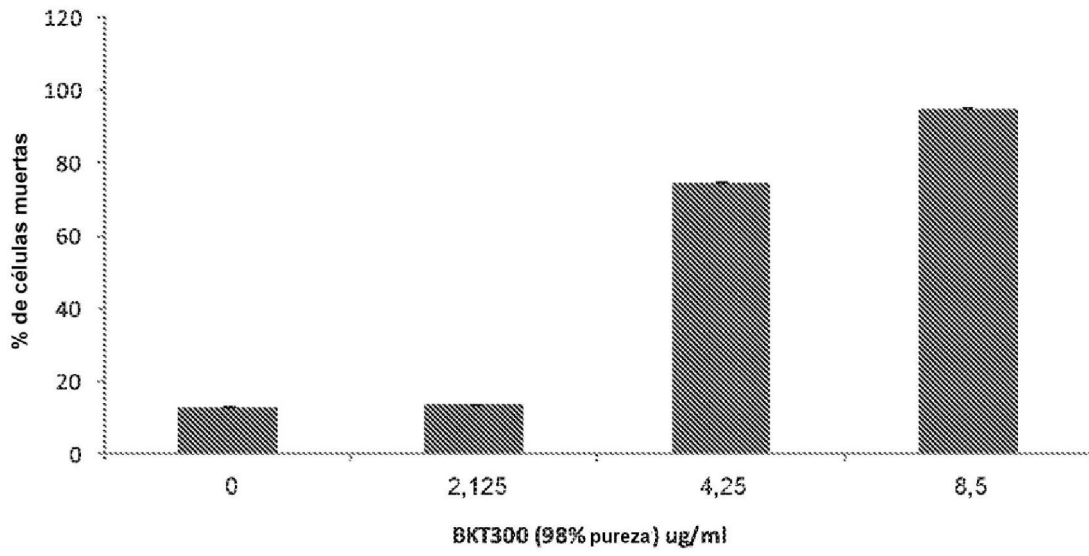


FIG. 5C

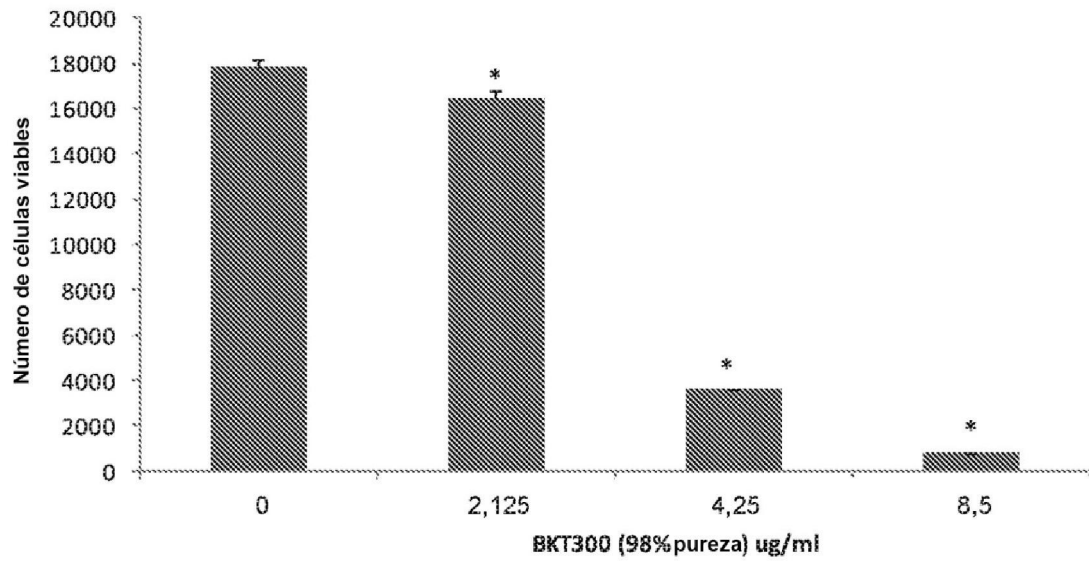


FIG. 5D

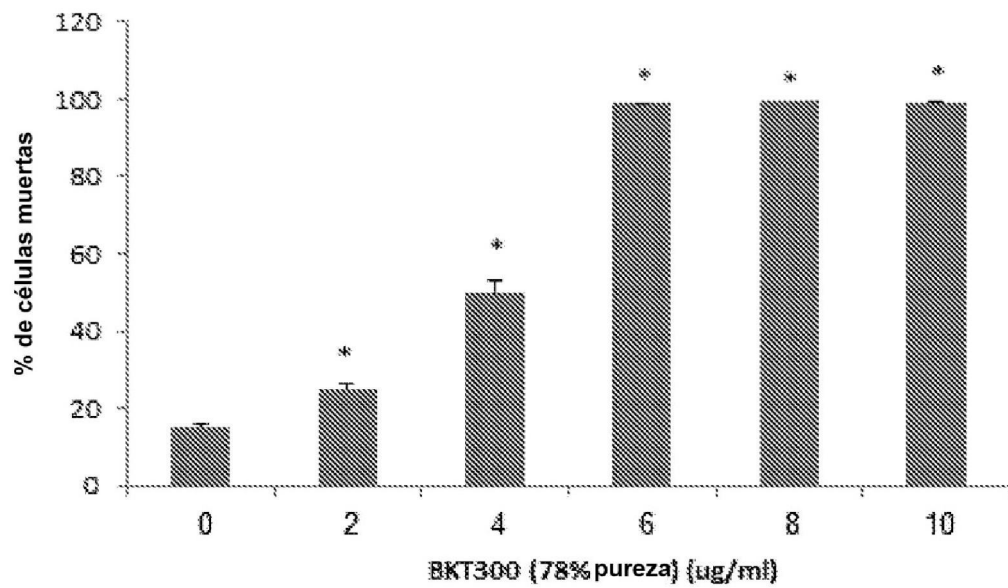


FIG. 6A

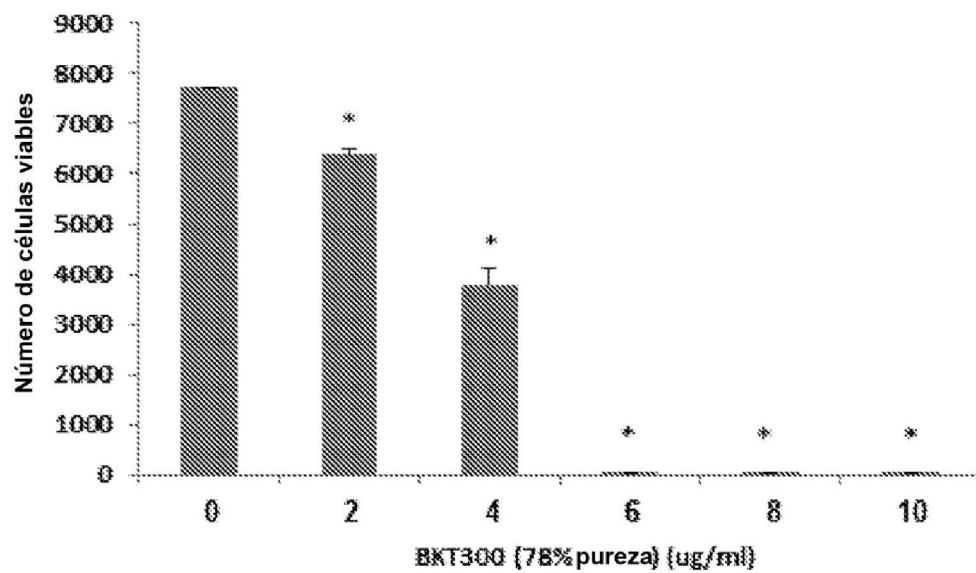


FIG. 6B

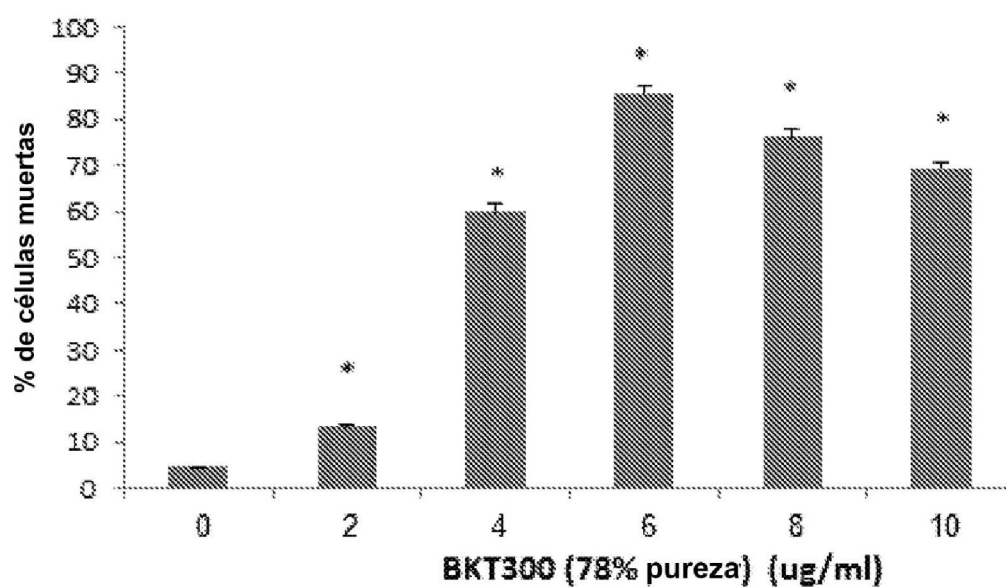


FIG. 7A

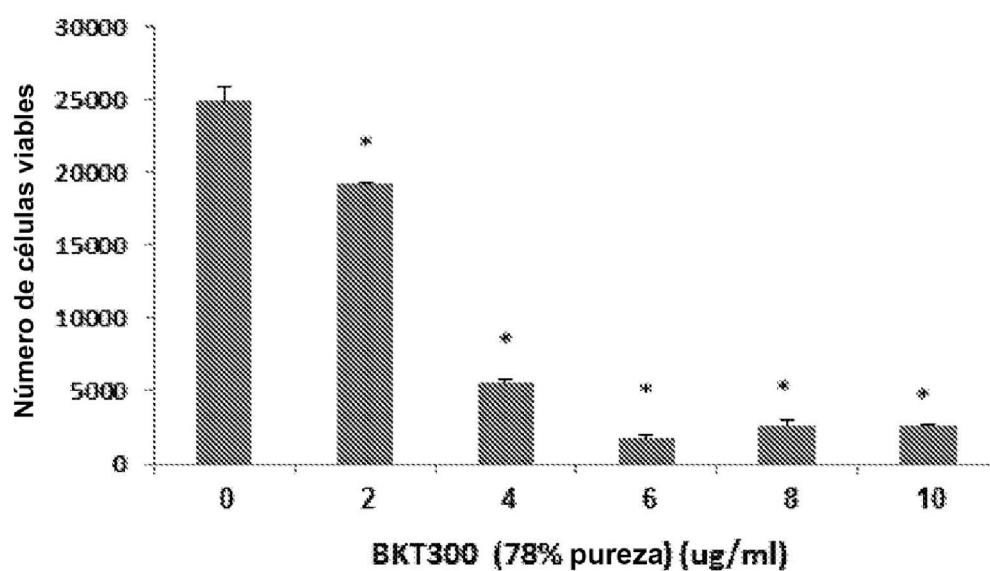


FIG. 7B

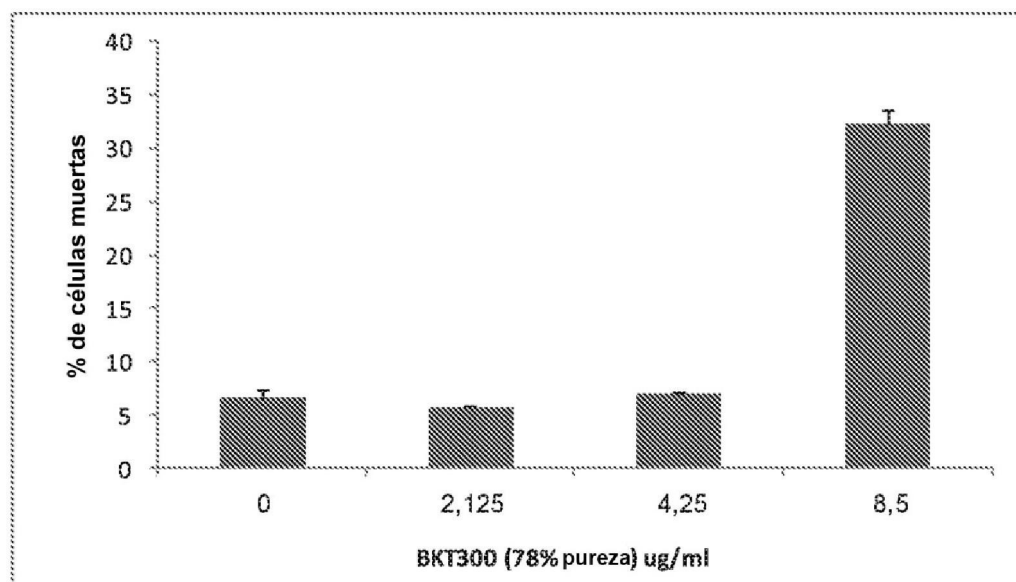


FIG. 8A

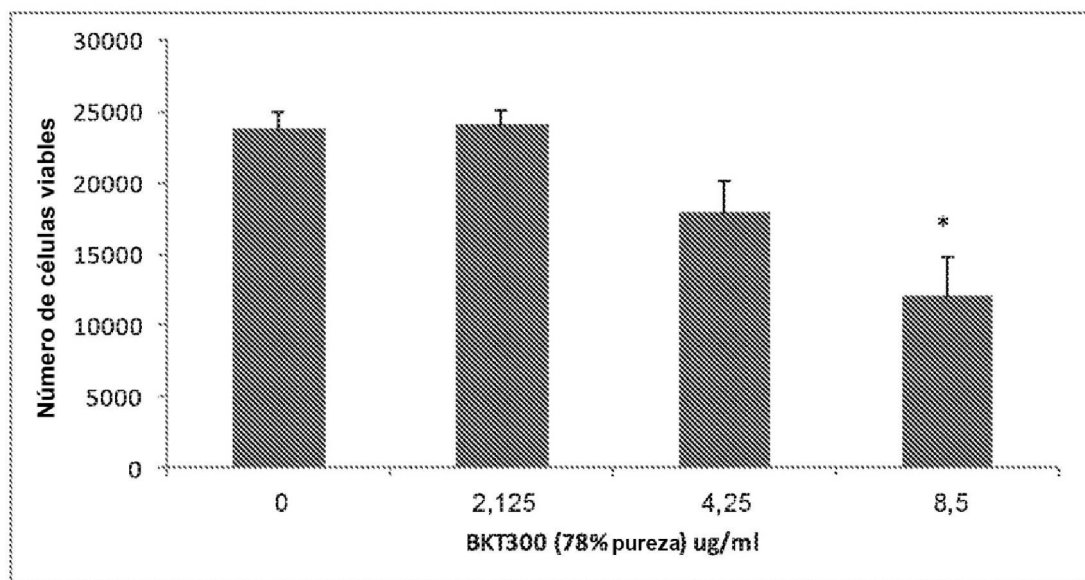


FIG. 8B

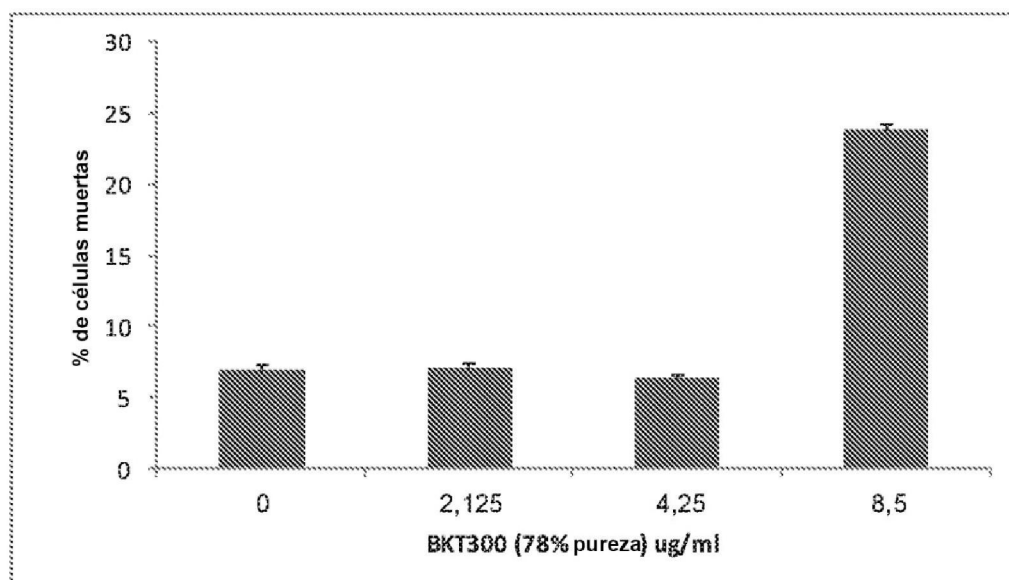


FIG. 9A

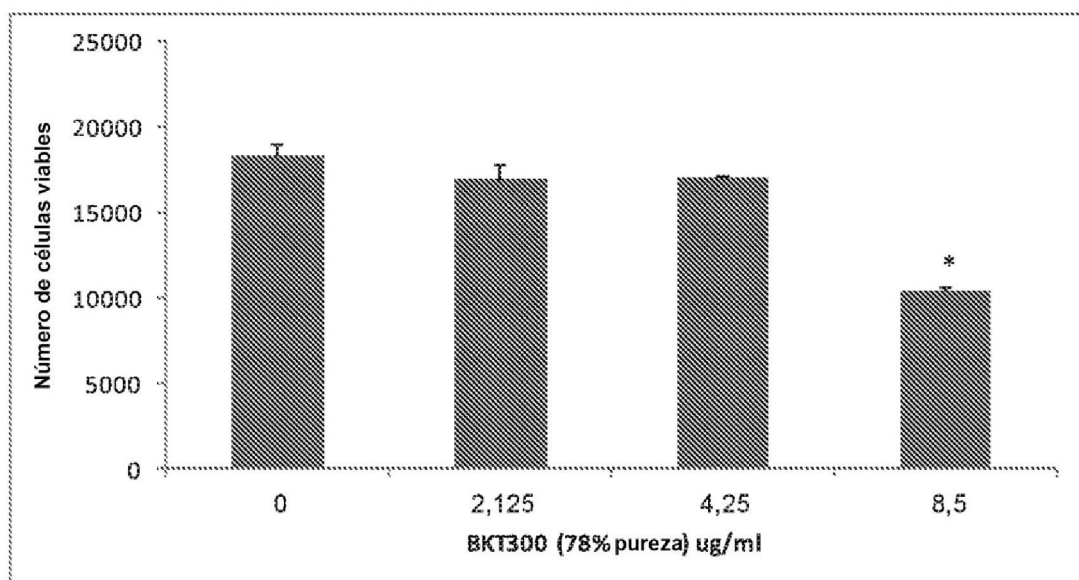


FIG. 9B

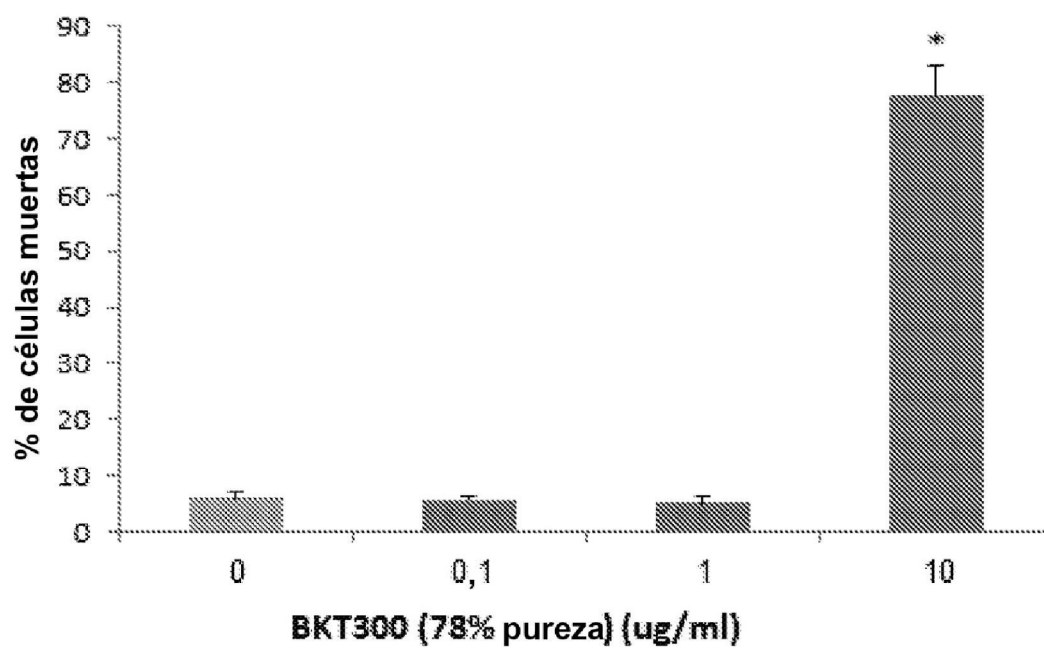


FIG. 10A

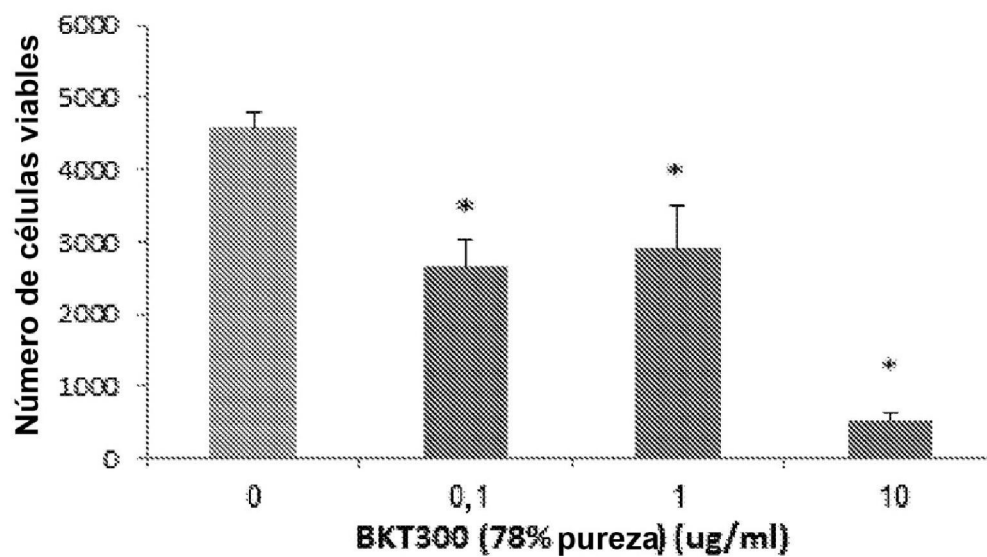


FIG. 10B

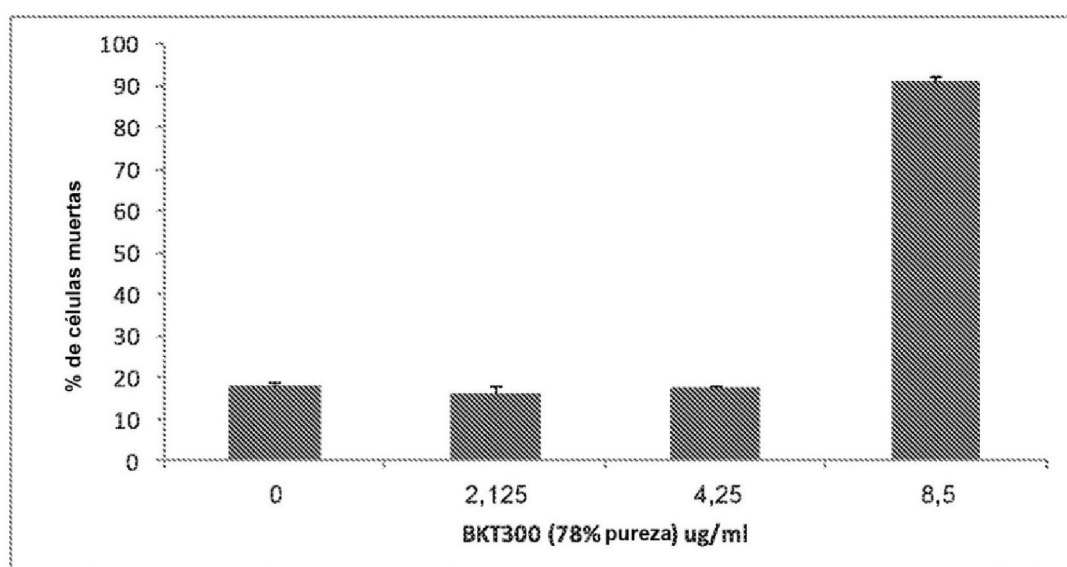


FIG. 11A

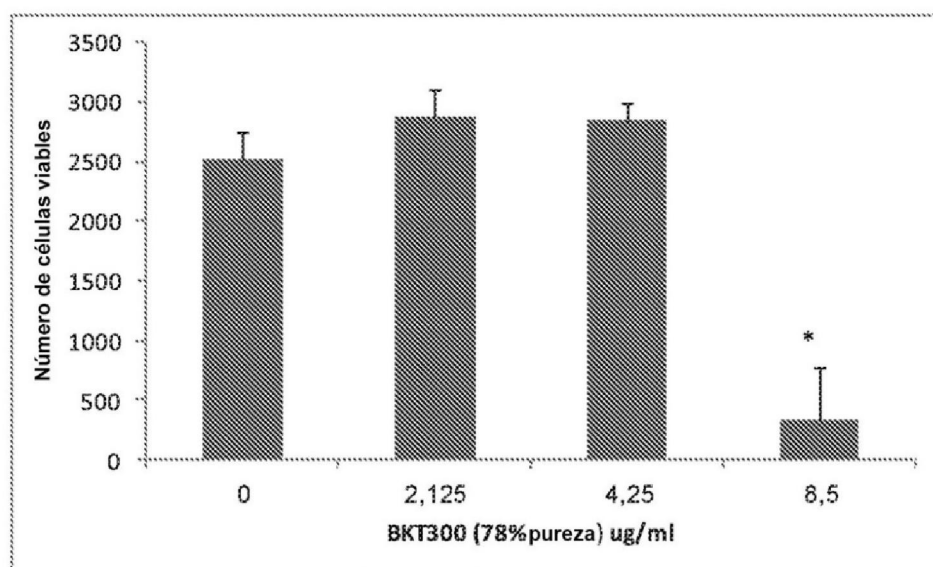


FIG. 11B

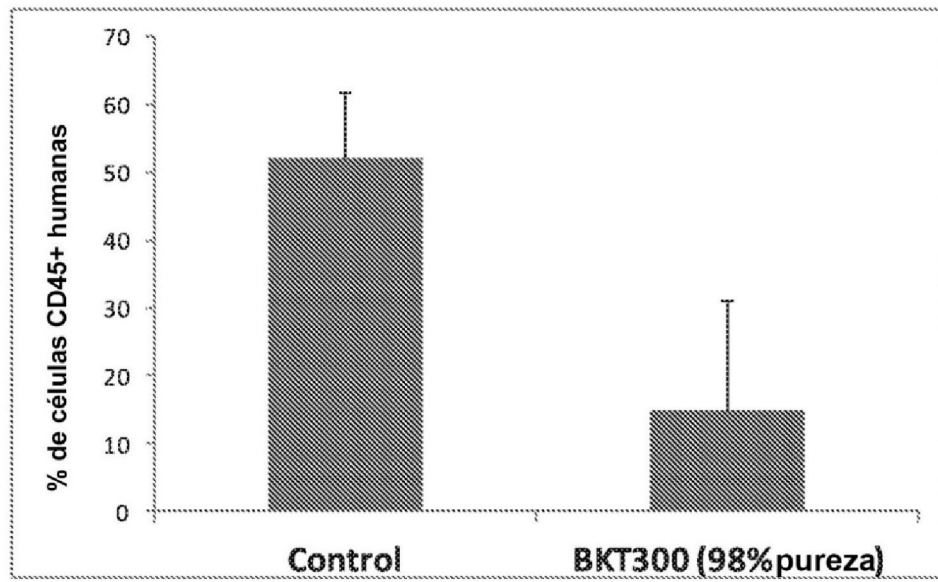


FIG. 12A

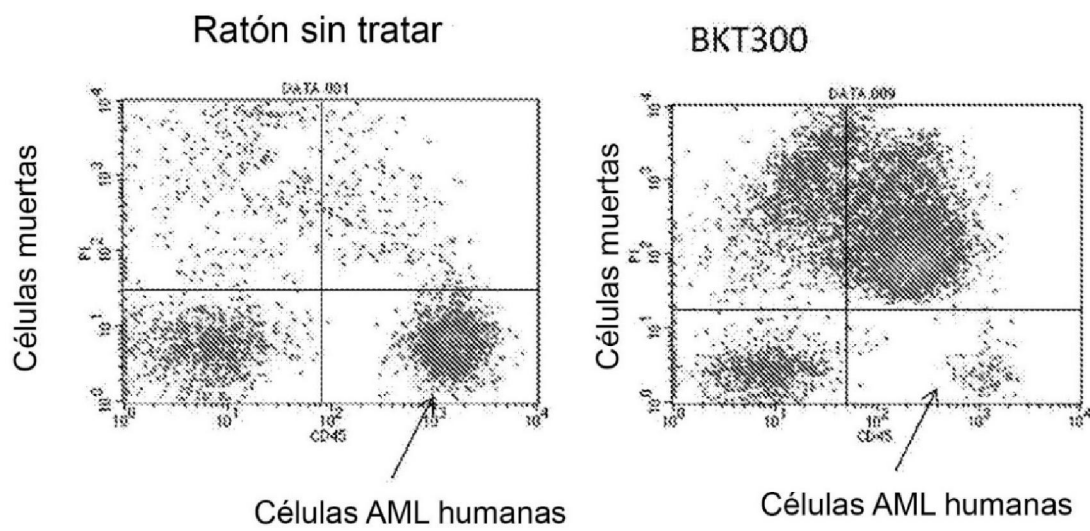


FIG. 12B

FIG. 12C

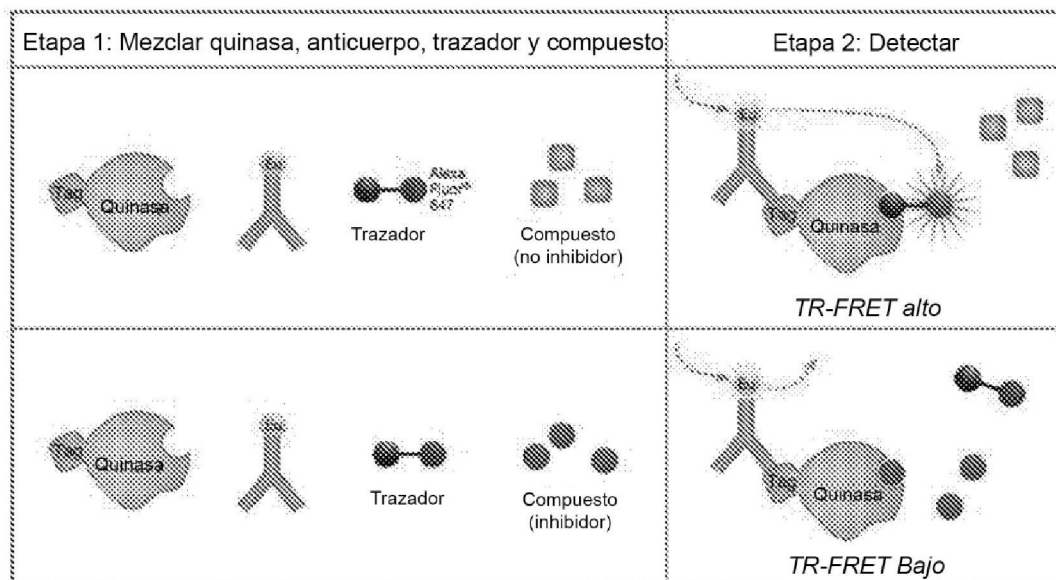


FIG. 13

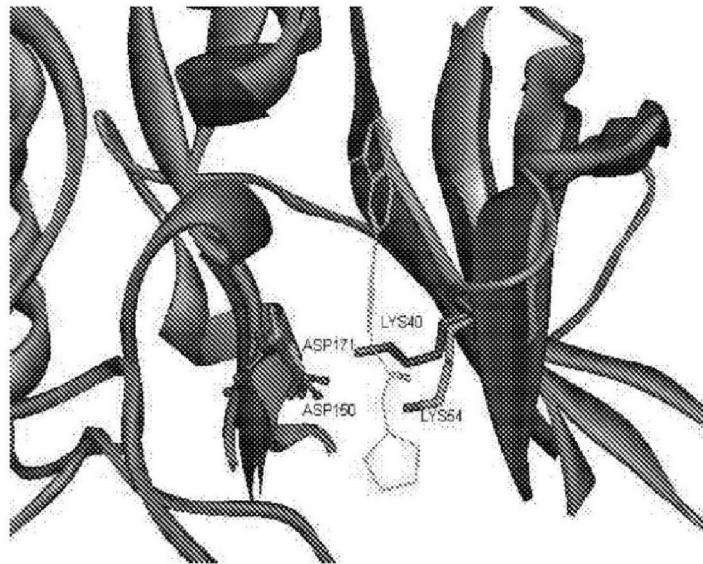


FIG. 14

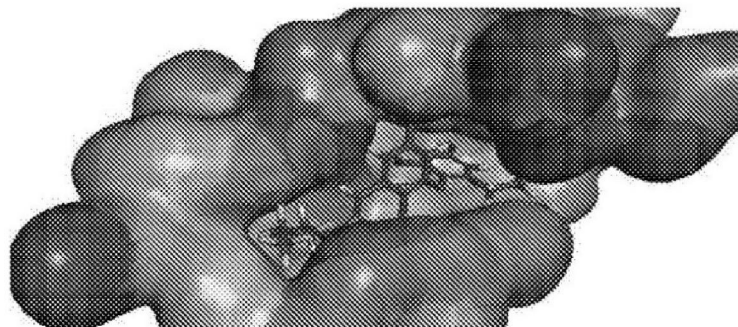


FIG. 15

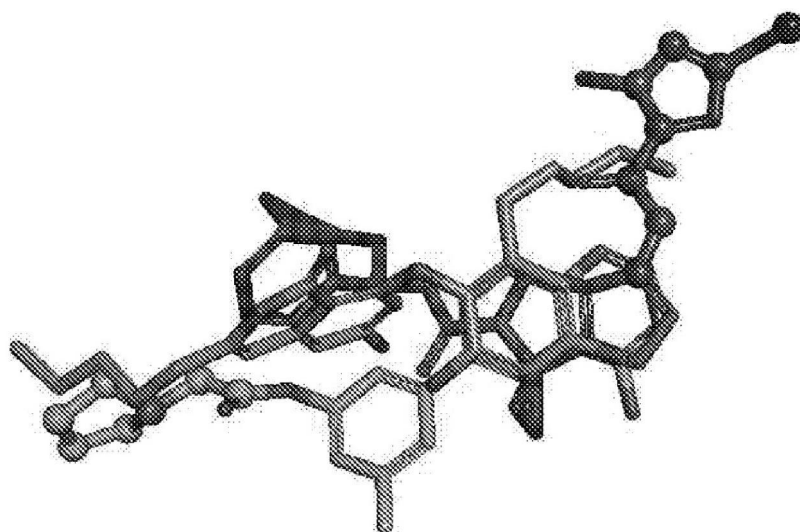


FIG. 16

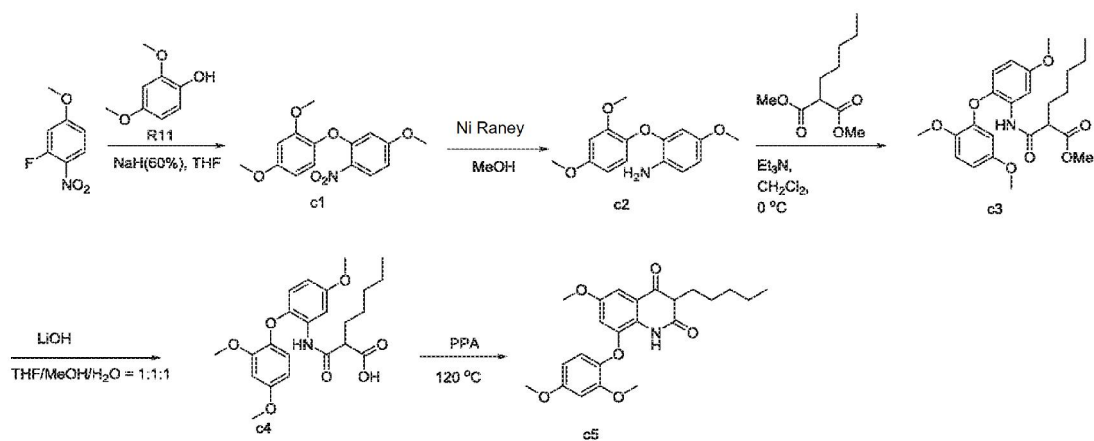


FIG. 17

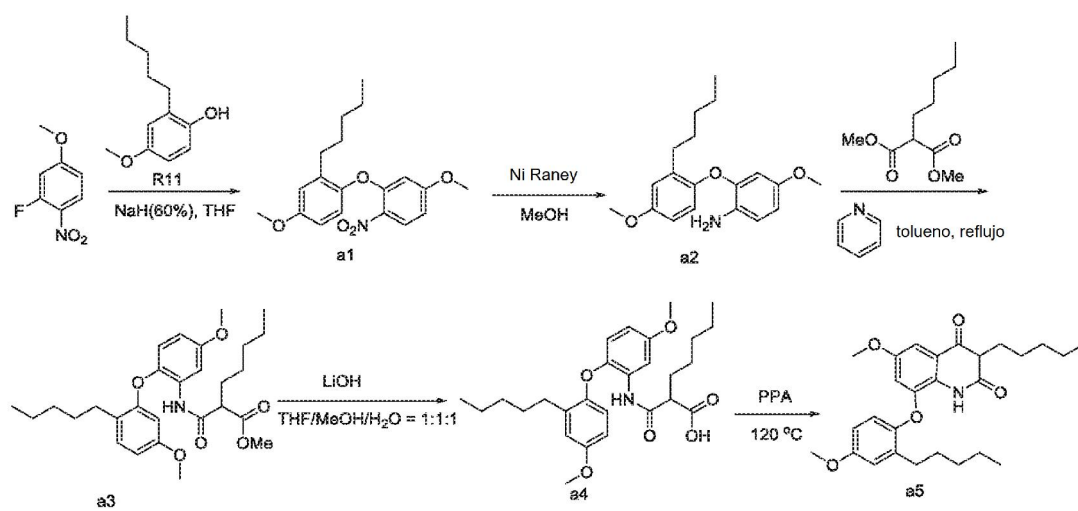


FIG. 18

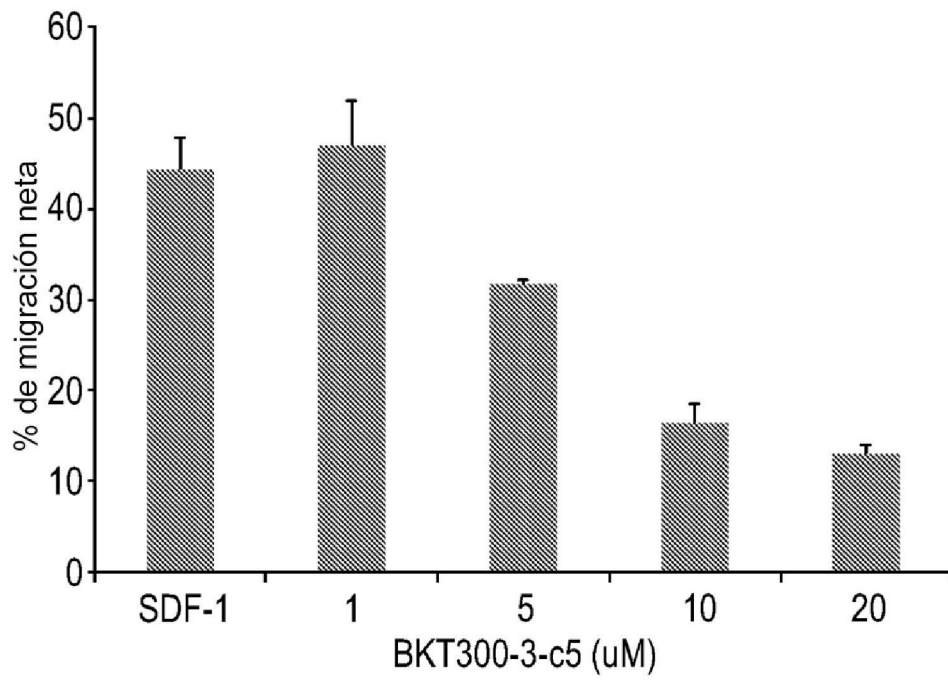


FIG. 19A

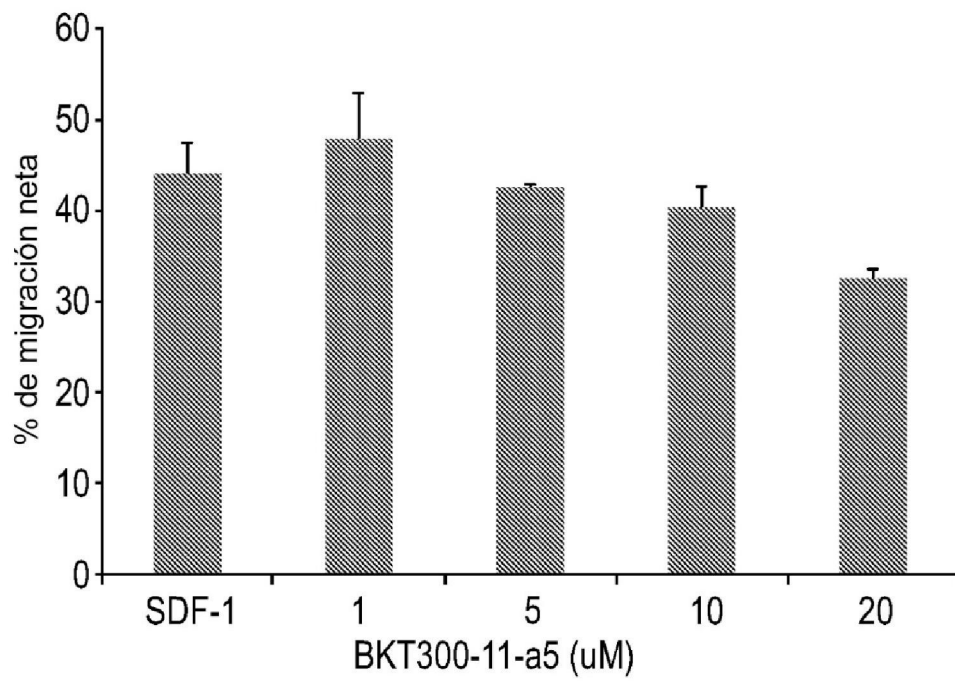


FIG. 19B

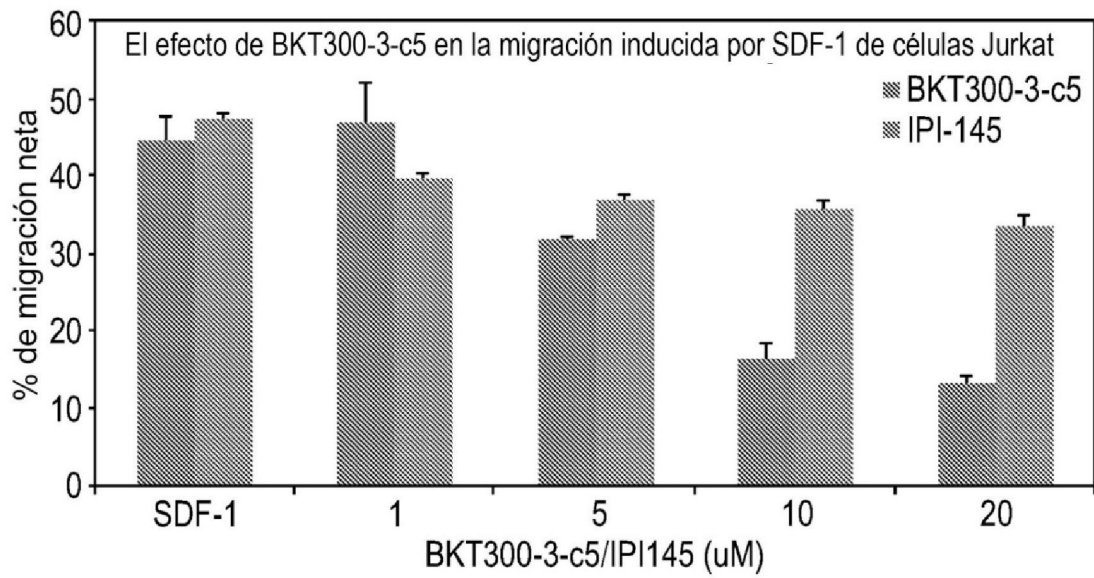


FIG. 20A

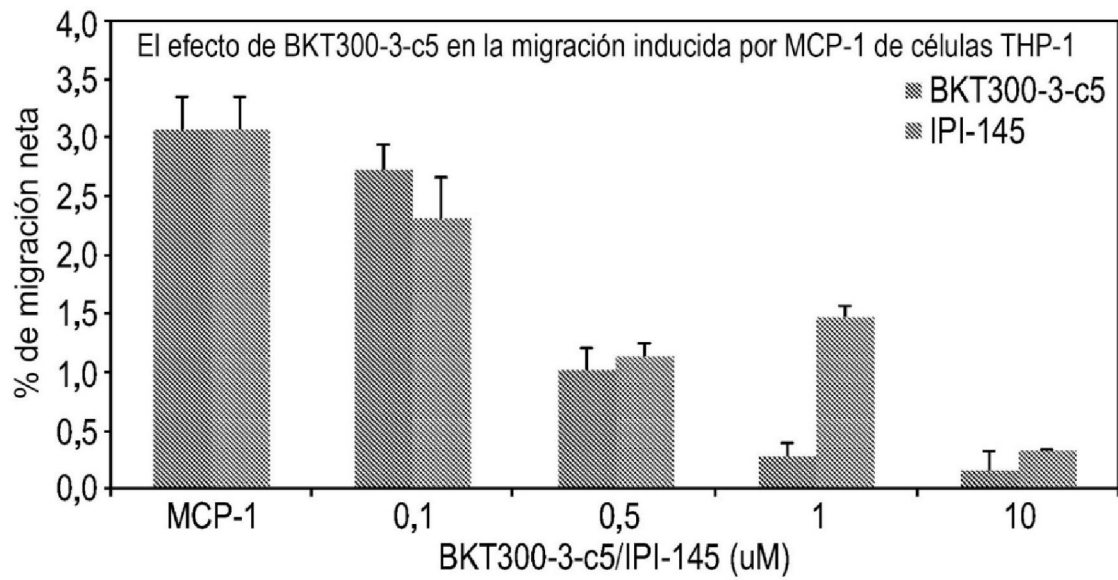


FIG. 20B

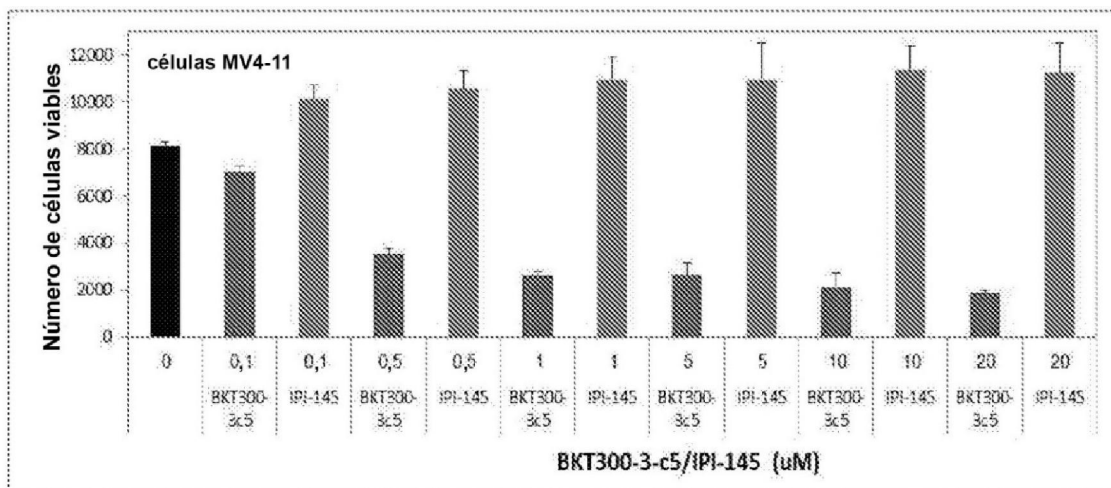


FIG. 21A

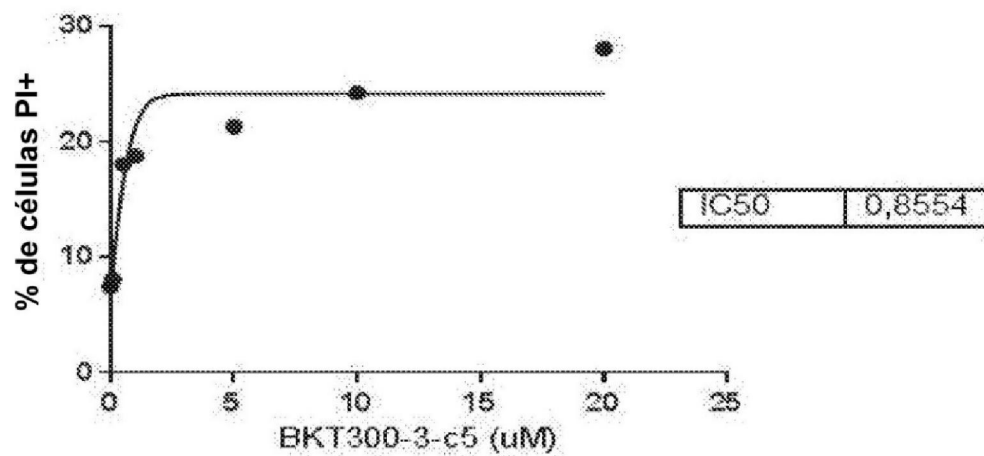


FIG. 21B

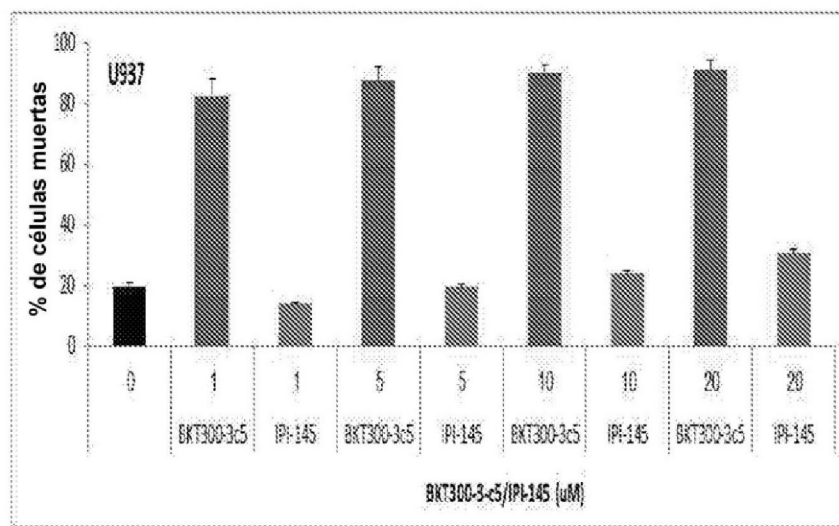


FIG. 22A

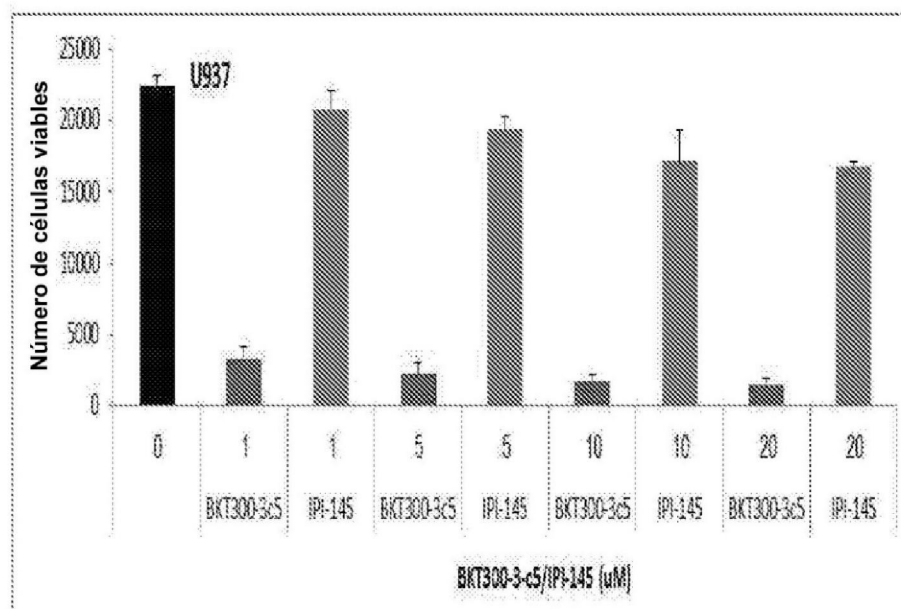


FIG. 22B

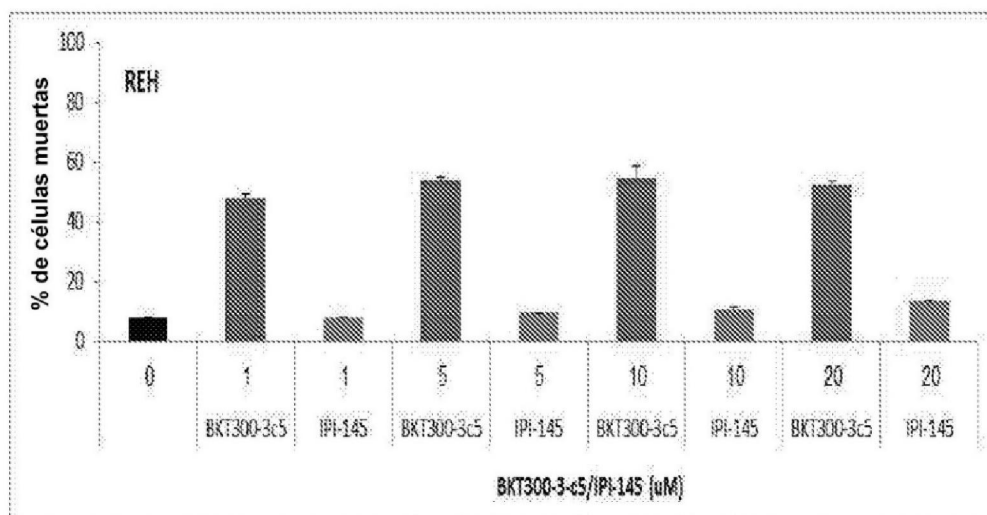


FIG. 23A

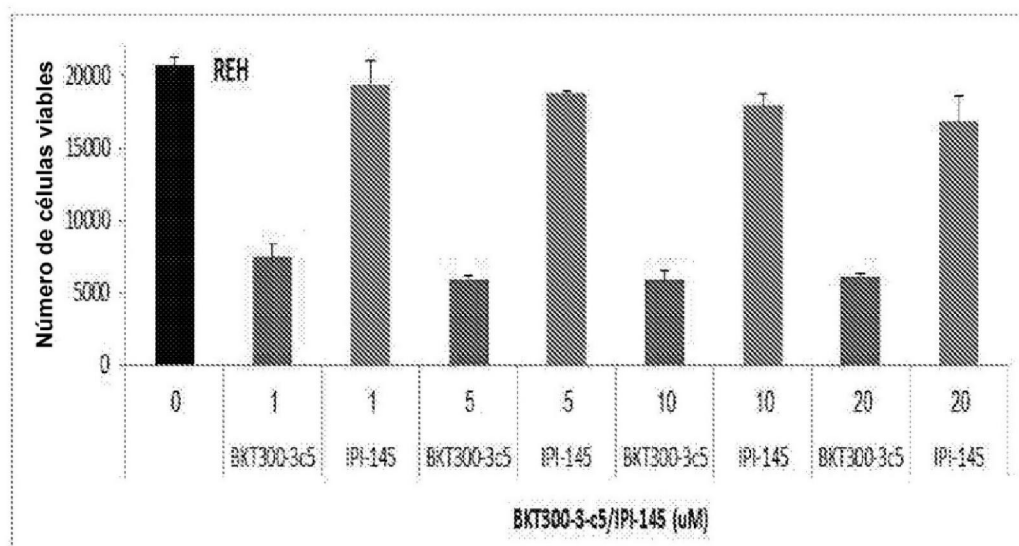


FIG. 23B

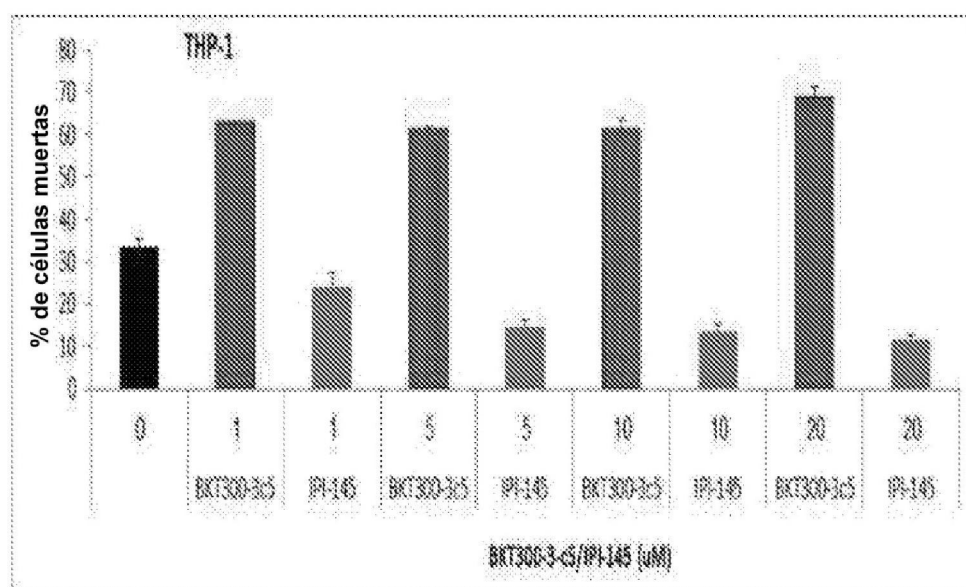


FIG. 24A

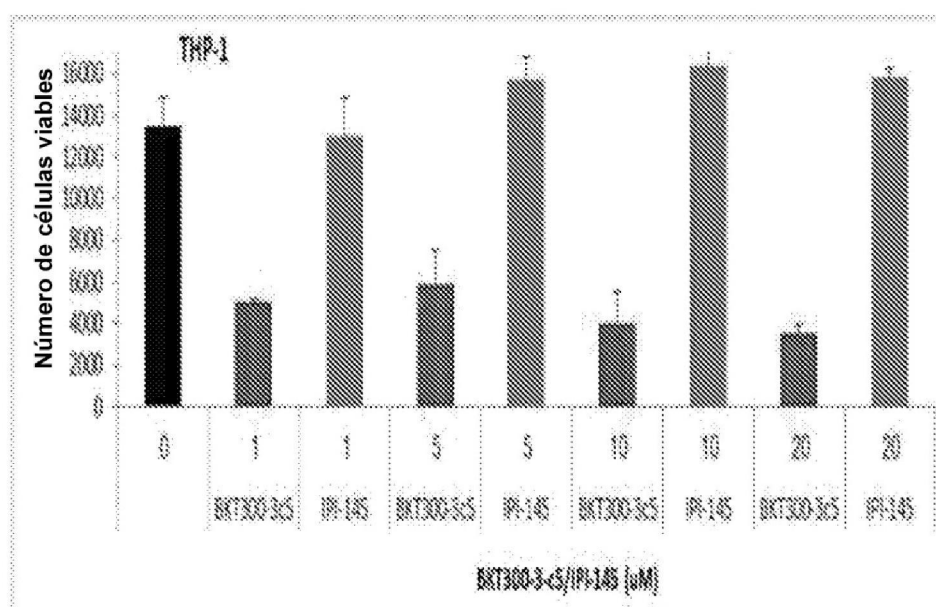


FIG. 24B

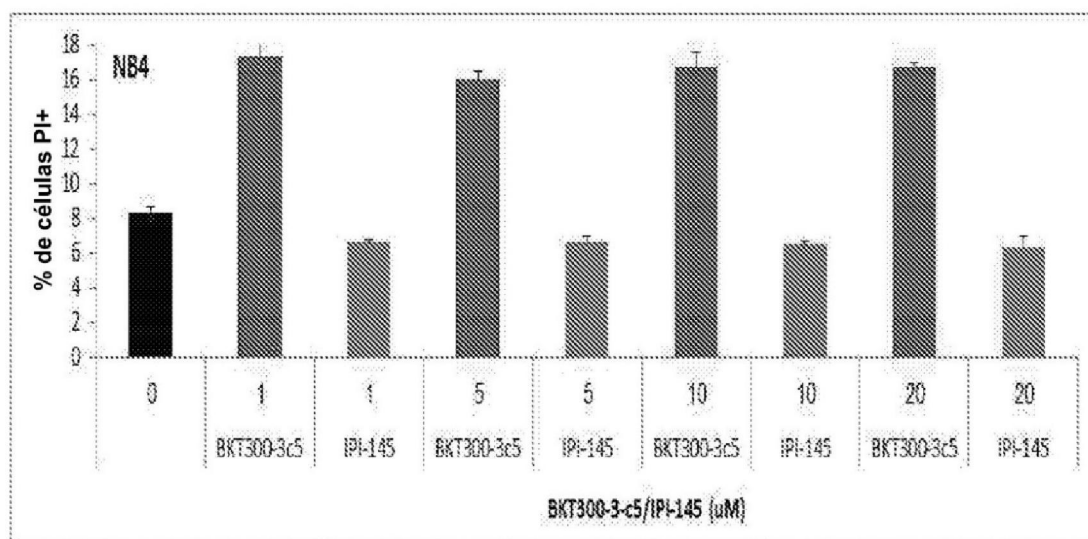


FIG. 25A

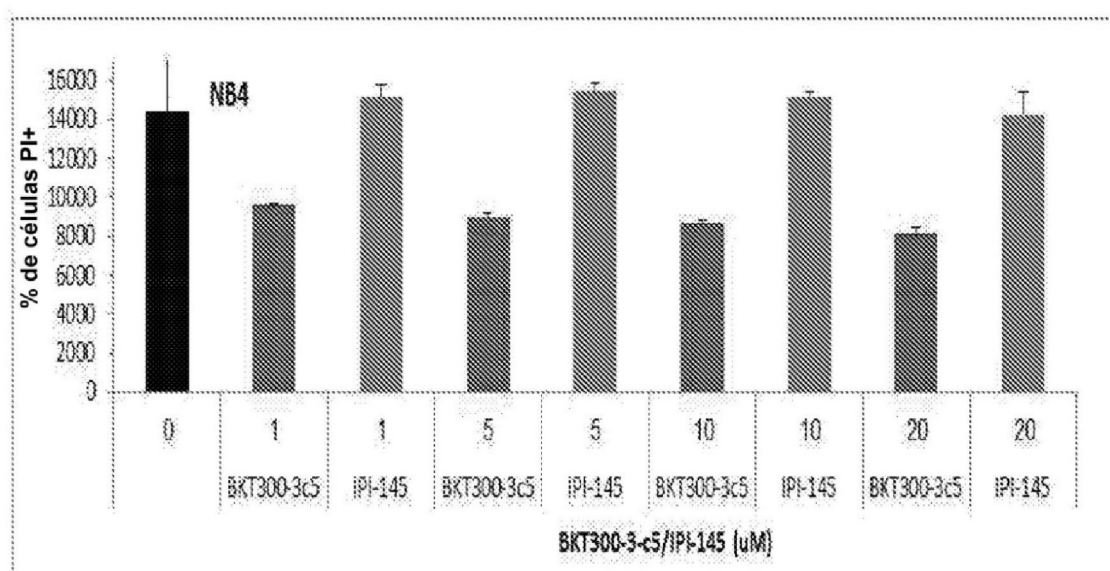


FIG. 25B

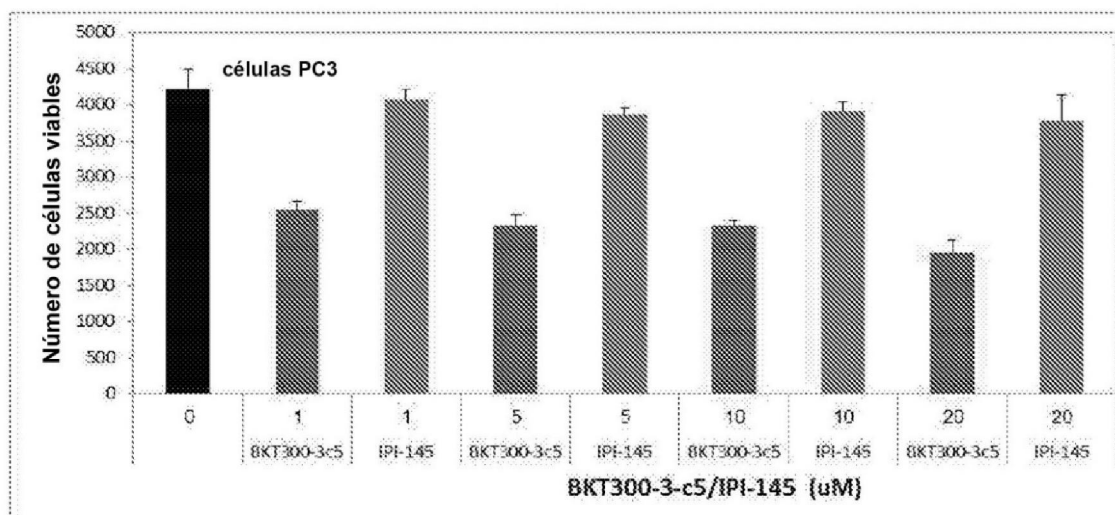


FIG. 26

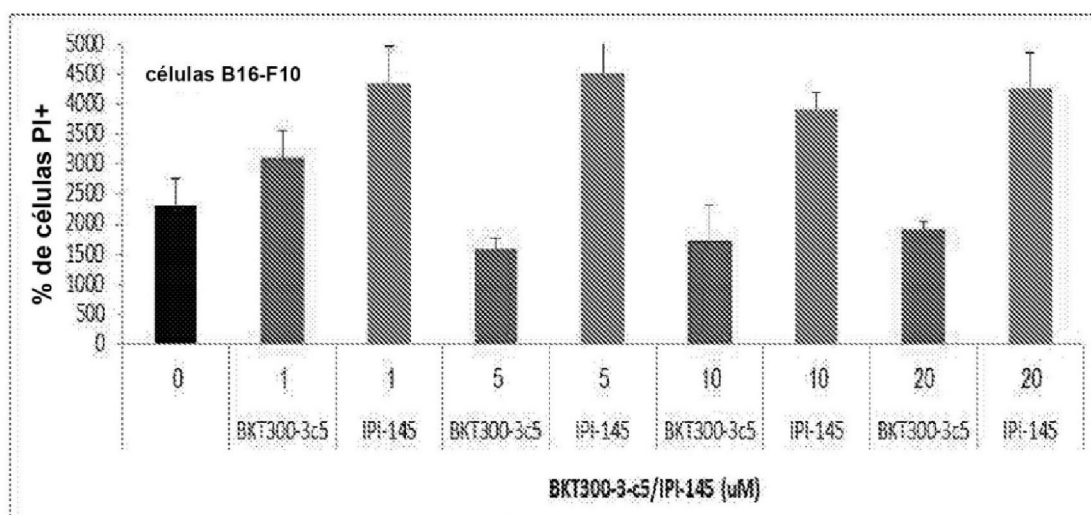


FIG. 27

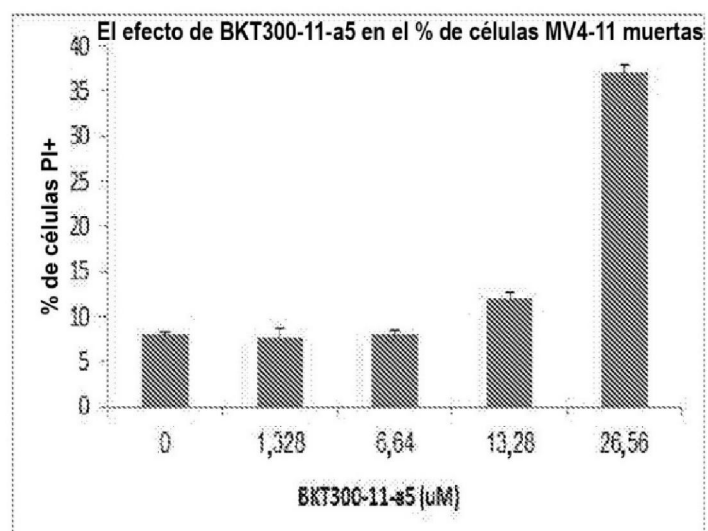


FIG. 28A

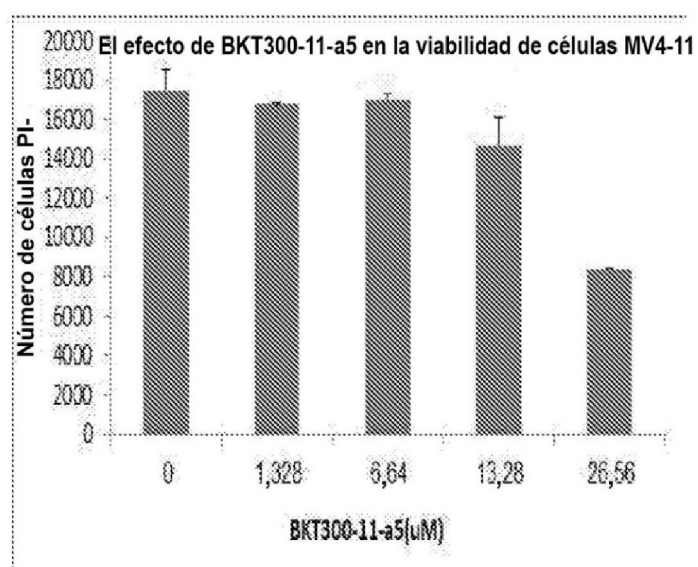
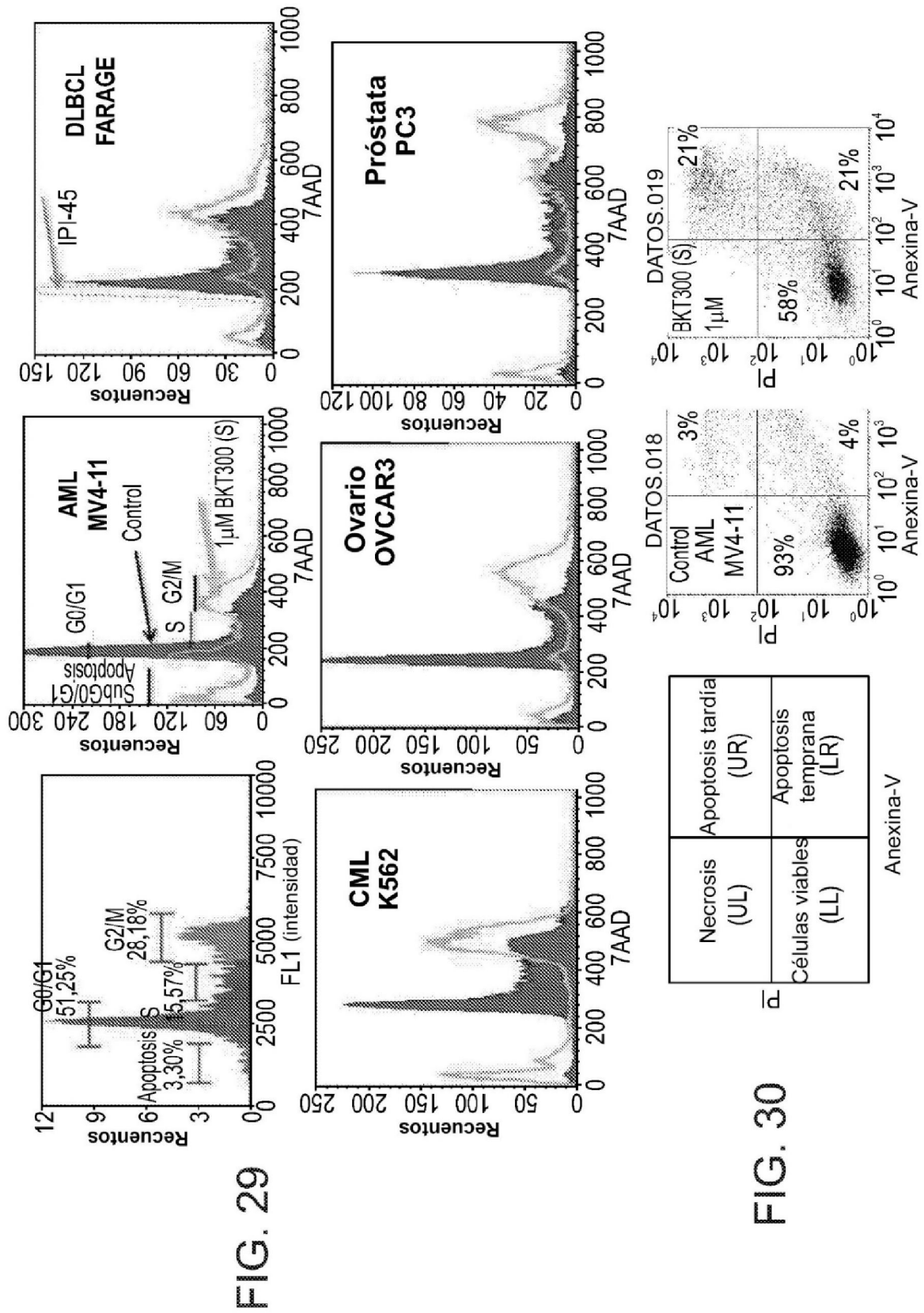


FIG. 28B



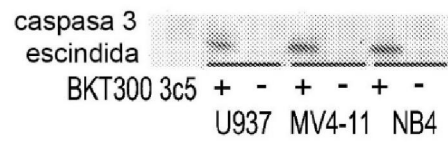


FIG. 31A

Caspasa-3 escindida

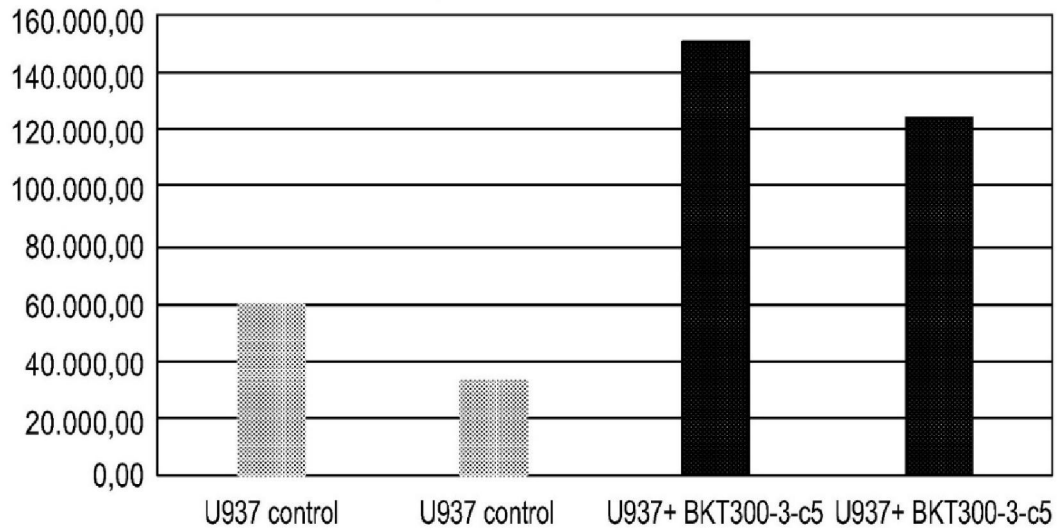


FIG. 31B

Caspasa-3 escindida

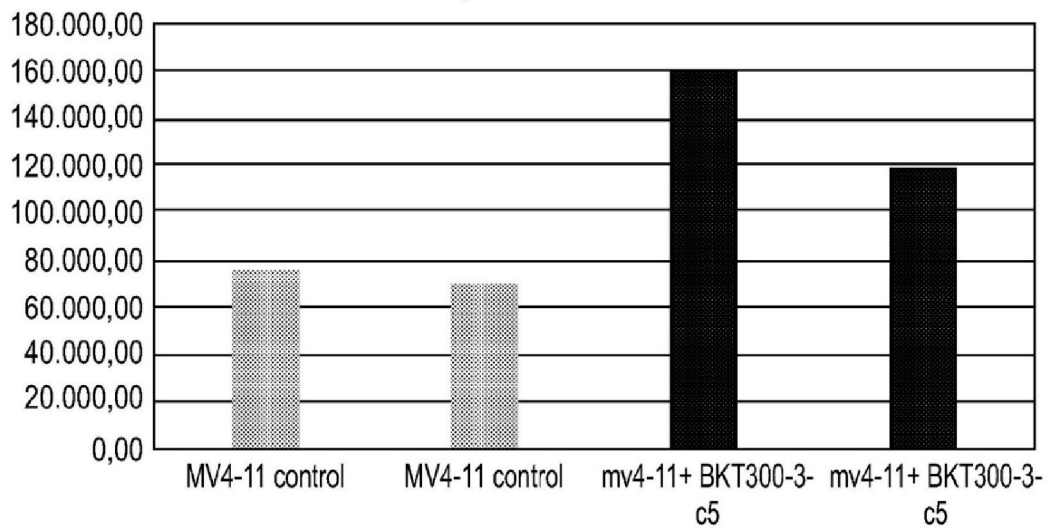


FIG. 31C

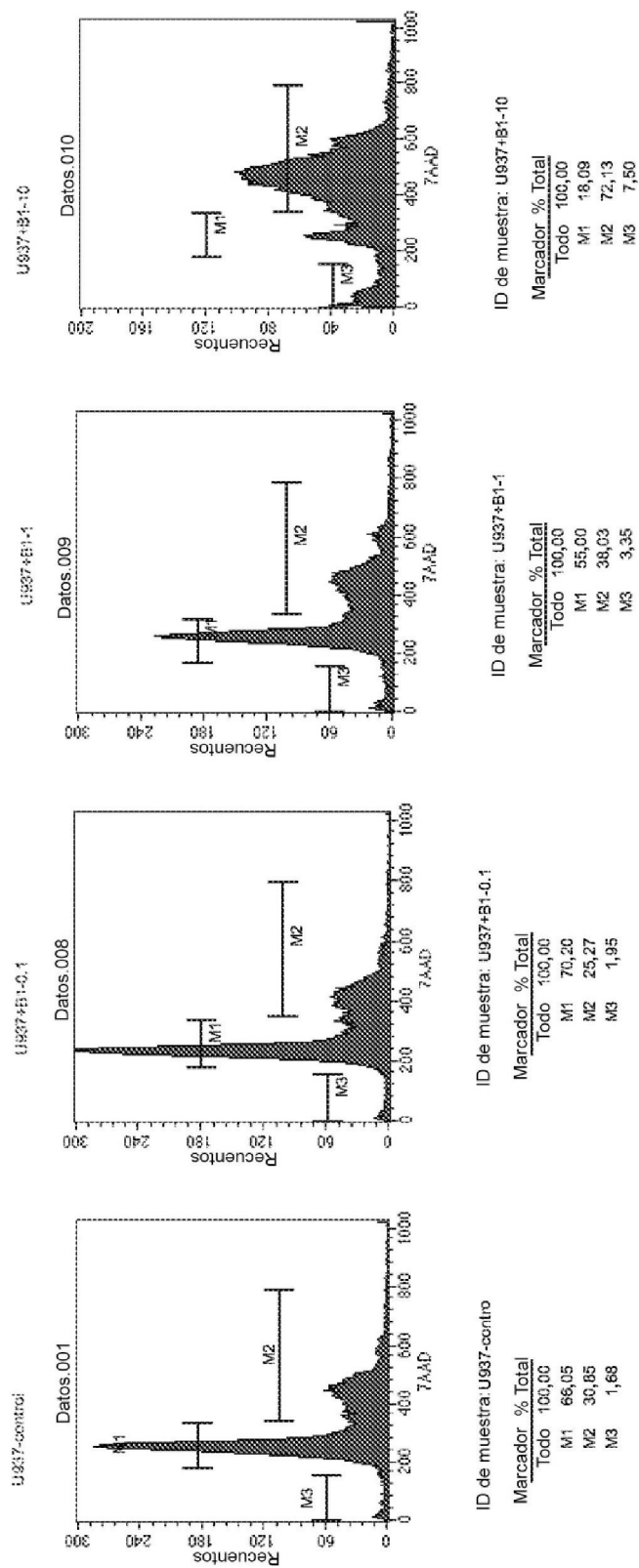


FIG. 32A

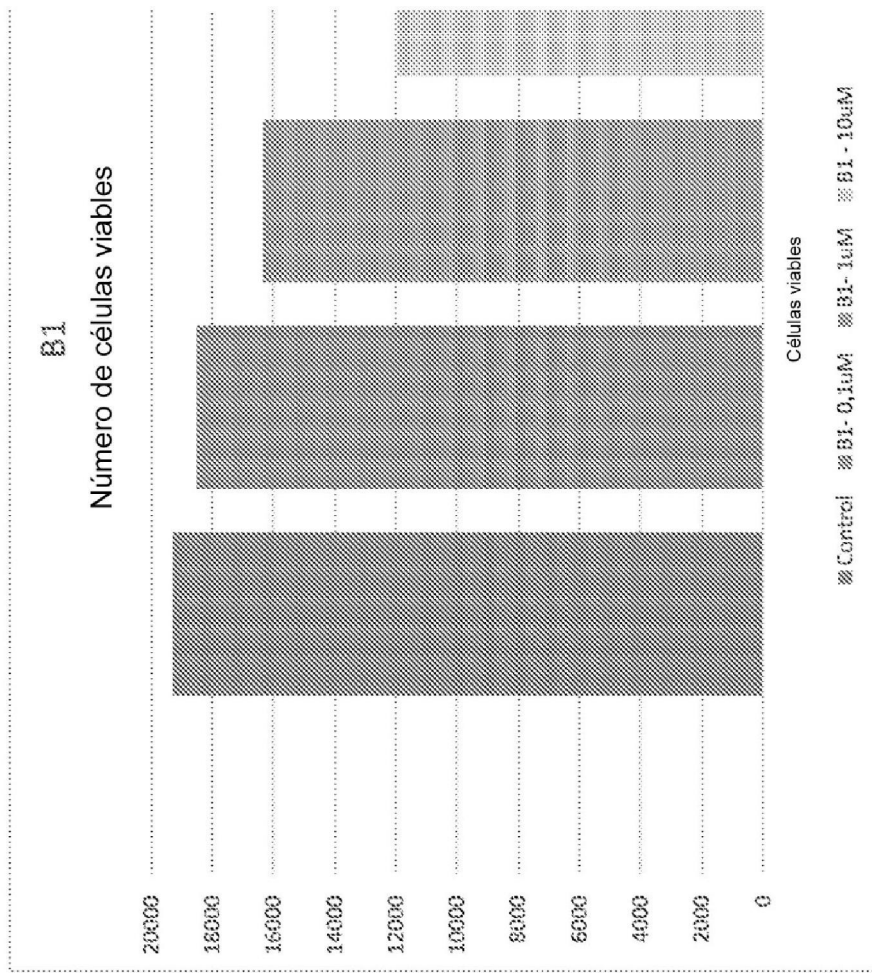


FIG. 32B

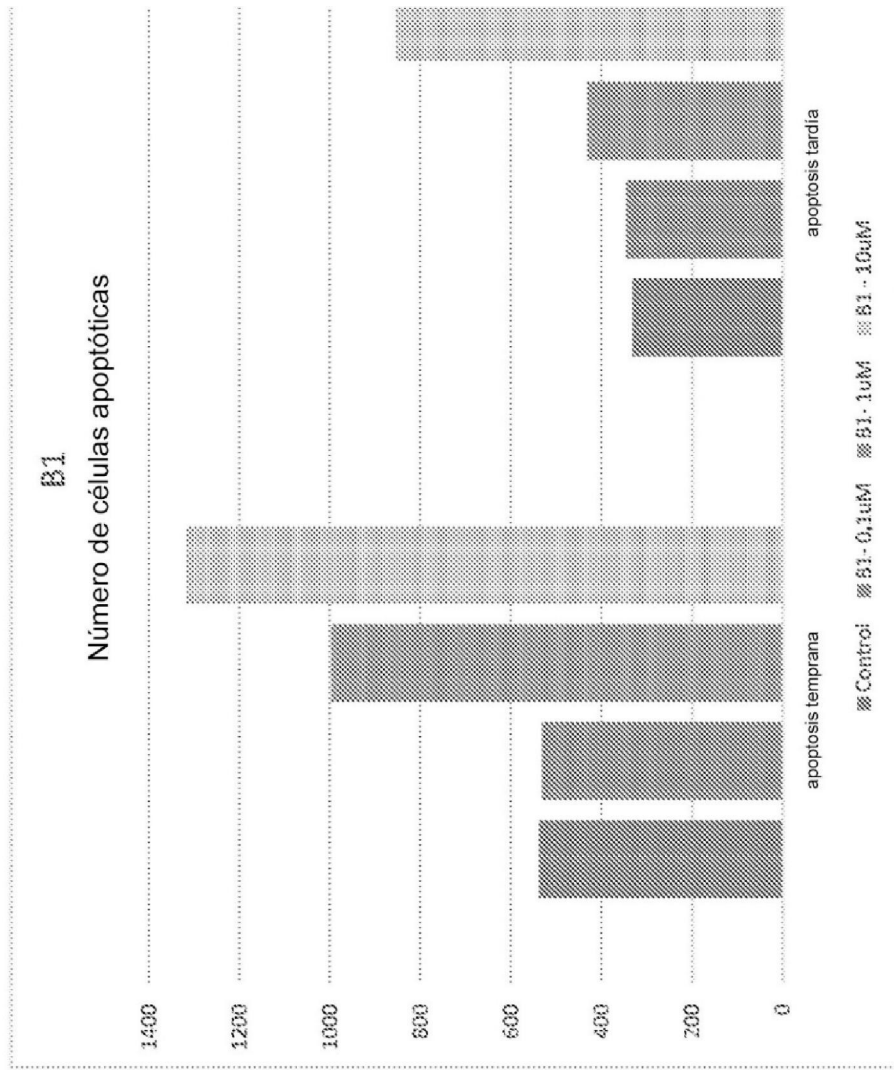


FIG. 32C

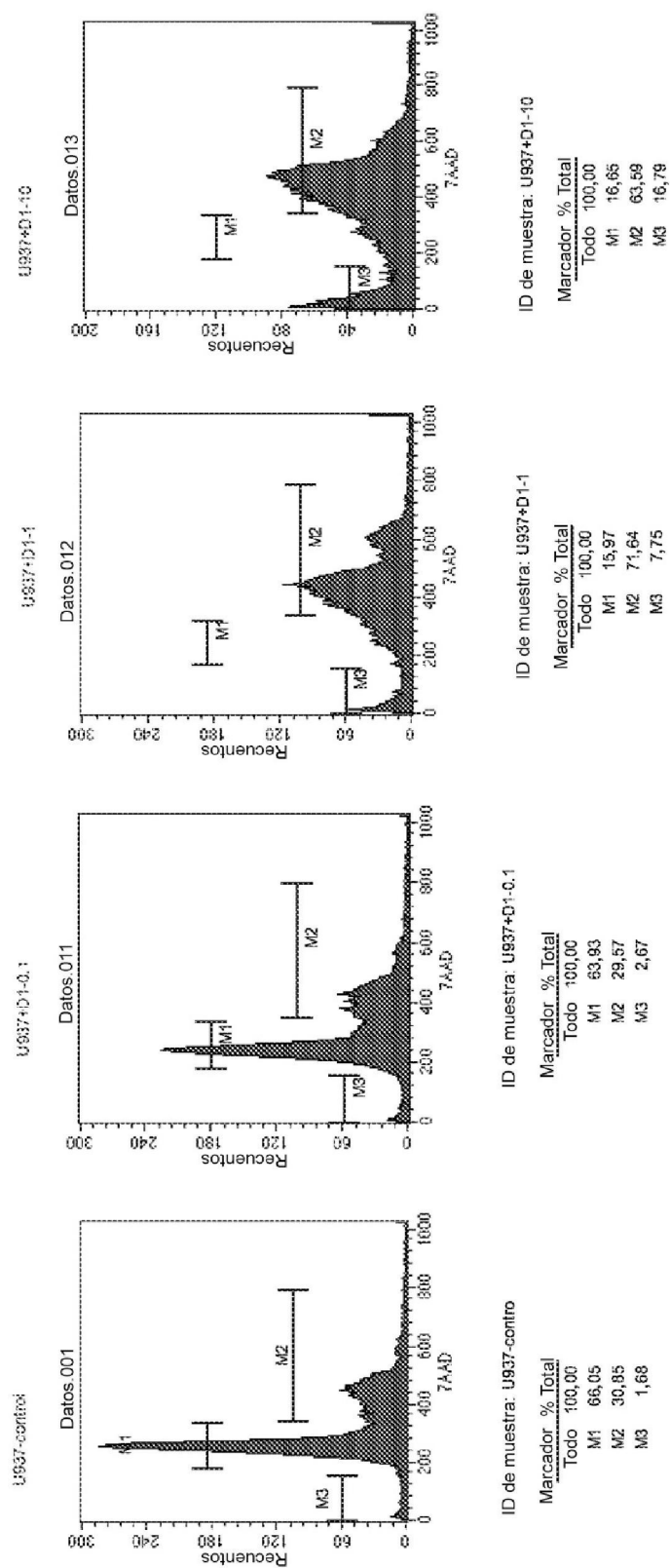


FIG. 33A

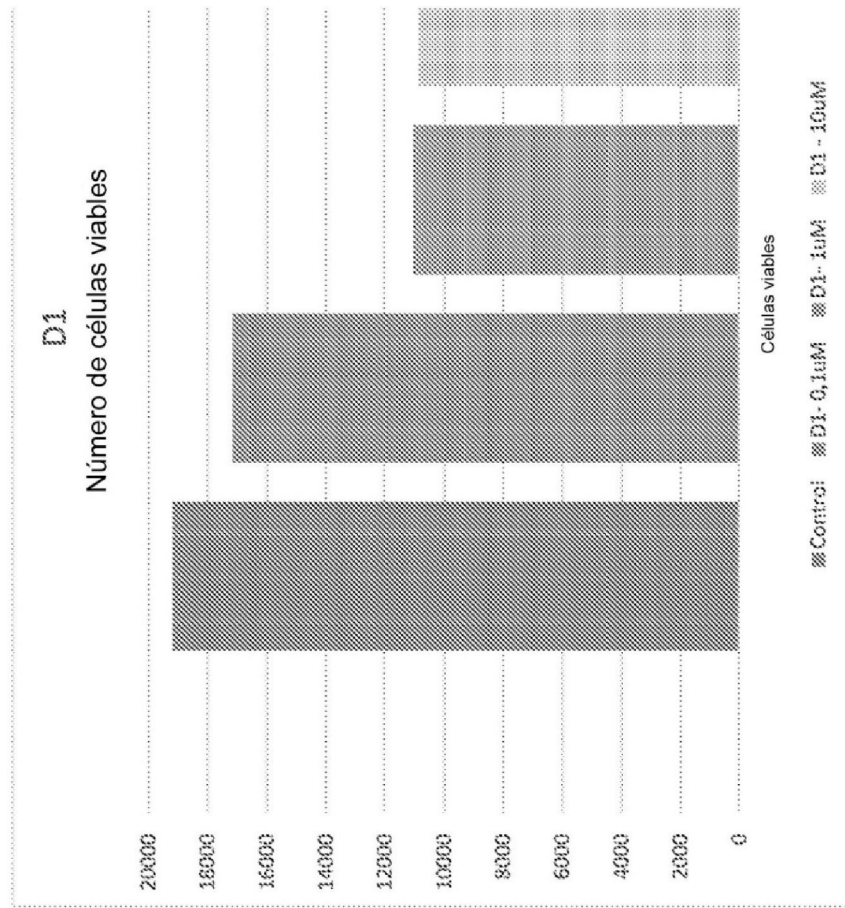


FIG. 33B

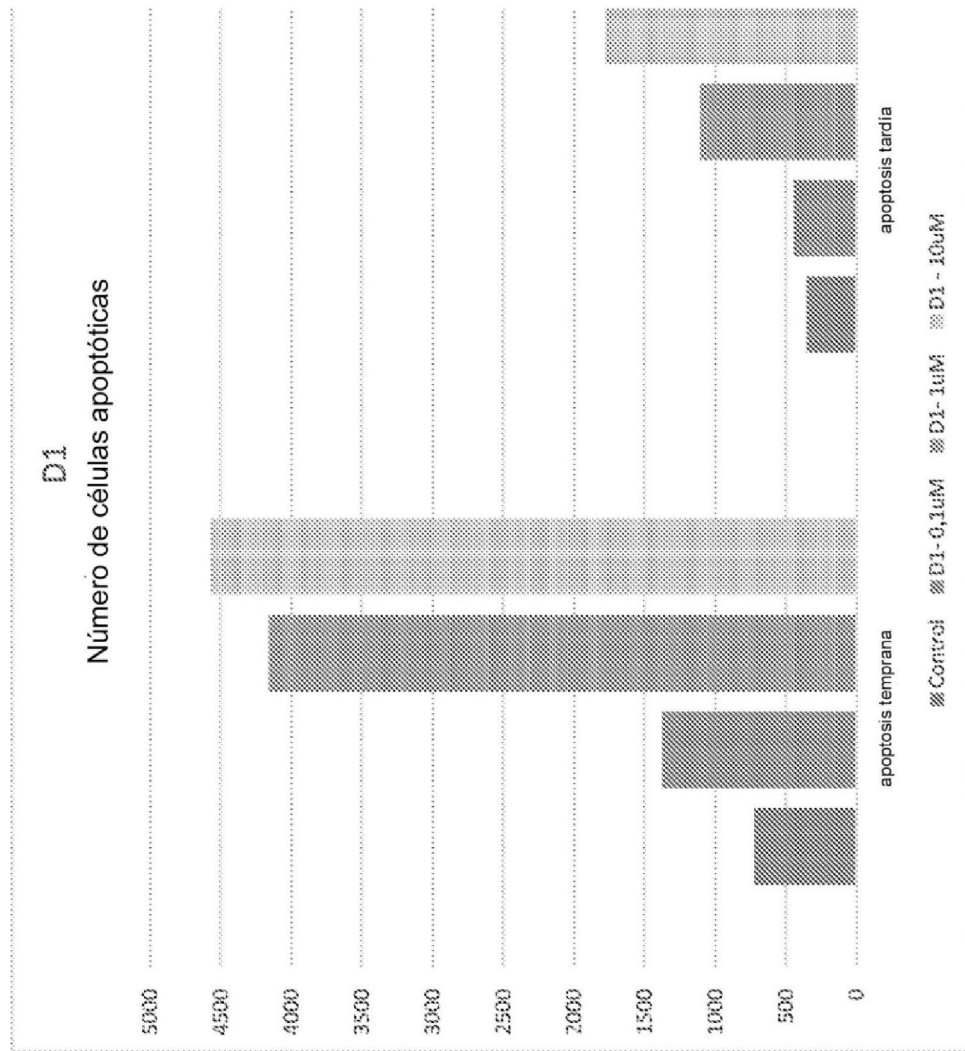
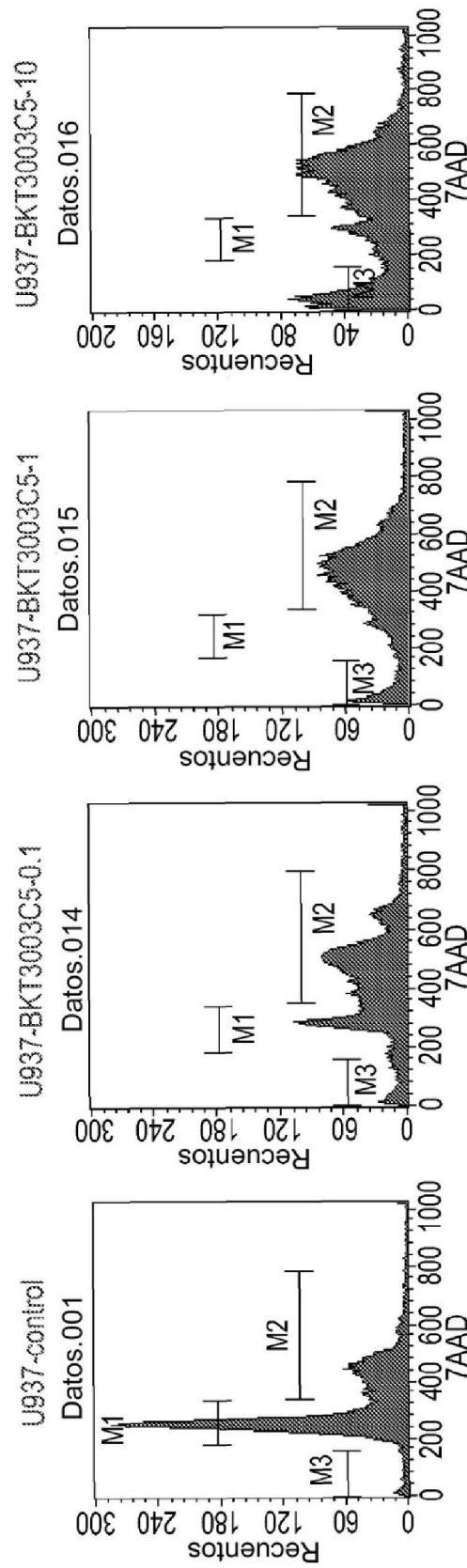


FIG. 33C

FIG. 34A



ID de muestra: U937+control		ID de muestra: U937+BKT3003C5-0.1		ID de muestra: U937+BKT3003C5-1		ID de muestra: U937+BKT3003C5-10	
Marcador	% Total	Marcador	% Total	Marcador	% Total	Marcador	% Total
Todo	100,00	Todo	100,00	Todo	100,00	Todo	100,00
M1	66,05	M1	26,97	M1	12,96	M1	16,58
M2	30,85	M2	62,66	M2	72,79	M2	58,16
M3	1,68	M3	6,29	M3	10,04	M3	22,00

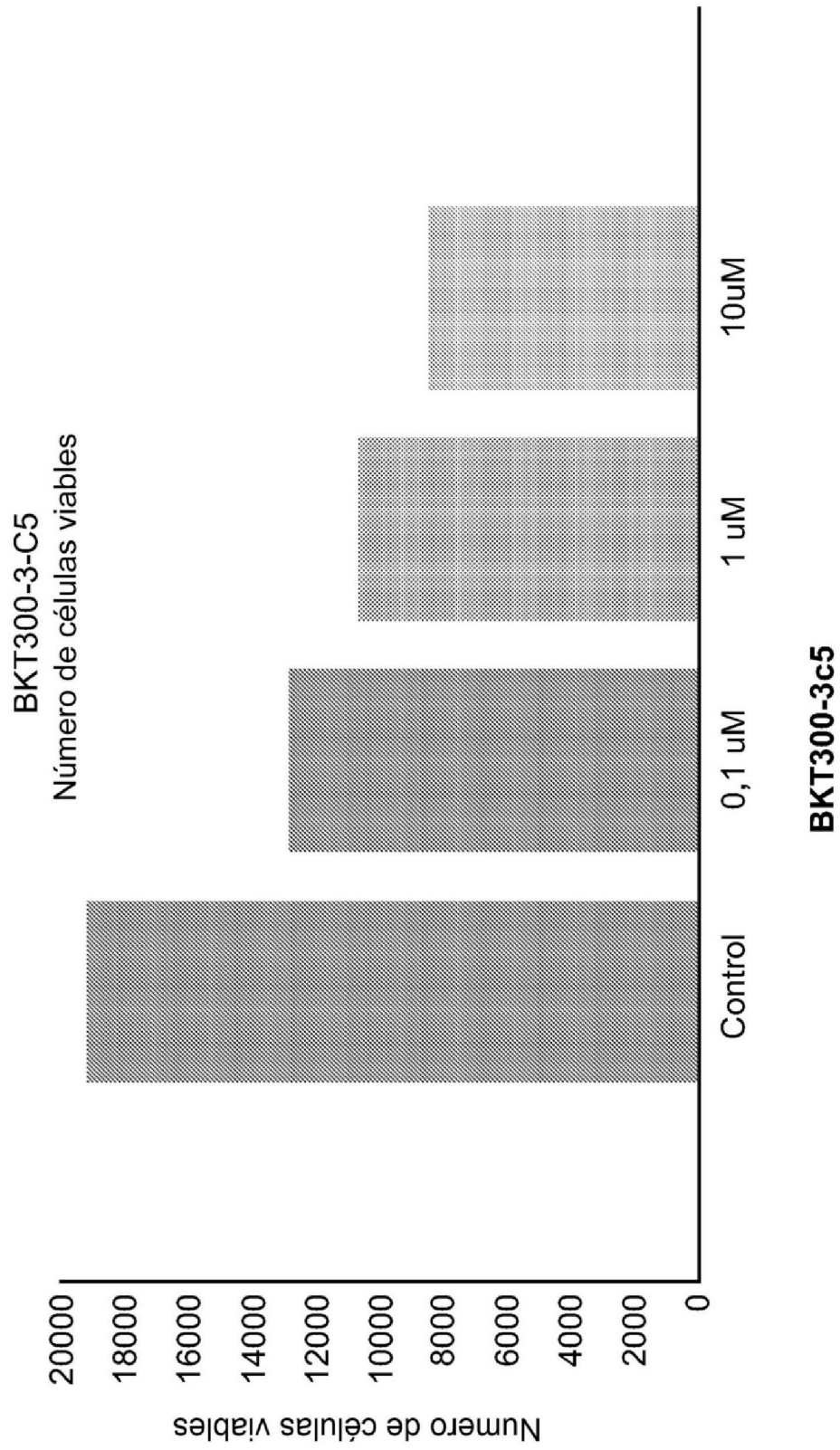


FIG. 34B

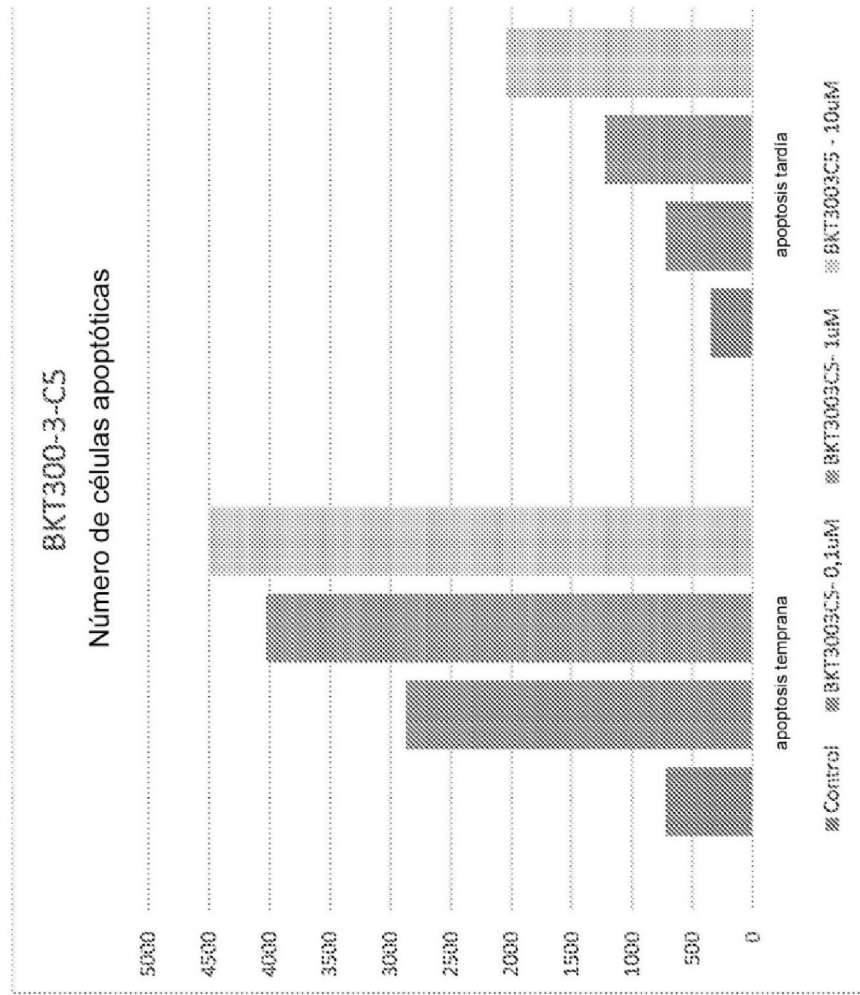


FIG. 34C

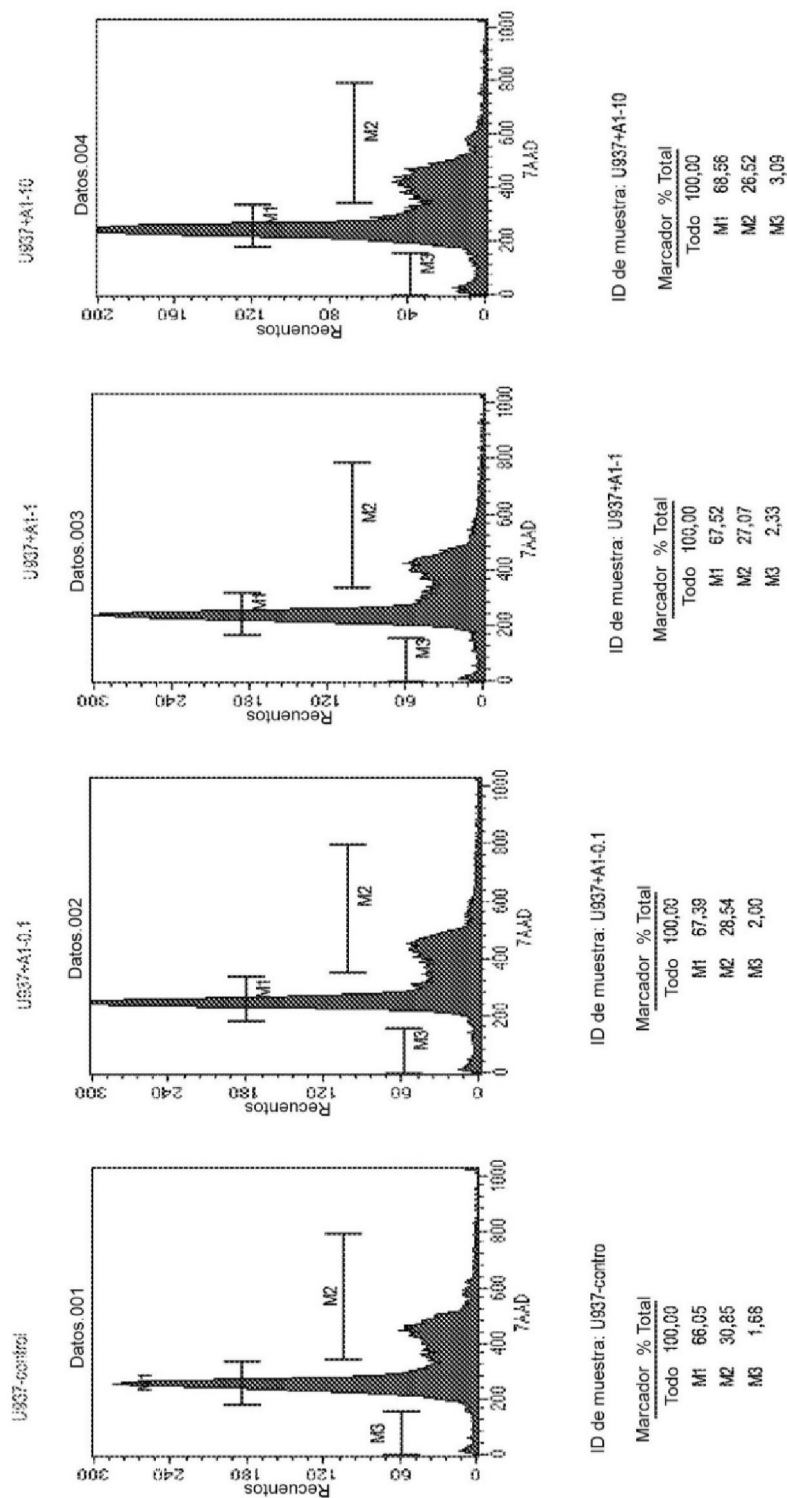


FIG. 35A

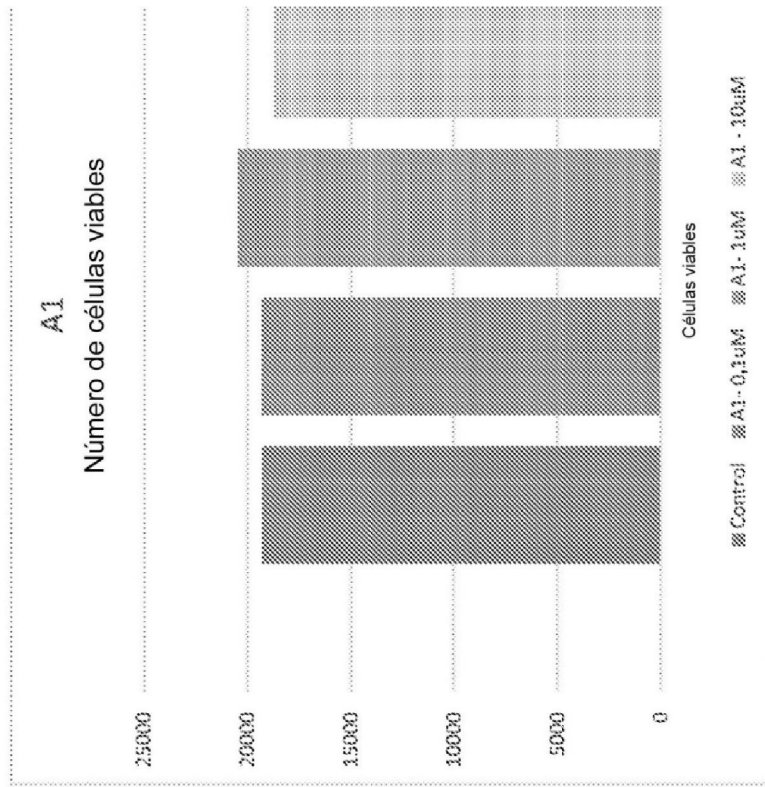


FIG. 35B

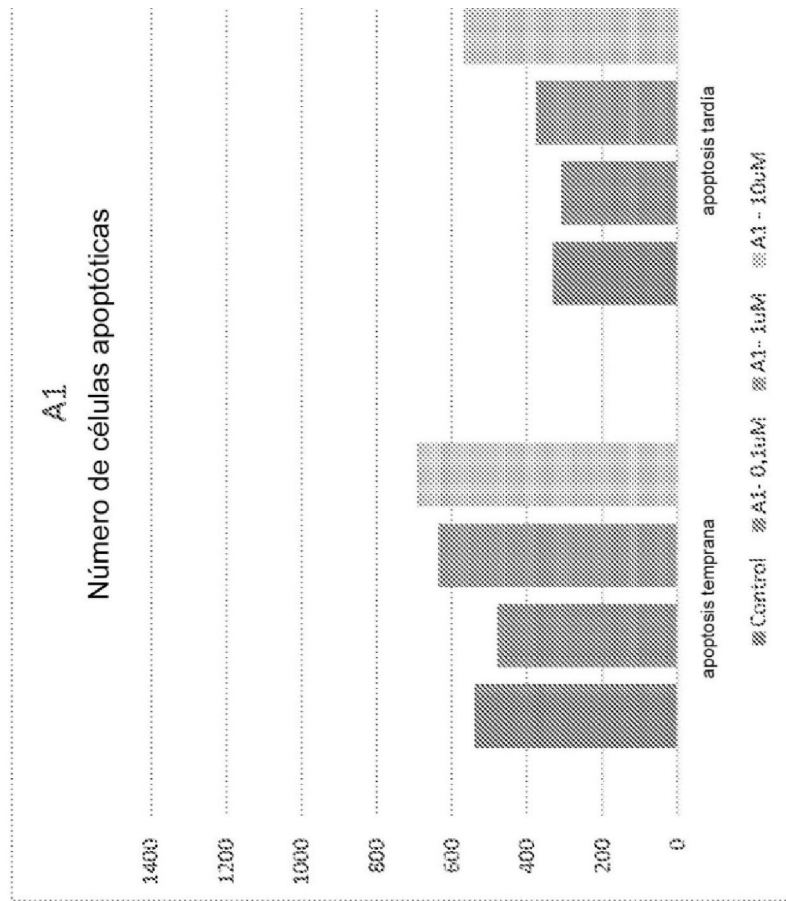


FIG. 35C

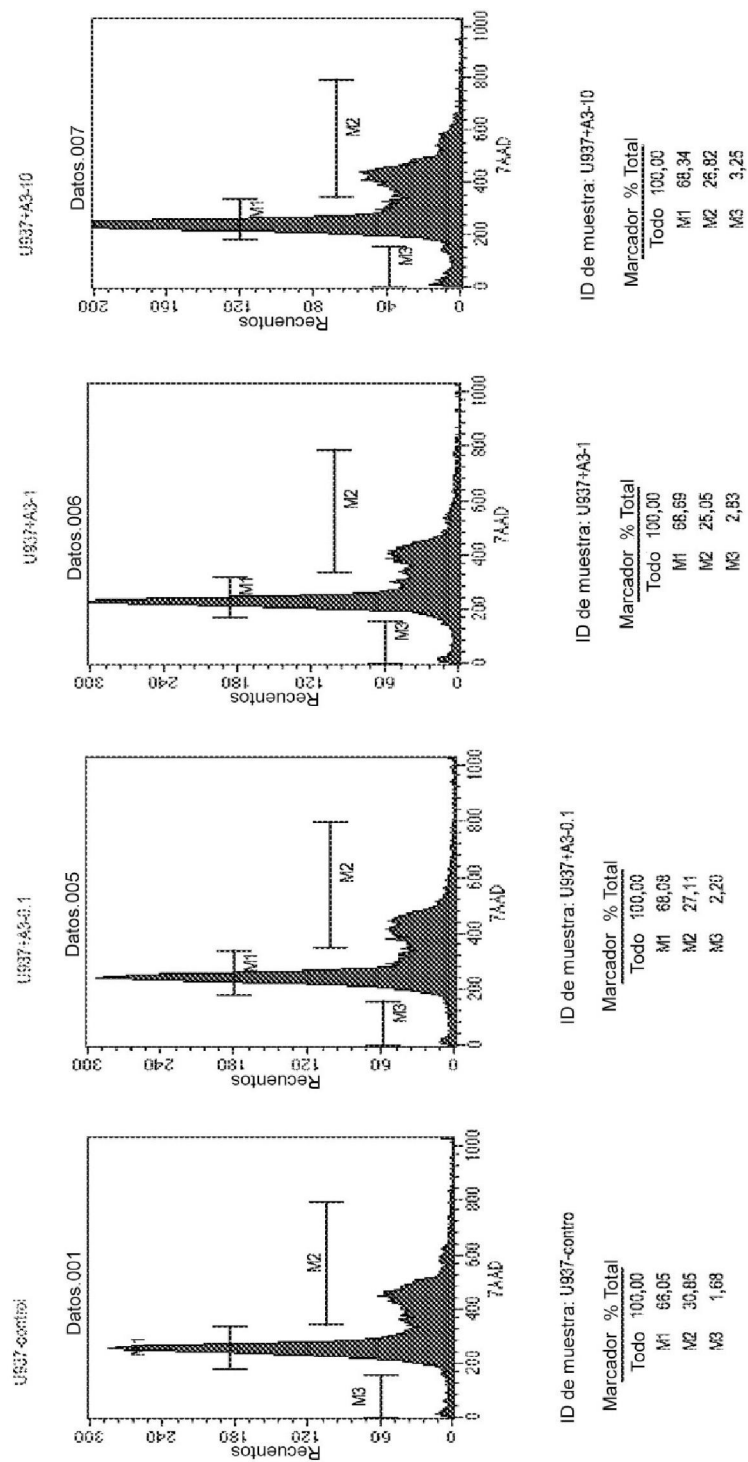


FIG. 36A

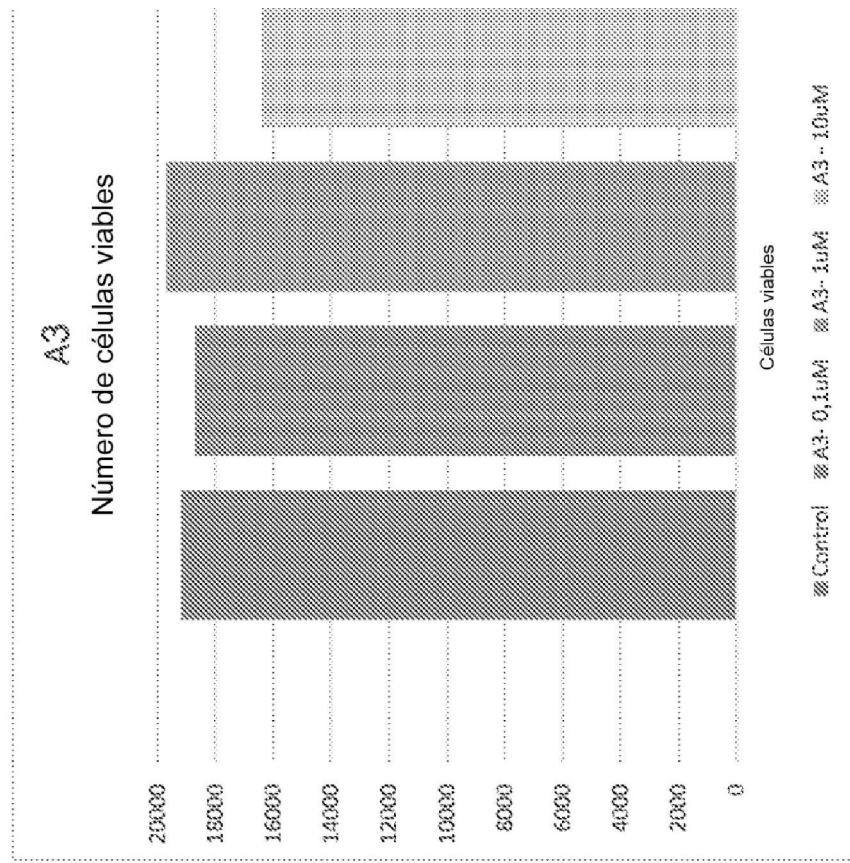


FIG. 36B

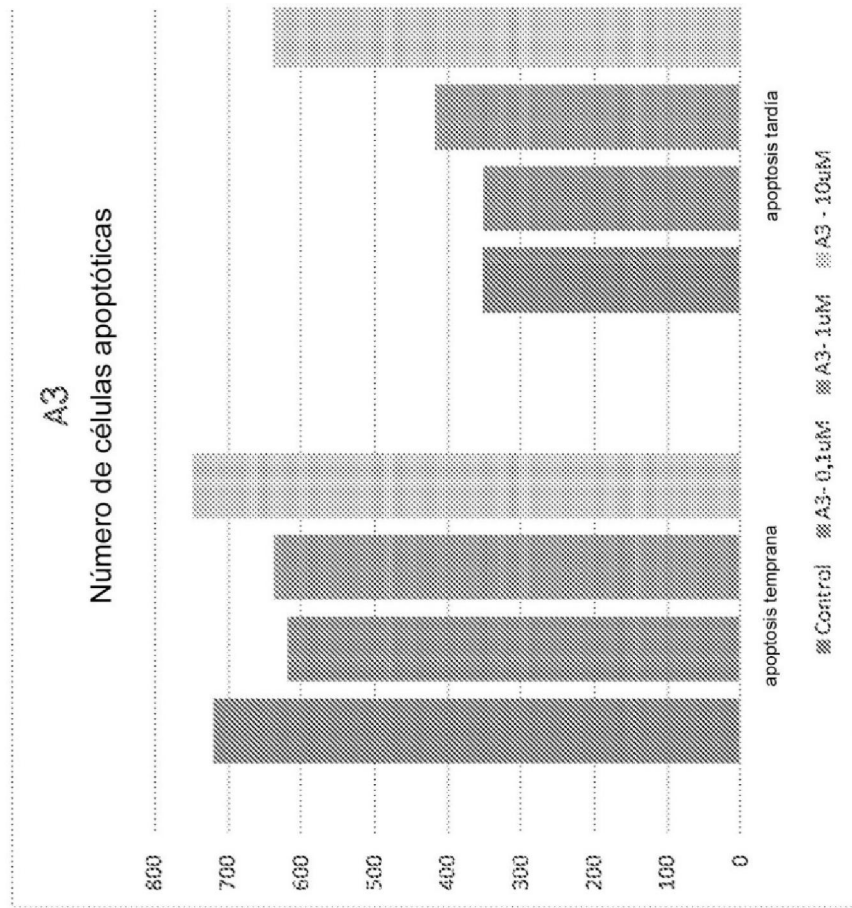
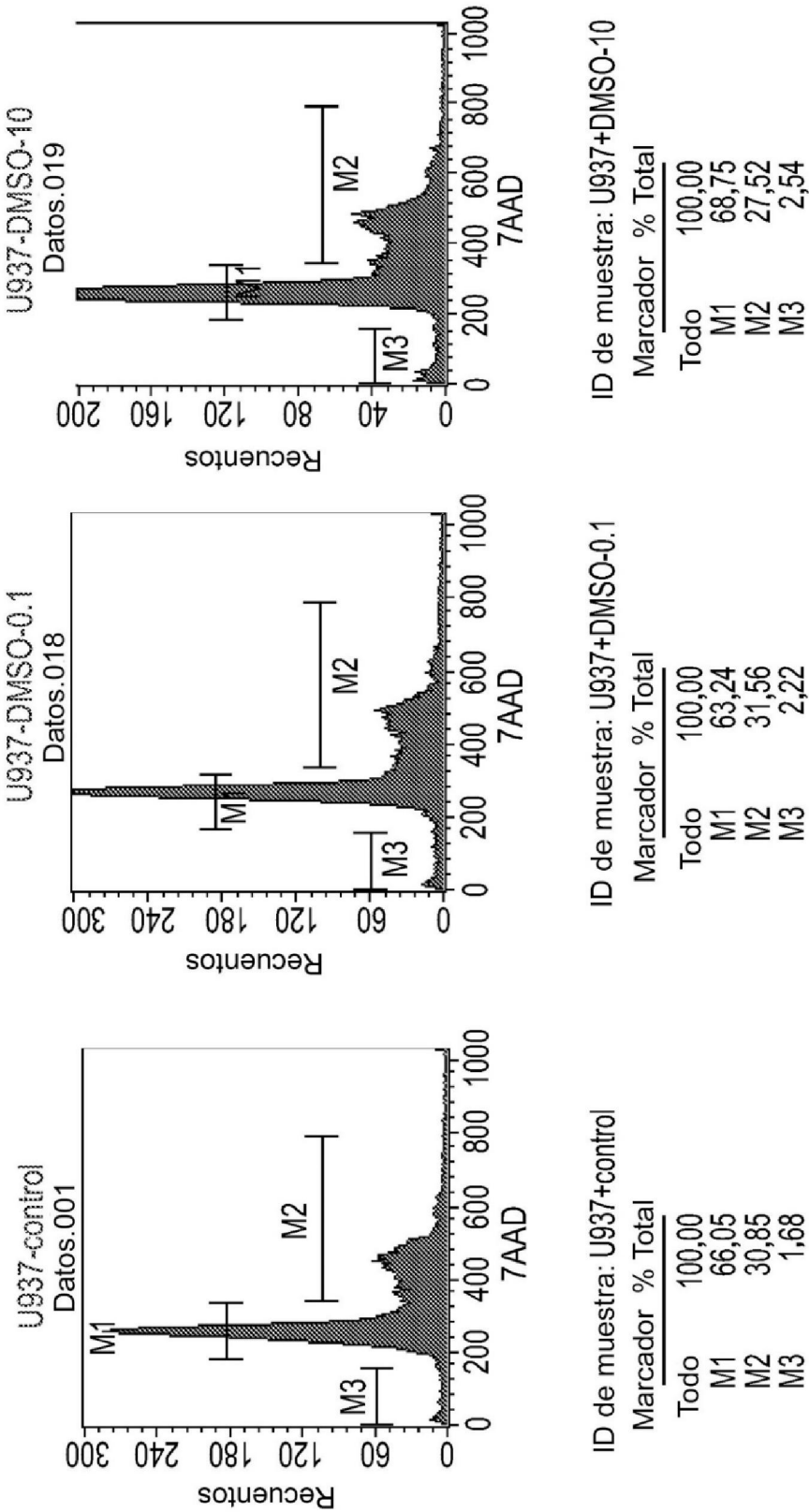


FIG. 36C

FIG. 37A



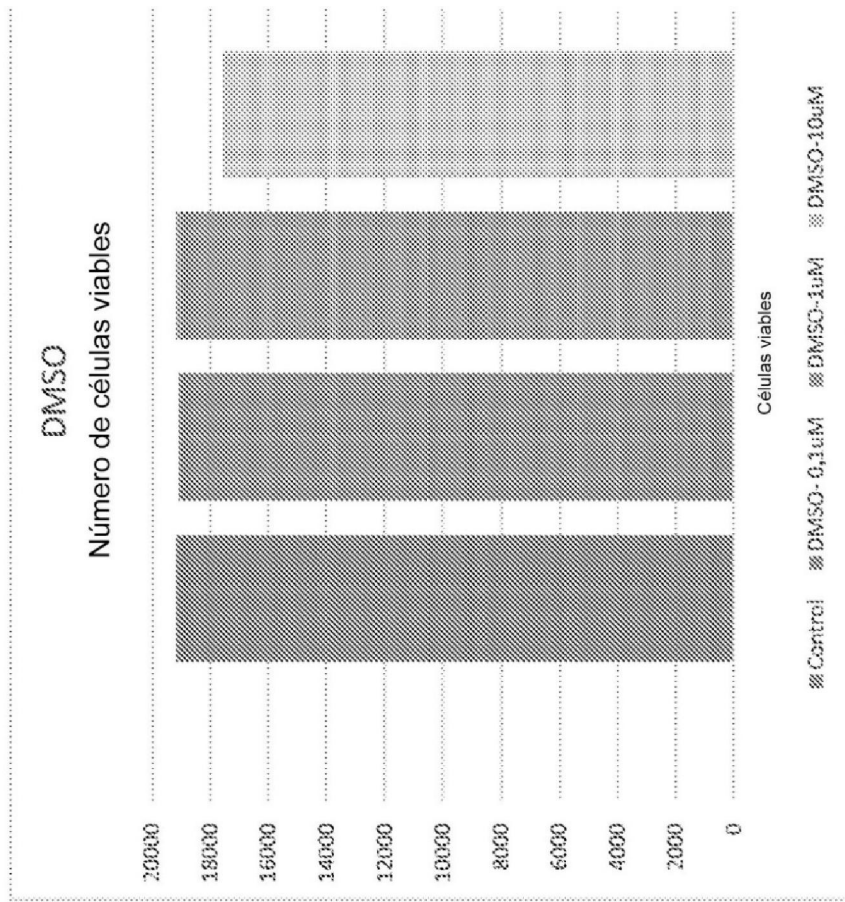


FIG. 37B

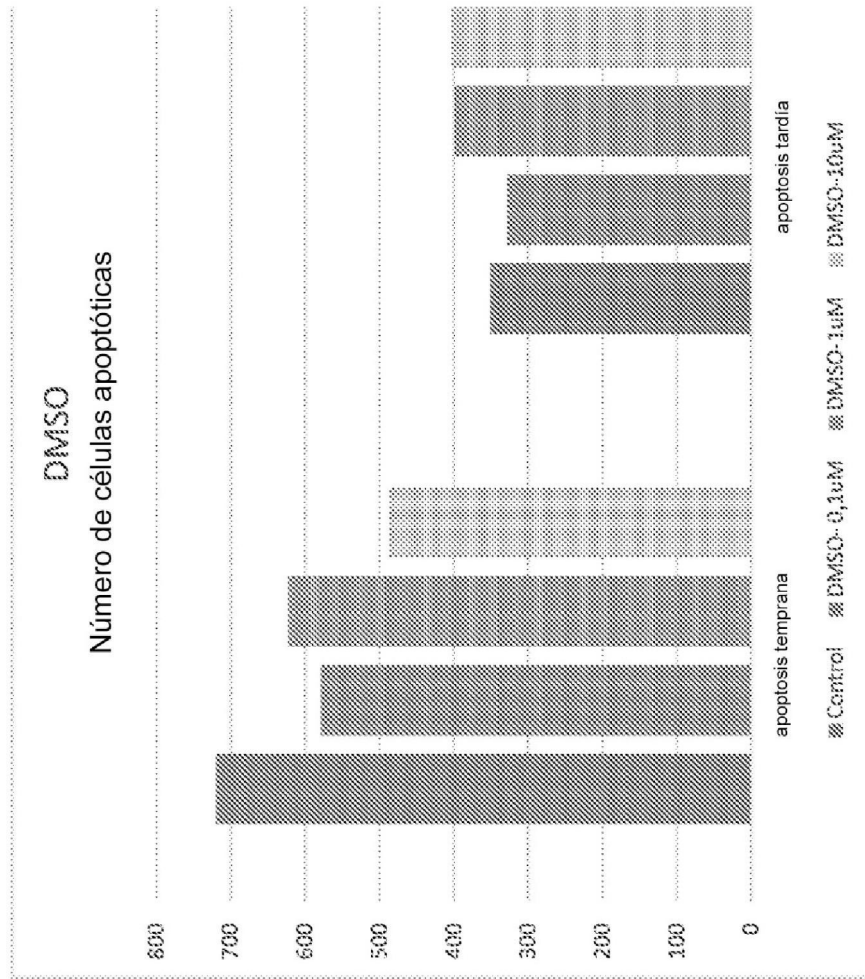


FIG. 37C