

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 819 232**

51 Int. Cl.:

C07D 401/14 (2006.01)

A61K 31/496 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.01.2014 PCT/US2014/011571**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.07.2014 WO14113413**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.01.2014 E 14741180 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.07.2020 EP 2945940**

54 Título: **Inhibidores de Bcl-2/Bcl-xL y su uso en el tratamiento de cáncer**

30 Prioridad:

16.01.2013 US 201361753066 P

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

15.04.2021

73 Titular/es:

**THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF MICHIGAN (100.0%)
Office of Technology Transfer, 1600 Huron Parkway, 2nd Floor
Ann Arbor, MI 48109-2590, US**

72 Inventor/es:

**WANG, SHAOMENG;
CHEN, JIANFANG;
MCEACHERN, DONNA;
BAI, LONGCHUAN;
LIU, LIU;
SUN, DUXIN;
LI, XIAOQIN y
AGUILAR, ANGELO**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 819 232 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de Bcl-2/Bcl-xL y su uso en el tratamiento de cáncer

Campo de la invención

La presente invención se refiere a inhibidores de Bcl-2/Bcl-xL y al uso de los mismos en el tratamiento de cáncer.

5 Antecedentes de la invención

La resistencia a la apoptosis es un sello distintivo de cáncer humano (1-3). Las células cancerosas deben superar un bombardeo continuo de tensiones celulares, tales como el daño del ADN, la activación de oncogenes, la progresión aberrante del ciclo celular y los microentornos rigurosos, lo que provocaría que las células normales experimentarían la apoptosis. Uno de los principales medios mediante el cual las células cancerosas evitan la apoptosis es mediante la regulación por incremento de proteínas antiapoptóticas de la familia de Bcl-2. La selección como diana de reguladores clave de la apoptosis para superar la resistencia a la apoptosis y fomentar la apoptosis de células tumorales es una nueva estrategia terapéutica contra el cáncer (4,5).

Las proteínas Bcl-2 funcionan como reguladores críticos de la apoptosis en células tanto cancerosas como normales (6-10). Las proteínas Bcl-2 sirven como control sobre la apoptosis, lo que permite la supervivencia de células sanas y útiles. Esta familia de proteínas incluye proteínas antiapoptóticas, tales como Bcl-2, Bcl-xL y Mcl-1, y moléculas proapoptóticas, incluyendo Bid, Bim, Bad, Bak y Bax (6-10). Mientras que las células normales presentan bajos niveles de expresión de las proteínas Bcl-2 y Bcl-xL antiapoptóticas, estas proteínas se encuentran altamente sobreexpresadas en muchos tipos diferentes de tumores humanos (6-10). Esta sobreexpresión se ha relacionado con el mal pronóstico en diversos tipos de cáncer y con la resistencia clínica a los agentes quimioterápicos y a la radiación (6-10). De acuerdo con las observaciones clínicas, los estudios de laboratorio han establecido que la sobreexpresión de Bcl-2 o Bcl-xL provoca que las células cancerosas se vuelvan más resistentes a los agentes quimioterápicos *in vitro* e *in vivo* (6-10). La inhibición de la apoptosis por Bcl-2 contribuye al cáncer mediante la inhibición de la muerte celular. Por tanto, la selección como diana de Bcl-2 y/o Bcl-xL se ha perseguido como estrategia terapéutica contra el cáncer (11-34). La inhibición de la actividad de Bcl-2 en células cancerosas puede reducir la resistencia a los quimioterápicos y aumentar la destrucción de células cancerosas.

Las proteínas Bcl-2 y Bcl-xL inhiben la apoptosis mediante la heterodimerización con las proteínas proapoptóticas de la familia Bcl-2, tales como Bak, Bax, Bim, Bid, Puma y Bad (6-10). Las estructuras tridimensionales determinadas experimentalmente de Bcl-xL y Bcl-2 han mostrado que estas proteínas poseen un surco bien definido, que interacciona con el dominio BH3 (homología 3 de Bcl-2) de las proteínas Bcl-2 proapoptóticas (38-42). Se ha propuesto que moléculas pequeñas que no son péptidos diseñadas para bloquear la heterodimerización de proteínas Bcl-2/Bcl-xL con sus parejas de unión que provocan la muerte pueden ser eficaces como antagonistas de Bcl-2/Bcl-xL y que tales inhibidores de molécula pequeña pueden tener un gran potencial terapéutico para el tratamiento de cánceres humanos en los que Bcl-2 y/o Bcl-xL están altamente expresadas (18-37).

Se han notificado inhibidores de molécula pequeña que no son péptidos de Bcl-2/Bcl-xL. El documento "Structure-Based Discovery of BM-957 as a Potent Small-Molecule Inhibitor of Bcl-2 and Bcl-xL Capable of Achieving Complete Tumor Regression" (J. Med. Chem 2012 8502-8514) da a conocer los compuestos 27-29 como inhibidores de Bcl-2 y Bcl-xL, así como el documento WO2012103059 da a conocer los compuestos 28-29 i como inhibidores de Bcl-2 y Bcl-xL.

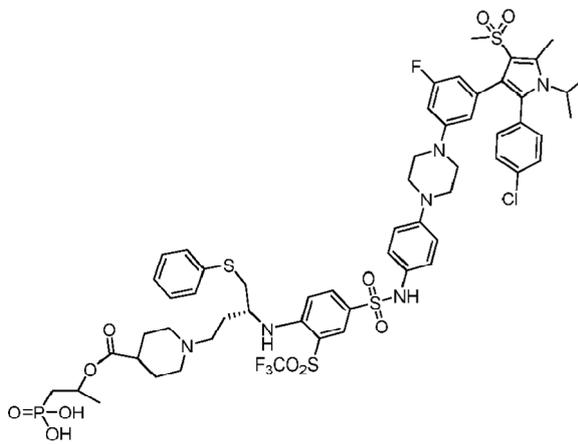
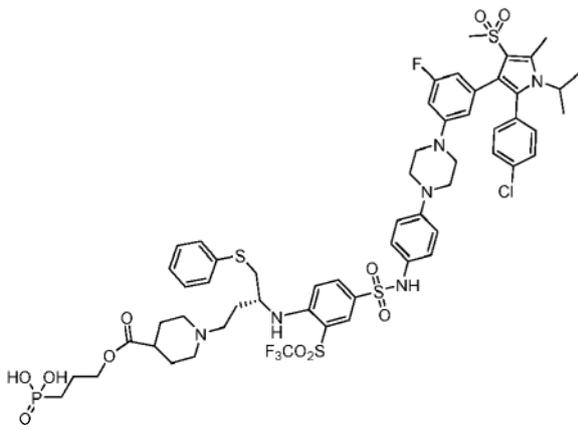
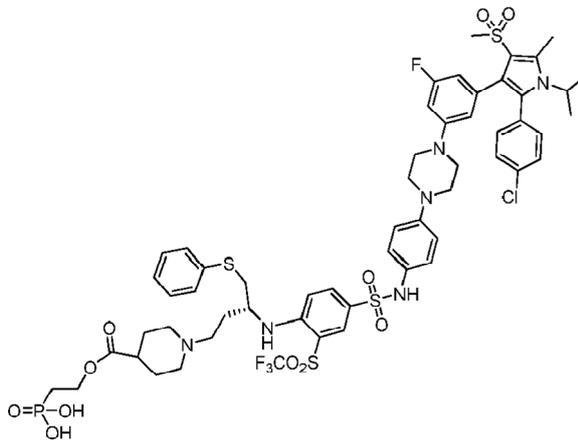
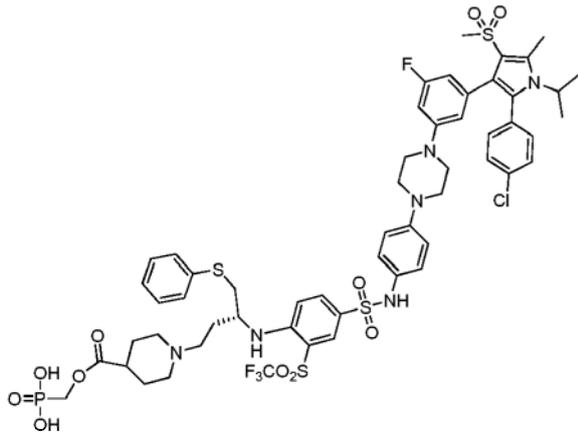
La mayoría de los inhibidores tienen afinidades de débiles a moderadas por estas proteínas y carecen de un modo de acción bien definido para su actividad celular (18-37). Las excepciones son ABT-737, ABT-263 y sus análogos (26-34). ABT-737 y ABT-263 se unen a Bcl-2, Bcl-xL y Bcl-w con afinidades muy altas ($K_i < 1$ nM) y tienen una alta especificidad con respecto a Mcl-1 y A1, otras dos proteínas Bcl-2 antiapoptóticas (26, 32, 34). ABT-263 ha avanzado en ensayos clínicos en fase I/II y muestra una actividad antitumoral prometedora en la práctica clínica (45).

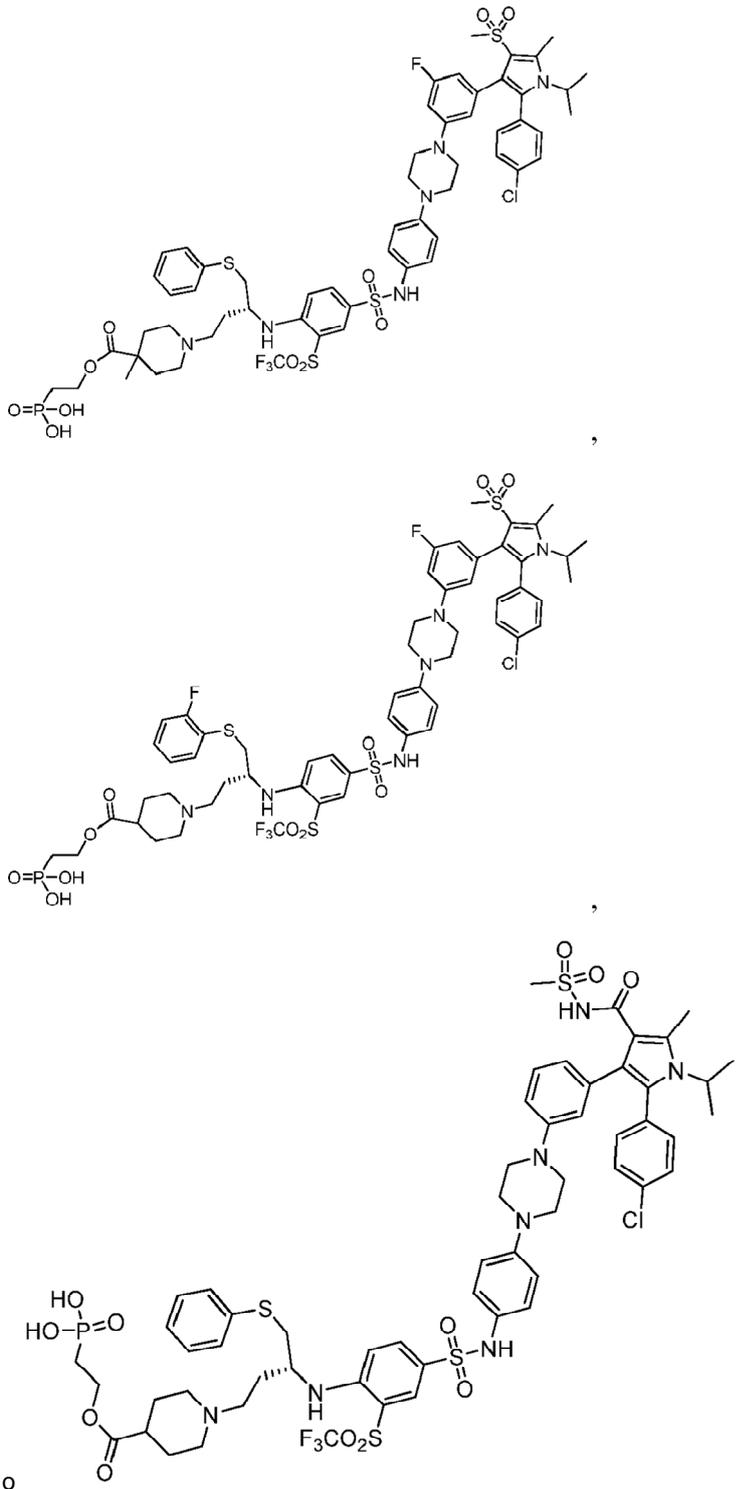
A pesar del descubrimiento de ABT-737 y ABT-263, el diseño de potentes inhibidores que no sean péptidos de Bcl-2/Bcl-xL sigue siendo un reto significativo en el descubrimiento de fármacos modernos. Por consiguiente, sigue existiendo la necesidad en la técnica de inhibidores de Bcl-2/Bcl-xL que tengan propiedades físicas y farmacológicas que permitan el uso de los inhibidores en aplicaciones terapéuticas. La presente invención proporciona compuestos diseñados para unirse a Bcl-2/Bcl-xL e inhibir la actividad de Bcl-2/Bcl-xL.

50 Sumario de la invención

La presente invención se refiere a inhibidores de Bcl-2/Bcl-xL, tal como se define en reivindicación 1, a composiciones que comprenden los inhibidores y al uso de los inhibidores en un tratamiento terapéutico de cáncer. Los presentes compuestos son potentes inhibidores de la activación de Bcl-2/Bcl-xL e inducen la apoptosis de células cancerosas que expresan Bcl-2 y/o Bcl-xL.

55 La presente invención se refiere a compuestos específicos que tienen una fórmula estructural:





Los compuestos dados a conocer anteriormente pueden usarse para tratar cáncer.

- 5 Otra realización de la presente invención es proporcionar una composición que comprende los compuestos dados a conocer anteriormente.

Esta composición puede usarse para tratar cáncer.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

La presente invención se describe en relación con realizaciones preferidas.

- 10 El término "Bcl-2/Bcl-xL", tal como se usa en el presente documento, significa Bcl-2, Bcl-xL o Bcl-2 y Bcl-xL, es decir,

Bcl-2 y/o Bcl-xL.

El término “una enfermedad o un estado en el que la inhibición de Bcl-2 y/o Bcl-xL proporciona un beneficio” se refiere a un estado en el que Bcl-2 y/o Bcl-xL, y/o una acción de Bcl-2 y/o Bcl-xL, es importante o necesaria, por ejemplo, para la aparición, el progreso, la expresión de esa enfermedad o ese estado, o una enfermedad o un estado que se sabe que va a tratarse por un inhibidor de Bcl-2/Bcl-xL, tal como ABT-737 o ABT-263. Un ejemplo de un estado de este tipo es un cáncer. Un experto habitual en la técnica puede determinar fácilmente si un compuesto trata una enfermedad o un estado mediado por Bcl-2/Bcl-xL para cualquier tipo de célula particular, por ejemplo, mediante ensayos que pueden usarse de manera conveniente para evaluar la actividad de compuestos particulares.

El término “segundo agente terapéutico” se refiere a un agente terapéutico diferente de un inhibidor de Bcl-2 y/o Bcl-xL dado a conocer anteriormente y que se sabe que trata la enfermedad o el estado de interés. Por ejemplo, cuando un cáncer es la enfermedad o el estado de interés, el segundo agente terapéutico puede ser un fármaco quimioterápico conocido, como taxol o radiación, por ejemplo.

El término “enfermedad” o “estado” indica alteraciones y/o anomalías que, como regla, se considera que son estados o funciones patológicas y que pueden manifestarse por sí solas en forma de signos, síntomas y/o disfunciones particulares. Tal como se demuestra a continuación, los compuestos dados a conocer anteriormente son potentes inhibidores de Bcl-2/Bcl-xL y pueden usarse en el tratamiento de enfermedades y estados en los que la inhibición de Bcl-2/Bcl-xL proporciona un beneficio.

Tal como se usa en el presente documento, los términos “tratar”, “que trata”, “tratamiento” y similares se refieren a la eliminación, reducción o mejora de una enfermedad o un estado, y/o los síntomas asociados con los mismos. Aunque no se excluye, el tratamiento de una enfermedad o un estado no requiere que la enfermedad, el estado o los síntomas asociados con los mismos se eliminen por completo. Tal como se usa en el presente documento, los términos “tratar”, “que trata”, “tratamiento” y similares pueden incluir “tratamiento profiláctico”, que se refiere a la reducción de la probabilidad de volver a desarrollar una enfermedad o un estado, o de una recaída de una enfermedad o un estado previamente controlado, en un sujeto que no tiene, pero está en riesgo de o es susceptible a, volver a desarrollar una enfermedad o un estado o una recaída de la enfermedad o el estado. El término “tratamiento” también incluye profilaxis de recidiva o profilaxis de fase, así como el tratamiento de signos, síntomas y/o disfunciones agudos o crónicos. El tratamiento puede orientarse de manera sintomática, por ejemplo, para suprimir los síntomas. Puede realizarse a lo largo de un corto periodo, orientarse a medio plazo o puede ser un tratamiento a largo plazo, por ejemplo, dentro del contexto de una terapia de mantenimiento.

El término “cantidad terapéuticamente eficaz” o “dosis eficaz”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad del/de los principio(s) activo(s) que es suficiente, cuando se administra, para administrar eficazmente el/los principio(s) activo(s) para el tratamiento del estado o la enfermedad de interés a un individuo que lo necesita. En el caso de un cáncer u otro trastorno de proliferación, la cantidad terapéuticamente eficaz del agente puede reducir (es decir, retardar hasta cierto punto y preferiblemente detener) la proliferación celular no deseada; reducir el número de células cancerosas; reducir el tamaño del tumor; inhibir (es decir, retardar hasta cierto punto y preferiblemente detener) la infiltración de células cancerosas en los órganos periféricos; inhibir (es decir, retardar hasta cierto punto y preferiblemente detener) la metástasis del tumor; inhibir, hasta cierto punto, el crecimiento del tumor; reducir la señalización de Bcl-2/Bcl-xL en las células diana; y/o aliviar, hasta cierto punto, uno o más de los síntomas asociados con el cáncer. Hasta el punto en el que el compuesto o la composición administrados evita el crecimiento y/o destruye las células cancerosas existentes, y puede ser citostática y/o citotóxica.

El término “recipiente” significa cualquier receptáculo y cierre para el mismo adecuado para almacenar, enviar, dispensar y/o manipular un producto farmacéutico.

El término “prospecto” significa la información que acompaña a un producto farmacéutico que proporciona una descripción de cómo administrar el producto, junto con los datos de seguridad y eficacia requeridos para permitir que el médico, el farmacéutico y el paciente tomen una decisión informada sobre el uso del producto. El prospecto del envase se considera generalmente como la “etiqueta” de un producto farmacéutico.

“Administración concurrente”, “administrado en combinación”, “administración simultánea” y frases similares significan que dos o más agentes se administran de manera concurrente al sujeto que va a tratarse. Por “de manera concurrente” quiere decirse que cada agente se administra o bien simultáneamente o bien secuencialmente en cualquier orden en momentos de tiempo diferentes. Sin embargo, si no se administran simultáneamente, quiere decirse que se administran a un individuo en una secuencia y lo suficientemente próximo en el tiempo para proporcionar el efecto terapéutico deseado y pueden actuar de manera concertada. Por ejemplo, un inhibidor de Bcl-2/Bcl-xL según la presente invención puede administrarse al mismo tiempo o secuencialmente en cualquier orden en momentos de tiempo diferentes como segundo agente terapéutico. Un inhibidor de Bcl-2/Bcl-xL presente y el segundo agente terapéutico pueden administrarse por separado, en cualquier forma apropiada y por cualquier vía adecuada. Cuando un inhibidor de Bcl-2/Bcl-xL presente y el segundo agente terapéutico no se administran de manera concurrente, se entiende que pueden administrarse en cualquier orden a un sujeto que lo necesita. Por ejemplo, un inhibidor de Bcl-2/Bcl-xL presente puede administrarse antes de (por ejemplo, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas,

1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas o 12 semanas antes), de manera concomitante con, o posterior a (por ejemplo, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas o 12 semanas después) la administración de una modalidad de tratamiento con un segundo agente terapéutico (por ejemplo, radioterapia) a un individuo que lo necesita. Un inhibidor de Bcl-2/Bcl-xL y el segundo agente terapéutico se administran con 1 minuto de diferencia, 10 minutos de diferencia, 30 minutos de diferencia, menos de 1 hora de diferencia, 1 hora de diferencia, de 1 hora a 2 horas de diferencia, de 2 horas a 3 horas de diferencia, de 3 horas a 4 horas de diferencia, de 4 horas a 5 horas de diferencia, de 5 horas a 6 horas de diferencia, de 6 horas a 7 horas de diferencia, de 7 horas a 8 horas de diferencia, de 8 horas a 9 horas de diferencia, de 9 horas a 10 horas de diferencia, de 10 horas a 11 horas de diferencia, de 11 horas a 12 horas de diferencia, no más de 24 horas de diferencia o no más de 48 horas de diferencia. Los componentes de las terapias de combinación pueden administrarse con de 1 minuto a 24 horas de diferencia.

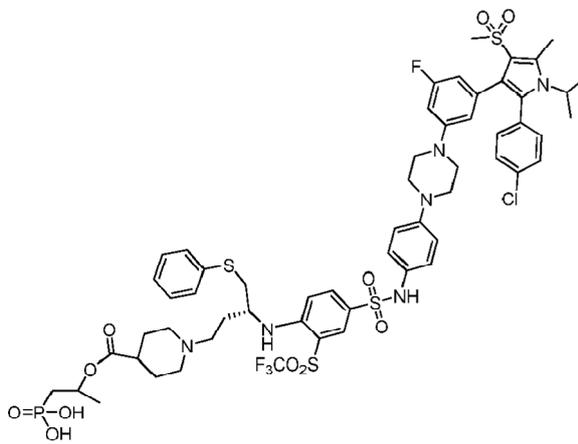
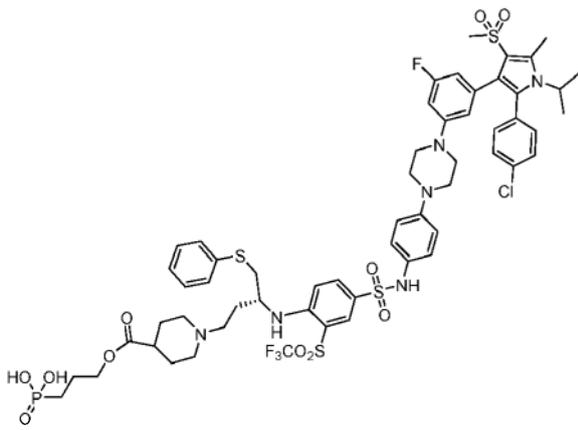
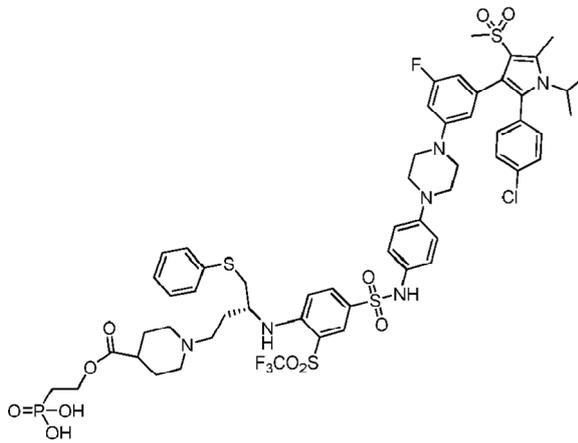
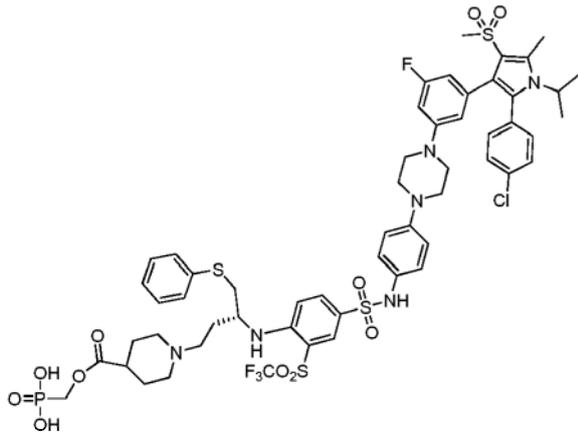
El uso de los términos “un”, “una”, “el/la” y referentes similares en el contexto de describir la invención (especialmente en el contexto de las reivindicaciones) debe interpretarse como que cubre tanto el singular como el plural, a menos que se indique de otro modo. La recitación de intervalos de valores en el presente documento están destinados a servir simplemente como método de abreviatura para hacer referencia individualmente a cada valor por separado que se encuentra dentro del intervalo, a menos que se indique de otro modo en el presente documento, y cada valor por separado se incorpora en la memoria descriptiva como si se recitaran individualmente en el presente documento. Durante la última década, la investigación sobre la apoptosis ha establecido que la selección como diana de Bcl-2 y/o Bcl-xL usando inhibidores de molécula pequeña es una estrategia terapéutica viable contra el cáncer (35-37). El descubrimiento de ABT-737 y ABT-263 y los primeros datos clínicos sobre ABT-263 han demostrado que los inhibidores de molécula pequeña que no son péptidos de Bcl-2 y/o Bcl-xL tienen un gran potencial terapéutico para el tratamiento de muchos tipos de cáncer humano en los que Bcl-2 y/o Bcl-xL están sobreexpresados y para los cuales los agentes anticancerígenos actuales son bastante ineficaces (26-36).

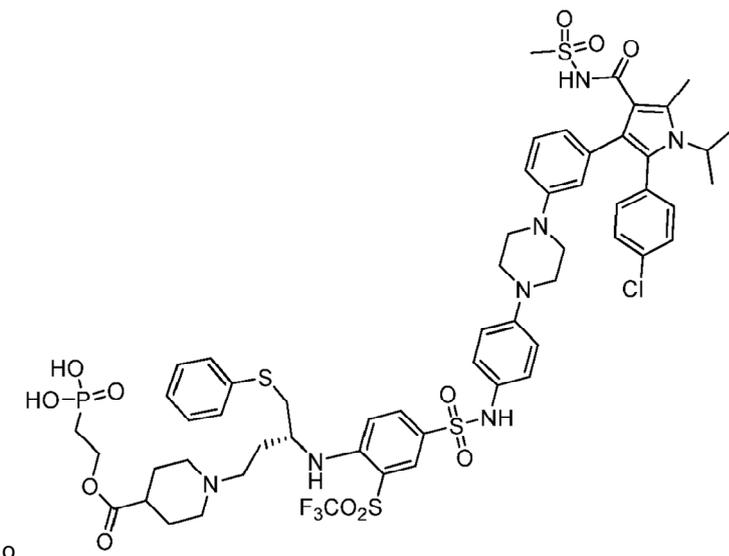
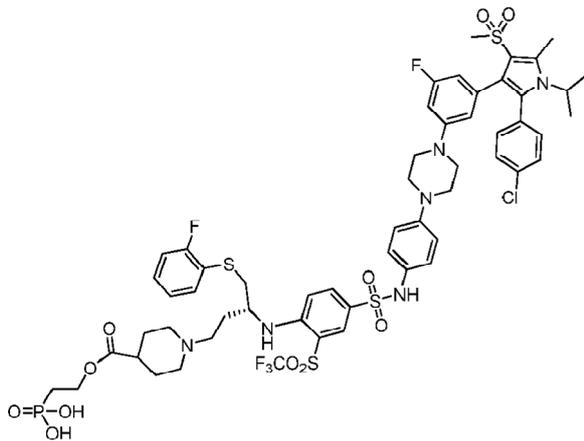
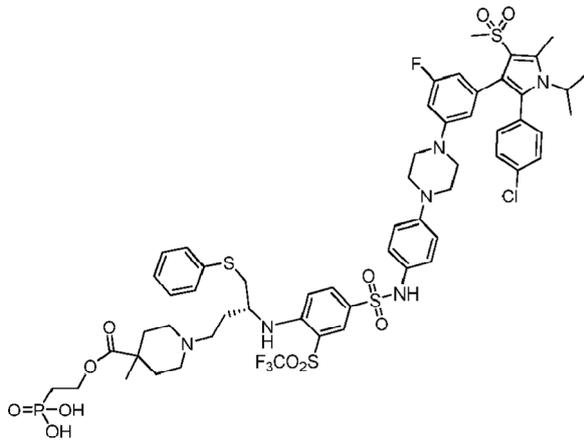
A pesar del descubrimiento de ABT-737 y ABT-263, se han notificado pocas clases nuevas de inhibidores de molécula pequeña de Bcl-2/Bcl-xL altamente potentes con afinidades por Bcl-2/Bcl-xL y potencias celulares próximas a las logradas por ABT-737/ABT-263. Esto se debe a que el diseño de inhibidores de molécula pequeña de Bcl-2/Bcl-xL implica la selección como diana y el bloqueo de las interacciones de las proteínas Bcl-2/Bcl-xL con sus parejas de unión proapoptóticas, una tarea que se ha demostrado que es muy desafiante por al menos tres motivos principales. En primer lugar, en comparación con los sitios de unión típicos en enzimas y receptores, las superficies de contacto entre Bcl-2 o Bcl-xL y sus parejas de unión son muy grandes (38-42). La interacción de Bcl-2/Bcl-xL con sus parejas de unión, tales como las proteínas BAD y Bim, está mediada por un dominio BH3 de 20-25 residuos en BAD y Bim y un gran surco de unión en Bcl-2/Bcl-xL. En segundo lugar, los surcos de unión en Bcl-2/Bcl-xL son muy hidrófobos por naturaleza, lo que dificulta el diseño de moléculas pequeñas de tipo fármaco (26, 38-42). En tercer lugar, Bcl-2 y Bcl-xL son extremadamente flexibles de manera conformacional y pueden adoptar conformaciones bastante distintas en la estructura libre de ligando y cuando se unen a ligandos diferentes (26, 38-42). Algunos de los bolsillos de unión observados para Bcl-xL en las estructuras cristalinas de sus complejos con BAD (41), Bim (43) y ABT-737(44) se inducen por la unión de ligandos y no están presentes en una estructura cristalino libre de ligando (38). Estos tres factores hacen que el diseño de inhibidores de molécula pequeña potentes y similares a fármaco de Bcl-2/Bcl-xL sea un reto fundamental en el descubrimiento de fármacos modernos.

La presente invención se refiere a compuestos que son inhibidores potentes y específicos de Bcl-2/Bcl-xL. Los presentes compuestos pueden unirse a Bcl-2 y/o Bcl-xL con valores de $K_i < 10$ nM y funcionar como potentes antagonistas de Bcl-2 y Bcl-xL en ensayos funcionales libres de células. Los compuestos inducen potencialmente la apoptosis en células cancerosas y tienen un mecanismo de acción que es muy coherente con la selección como diana de Bcl-2 y Bcl-xL. Un compuesto sometido a prueba demuestra una robusta inducción de la apoptosis *in vivo* en tejidos tumorales y muestra una fuerte actividad antitumoral contra tumores de xenoinjerto H146.

Por tanto, los inhibidores de Bcl-2/Bcl-xL de la presente invención son útiles en el tratamiento de células proliferantes no deseadas, incluyendo cánceres y precánceres, en sujetos que necesitan tal tratamiento. Los compuestos de la presente invención pueden reducir la proliferación de células no deseadas induciendo la apoptosis en esas células.

La presente invención se refiere a inhibidores de Bcl-2/Bcl-xL que tienen una fórmula estructural





- 5 Dichos compuestos anteriores inhiben Bcl-2/Bcl-xL y son útiles en el tratamiento de cáncer.

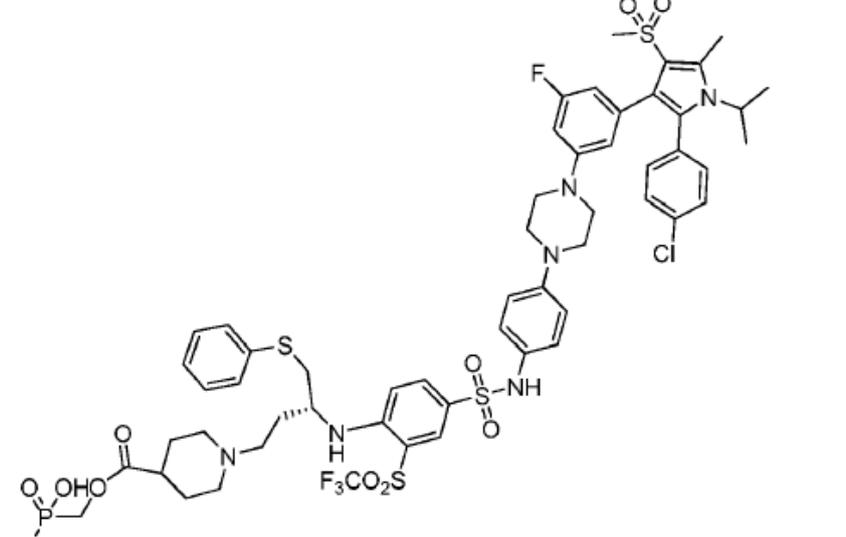
Dichos compuestos anteriores pueden administrarse con un segundo agente terapéutico. El segundo agente terapéutico se selecciona de fármacos que se sabe que son útiles en el tratamiento de la enfermedad o el estado que aflige al individuo que lo necesita, por ejemplo, un agente quimioterápico y/o radiación que se sabe que son útiles en el tratamiento de un cáncer particular.

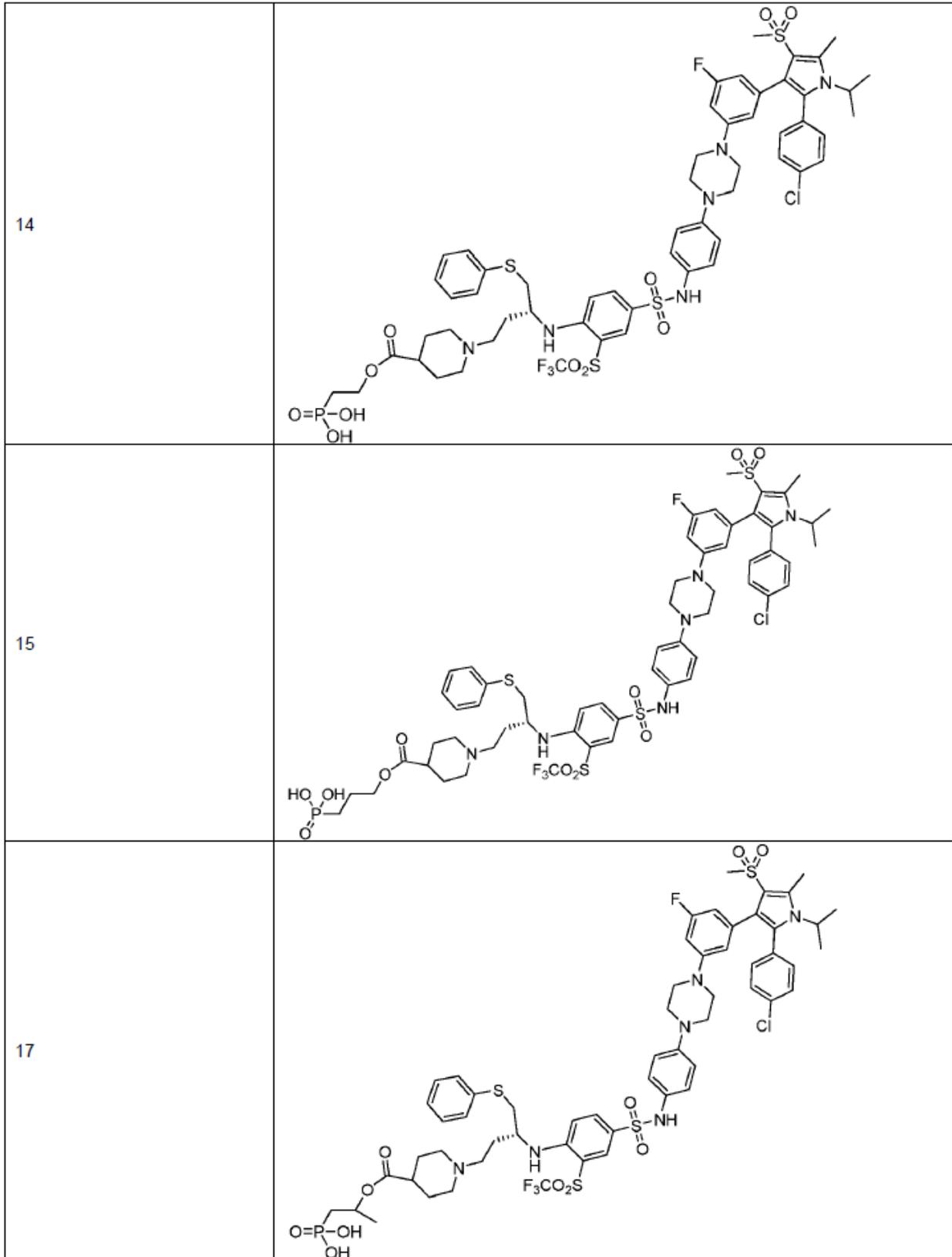
- 10 De manera adicional, también pueden usarse sales, hidratos y solvatos de los presentes compuestos. La presente invención incluye además todos los posibles estereoisómeros e isómeros geométricos de los compuestos. La

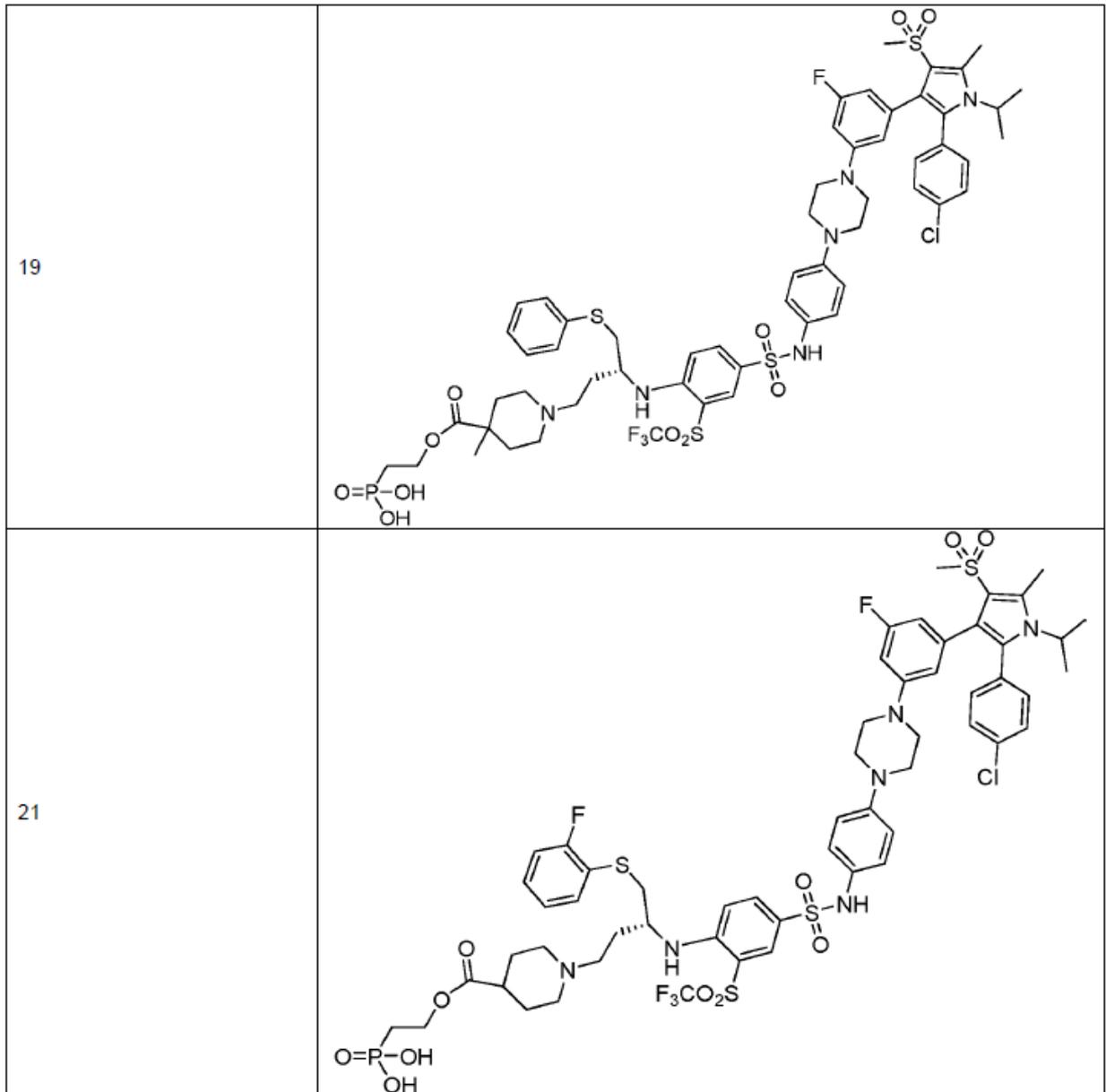
presente invención incluye tanto compuestos racémicos como isómeros ópticamente activos. Cuando se desea un compuesto de la invención como único enantiómero, puede obtenerse o bien mediante resolución del producto final o bien mediante síntesis estereoespecífica a partir de o bien el material de partida isoméricamente puro o bien el uso de un reactivo auxiliar quiral, por ejemplo, véase Z. Ma *et al.*, *Tetrahedron: Asymmetry*, 8(6), páginas 883-888 (1997). La resolución del producto final, un producto intermedio o un material de partida puede lograrse mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica. De manera adicional, en situaciones en las que son posibles tautómeros de dichos compuestos anteriores, la presente invención pretende incluir todas las formas tautoméricas de los compuestos.

Los compuestos de la invención pueden existir como sales. Pueden usarse sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención. Tal como se usa en el presente documento, el término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales o formas zwitteriónicas de dichos compuestos anteriores. Las sales de dichos compuestos anteriores pueden prepararse durante el aislamiento y la purificación finales de los compuestos o haciendo reaccionar por separado el compuesto con un ácido que tiene un catión adecuado. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos pueden ser sales de adición de ácido formadas con ácidos farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de ácidos que pueden emplearse para formar sales farmacéuticamente aceptables incluyen ácidos inorgánicos tales como nítrico, bórico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico y fosfórico, y ácidos orgánicos tales como oxálico, maleico, succínico y cítrico. Los ejemplos no limitativos de sales incluyen, pero no se limitan a, las sales de clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, sulfato, bisulfato, 2-hidroxietanosulfonato, fosfato, hidrogenofosfato, acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bisulfato, butirato, canforato, canforsulfonato, digluconato, glicerolfosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, formiato, succinato, fumarato, maleato, ascorbato, isetionato, salicilato, metanosulfonato, mesitilenosulfonato, naftilenosulfonato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, tricloroacetato, trifluoroacetato, fosfato, glutamato, bicarbonato, para-toluenosulfonato, undecanoato, lactato, citrato, tartrato, gluconato, metanosulfonato, etanodisulfonato, bencenosulfonato y p-toluenosulfonato. Además, los grupos amino disponibles presentes en los compuestos de la invención pueden cuaternizarse con cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo; sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo y diamilo; cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo; y bromuros de bencilo y fenetilo.

Los compuestos específicos de la presente invención incluyen los compuestos que tienen la estructura expuesta a continuación.

N.º de compuesto	Estructura
12	





corporales), linfoma tímico cáncer de pulmón (incluyendo carcinoma de células pequeñas, linfoma cutáneo de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, cáncer de la corteza suprarrenal, tumores que producen ACTH, cánceres no microcíticos, cáncer de mama, incluyendo carcinoma de células pequeñas y carcinoma ductal), cánceres gastrointestinales (incluyendo cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer colorrectal y pólipos asociados con neoplasia colorrectal), cáncer de páncreas, cáncer de hígado, cánceres urinarios (incluyendo cáncer de vejiga, tal como tumores primarios de vejiga superficial, carcinoma invasivo de células de transición de la vejiga y cáncer de vejiga invasivo del músculo), cáncer de próstata, neoplasias malignas del aparato genital femenino (incluyendo carcinoma de ovario, neoplasias epiteliales peritoneales primarias, carcinoma de cuello uterino, cánceres endometriales uterinos, cáncer de vagina, cáncer de la vulva, cáncer de útero y tumores sólidos en el folículo ovárico), neoplasias malignas del aparato genital masculino (incluyendo cáncer de testículo y cáncer de pene), cáncer de riñón (incluyendo carcinoma de células renales, cáncer de cerebro (incluyendo tumores de cerebro intrínsecos, neuroblastoma, tumores de cerebro astrocíticos, gliomas e invasión de células de tumor metastásico en el sistema nervioso central), cánceres de hueso (incluyendo osteomas y osteosarcomas), cánceres de piel (incluyendo melanoma maligno, progresión tumoral de queratinocitos cutáneos humanos y cáncer de células escamosas), cáncer de tiroides, retinoblastoma, neuroblastoma, derrame peritoneal, derrame pleural maligno, mesotelioma, tumores de Wilms, cáncer de vesícula biliar, neoplasias trofoblásticas, hemangiopericitoma y sarcoma de Kaposi.

Un compuesto de la invención puede usarse por cualquier vía adecuada, por ejemplo por administración oral, bucal, inhalación, sublingual, rectal, vaginal, suboccipital o intratecal a través de punción lumbar, transuretral, nasal, percutánea, es decir, transdérmica, o parenteral (incluyendo inyección intravenosa, intramuscular, subcutánea, intracoronaria, intradérmica, intramamaria, intraperitoneal, intraarticular, intratecal, retrobulbar, intrapulmonar y/o implantación quirúrgica en un sitio particular). La administración parenteral puede lograrse usando una aguja y una jeringa o usando una técnica de alta presión.

Las composiciones farmacéuticas incluyen aquellas en las que se usa un compuesto de la invención en una cantidad eficaz para lograr su propósito previsto. La formulación, la vía de administración y la dosificación exactas las determina un médico individual en vista del estado condición o la enfermedad diagnosticados.

La toxicidad y la eficacia terapéutica de los compuestos de la presente invención pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos de células o animales de experimentación, por ejemplo, para determinar la dosis máxima tolerada (DMT) de un compuesto, que se define como la mayor dosis que no provoca toxicidad en animales. La razón de dosis entre la dosis máxima tolerada y los efectos terapéuticos (por ejemplo, inhibición del crecimiento del tumor) es el índice terapéutico. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y de la vía de administración utilizada. La determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz se encuentra dentro de la capacidad de los expertos en la técnica, especialmente a la luz de la divulgación detallada proporcionada en el presente documento.

Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención requerida para su uso en terapia varía con la naturaleza del estado que va a tratarse, la duración de tiempo que se desea actividad y la edad y el estado del paciente y, en última instancia, se determina por el médico tratante. Las cantidades y los intervalos de dosificación pueden ajustarse individualmente para proporcionar niveles en plasma del inhibidor de Bcl-2/Bcl-xL que sean suficientes para mantener los efectos terapéuticos deseados. La dosis deseada puede administrarse de manera conveniente en una sola dosis, o como múltiples dosis administradas en intervalos apropiados, por ejemplo como una, dos, tres, cuatro o más subdosis al día. A menudo se desean o se requieren múltiples dosis. Por ejemplo, un inhibidor de Bcl-2/Bcl-xL presente puede administrarse a una frecuencia de: una dosis al día durante 2 días con un descanso de 5 días durante 2 semanas; una dosis al día durante 3 días con un descanso de 4 días durante 3 semanas; dosificación semanalmente durante 2 semanas; dosificación semanalmente durante 4 semanas; o cualquier pauta posológica que se considere apropiada para la circunstancia.

Un compuesto de la presente invención puede usarse en una cantidad de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 500 miligramos por dosis, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 250 miligramos por dosis o de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 100 miligramos por dosis. Por ejemplo, un compuesto de fórmula estructural (I), (II) o (III) puede administrarse, por dosis, en una cantidad de aproximadamente 0,005, 0,05, 0,5, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 ó 500 miligramos, incluyendo todas las dosis entre 0,005 y 500 miligramos.

La dosificación de una composición que contiene un inhibidor de Bcl-2/Bcl-xL de la presente invención o una composición que contiene el mismo puede ser de desde aproximadamente 1 ng/kg hasta aproximadamente 200 mg/kg, desde aproximadamente 1 µg/kg hasta aproximadamente 100 mg/kg o desde aproximadamente 1 mg/kg hasta aproximadamente 50 mg/kg. La dosificación de una composición puede ser cualquier dosificación incluyendo, pero sin limitarse a, aproximadamente 1 µg/kg. La dosificación de una composición puede ser cualquier dosificación incluyendo, pero sin limitarse a, aproximadamente 1 µg/kg, 10 µg/kg, 25 µg/kg, 50 µg/kg, 75 µg/kg, 100 µg/kg, 125 µg/kg, 150 µg/kg, 175 µg/kg, 200 µg/kg, 225 µg/kg, 250 µg/kg, 275 µg/kg, 300 µg/kg, 325 µg/kg, 350 µg/kg, 375 µg/kg, 400 µg/kg, 425 µg/kg, 450 µg/kg, 475 µg/kg, 500 µg/kg, 525 µg/kg, 550 µg/kg, 575 µg/kg, 600 µg/kg, 625 µg/kg, 650 µg/kg, 675 µg/kg, 700 µg/kg, 725 µg/kg, 750 µg/kg, 775 µg/kg, 800 µg/kg, 825 µg/kg, 850 µg/kg,

875 µg/kg, 900 µg/kg, 925 µg/kg, 950 µg/kg, 975 µg/kg, 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg, 35 mg/kg, 40 mg/kg, 45 mg/kg, 50 mg/kg, 60 mg/kg, 70 mg/kg, 80 mg/kg, 90 mg/kg, 100 mg/kg, 125 mg/kg, 150 mg/kg, 175 mg/kg o 200 mg/kg.

- 5 Muchos protocolos de tratamiento de cáncer emplean actualmente radiosensibilizadores activados por radiación electromagnética, por ejemplo, rayos X. Los ejemplos de radiosensibilizadores activados por rayos X incluyen, pero no se limitan a, metronidazol, misonidazol, desmetilmisonidazol, pimonidazol, etanidazol, nimorazol, mitomicina C, RSU 1069, SR 4233, EO9, RB 6145, nicotinamida, 5-bromodesoxiuridina (BUdR), 5-yododesoxiuridina (IUdR), bromodesoxicidina, fluorodesoxiuridina (FUdR), hidroxurea, cisplatino y análogos y derivados terapéuticamente eficaces de los mismos.
- 10 La terapia fotodinámica (PDT) de cánceres emplea luz visible como activador de radiación del agente sensibilizador. Los ejemplos de radiosensibilizadores fotodinámicos incluyen los siguientes, pero no se limitan a: derivados de hematoporfirina, PHOTOFRIN®, derivados de benzoporfirina, NPe6, etioporfirina de estaño (SnET2), feorbordina-a, bacterioclorofila-a, naftalocianinas, ftalocianinas, ftalocianina de zinc y análogos y derivados terapéuticamente eficaces de los mismos.
- 15 Los radiosensibilizadores pueden administrarse junto con una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos además de un inhibidor de Bcl-2/Bcl-xL presente, incluyendo tales compuestos, pero sin limitarse a, compuestos que fomentan la incorporación de radiosensibilizadores en las células diana, compuestos que controlan el flujo de productos terapéuticos, nutrientes y/u oxígeno hacia las células diana, agentes quimioterápicos que actúan sobre el tumor con o sin radiación adicional u otros compuestos terapéuticamente eficaces para tratar el
- 20 cáncer u otra enfermedad. Los ejemplos de agentes terapéuticos adicionales que pueden usarse junto con radiosensibilizadores incluyen, pero no se limitan a, 5-fluorouracilo (5-FU), leucovorina, oxígeno, carbógeno, transfusiones de glóbulos rojos, perfluorocarbonos (por ejemplo, FLUOSOLW®-DA), 2,3-DPG, BW12C, bloqueadores de los canales de calcio, pentoxifilina, compuestos antiangiogénicos, hidralazina y L-BSO.
- 25 El agente quimioterápico puede ser cualquier agente farmacológico o compuesto que induzca la apoptosis. El agente farmacológico o compuesto puede ser, por ejemplo, una molécula orgánica pequeña, un péptido, un polipéptido, un ácido nucleico o un anticuerpo. Los agentes quimioterápicos que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, agentes alquilantes, antimetabolitos, hormonas y antagonistas de las mismas, productos naturales y sus derivados, radioisótopos, anticuerpos, así como productos naturales y combinaciones de los mismos. Por ejemplo, un inhibidor de Bcl-2/Bcl-xL de la presente invención puede administrarse con antibióticos, tales como doxorubicina
- 30 y otros análogos de antraciclinas, mostazas de nitrógeno, tales como ciclofosfamida, análogos de pirimidina tales como 5-fluorouracilo, cisplatino, hidroxurea, taxol y sus derivados naturales y sintéticos, y similares. Como otro ejemplo, en el caso de tumores mixtos, tales como adenocarcinoma de mama, en los que los tumores incluyen células dependientes de la gonadotropina e independientes de la gonadotropina, el compuesto puede administrarse junto con leuprolida o goserelina (análogos peptídicos sintéticos de LH-RH). Otros protocolos antineoplásicos
- 35 incluyen el uso de un compuesto inhibidor con otra modalidad de tratamiento, por ejemplo, cirugía o radiación, también denominadas en el presente documento "modalidades antineoplásicos adyuvantes". Los agentes quimioterápicos adicionales útiles en la invención incluyen hormonas y antagonistas de las mismas, radioisótopos, anticuerpos, productos naturales y combinaciones de los mismos.

Los ejemplos de agentes quimioterápicos útiles se enumeran en la siguiente tabla.

Tabla 1

Agentes alquilantes

Mostazas nitrogenadas

mecloretamina
 ciclofosfamida
 ifosfamida
 melfalán
 clorambucilo
 mostaza de uracilo
 temozolomida

Nitrosoureas

carmustina (BCNU)
 lomustina (CCNU)
 semustina (metil-CCNU)

Productos naturales

Fármacos antimitóticos

Taxanos

paclitaxel
 alcaloides de la vinca
 vinblastina (VLB)
 vincristina
 vinorelbina
 vindesina
 Taxotere® (docetaxel)
 estramustina
 fosfato de estramustina

clormetina
estrepto-zocina

Etilenimina/Metil-melamina

trietilenmelamina (TEM)
trietilentiofosforamida
(tiotepa)
hexametilmelamina
(HMM, altretamina)

Sulfonatos de alquilo

busulfán
pipobromán

Triazinas

dacarbazina (DTIC)

Antimetabolitos

Análogos de ácido fólico

metotrexato
trimetrexato
pemetrexed
(antifolato multidirigido)

Análogos de pirimidina

5-fluorouracilo
fluorodesoxiuridina
gemcitabina
arabinósido de citosina
(AraC, citarabina)
5-azacitidina
2,2'-difluorodesoxicididina
floxuridina
pentostatina

Análogos de purina

6-mercaptopurina
6-tioguanina
azatioprina
2'-desoxicoformicina
(pentostatina)
eritrohidroxinoniladenina (EHNA)
fosfato de fludarabina
2-clorodesoxiadenosina
(cladribina, 2-CdA)

Epipodofilotoxinas

etopósido
tenipósido

Antibióticos

actimomicina D
daunomicina (rubidomicina)
doxorubicina (adriamicina)
mitoxantrona-idarrubicina
bleomicina
splicamicina (mitramicina)
mitromicina-C
dactinomicina
afidicolina
epirubicina
idarrubicina
daunorubicina
mitramicina
desoxi-coformicina

Enzimas

L-asparaginasa
L-arginasa

Radiosensibilizadores

metronidazol
misonidazol
desmetilmisonidazol
pimonidazol
etanidazol
nimorazol
RSU 1069
EO9
RB 6145

Antiandrógenos no esteroideos

SR4233
flutamida
nicotinamida
5-bromodesozuridina
5-yododesoxiuridina
bromodesoxicididina

Agentes misceláneos

Complejos de coordinación de platino
cisplatino

Inhibidores de la topoisomerasa de tipo I

camptotecina
topotecán
irinotecán

carboplatino
oxaliplatino
antracenediona
mitoxantrona

Modificadores de la respuesta biológica

G-CSF
GM-CSF

Urea sustituida
hidroxiurea

Agentes de diferenciación

derivados de ácido retinoico

Derivados de metilhidrazina
N-metilhidrazina (MIH)
procarbazina

Hormonas y antagonistas

Adrenocorticoesteroides/antagonistas

prednisona y equivalentes
dexametasona
ainoglutetimida

Depresores adrenocorticales

mitotano (*o,p'*-DDD)
ainoglutetimida

Progestinas

caproato de hidroxiprogesterona
acetato de medroxiprogesterona
acetato de megestrol

Citocinas

interferón (α , β , γ)
interleucina-2

Estrógenos

dietilestilbestrol
etinilestradiol/equivalentes

Fotosensibilizadores

derivados de hematoporfirina
PHOTOFRIN®
derivados de benzoporfirina
Npe6
etioporfirina de estaño(SnET2)
feborida-a
bacterioclorofila-a
naftalocianinas
ftalocianinas
ftalocianinas de zinc

Antiestrógeno

tamoxifeno

Andrógenos

propionato de testosterona
fluoximesterona/equivalentes

Radiación

rayos X
luz ultravioleta
radiación gamma
luz visible
radiación infrarroja
radiación microondas

Antiandrógenos

flutamida
análogos de hormonas liberadores de gonadotropina
leuprolida

Los agentes que afectan a los microtúbulos interfieren con la mitosis celular y se conocen bien en la técnica por su actividad citotóxica. Los agentes que afectan a los microtúbulos incluyen, pero no se limitan a, alocolquicina (NSC 406042), halicondrina B (NSC 609395), colquicinas (NSC 757), derivados de colquicinas (por ejemplo, NSC 33410), dolastatina 10 (NSC 376128), maitansina (NSC 153858), rizoxina (NSC 332598), paclitaxel (NSC 125973), derivados de TAXOL® (por ejemplo, NSC 608832), tiocolquicina NSC 361792), tritilcisteína (NSC 83265), sulfato de vinblastina (NSC 49842), sulfato de vincristina (NSC 67574), eptilonas naturales y sintéticas incluyendo, pero sin limitarse a,

epotilona A, epotilona B y discodermolida (véase Service, (1996) Science, 274:2009) estramustina, nocodazol, MAP4 y similares. Los ejemplos de tales agentes también se describen en Bulinski (1997) J. Cell Sci. 110:3055-3064; Panda (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:10560-10564; Muhlradt (1997) Cancer Res. 57:3344-3346; Nicolaou (1997) Nature 397:268-272; Vasquez (1997) Mol. Biol. Cell. 8:973-985; y Panda (1996) J. Biol. Chem. 271:29807-29812.

Los agentes citostáticos que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, hormonas y esteroides (incluyendo análogos sintéticos): 17- α -etinilestradiol, dietilestilbestrol, testosterona, prednisona, fluoximesterona, propionato de dromostanolona, testolactona, acetato de megestrol, metilprednisolona, metil-testosterona, prednisolona, triamcinolona, clortrianiseno, hidroxiprogesterona, aminoglutimida, estramustina, acetato de medroxiprogesterona, leuprolida, flutamida, toremifeno y zoladex.

Otros agentes citostáticos son antiangiogénicos, tales como inhibidores de metaloproteinasa de la matriz y otros inhibidores de VEGF, tales como anticuerpos anti-VEGF y moléculas pequeñas tales como ZD6474 y SU668. También pueden utilizarse anticuerpos anti-Her2. Un inhibidor de EGFR es EKB-569 (un inhibidor irreversible). También se incluyen anticuerpo C225 inmunoespecífico para los inhibidores de EGFR y Src.

También es adecuado para su uso como agente citostático CASODEX[®] (bicalutamida, Astra Zeneca) que hace que los carcinomas dependientes de andrógenos no proliferen. Aún otro ejemplo de un agente citostático es el antiestrógeno TAMOXIFEN[®] que inhibe la proliferación o el crecimiento de cáncer de mama dependiente de estrógenos. Los inhibidores de la transducción de señales proliferativas celulares son agentes citostáticos. Los ejemplos representativos incluyen inhibidores del factor de crecimiento epidérmico, inhibidores de Her-2, inhibidores de cinasa MEK-1, inhibidores de cinasa MAPK, inhibidores de PI3, inhibidores de cinasa Src e inhibidores de PDGF.

Los segundos agentes terapéuticos adicionales que pueden administrarse con un inhibidor de Bcl-2/Bcl-xL de la presente invención se dan a conocer en la publicación de patente estadounidense 2007/0027135; la patente estadounidense n.º 7.432.304; la publicación de patente estadounidense n.º 2010/0278921; el documento WO 2012/017251.

Los compuestos de la presente invención se usan normalmente en una mezcla con un portador farmacéutico seleccionado con respecto a la vía de administración prevista y la práctica farmacéutica convencional. Las composiciones farmacéuticas para su uso según la presente invención se formulan de manera convencional usando uno o más portadores fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y sustancias auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos de la invención.

Estas composiciones farmacéuticas pueden fabricarse, por ejemplo, mediante procedimientos de mezclado, disolución, granulación, elaboración de grageas, emulsificación, encapsulación, atrapamiento o liofilización convencionales. La formulación apropiada depende de la vía de administración elegida. Cuando se usa una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de las invenciones por vía oral, la composición normalmente está en forma de un comprimido, una cápsula, un polvo, una disolución o un elixir. Cuando se usa en forma de comprimido, la composición puede contener adicionalmente un portador sólido, tal como una gelatina o un adyuvante. El comprimido, la cápsula y el polvo contienen de aproximadamente el 0,01% a aproximadamente el 95%, y preferiblemente desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 50%, de un compuesto de la invención. Cuando se administra en forma líquida, puede añadirse un portador líquido, tal como agua, vaselina o aceites de origen animal o vegetal. La forma líquida de la composición puede contener además solución salina fisiológica, dextrosa u otras disoluciones de sacáridos, o glicoles. Cuando se usa en forma líquida, la composición contiene de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 90%, y preferiblemente de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 50%, en peso, de un compuesto de la invención. Cuando se usa una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención mediante inyección intravenosa, cutánea o subcutánea, la composición está en forma de una disolución acuosa parenteralmente aceptable libre de pirógenos. La preparación de tales disoluciones parenteralmente aceptables, teniendo debidamente en cuenta el pH, la isotonicidad, la estabilidad y similares, se encuentra dentro de la habilidad en la técnica. Una composición preferida para inyección intravenosa, cutánea o subcutánea contiene normalmente un vehículo isotónico. Los compuestos de la invención pueden combinarse fácilmente con portadores farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Tales portadores permiten que los agentes activos se formulen como comprimidos, pastillas, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, pastas, suspensiones y similares, para ingestión oral por un paciente que va a tratarse. Las preparaciones farmacéuticas para uso oral pueden obtenerse añadiendo el compuesto de la invención a un excipiente sólido, opcionalmente triturando la mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos, después de añadir sustancias auxiliares adecuadas, si se desea, para obtener núcleos de grageas o comprimidos. Los excipientes adecuados incluyen, por ejemplo, cargas y preparaciones de celulosa. Si se desea, pueden añadirse agentes disgregantes.

Un compuesto de la invención puede formularse para administración parenteral mediante inyección, por ejemplo, mediante inyección en bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en recipientes multidosis, con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión.

5 Las composiciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen disoluciones acuosas del agente activo en forma soluble en agua. De manera adicional, pueden prepararse suspensiones de un compuesto de la presente invención como suspensiones oleosas para inyección apropiadas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos o ésteres de ácidos grasos sintéticos. Las suspensiones acuosas para inyección pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizadores adecuados o agentes que aumentan la solubilidad de los compuestos y permiten la preparación de disoluciones altamente concentradas. Alternativamente, una composición presente puede estar en forma de polvo para su constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril libre de pirógenos, antes de su uso.

10 Un compuesto de la presente invención también puede formularse en composiciones rectales, tales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, que contienen bases de supositorio convencionales. Además de las formulaciones descritas anteriormente, el compuesto de la presente invención también puede formularse como una preparación de liberación lenta. Tales de formulaciones de larga actuación pueden administrarse mediante implantación (por ejemplo, por vía subcutánea o intramuscular) o mediante inyección intramuscular. Por tanto, por ejemplo, los compuestos de la presente invención pueden formularse con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico.

15 En particular, los compuestos de la invención pueden administrarse por vía oral, bucal o sublingual en forma de comprimidos que contienen excipientes, tales como almidón o lactosa, o en cápsulas u óvulos, o bien solos o bien en una mezcla con excipientes, o en forma de elixires o suspensiones que contienen agentes aromatizantes o colorantes. Tales preparaciones líquidas pueden prepararse con aditivos farmacéuticamente aceptables, tales como agentes de suspensión. Los compuestos de la invención también pueden inyectarse por vía parenteral, por ejemplo, por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea o intracoronaria. Para la administración parenteral, los inhibidores de Bcl-2/Bcl-xL se usan mejor en forma de una disolución acuosa estéril que puede contener otras sustancias, por ejemplo, sales o monosacáridos, tales como manitol o glucosa, para hacer que la disolución sea isotónica con la sangre.

20 Los inhibidores de Bcl-2/Bcl-xL anteriores presentaban propiedades que dificultaban su desarrollo como agentes terapéuticos. Los compuestos de la invención se sintetizaron y evaluaron como inhibidores para Bcl-2/Bcl-xL. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención tienen normalmente una afinidad de unión (IC_{50}) a Bcl-2/Bcl-xL de menos de 100 nM.

30 Síntesis de compuestos

Los compuestos de la presente invención se prepararon de la siguiente manera. Los siguientes esquemas de síntesis son representativos de las reacciones usadas para sintetizar compuestos tales como los compuestos dados a conocer a continuación con los siguientes números 12 (equivalente al compuesto 14), 15-17, 19 y 27 que forman parte de la invención.

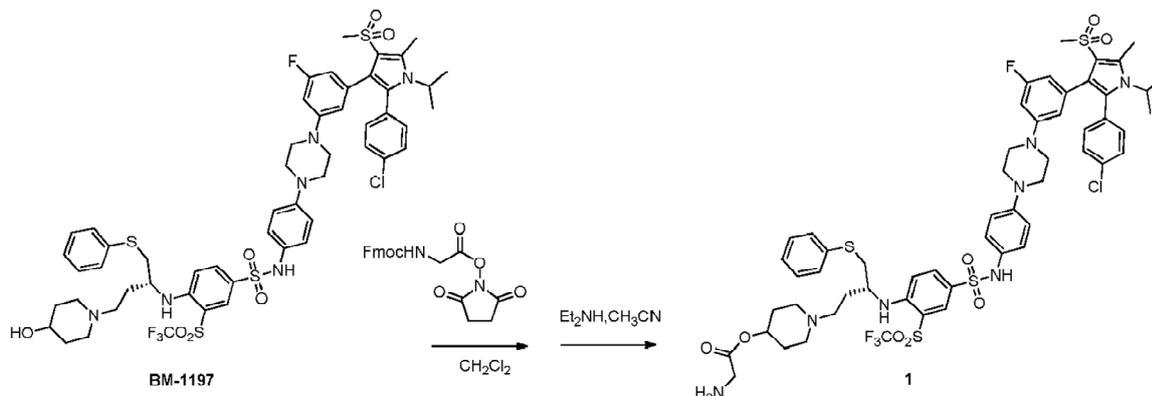
35 Modificaciones y esquemas alternativos para prepare inhibidores de Bcl-2/Bcl-xL se encuentran fácilmente dentro de las capacidades de los expertos en la técnica.

Los disolventes y reactivos se obtuvieron comercialmente y se usaron sin purificación adicional. Los desplazamientos químicos (δ) de los espectros de RMN se notificaron como valores de δ (ppm) de campo bajo con respecto a un patrón interno, notificándose las multiplicidades de la manera habitual.

40 A menos que se indique de otro modo, todas las temperaturas están en grados Celsius ($^{\circ}C$).

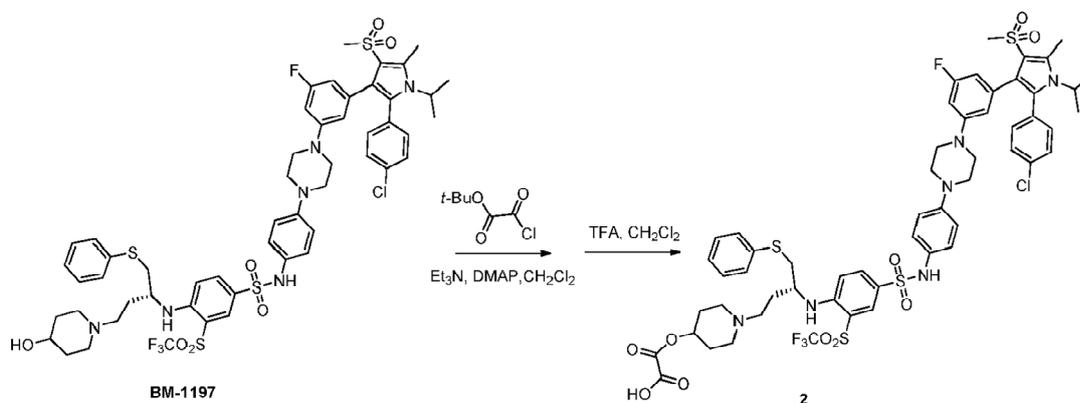
Pueden sintetizarse determinados productos intermedios clave para la síntesis de los compuestos mediante los métodos tal como se establece en el documento WO 2012/103059, seguido por su conversión en su derivado de fosfato de la siguiente manera:

Esquema 1. Síntesis del compuesto 1



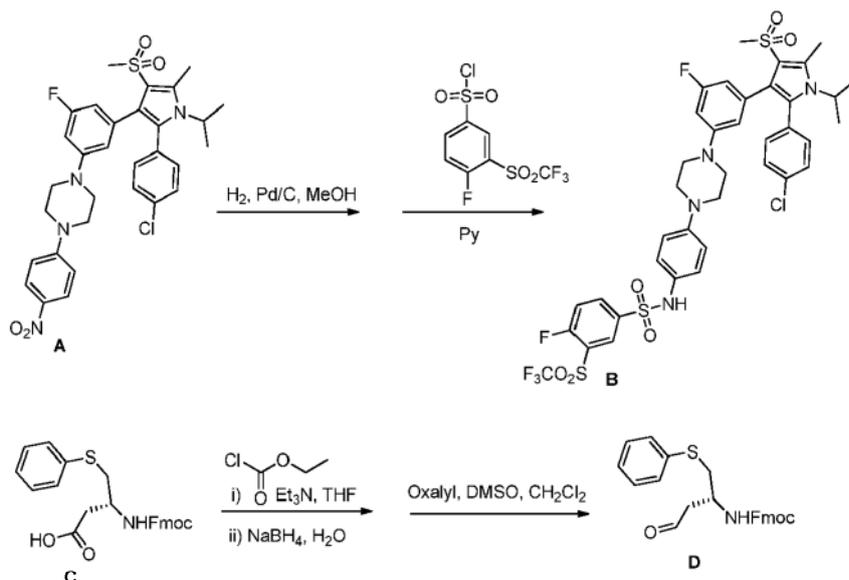
Sección experimental: 2-aminoacetato de (*R*)-1-(3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1H-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(feniltio)butil)piperidin-4-ilo (1). Se agitó una disolución de BM-1197 (113 mg, 0,10 mmol) y Fmoc-Gly-OSu (43 mg, 0,11 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml) a temperatura ambiente durante 1 hora hasta que no se observó BM-1197 mediante CCF. Se concentró la disolución a vacío para proporcionar el precursor en bruto de 1 que se usó en la siguiente etapa sin purificación. Se disolvió el residuo resultante en acetonitrilo (5 ml) y se siguió por la adición de dietilamina (0,2 ml, 2 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche hasta que no se observó material de partida mediante CCF y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante HPLC para dar el producto 1 (sal con TFA, 83 mg, rendimiento del 70% en dos etapas). El gradiente se desarrolló desde el 60% de disolvente A y el 40% de disolvente B hasta el 20% de disolvente A y el 80% de disolvente B en 40 min. EM (ESI) *m/z* 1189,08 (M + H)⁺.

Esquema 2. Síntesis de 2



Sección experimental: ácido (*R*)-2-(1-(3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1H-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(feniltio)butil)piperidin-4-iloxi)-2-oxoacético (2). A una disolución de BM-1197 (113 mg, 0,10 mmol), DMAP (2 mg, 0,02 mmol), Et₃N (42 ul, 0,3 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml) se le añadió 2-cloro-2-oxoacetato de terc-butilo (33 mg, 0,2 mmol). Se agitó la disolución a temperatura ambiente durante 1 hora hasta que no se observó BM-1197 mediante CCF y se concentró a vacío. Se sometió a cromatografía ultrarrápida el residuo en bruto sobre gel de sílice con el 5% de MeOH/CH₂Cl₂ para proporcionar el precursor de 2. Se disolvió el precursor en CH₂Cl₂ (3 ml) y se siguió por la adición de TFA (3 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora hasta que no se observó material de partida mediante CCF y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante HPLC para dar el producto 2 (sal con TFA, 66 mg, rendimiento del 55% en dos etapas). El gradiente se desarrolló desde el 60% de disolvente A y el 40% de disolvente B hasta el 20% de disolvente A y el 80% de disolvente B en 40 min. EM (ESI) *m/z* 1189,08 (M + H)⁺.

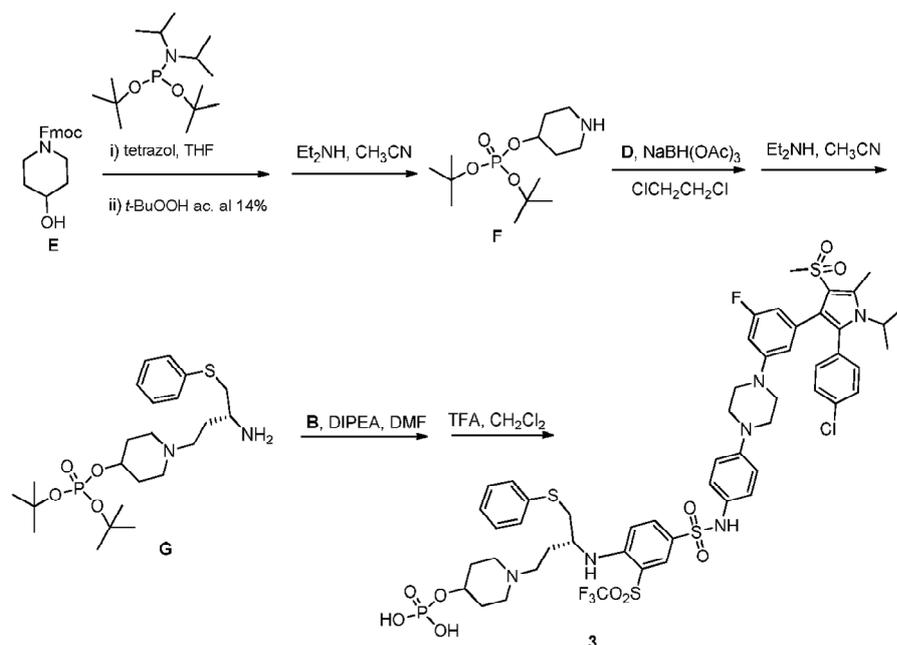
Esquema 3. Preparación de producto intermedio clave B y D



Sección experimental: N-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonyl)-1H-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)-4-fluoro-3-(trifluorometilsulfonyl)benzenosulfonamida (B). A una disolución de A (3,0 g, 4,9 mmol) en 150 ml de metanol se le añadió Pd al 10% en peso/C (300 mg, 0,1 eq. m/m). Se agitó la disolución bajo una atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante aproximadamente 20 min hasta que no se observó A mediante CCF. Se filtró la mezcla de reacción y se concentró el filtrado a vacío. Se usó el residuo en la siguiente etapa directamente sin purificación. A la disolución de esta anilina en piridina, se le añadió cloruro de 4-fluoro-3-(trifluorometilsulfonyl)benzeno-1-sulfonyl (1,8 g, 5,4 mmol) a 0°C. Se agitó la mezcla a 0°C hasta temperatura ambiente durante 1 hora hasta que no se observó anilina mediante CCF. Se añadió agua (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (200 ml * 2). Se lavó la disolución combinada de acetato de etilo con salmuera (150 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a vacío. Se sometió a cromatografía ultrarrápida el concentrado sobre gel de sílice con el 40% de EtOA/hexano para proporcionar el producto intermedio B (3,2 g, rendimiento del 75% en dos etapas). EM (ESI) m/z 931,75 (M + K)⁺.

Procedimiento general I. 4-Oxo-1-(feniltio)butan-2-ilcarbamato de (R)-(9H-fluoren-9-il)metilo (D). A una disolución de C (5,0 g, 11,5 mmol) en THF (100 ml) se le añadió trietilamina (4,8 ml, 34,5 mmol) y cloroformato de etilo (3,3 ml, 34,5 mmol) a -10°C bajo una atmósfera de argón. Se agitó la mezcla a -10°C durante 1 h y se añadió NaBH₄ (1,7 g, 46,1 mmol) en agua (60 ml) gota a gota a -10°C. Se agitó la mezcla a -10°C durante 1 h, luego a temperatura ambiente durante 2 h. Se extinguió la reacción con KHSO₄ acuoso 1 M (200 ml) y se extrajo la mezcla con EtOAc (3x200 ml). Se lavaron los extractos con salmuera (200 ml), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a vacío. Se sometió a cromatografía ultrarrápida el concentrado sobre gel de sílice con el 50% de EtOA/hexano para proporcionar el alcohol correspondiente (4,3 g, rendimiento del 90%). A una disolución de cloruro de oxalilo (2,6 ml, 31,1 mmol) en DCM (100 ml) a -78°C, se le añadió dimetilsulfóxido (3,7 ml, 51,8 mmol). Se calentó la disolución hasta -40°C durante 5 min y volvió a enfriarse hasta -78°C, y luego se añadió gota a gota una disolución del alcohol resultante de la etapa previa (4,3 g, 10,4 mmol) en DCM (50 ml). Se agitó la disolución durante 40 min adicionales y se siguió por un exceso de trietilamina (25 ml) y se agitó durante otros 30 min. Se calentó la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente seguido por la adición de disolución acuosa saturada de cloruro de amonio (100 ml) y se extrajo con DCM (2x200 ml). Se lavó la disolución combinada en DCM con salmuera (150 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a vacío. Se sometió a cromatografía ultrarrápida el residuo sobre gel de sílice con el 20% EtOA/hexano para proporcionar el producto intermedio D (3,7 g, rendimiento del 85%). EM (ESI) m/z 418,25 (M + H)⁺.

Esquema 4. Síntesis de 3

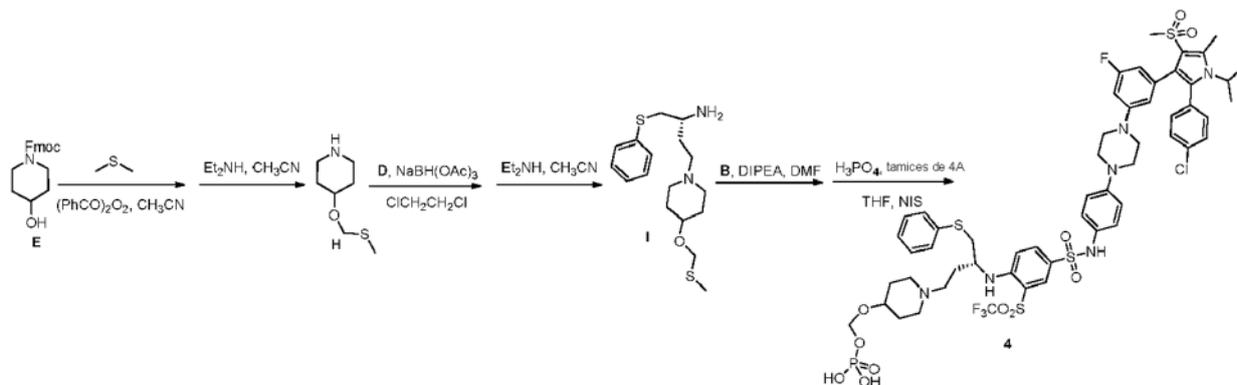


Sección experimental: fosfato de di-terc-butilo y piperidin-4-ilo (F). Se agitó la disolución de fosforamido de di-terc-butilo y di-isopropilo (832 mg, 3,0 mmol) y tetrazol (6,6 ml, 0,45 M en acetonitrilo) en THF (15 ml) bajo N₂ a temperatura ambiente durante aproximadamente 10 min. Luego se añadió el compuesto E (626 mg, 2,0 mmol) en THF seco (2 ml) a la reacción a lo largo de 15 minutos y se agitó a temperatura ambiente bajo N₂ durante 2 horas hasta que no se observó E mediante CCF. Luego se enfrió la mezcla de reacción hasta 0°C y se añadió una disolución acuosa al 14% de peróxido de *t*-butilo (3,0 ml, 4,6 mmol). Luego se dejó que la temperatura aumentara hasta temperatura ambiente y se agitó la mezcla durante la noche. Se extinguió la reacción con disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (2 ml). Se añadió agua (50 ml) en la mezcla de reacción, que luego se extrajo con acetato de etilo (2x50 ml). Se lavó la disolución combinada de acetato de etilo con salmuera (50 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a vacío para dar un producto en bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación. Se disolvió el residuo resultante en acetonitrilo (20 ml) y se siguió por la adición de dietilamina (4,1 ml, 40 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche hasta que no se observó material de partida mediante CCF y se concentró a vacío. Se sometió a cromatografía ultrarrápida el residuo sobre gel de sílice con el 5% de MeOH/DCM para proporcionar el producto intermedio F (452 mg, rendimiento del 77% en dos etapas). EM (ESI) *m/z* 295,17 (M + H)⁺.

Procedimiento general II. Fosfato de (*R*)-1-(3-amino-4-(feniltilio)butil)piperidin-4-ilo y di-terc-butilo (G). A una disolución de F (293 mg, 1,0 mmol) y producto intermedio D (500 mg, 1,2 mmol) en DCE (10 ml) se le añadió NaBH(OAc)₃ (636 mg, 3,0 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche hasta que no se observó F mediante CCF. Se diluyó la mezcla con DCM (50 ml), se lavó con salmuera (50 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. Se eliminó el disolvente a vacío para dar un producto en bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación. Se disolvió el residuo resultante en acetonitrilo (10 ml) y se siguió por la adición de dietilamina (2,1 ml, 20 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche hasta que no se observó material de partida mediante CCF y se concentró a vacío. Se sometió a cromatografía ultrarrápida el residuo sobre gel de sílice con el 10% de MeOH/DCM para proporcionar el producto intermedio G (307 mg, rendimiento del 65% en dos etapas). EM (ESI) *m/z* 474,00 (M + H)⁺.

Procedimiento general III. Dihidrogenofosfato de (*R*)-1-(3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1Hpirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamiloil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(feniltilio)butil)piperidin-4-ilo (3). A una disolución de B (100 mg, 0,11 mmol) y G (65 mg, 0,14 mmol) en DMF (2 ml) se le añadió DIPEA (1 ml). Se agitó la disolución durante 4 horas a temperatura ambiente hasta que no se observó B mediante CCF. Se concentró la mezcla de reacción a vacío para dar un producto en bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación. Se disolvió el residuo resultante en DCM (5 ml) y se siguió por la adición de TFA (2,5 ml). Se agitó la disolución a temperatura ambiente durante 1 h hasta que no se observó material mediante CCF. Se concentró la mezcla de reacción a vacío y se purificó el residuo mediante HPLC para dar el producto 3 puro (sal con TFA, 88 mg, rendimiento del 66% en dos etapas). El gradiente se desarrolló desde el 60% de disolvente A y el 40% de disolvente B hasta el 20% de disolvente A y el 80% de disolvente B en 40 min. ¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 7,96 (s, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 7,32-7,07 (m, 13H), 6,93-6,41 (m, 4H), 4,61-4,41 (m, 2H), 3,99 (s, 1H), 3,55-3,11 (m, 16H), 2,84 (s, 3H), 2,74 (s, 3H), 2,26-1,80 (m, 6H), 1,43 (d, *J* = 7,0 Hz, 6H). EM (ESI): *m/z* 1212,67 (M + H)⁺.

Esquema 5. Síntesis de 4

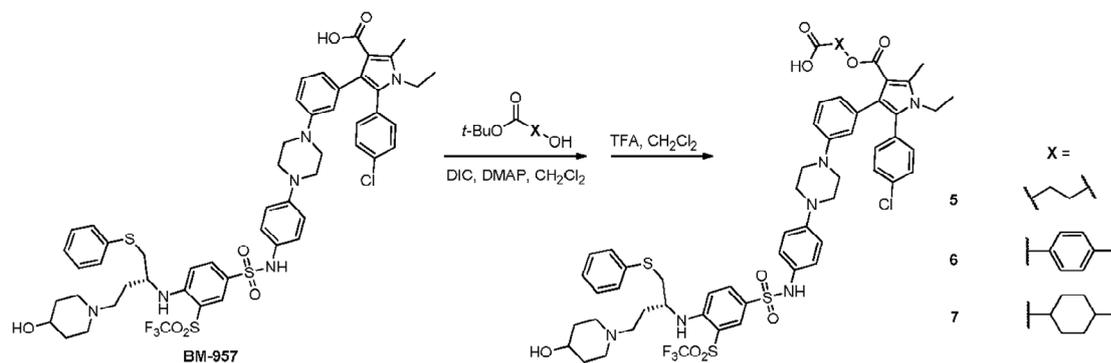


Sección experimental: 4-(metiltiometoxi)piperidina (H). A una disolución de alcohol E (1,0 g, 3,1 mmol) y sulfuro de metilo (1,8 ml, 24,8 mmol) en acetonitrilo (31 ml) a 0°C se le añadió peróxido de benzoilo (3,0 g, 12,4 mmol) en cuatro porciones iguales a lo largo de 10 min y se agitó la mezcla a 0°C durante 1 h y luego a temperatura ambiente durante 1 h hasta que no se observó E mediante CCF. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo (100 ml), se lavó con Na₂CO₃ al 10% (100 ml) y luego salmuera (100 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. Se eliminó el disolvente a vacío para dar un producto en bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación. Se disolvió el residuo resultante en acetonitrilo (10 ml) y se siguió por la adición de dietilamina (6,2 ml, 60 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche hasta que no se observó material de partida mediante CCF y se concentró a vacío. Se sometió a cromatografía ultrarrápida el residuo sobre gel de sílice con el 5% de MeOH/DCM para proporcionar el producto intermedio H (270 mg, rendimiento del 54% en dos etapas). EM (ESI) *m/z* 162,83 (M + H)⁺.

(*R*)-4-(4-(metiltiometoxi)piperidin-1-il)-1-(feniltio)butan-2-amina (I). Se preparó I a partir de H y D según el procedimiento general II. EM (ESI) *m/z* 341,58 (M + H)⁺.

Dihidrogenofosfato de (*R*)-1-(3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1H-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoi)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(feniltio)butil)piperidin-4-iloxi)metilo (4). A una disolución de B (200 mg, 0,23 mmol) e I (86 mg, 0,25 mmol) en DMF (4 ml) se le añadió DIPEA (2 ml). Se agitó la disolución durante 4 horas a temperatura ambiente hasta que no se observó B mediante CCF. Se concentró la mezcla de reacción a vacío. Se sometió a cromatografía ultrarrápida el residuo sobre gel de sílice con el 5% de MeOH/DCM para dar el tioéter correspondiente (241 mg, rendimiento del 88%). A una disolución del tioéter de la primera etapa (200 mg, 0,17 mmol), ácido fosfórico (117 mg, 1,2 mmol) y tamices moleculares (4 Å, 500 mg) en THF (6 ml) a 0°C se le añadió *N*-yodosuccinimida (57 mg, 0,26 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 h hasta que no se observó material de partida mediante CCF. Se filtró la mezcla de reacción a través de Celite y se lavaron los sólidos con metanol. Se concentró el filtrado a vacío y se purificó el residuo mediante HPLC para dar el producto 4 puro (sal con TFA, 93 mg, rendimiento del 44%). El gradiente se desarrolló desde el 60% de disolvente A y el 40% de disolvente B hasta el 20% de disolvente A y el 80% de disolvente B en 40 min. EM (ESI): *m/z* 1242,08 (M + H)⁺.

Esquema 6. Síntesis de los compuestos 5, 6, 7



Sección experimental: procedimiento general IV. Ácido (*R*)-3-((5-(4-clorofenil)-1-etil-4-(3-(4-(4-((4-(4-hidroxipiperidin-1-il)-1-(feniltio)butan-2-il)amino)-3-((trifluorometil)sulfonil)fenilsulfonamido)fenil)piperazin-1-il)fenil)-2-metil-1H-pirrol-3-carbonil)oxi)propanoico (5). A una disolución de 957 (100 mg, 0,09 mmol), DIC (18 mg, 0,14 mmol) y DMAP (20 mg, 0,14 mmol) en DCM (2 ml) se le añadió 3-hidroxipropanoato de terc-butilo (41 mg, 0,28 mmol). Se agitó la disolución durante 6 horas a temperatura ambiente hasta que no se observó BM-957 mediante CCF. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (50 ml), se lavó con disolución saturada de NaHCO₃ (50 ml),

salmuera (50 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. Se eliminó el disolvente a vacío para dar un producto en bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación. Se disolvió el residuo resultante en DCM (5 ml) y se siguió por la adición de TFA (2,5 ml). Se agitó la disolución a temperatura ambiente durante 3 h hasta que no se observó material de partida mediante CCF. Se concentró la mezcla de reacción a vacío y se purificó el residuo mediante HPLC para dar el producto 5 puro (sal con TFA, 75 mg, rendimiento del 70% en dos etapas). El gradiente se desarrolló desde el 60% de disolvente A y el 40% de disolvente B hasta el 20% de disolvente A y el 80% de disolvente B en 40 min. EM (ESI): m/z 1238,17 (M + H)⁺.

5

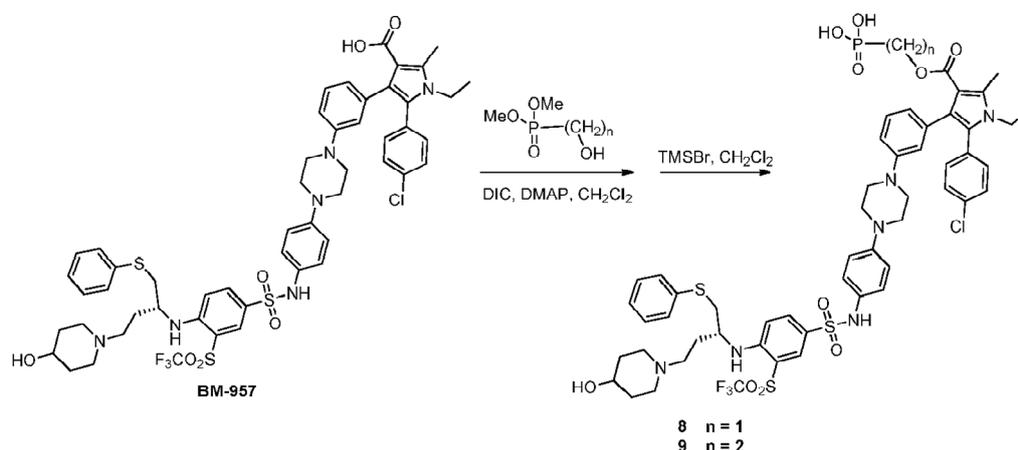
10

Ácido (R)-4-((5-(4-clorofenil)-1-etil-4-(3-(4-(4-(4-((4-(4-hidroxipiperidin-1-il)-1-(feniltio)butan-2-il)amino)-3-((trifluorometil)sulfonyl)fenilsulfonamido)fenil)piperazin-1-il)fenil)-2-metil-1H-pirrol-3-carbonil)oxi)benzoico (6). Se preparó 6 a partir de BM-957 y 4-hidroxibenzoato de terc-butilo según el procedimiento general IV. EM (ESI): m/z 1186,00 (M + H)⁺.

15

Ácido (R)-4-((5-(4-clorofenil)-1-etil-4-(3-(4-(4-(4-((4-(4-hidroxipiperidin-1-il)-1-(feniltio)butan-2-il)amino)-3-((trifluorometil)sulfonyl)fenilsulfonamido)fenil)piperazin-1-il)fenil)-2-metil-1H-pirrol-3-carbonil)oxi)ciclohexanocarboxílico (7). Se preparó 7 a partir de BM-957 y 4-hidroxiciclohexanocarboxilato de terc-butilo según el procedimiento general IV. EM (ESI): m/z 1192,25 (M + H)⁺.

Esquema 7. Síntesis de 8, 9



Sección experimental:

20

25

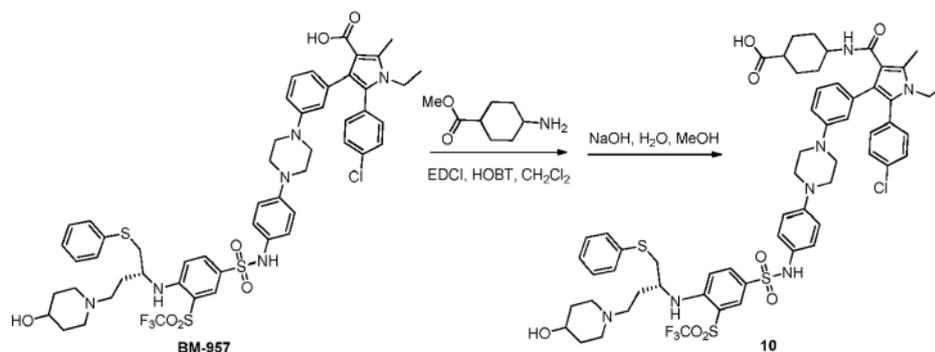
30

Procedimiento general V. Ácido (R)-(((5-(4-clorofenil)-1-etil-4-(3-(4-(4-(4-((4-(4-hidroxipiperidin-1-il)-1-(feniltio)butan-2-il)amino)-3-((trifluorometil)sulfonyl)fenilsulfonamido)fenil)piperazin-1-il)fenil)-2-metil-1H-pirrol-3-carbonil)oxi)metil)fosfónico (8). A una disolución de BM-957 (100 mg, 0,09 mmol), DIC (18 mg, 0,14 mmol) y DMAP (20 mg, 0,14 mmol) en DCM (2 ml) se le añadió (hidroximetil)fosfonato de dimetilo (40 mg, 0,28 mmol). Se agitó la disolución durante 6 horas a temperatura ambiente hasta que no se observó BM-957 mediante CCF. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (50 ml), se lavó con disolución saturada de NaHCO₃ (50 ml), salmuera (50 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. Se eliminó el disolvente a vacío para dar un producto en bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación. Se disolvió el residuo resultante en DCM (5 ml) y se siguió por la adición de TMSBr (248 μ l, 1,9 mmol). Se agitó la disolución a temperatura ambiente durante 20 h hasta que no se observó material de partida mediante EM. Se concentró la mezcla de reacción a vacío y se purificó el residuo mediante HPLC para dar el producto 8 puro (sal con TFA, 74 mg, rendimiento del 68% en dos etapas). El gradiente se desarrolló desde el 60% de disolvente A y el 40% de disolvente B hasta el 20% de disolvente A y el 80% de disolvente B en 40 min. ¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 7,92 (s, 1H), 7,73-7,70 (m, 2H), 7,34-6,82 (m, 17H), 4,28 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 4,06-3,35 (m, 14H), 3,20-2,92 (m, 5H), 2,65 (s, 3H), 2,24-1,67 (m, 6H), 1,10 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H). EM (ESI): m/z 1259,50 (M + H)⁺.

35

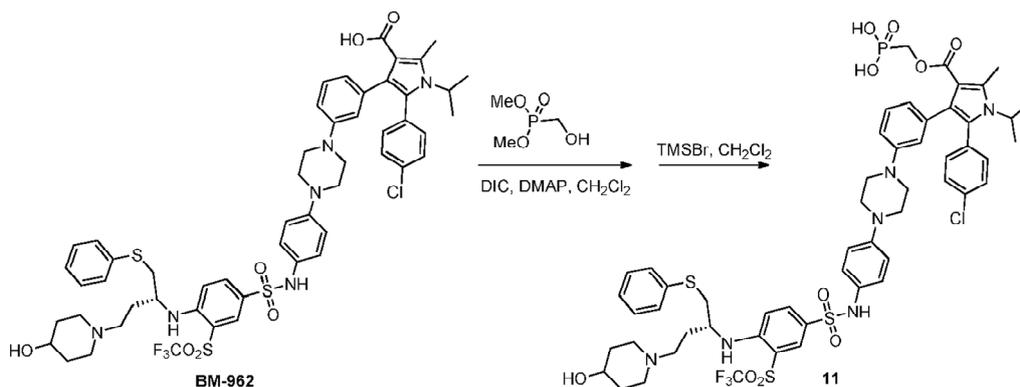
Ácido (R)-2-((5-(4-clorofenil)-1-etil-4-(3-(4-(4-(4-((4-(4-hidroxipiperidin-1-il)-1-(feniltio)butan-2-il)amino)-3-((trifluorometil)sulfonyl)fenilsulfonamido)fenil)piperazin-1-il)fenil)-2-metil-1H-pirrol-3-carbonil)oxi)etil)fosfónico (9). Se preparó 9 a partir de BM-957 y (2-hidroxietil)fosfonato de dimetilo según el procedimiento general V. EM (ESI): m/z 1173,42 (M + H)⁺.

Esquema 8. Síntesis de 10



Ácido ((R)-4-(5-(4-clorofenil)-1-etil-4-(3-(4-(4-(4-(4-hidroxipiperidin-1-il)-1-(feniltio)butan-2-ilamino)-3-carboxamido)ciclohexanocarboxílico (10). A una disolución de BM-957 (100 mg, 0,09 mmol), EDCI (27 mg, 0,14 mmol) y HOBT (19 mg, 0,14 mmol) en DCM (2 ml) se le añadió 4-aminociclohexanocarboxilato de metilo (44 mg, 0,28 mmol). Se agitó la disolución durante 2 horas a temperatura ambiente hasta que no se observó BM-957 mediante CCF. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (50 ml), se lavó con disolución saturada de NaHCO₃ (50 ml), salmuera (50 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. Se eliminó el disolvente a vacío para dar un producto en bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación. Se disolvió el residuo resultante en H₂O y MeOH (5 ml y 5 ml, respectivamente) y se siguió por la adición de NaOH (76 mg, 1,9 mmol). Se agitó la disolución a temperatura ambiente durante 20 h hasta que no se observó material de partida mediante CCF. Se concentró la mezcla de reacción a vacío y se purificó el residuo mediante HPLC para dar el producto 10 puro (sal con TFA, 61 mg, rendimiento del 55% en dos etapas). El gradiente se desarrolló desde el 60% de disolvente A y el 40% de disolvente B hasta el 20% de disolvente A y el 80% de disolvente B en 40 min. EM (ESI): *m/z* 1191,17 (M + H)⁺.

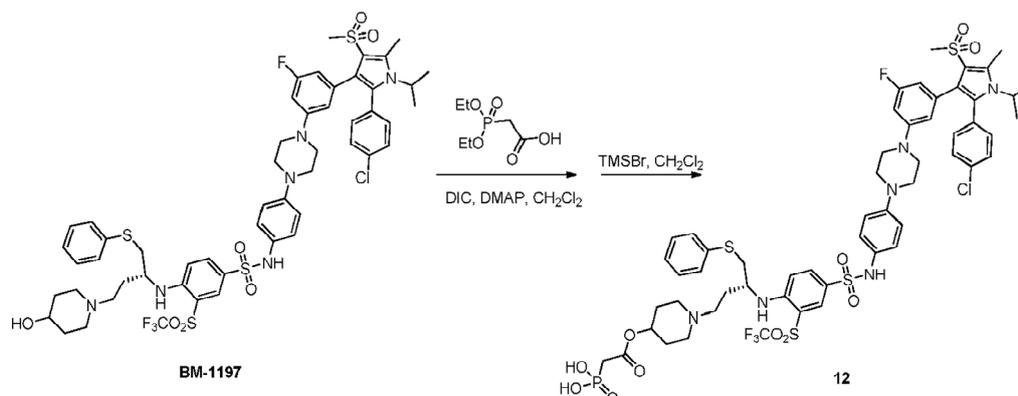
Esquema 9. Síntesis de 11



Sección experimental:

Ácido ((R)-(((5-(4-clorofenil)-4-(3-(4-(4-(4-(4-hidroxipiperidin-1-il)-1-(feniltio)butan-2-il)amino)-3-((trifluorometil)sulfonyl)fenilsulfonamido)fenil)piperazin-1-il)fenil)-1-isopropil-2-metil-1H-pirrol-3-carbonil)oxi)metil)fosfónico (11). Se preparó 11 a partir de BM-962 e (hidroximetil)fosfonato de dimetilo según el procedimiento general V. ¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 8,00 (s, 1H), 7,80-7,71 (m, 2H), 7,38-6,83 (m, 17H), 4,50-4,41 (m, 1H), 4,29 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 4,11-3,59 (m, 12H), 3,25-3,01 (m, 6H), 2,77 (s, 3H), 2,28-1,70 (m, 6H), 1,47 (d, *J* = 7,1 Hz, 6H). EM (ESI): *m/z* 1174,25 (M + H)⁺.

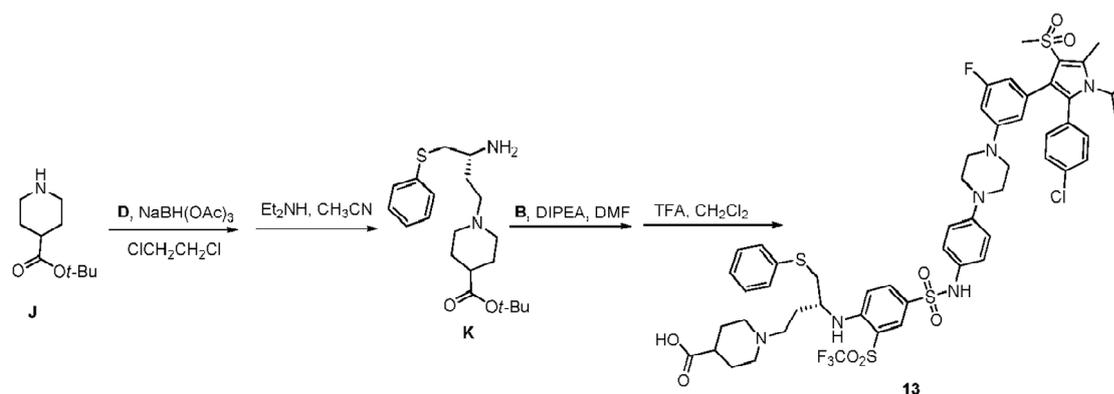
Esquema 9. Síntesis de 12



Sección experimental:

- 5 Ácido (*R*)-2-((1-(3-((4-(*N*-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1H-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoil)-2-((trifluorometil)sulfonil)fenil)amino)-4-(feniltio)butil)piperidin-4-il)oxi)-2-oxoetil)fosfónico (12). Se preparó 12 a partir de BM-1197 y ácido 2-(dietoxifosforil)acético según el procedimiento general V. ¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 7,99 (s, 1H), 7,75 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,36-7,13 (m, 12H), 6,92-6,43 (m, 5H), 5,10 (s, 1H), 4,51-4,44 (m, 1H), 4,10 (s, 1H), 3,56-2,93 (m, 18H), 2,87 (s, 3H), 2,76 (s, 3H), 2,29-1,90 (m, 6H), 1,46 (d, *J* = 7,3 Hz, 6H). EM (ESI): *m/z* 1253,36 (M + H)⁺.

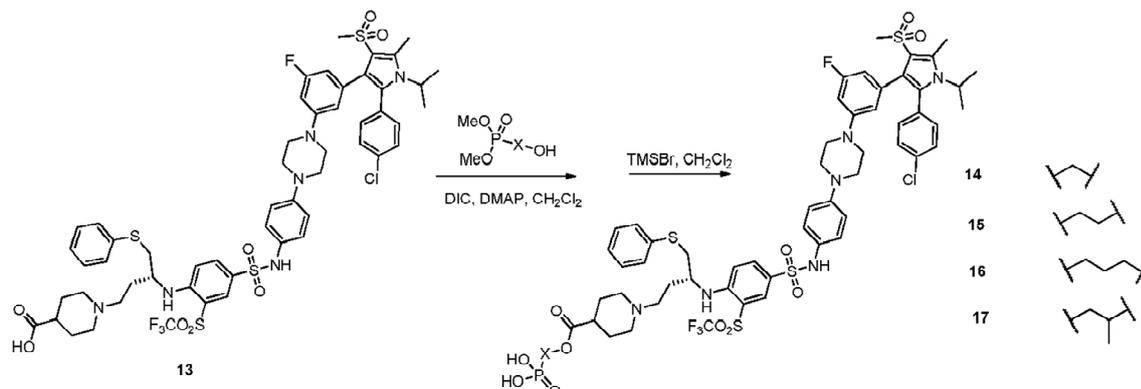
10 Esquema 10. Síntesis de 13



Sección experimental:

- (*R*)-1-(3-(4-(*N*-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1H-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoil)-2-((trifluorometil)sulfonil)fenil)amino)-4-(feniltio)butil)piperidin-4-carboxilato de terc-butilo (K). Se preparó K a partir de piperidin-4-carboxilato de terc-butilo y D según el procedimiento general II. EM (ESI): *m/z* 365,50 (M + H)⁺.
- 15 Ácido (*R*)-1-(3-(4-(*N*-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1H-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoil)-2-((trifluorometil)sulfonil)fenil)amino)-4-(feniltio)butil)piperidin-4-carboxílico (13). Se preparó 13 a partir de K y B según el procedimiento general III. EM (ESI): *m/z* 365,50 (M + H)⁺.

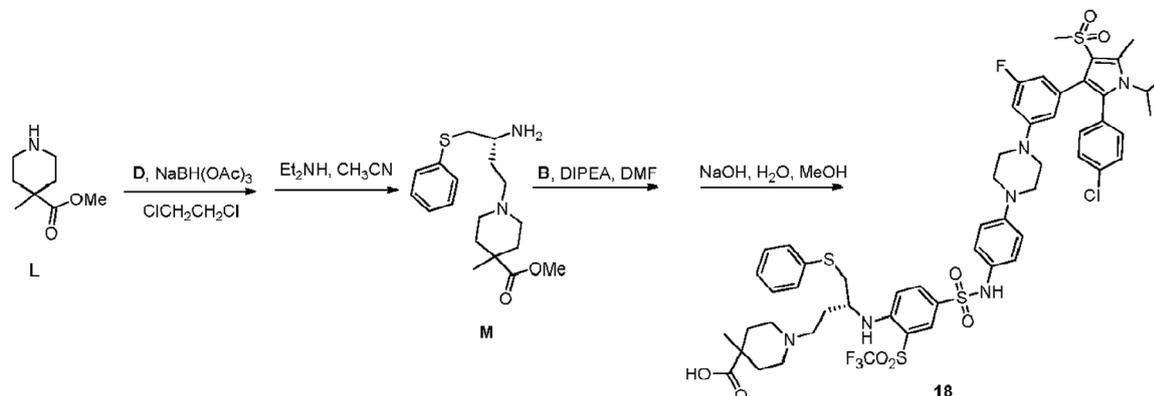
Esquema 11. Síntesis de 14, 15, 16, 17



Sección experimental:

- 5 **Ácido** (*R*)-1-(3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1H-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(feniltio)butil)piperidin-4-carboniloxi)metilfosfónico (14). Se preparó 14 a partir de 13 y (2-hidroximetil)fosfonato de dimetilo según el procedimiento general V. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CD_3OD): δ 7,94 (s, 1H), 7,72 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 7,30-7,09 (m, 13H), 6,91-6,42 (m, 4H), 4,49-4,40 (m, 1H), 3,99 (s, 1H), 3,55-2,90 (m, 16H), 2,84 (s, 3H), 2,72 (s, 3H), 2,63-2,55 (m, 1H), 2,23-1,81 (m, 6H), 1,41 (d, $J = 4,3$ Hz, 6H). EM (ESI): m/z 1160,34 ($M + H$) $^+$.
- 10 **Ácido** (*R*)-2-(1-(3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1H-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(feniltio)butil)piperidin-4-carboniloxi)etilfosfónico (15). Se preparó 15 a partir de 13 y (2-hidroxietil)fosfonato de dimetilo según el procedimiento general V. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CD_3OD): δ 7,93 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H), 7,72 (dd, $J = 9,2, 1,8$ Hz, 1H), 7,30-7,12 (m, 12H), 6,83-6,42 (m, 5H), 4,46-4,33 (m, 3H), 3,96 (s, 1H), 3,54-2,93 (m, 16H), 2,82 (s, 3H), 2,72 (s, 3H), 2,71-2,55 (m, 1H), 2,24-1,65 (m, 8H), 1,41 (d, $J = 7,1$ Hz, 6H). EM (ESI): m/z 1268,58 ($M + H$) $^+$.
- 15 **Ácido** (*R*)-3-(1-(3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1H-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(feniltio)butil)piperidin-4-carboniloxi)propilfosfónico (16). Se preparó 16 a partir de 13 y 3-hidroxipropilfosfonato de dimetilo según el procedimiento general V. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CD_3OD): δ 7,95 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,73 (dd, $J = 9,2, 2,1$ Hz, 1H), 7,33-7,12 (m, 12H), 6,92-6,43 (m, 5H), 4,51-4,41 (m, 1H), 4,18-3,98 (m, 3H), 3,56-2,92 (m, 16H), 2,85 (s, 3H), 2,73 (s, 3H), 2,67-2,50 (m, 1H), 2,25-1,70 (m, 10H), 1,43 (d, $J = 7,1$ Hz, 6H). EM (ESI): m/z 1282,34 ($M + H$) $^+$.
- 20 **Ácido** 2-(1-((*R*)-3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1H-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(feniltio)butil)piperidin-4-carboniloxi)propilfosfónico (17). Se preparó 17 a partir de 13 y 2-hidroxipropilfosfonato de dimetilo según el procedimiento general V. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CD_3OD): δ 7,97 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 7,73 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 7,36-7,08 (m, 13H), 6,85-6,43 (m, 4H), 5,26 (s, 1H), 4,54-4,44 (m, 1H), 4,01 (s, 1H), 3,58-2,92 (m, 16H), 2,87 (s, 3H), 2,76 (s, 3H), 2,70-2,55 (m, 1H), 2,26-1,85 (m, 8H), 1,46 (d, $J = 7,1$ Hz, 6H), 1,38 (d, $J = 5,9$ Hz, 3H). EM (ESI): m/z 1281,34 ($M + H$) $^+$.

Esquema 12. Síntesis de 18



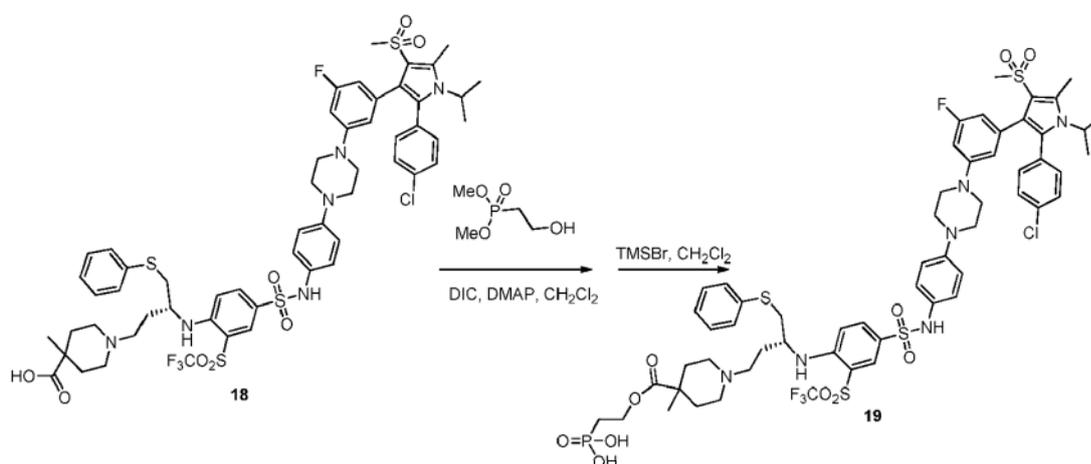
30

Sección experimental:

(*R*)-1-(3-amino-4-(feniltio)butil)-4-metilpiperidin-4-carboxilato de metilo (M). Se preparó M a partir de 4-metilpiperidin-4-carboxilato de metilo y D según el procedimiento general II. EM (ESI): m/z 337,55 (M + H)⁺.

5 Ácido (*R*)-1-(3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1H-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(feniltio)butil)-4-metilpiperidin-4-carboxílico (18). A una
 10 disolución de B (100 mg, 0,11 mmol) y M (47 mg, 0,14 mmol) en DMF (2 ml) se le añadió DIPEA (1 ml). Se agitó la disolución durante 4 horas a temperatura ambiente hasta que no se observó B mediante CCF. Se concentró la mezcla de reacción a vacío para dar un producto en bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación. Se disolvió el residuo resultante en H₂O y MeOH (5 ml y 5 ml, respectivamente) y se siguió por la adición de NaOH (88 mg, 2,2 mmol). Se agitó la disolución a temperatura ambiente durante 20 h hasta que no se observó material de
 15 partida mediante CCF. Se concentró la mezcla de reacción a vacío y se purificó el residuo mediante HPLC para dar el producto 18 puro (sal con TFA, 75 mg, rendimiento del 58% en dos etapas). El gradiente se desarrolló desde el 60% de disolvente A y el 40% de disolvente B hasta el 20% de disolvente A y el 80% de disolvente B en 40 min. ¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 7,99 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 7,76 (dd, J = 9,1, 1,9 Hz, 1H), 7,37-6,84 (m, 14H), 6,68-6,45 (m, 3H), 4,55-4,45 (m, 1H), 4,02 (s, 1H), 3,58-2,92 (m, 17H), 2,88 (s, 3H), 2,77 (s, 3H), 2,41-1,86 (m, 5H), 1,47 (d, J = 7,1 Hz, 6H), 1,31 (s, 3H). EM (ESI): m/z 1173,73 (M + H)⁺.

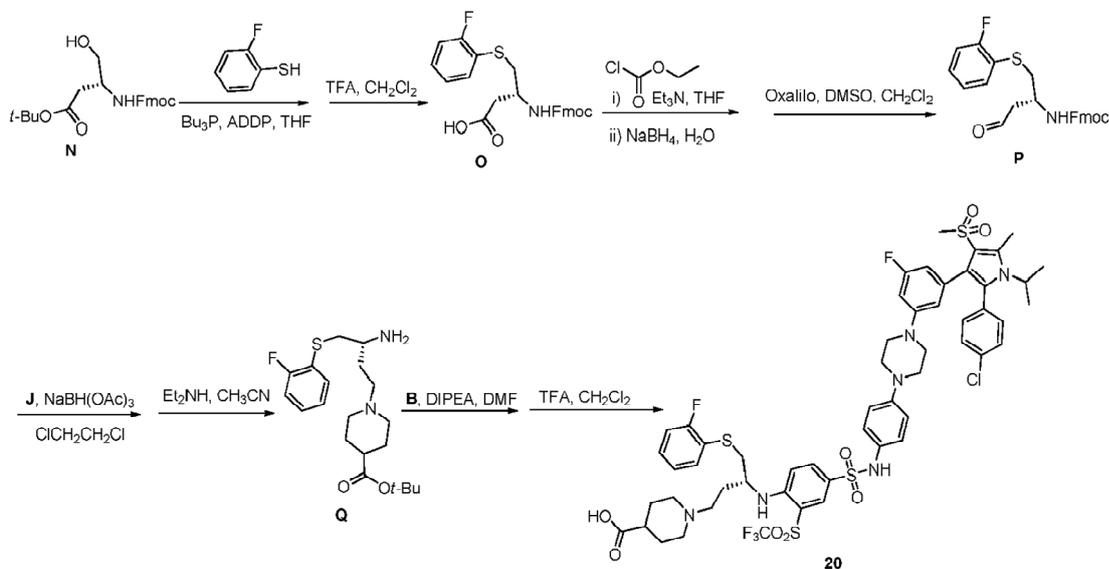
Esquema 13. Síntesis de 19



Sección experimental:

20 Ácido (*R*)-2-(1-(3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1H-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(feniltio)butil)-4-metilpiperidin-4-carboniloxi)etilfosfónico (19). Se preparó 19 a partir de 18 y (2-hidroxietil)fosfonato de dimetilo según el procedimiento general V. ¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 7,98 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 7,73 (dd, J = 9,2, 2,0 Hz, 1H), 7,35-6,83 (m, 14H), 6,65-6,44 (m, 3H), 4,52-4,38 (m, 3H), 4,01 (s, 1H), 3,44-2,92 (m, 17H), 2,87 (s, 3H), 2,77 (s, 3H), 2,45-2,11 (m, 5H), 1,71 (t, J = 14,4 Hz, 2H), 1,46 (d, J = 7,1 Hz, 6H), 1,30 (s, 3H). EM (ESI): m/z 1281,92 (M + H)⁺.

Esquema 14. Síntesis del compuesto 20



Sección experimental:

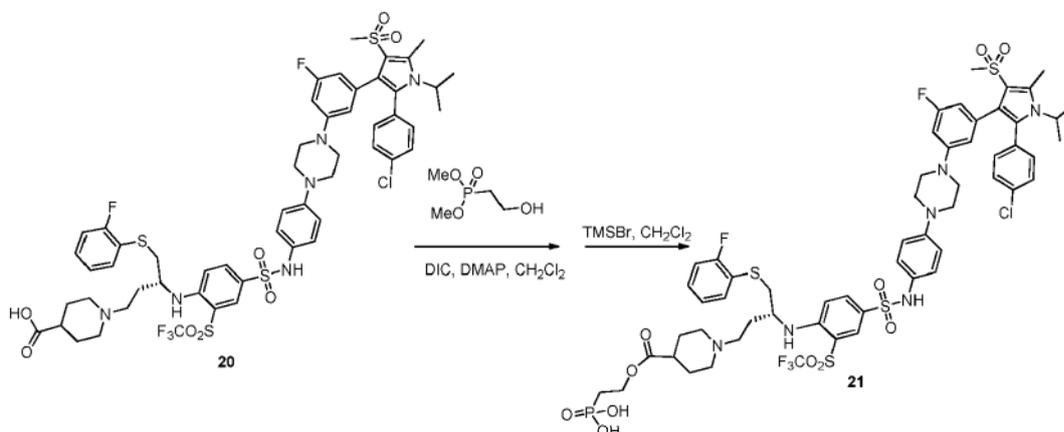
5 **Ácido (R)-3-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-4-(2-fluorofeniltio)butanoico (O)**. Se trató una disolución de Bu_3P (0,8 ml, 3,3 mmol) y ADDP (833 mg, 3,3 mmol) en THF (30 ml) con **N** (1,2 g, 3,0 mmol) y tiofenol (320 μl , 3,0 mmol), se agitó durante 4 h hasta que no se observó **N** mediante CCF. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo (100 ml), se lavó con HCl acuoso 1 M (100 ml), salmuera (100 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. Se eliminó el disolvente a vacío para dar un producto en bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación. Se disolvió el residuo resultante en DCM (10 ml) y se siguió por la adición de TFA (5 ml). Se agitó la disolución a temperatura ambiente durante 1 h hasta que no se observó material de partida mediante CCF. Se concentró la mezcla de reacción a vacío y se sometió a cromatografía ultrarrápida el residuo sobre gel de sílice con el 5% de MeOH/DCM para proporcionar el producto intermedio **O** (840 mg, rendimiento del 62% en dos etapas). EM (ESI) m/z 452,86 ($\text{M} + \text{H}^+$).

(R)-1-(2-fluorofeniltio)-4-oxobutan-2-ilcarbamato de (9H-fluoren-9-il)metilo (P). Se preparó **P** a partir de **O** según el procedimiento general I. EM (ESI) m/z 437,00 ($\text{M} + \text{H}^+$).

15 **(R)-1-(3-amino-4-(2-fluorofeniltio)butil)piperidin-4-carboxilato de terc-butilo (Q)**. Se preparó **Q** a partir de **P** y **J** según el procedimiento general II. EM (ESI) m/z 383,38 ($\text{M} + \text{H}^+$).

20 **Ácido (R)-1-(3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1H-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoyl)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(2-fluorofeniltio)butil)piperidin-4-carboxílico (20)**. Se preparó **20** a partir de **Q** y **B** según el procedimiento general III. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CD_3OD): δ 7,97 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H), 7,76 (dd, $J = 9,2, 2,0$ Hz, 1H), 7,39-6,87 (m, 13H), 6,65-6,43 (m, 3H), 4,54-4,45 (m, 1H), 4,01 (s, 1H), 3,67-2,93 (m, 17H), 2,87 (s, 3H), 2,77 (s, 3H), 2,29-1,86 (m, 6H), 1,46 (d, $J = 7,1$ Hz, 6H). EM (ESI): m/z 1177,92 ($\text{M} + \text{H}^+$).

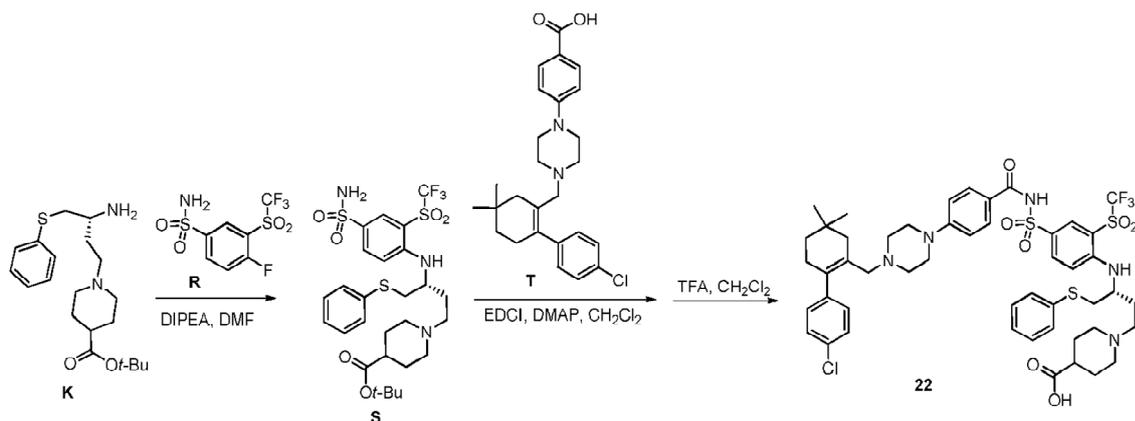
Esquema 15. Síntesis de 21



Sección experimental:

Ácido (R)-2-(1-(3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1H-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(2-fluorofenil)butil)piperidin-4-carboniloxi)etilfosfónico (21). Se preparó 21 a partir de 20 y (2-hidroxi)etil)fosfonato de dimetilo según el procedimiento general V. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CD_3OD): δ 7,95 (d, $J = 1,7$ Hz, 1H), 7,77 (dd, $J = 9,0, 2,0$ Hz, 1H), 7,36-6,86 (m, 13H), 6,66-6,44 (m, 3H), 4,51-4,33 (m, 3H), 4,01 (s, 1H), 3,58-2,93 (m, 16H), 2,85 (s, 3H), 2,74 (s, 3H), 2,70-2,58 (m, 1H), 2,27-1,84 (m, 8H), 1,43 (d, $J = 7,1$ Hz, 6H). EM (ESI): m/z 1286,58 (M + H) $^+$.

Esquema 16. Síntesis de 22

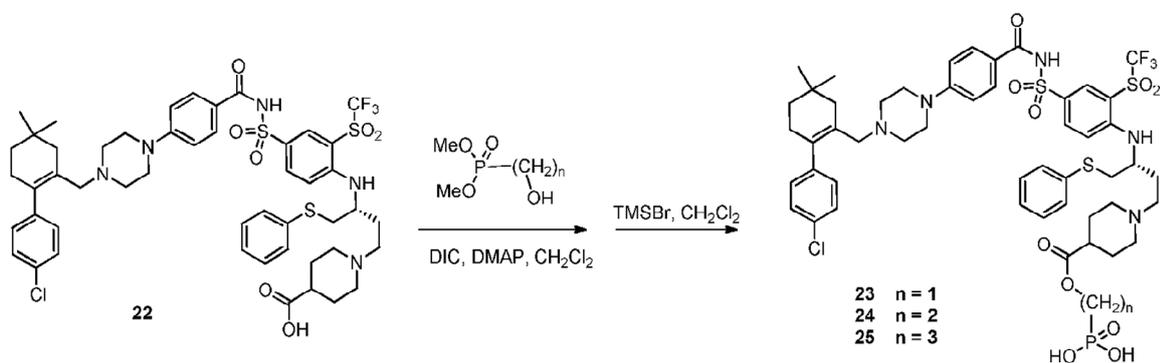


Sección experimental:

- 10 (R)-1-(4-(fenil)tió)-3-(4-sulfamoil-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)butil)piperidin-4-carboxilato de terc-butilo (S). A una disolución de K (1,1 g, 3,0 mmol) y R (922 mg, 3,0 mmol) en DMF (15 ml) se le añadió DIPEA (3 ml). Se agitó la disolución durante 4 horas a temperatura ambiente hasta que no se observó K mediante CCF. Se concentró la mezcla de reacción a vacío y se sometió a cromatografía ultrarrápida el residuo sobre gel de sílice con el 5% de MeOH/DCM para proporcionar el producto intermedio S (1,7 g, rendimiento del 88% en dos etapas). EM (ESI) m/z 653,21 (M + H) $^+$.

- Ácido (R)-1-(3-(4-(N-(4-(4-((2-(4-clorofenil)-5,5-dimetilciclohex-1-enil)metil)piperazin-1-il)benzoi)l)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(fenil)tió)butil)piperidin-4-carboxílico (22). A una disolución de T (438 mg, 1,0 mmol), EDCI (386 mg, 2,0 mmol) y DMAP (121 mg, 1,0 mmol) en DCM (10 ml) se le añadió S (718 mg, 1,1 mmol). Se agitó la disolución durante 2 horas a temperatura ambiente hasta que no se observó T mediante CCF. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (50 ml), se lavó con disolución saturada de NaHCO_3 (50 ml), salmuera (50 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. Se eliminó el disolvente a vacío para dar un producto en bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación. Se disolvió el residuo resultante en DCM (10 ml) y se siguió por la adición de TFA (5 ml). Se agitó la disolución a temperatura ambiente durante 1 h hasta que no se observó material de partida mediante CCF. Se concentró la mezcla de reacción a vacío y se purificó el residuo mediante HPLC para dar el producto 22 puro (sal con TFA, 742 mg, rendimiento del 73% en dos etapas). El gradiente se desarrolló desde el 60% de disolvente A y el 40% de disolvente B hasta el 20% de disolvente A y el 80% de disolvente B en 40 min. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CD_3OD): δ 8,30 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 8,02 (dd, $J = 9,2, 2,5$ Hz, 1H), 7,70 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 7,40-6,88 (m, 12H), 4,04 (s, 1H), 3,67-2,82 (m, 19H), 2,58 (t, $J = 14,4$ Hz, 1H), 2,37-1,81 (m, 10H), 1,53 (t, $J = 6,2$ Hz, 2H), 1,03 (s, 6H). EM (ESI): m/z 1017,50 (M + H) $^+$.

- 30 Esquema 17. Síntesis de 23, 24, 25

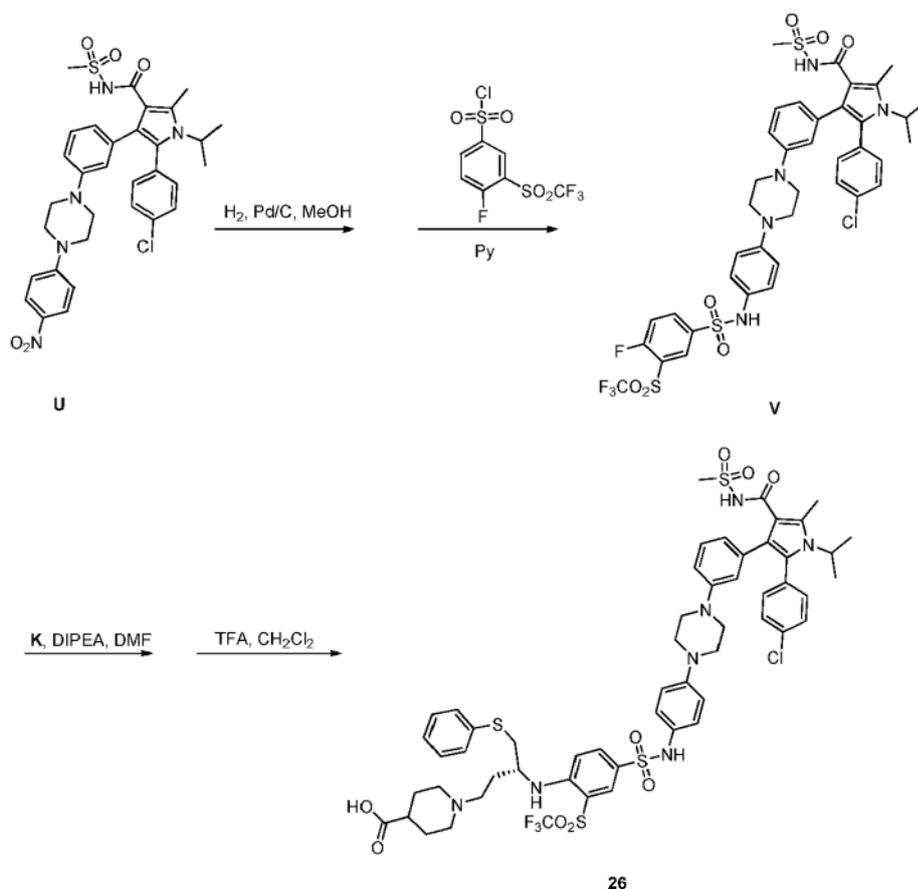


Sección experimental:

Ácido (R)-1-(3-(4-(N-(4-(4-((2-(4-clorofenil)-5,5-dimetilciclohex-1-enil)metil)piperazin-1-il)benzoil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonyl)fenilamino)-4-(feniltio)butil)piperidin-4-carboniloxi)metilfosfónico (23). Se preparó 23 a partir de 22 y (2-hidroxi)etil)fosfonato de dimetilo según el procedimiento general V. ¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 8,35 (s, 1H), 8,09 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 7,79 (d, J = 7,7 Hz, 2H), 7,44-6,82 (m, 12H), 4,30-4,10 (m, 3H), 3,74-2,73 (m, 19H), 2,43-1,44 (m, 12H), 1,10 (s, 6H). EM (ESI): m/z 1110,58 (M + H)⁺.

Ácido (R)-2-(1-(3-(4-(N-(4-(4-((2-(4-clorofenil)-5,5-dimetilciclohex-1-enil)metil)piperazin-1-il)benzoil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonyl)fenilamino)-4-(feniltio)butil)piperidin-4-carboniloxi)etil)fosfónico (24). Se preparó 24 a partir de 22 y (2-hidroxietil)fosfonato de dimetilo según el procedimiento general V. ¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 8,29 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 8,02 (dd, J = 9,2, 2,0 Hz, 1H), 7,71 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,37-6,84 (m, 12H), 4,34-4,30 (m, 2H), 4,03 (s, 1H), 3,66-2,88 (m, 18H), 2,62 (t, J = 14,4 Hz, 1H), 2,36-1,82 (m, 12H), 1,53 (t, J = 6,1 Hz, 2H), 1,03 (s, 6H). EM (ESI): m/z 1025,64 (M + H)⁺.

Ácido (R)-3-(1-(3-(4-(N-(4-(4-((2-(4-clorofenil)-5,5-dimetilciclohex-1-enil)metil)piperazin-1-il)benzoil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonyl)fenilamino)-4-(feniltio)butil)piperidin-4-carboniloxi)propil)fosfónico (25). Se preparó 25 a partir de 22 y 3-hidroxipropil)fosfonato de dimetilo según el procedimiento general V. ¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 7,95 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,73 (dd, J = 9,2, 2,1 Hz, 1H), 7,33-7,12 (m, 12H), 6,92-6,43 (m, 5H), 4,51-4,41 (m, 1H), 4,18-3,98 (m, 3H), 3,56-2,92 (m, 16H), 2,85 (s, 3H), 2,73 (s, 3H), 2,67-2,50 (m, 1H), 2,25-1,70 (m, 10H), 1,43 (d, J = 7,1 Hz, 6H). EM (ESI): m/z 1282,34 (M + H)⁺.



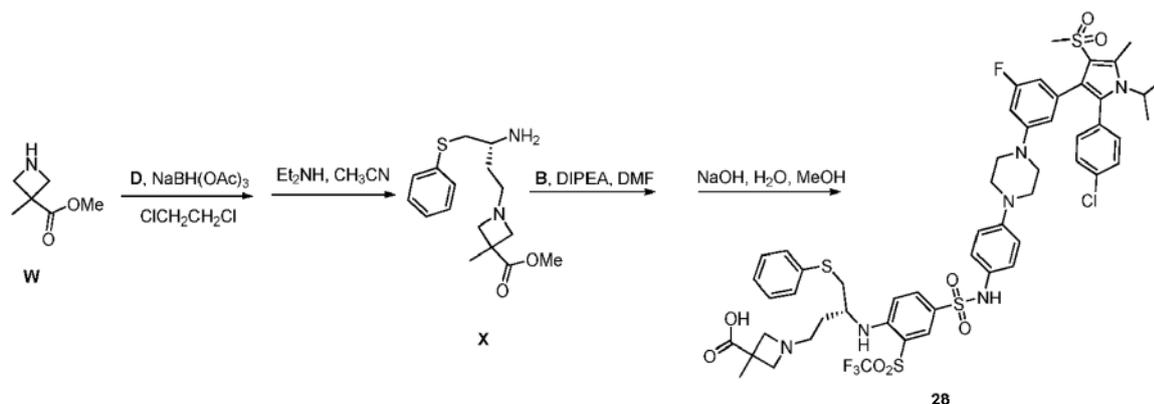
5-(4-Clorofenil)-4-(3-(4-(4-(4-fluoro-3-(trifluorometilsulfonyl)fenil)sulfonamido)fenil)piperazin-1-il)fenil)-1-isopropil-2-metil-N-(metilsulfonyl)-1H-pirrol-3-carboxamida (V). Se preparó V a partir de U según el procedimiento descrito para la preparación del compuesto B.

Ácido (R)-1-(3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonyl)carbamoyl)-1H-pirrol-3-il)fenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonyl)fenilamino)-4-(feniltio)butil)piperidin-4-carboxílico (26) (BM-1077): se preparó 26 a partir de K y V según el procedimiento general III. ¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 7,94 (d, J = 1,7 Hz, 1H), 7,71 (dd, J = 2,0, 9,2 Hz, 1H), 7,39-7,28 (m, 4H), 7,26-7,14 (m, 6H), 7,09-6,96 (m, 5H), 6,93-6,85 (m, 2H), 6,81 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 6,75 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 4,41 (quint., J = 7,0 Hz, 1H), 4,06-3,88 (m, 1H), 3,66-3,33 (m, 8H), 3,25-2,79 (m, 10H), 2,63 (s, 3H), 2,36-1,71 (m, 8H), 1,43 (d, J = 7,1 Hz, 6H). EM (ESI): m/z 1184,42 (M + H)⁺.

Ácido (R)-2-(1-(3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonyl)carbamoyl)-1H-pirrol-3-il)fenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonyl)fenilamino)-4-(feniltio)butil)piperidin-4-

carboniloxi)etilfosfónico (27) (BM-1080): se preparó 27 a partir de 26 y (2-hidroxi)etil)fosfonato de dimetilo según el procedimiento general V. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CD_3OD): δ 7,95 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H), 7,69 (dd, $J = 1,8, 9,3$ Hz, 1H), 7,39-7,28 (m, 4H), 7,27-7,12 (m, 6H), 7,08-6,76 (m, 8H), 6,70 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 4,49-4,27 (m, 3H), 4,04-3,89 (m, 1H), 3,65-3,48 (m, 2H), 3,29-2,84 (m, 15H), 2,63 (s, 3H), 2,37-1,74 (m, 11H), 1,43 (d, $J = 7,1$ Hz, 6H). EM (ESI): m/z 1292,00 (M + H) $^+$.

5



(*R*)-1-(3-amino-4-(feniltio)butil)-3-metilazetidina-3-carboxilato de metilo (X). Se preparó X a partir de 3-metilazetidina-3-carboxilato de metilo (W) y D según el procedimiento general II.

10 Ácido (*R*)-1-(3-(4-(*N*-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1*H*-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(feniltio)butil)-3-metilazetidina-3-carboxílico (28) (BM-1082): se preparó 28 a partir de X y B según el procedimiento descrito para la preparación del compuesto 18. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CD_3OD): δ 7,94 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H), 7,70 (dd, $J = 2,1, 9,1$ Hz, 1H), 7,35-7,24 (m, 4H), 7,23-7,12 (m, 5H), 7,07-6,91 (m, 4H), 6,87 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 6,81 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 6,63-6,47 (m, 2H), 6,41 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 4,55-4,38 (m, 2H), 3,97 (s a, 3H), 3,29-3,08 (m, 13H), 2,84 (s, 3H), 2,74 (s, 3H), 2,12-1,81 (m, 2H), 1,56 (s a, 3H), 1,43 (d, $J = 7,1$ Hz, 6H). EM (ESI): m/z 1144,75 (M + H) $^+$.

15

20 Ácido (*R*)-2-(1-(3-(4-(*N*-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1*H*-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(feniltio)butil)-3-metilazetidina-3-carboniloxi)etilfosfónico (29) (BM-1083): se preparó 29 a partir de 28 y (2-hidroxi)etil)fosfonato de dimetilo según el procedimiento general V. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CD_3OD): δ 7,94 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,72 (dd, $J = 2,0, 9,1$ Hz, 1H), 7,36-7,26 (m, 4H), 7,25-7,15 (m, 5H), 7,10-7,00 (m, 4H), 6,92-6,83 (m, 1H), 6,63 (s, 1H), 6,57 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 6,42 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 4,58-4,35 (m, 5H), 4,12-3,82 (m, 3H), 3,29-3,05 (m, 11H), 2,84 (s, 3H), 2,74 (s, 3H), 2,25-1,83 (m, 5H), 1,50 (s a, 3H), 1,43 (d, $J = 7,1$ Hz, 6H). EM (ESI): m/z 1252,83 (M + H) $^+$.

20

25 Ácido (*R*)-3-(1-(3-(4-(*N*-(4-(4-(3-(2-(4-clorofenil)-1-isopropil-5-metil-4-(metilsulfonil)-1*H*-pirrol-3-il)-5-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(feniltio)butil)-3-metilazetidina-3-carboniloxi)propilfosfónico (30) (BM-1084): se preparó 30 a partir de 28 y (3-hidroxi)propil)fosfonato de dimetilo según el procedimiento general V. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CD_3OD): δ 7,94 (s, 1H), 7,71 (dd, 1,5, 9,0 Hz, 1H), 7,36-7,26 (m, 4H), 7,24-7,15 (m, 5H), 7,08-6,97 (m, 4H), 6,90-6,79 (m, 2H), 6,62 (s, 1H), 6,56 (d, $J = 11,8$ Hz, 1H), 6,41 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 4,54-4,37 (m, 3H), 4,33-4,21 (m, 2H), 3,99 (s a, 3H), 3,28-3,05 (m, 11H), 2,84 (s, 3H), 2,74 (s, 3H), 2,15-1,71 (m, 7H), 1,57 (s, 3H), 1,43 (d, $J = 7,0$ Hz, 6H). EM (ESI): m/z 1266,92 (M + H) $^+$.

25

30 Ensayos de unión basados en polarización de fluorescencia para las proteínas Bcl-2/Bcl-xL/Mcl-1

Se desarrollaron y optimizaron ensayos basados en polarización de fluorescencia (PF) sensibles y cuantitativos para determinar las afinidades de unión de los inhibidores de proteínas de la familia de Bcl-2 a las proteínas Bcl-2, Bcl-xL y Mcl-1 recombinantes.

Determinación de los valores de K_d de sondas fluorescentes para proteínas

35 Se usaron los péptidos BIM (81-106), Bak (72-87) y BID (79-99) marcados con fluoresceína de propia elaboración, denominados Flu-BIM, Flu-BAK y Flu-BID, como sondas fluorescentes en ensayos de PF para Bcl-2, Bcl-xL y Mcl-1, respectivamente. Mediante la monitorización de la polarización de fluorescencia total de la mezclas que se componen de sondas fluorescentes en concentraciones fijas y proteínas con concentraciones crecientes de hasta saturación completa, se determinó que los valores de K_d de Flu-BIM para Bcl-2, de Flu-BAK para Bcl-xL y de Flu-BID para Mcl-1 eran de $0,55 \pm 0,15$ nM, $4,4 \pm 0,8$ y $6,8 \pm 1,5$ nM, respectivamente. Los valores de polarización de fluorescencia se midieron usando el lector de placas multimodal Infinite M-1000 (Tecan U.S., Research Triangle Park, NC) en placas Microfluor 2 de fondo redondo negras de 96 pocillos (Thermo Scientific). A cada pocillo se le añadieron 1 nM de Flu-BIM o 2 nM de Flu-BAK o 2 nM de Flu-BID y concentraciones crecientes de Bcl-2 o Bcl-xL o Mcl-1 hasta un volumen final de 125 μl en el tampón de ensayo (fosfato de potasio 100 mM, pH 7,5, γ -globulina bovina 100 $\mu\text{g/ml}$, azida de sodio al 0,02%, Invitrogen, con Triton X-100 al 0,01% y DMSO al 4%). Se incubaron las

45

placas a temperatura ambiente durante 2 horas con agitación suave para garantizar el equilibrio. Se midieron los valores de polarización en miliunidades de polarización (mP) a una longitud de onda de excitación de 485 nm y una longitud de onda de emisión de 530 nm. Luego se calcularon las constantes de disociación en equilibrio (K_d) ajustando los aumentos sigmoideos de PF dependientes de la dosis en función de las concentraciones de proteína usando el software Graphpad Prism 5.0 (Graphpad Software, San Diego, CA).

Determinación de los valores de K_i de inhibidores de proteínas de la familia de Bcl-2

Se determinaron los valores de K_i de los inhibidores de proteína de la familia de Bcl-2 para las proteínas Bcl-2/Bcl-xL/Mcl-1 a través de un experimento de unión competitiva dependiente de la dosis en el que diluciones en serie de los inhibidores compitieron contra la sonda fluorescente con concentración fija por la unión a una concentración fija de la proteína. Se añadieron mezclas de 5 μ l del inhibidor sometido a prueba en DMSO y 120 μ l de complejo de proteína/sonda incubado previamente en el tampón de ensayo a placas de ensayo y se incubaron a temperatura ambiente durante 2 horas con agitación suave. Las concentraciones finales de la proteína y la sonda son de 1,5 nM y 1 nM para el ensayo de Bcl-2, 10 nM y 2 nM para el ensayo de Bcl-xL y 20 nM y 2 nM para el ensayo de Mcl-1, respectivamente. Se incluyeron controles negativos que contenían complejo de proteína/sonda solo (equivalente al 0% de inhibición) y controles positivos que contenían sonda libre sola (equivalentes al 100% de inhibición) en cada placa de ensayo. Se midieron los valores de PF tal como se describió anteriormente. Se determinaron los valores de CI_{50} mediante ajuste por regresión no lineal de las curvas de competición. Se calcularon los valores de K_i de los inhibidores usando la ecuación derivada de origen descrita anteriormente (Z. Nikolovska-Coleska *et al.*, Analytical Biochemistry, 2004, 332, 261-273.), basándose en los valores de CI_{50} obtenidos, los valores de K_d de las sondas a las proteínas y las concentraciones de las proteínas y las sondas en los ensayos competitivos. También se calcularon los valores de K_i usando otra ecuación muy usada comúnmente presente en la bibliografía (X. Y. Huang, Journal of Biomolecular Screening, 2003, 8, 34-38.), cuyos resultados coincidieron extremadamente bien con los presentes resultados.

Ensayo de crecimiento celular

Se sembraron células RS4;11 y H146 en placas de cultivo de células de 96 pocillos a una densidad de 10.000 células/pocillo con los compuestos diluidos en serie y se incubaron a 37°C en una atmósfera del 95% de aire y el 5% de CO₂ durante 4 días. Se determinó la viabilidad celular usando el kit Cell Counting-8 basado en WST-8 (2-(2-metoxi-4-nitrofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfonil)-2H-tetrazolio, sal de monosodio) (Dojindo Molecular Technologies, Inc., Rockville, MD) según la instrucción del fabricante. En resumen, se añadió WST-8 a cada pocillo a una concentración final del 10% (v/v) y luego se incubaron las placas a 37°C durante 1-2 horas para el desarrollo del color. Se midió la absorbancia a 450 nm usando un lector de placas SPECTRAMax PLUS (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Se calculó la concentración inhibidora máxima media (CI_{50}) usando el software GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, La Jolla, CA).

Ensayo de muerte celular

Se realizó un ensayo de muerte celular usando una prueba de exclusión de azul de tripano de la viabilidad celular. Se sembraron un millón de células en placas de 6 pocillos y se incubaron a 37°C en una atmósfera del 95% de aire y el 5% de CO₂ con o sin compuestos durante los puntos de tiempo indicados. Al final del tratamiento, se recogieron las células y se centrifugaron a 1000 rpm durante 5 minutos. Volvieron a suspenderse los sedimentos celulares en PBS y se mezclaron con azul de tripano al 0,4% (Invitrogen) a una dilución 1:1 para determinar la viabilidad celular usando un microscopio Olympus CKX41 (Olympus, Center Valley, PA).

Ensayo de apoptosis

Se realizó un ensayo de apoptosis usando el kit de tinción Annexin-V-FLUOS (Roche Diagnostics, Indianápolis, IN) según la instrucción del fabricante. En resumen, se trataron las células con los compuestos durante los puntos de tiempo indicados, se recogieron y se lavaron con PBS. Se tiñeron las células con Annexin V-FITC y yoduro de propidio durante 15 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad antes de analizarse con un dispositivo FACSCaliburs de BD Biosciences (Becton Dickinson).

Análisis de inmunotransferencia de tipo Western

Se lisaron las células con tampón de lisis (PBS que contenía NP40 al 1%, desoxicolato de Na al 0,5% y SDS al 0,1%) complementado con inhibidores de proteasa (α -completos, Roche). Se cuantificaron los extractos de proteínas usando un ensayo calorimétrico (Bradford Reagent) (BioRad, Hercules, CA). Se sometieron a electroforesis las proteínas sobre geles de SDS-PAGE al 4-20% (Invitrogen) y se transfirieron sobre membranas de poli(difluoruro de vinilideno) (Bio-Rad). Después del bloqueo en leche al 5%, se incubaron las membranas con un anticuerpo primario específico, se lavaron y se incubaron con anticuerpo secundario unido a peroxidasa del rábano (Pierce). Se visualizaron las señales con el reactivo de detección de anticuerpo de peroxidasa del rábano quimioluminiscente (Denville Scientific).

Ensayo de liberación de citocromo c y Smac

Se trataron cuatro millones de células H146 o RS4;11 con los compuestos a 37°C en una atmósfera del 95% de aire y el 5% de CO₂ durante los puntos de tiempo indicados, se lavaron con PBS y volvieron a suspenderse en 100 ml de tampón de digitonina (NaCl 75 mM, Na₂HPO₄ 8 mM, NaH₂PO₄ 1 mM, EDTA 1 mM, digitonina 350 µg/ml y sacarosa 250 mM). Se separaron las fracciones citosólicas de la fracción de membrana con orgánulos mediante centrifugación a 13.000 rpm durante 1 min. Se resolvieron las fracciones citosólicas en SDS-PAGE al 12% y se sometieron a ensayo usando anticuerpo anti-citocromo c (BD Biosciences) y anticuerpo anti-Smac (Cell Signaling Technology, Danvers, MA).

En particular, se sometió a ensayo un compuesto de la invención para determinar su afinidad por Bcl-2, Bcl-xL y Mcl-1. Los resultados del ensayo se compararon con los resultados de un ensayo para ABT-737, un conocido inhibidor de Bcl-2/Bcl-xL patentado, y para estos péptidos. Los resultados se resumen en la tabla 1.

Tabla 1. Afinidades de unión a las proteínas Bcl-2, Bcl-xL y Mcl-1, tal como se determina usando ensayos basados en PF establecidos. Se realizaron 3-5 experimentos independientes para cada compuesto para cada proteína. Se sometieron a prueba los péptidos ABT-737, BIM, BAD y NOXA como controles.					
Compuesto	Afinidades de unión				
	Bcl-2		Bcl-xL		Mcl-1
	CI ₅₀ ± D.E.	K _i ± D.E.	CI ₅₀ ± D.E.	K _i ± D.E.	CI ₅₀ ± D.E.
ABT-737	2 ± 0,2 (nM)	<1 (nM)	6 ± 2 (nM)	1,6 ± 0,5 (nM)	> 1 (µM)
BIM	< 1 (nM)	< 1 (nM)	< 1 (nM)	< 1 (nM)	5 ± 1 (nM)
BAD	40 ± 8 (nM)	10 ± 2 (nM)	5 ± 0,3 (nM)	1,5 ± 0,1 (nM)	32 ± 2 (µM)
NOXA	17 ± 1 (µM)	3,6 (µM)	11 ± 2 (µM)	3,4 (µM)	37 ± 3 (µM)

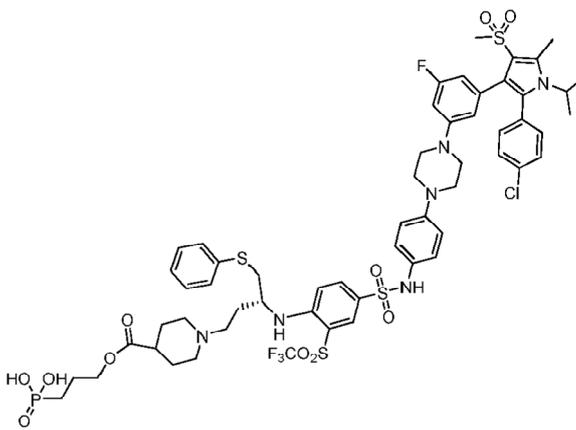
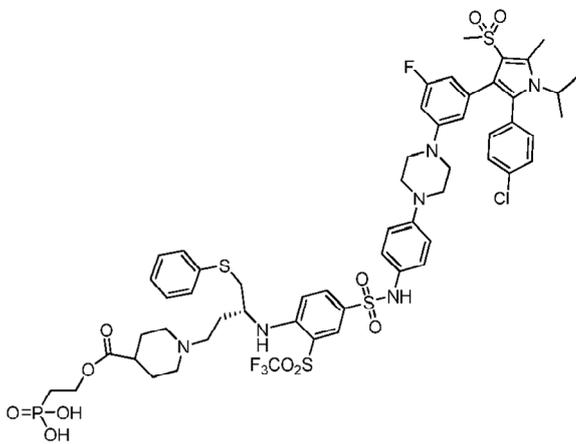
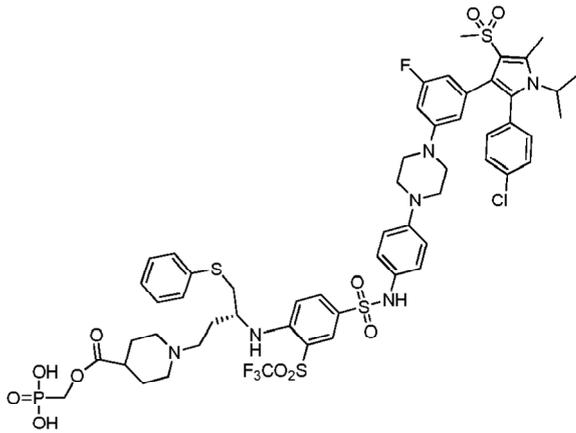
Bibliografía

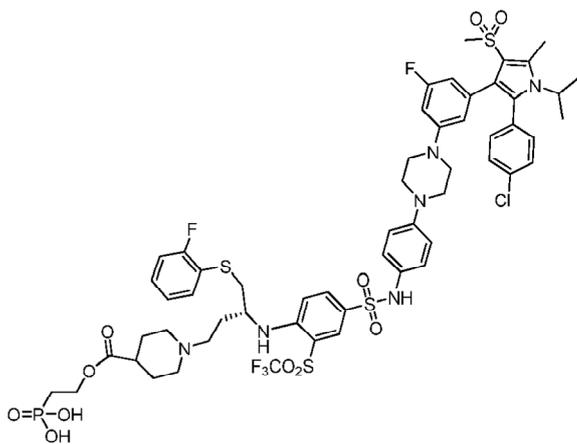
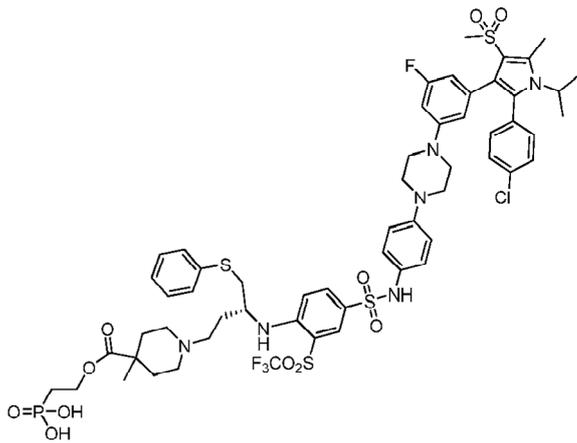
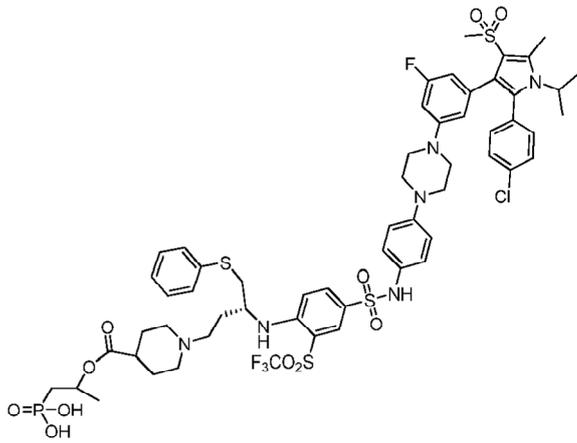
1. D. Hanahan, *et al.*, Cell 2000;100:57-70.
2. S.W. Lowe, *et al.*, Carcinogenesis 2000, 21, 485-495.
3. C.B. Thompson, Science 1995, 267, 1456-1462.
4. J.C. Reed, Nat Rev Drug Discov 2002;1:111-121.
5. D.W. Nicholson, Nature 2000, 407, 810-816.
6. D.T. Chao, *et al.*, Annu Rev Immunol 1998;16:395-419.
7. J.C. Reed, Advances in Pharmacology 1997;41:501-553.
8. J.C. Reed, *et al.* J Cell Biochem 1996;60:23-32.
9. A.J. Minn, *et al.*, Advances in Immunology 1998;70:245-279.
10. J.M. Adams, *et al.*, Science 1998;281:1322-1326.
11. A. Ziegler, *et al.*, J Natl Cancer Inst 1997;89:1027-1036.
12. U. Zangemeister-Wittke, *et al.*, Br. J. Cancer 1998;78:1035-1042.
13. B. Jansen, *et al.*, Nature Medicine 1998;4:232-234.
14. U. Zangemeister-Wittke, *et al.*, Br J Cancer 1998;78:1035-1042.
15. O. Gautschi, *et al.*, J Natl Cancer Inst 2001;93:463-471.
16. M. Strasberg Rieber M, *et al.*, Clin Cancer Res 2001;7:1446-1451.
17. S. Hopkins-Donaldson, *et al.*, Int J Cancer 2003;106:160-166.
18. G. Wang, *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA 2000;97:7124-7129.
19. A. Degterev, *et al.*, Nat Cell Biol 2001;3:173-182.
20. S.P. Tzung, *et al.*, Nat Cell Biol 2001;3:183-191.
21. I.J. Enyedy, *et al.*, J Med Chem 2001;44:4313-4324.
22. O. Kutzki, *et al.*, J Am Chem Soc 2002;124:11838-11839.
23. G. Wang, *et al.*, J Med Chem. 2006;49:6139-6142.

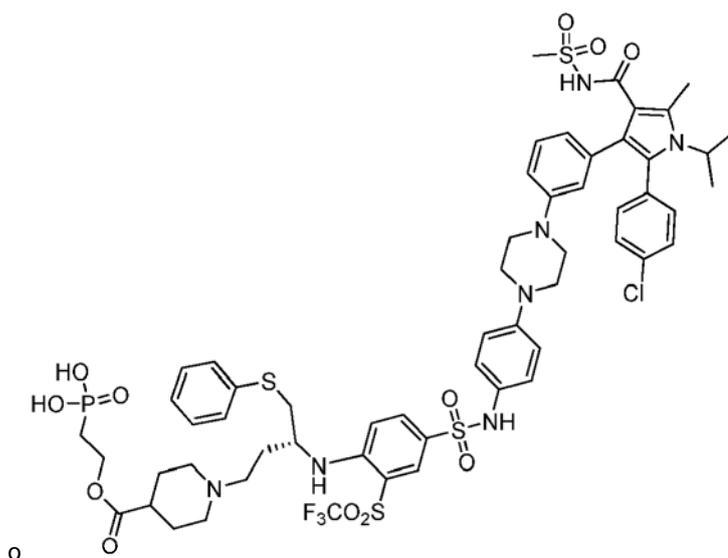
24. G. Tang, *et al.*, J Med Chem. 19 de abril de 2007;50(8):1723-6.
25. G. Tang, *et al.*, J Med Chem. 2007; 50(14): 3163-6.
26. T. Oltersdorf, *et al.*, Nature. 2005, 435(7042):677-81.
27. M.D. Wendt, *et al.*, J Med Chem. 2006, 49(3):1165-81.
- 5 28. A.M. Petros, *et al.*, J Med Chem. 2006, 49(2):656-63.
29. C.M. Park, *et al.*, J Am Chem Soc. 20 de diciembre de 2006;128(50):16206-12.
30. A.R. Shoemaker, *et al.*, Cancer Res. 2006, 66(17):8731-9.
31. M. Bruncko, *et al.*, J Med Chem. 2007, 50(4):641-62.
32. C.M. Park, *et al.*, J Med Chem. 2008, 51(21):6902-15.
- 10 33. A.R. Shoemaker, *et al.*, Clin Cancer Res. 1 de junio de 2008;14(11):3268-77.
34. C. Tse, *et al.*, Cancer Res. 1 de mayo de 2008;68(9):3421-8.
35. M. Vogler, *et al.*, Cell Death Differ. Marzo de 2009;16(3):360-7.
36. T.N. Chonghaile, *et al.*, Oncogene. 2008; 27 Supl. 1:S149-57.
37. M.H. Kang, *et al.* Clin Cancer Res. 15 de febrero de 2009;15(4):1126-32.
- 15 38. S.W. Muchmore, *et al.*, Nature 1996;381:335-341.
39. M. Aritomi, *et al.*, J Biol Chem 1997;272:27886-27892.
40. M. Sattler, *et al.*, Science 1997;275:983-986.
41. A.M. Petros, *et al.* Protein Sci 2000;9:2528-2534.
42. A.M. Petros, *et al.* Proc Natl Acad Sci USA 2001;98:3012-3017.
- 20 43. X Liu, *et al.* Immunity. Septiembre de 2003;19(3):341-52.
44. E.F. Lee, *et al.*, Cell Death Differ. Septiembre de 2007;14(9):1711-3. (ID de PDB: 2YXJ).
45. <http://www.clinicaltrials.gov/>
46. S.K. Tahir SK, *et al.* Cancer Res. 2007;67(3):1176-83.
47. V.D.G. Moore, *et al.*, J Clin Invest. 2007;117:112-121.
- 25 48. M. Vogler, *et al.*, Cell Death Differ. 2008;15: 820-830.
49. M. Vogler, *et al.*, Blood. 2009;113:1710-1722.

REIVINDICACIONES

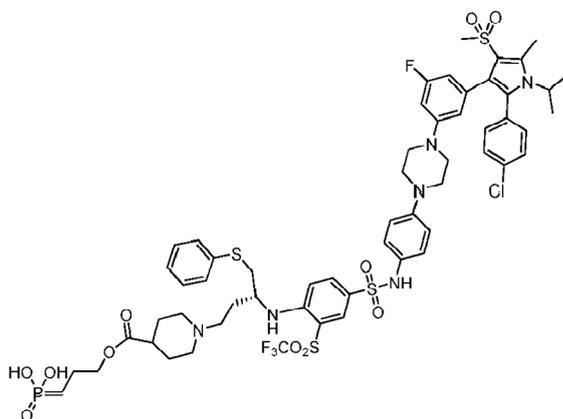
1. Compuesto que tiene una estructura







2. Compuesto según la reivindicación 1, que tiene una estructura



3. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 1 ó 2, y un portador o vehículo farmacéuticamente aceptable.

4. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, o composición farmacéutica según la reivindicación 3, para su uso en el tratamiento de cáncer.

5. Compuesto o composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 4, en los que el cáncer se selecciona de un cáncer seleccionado en el grupo que consiste en carcinomas, incluyendo vejiga (incluyendo cáncer de vejiga acelerado y metastásico), mama, colon (incluyendo cáncer colorrectal), riñón, hígado, pulmón (incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas y no pequeñas y adenocarcinoma de pulmón), ovario, próstata, testículos, aparato genitourinario, sistema linfático, recto, laringe, páncreas (incluyendo carcinoma de páncreas exocrino), esófago, estómago, vesícula biliar, cuello uterino, tiroides, renal y piel (incluyendo carcinoma de células escamosas); tumores hematopoyéticos de linaje linfóide, incluyendo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de células B, linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas, linfoma histiocítico y linfoma de Burkett, tumores hematopoyéticos de linaje mielóide, incluyendo leucemias mielógenas agudas y crónicas, síndrome mielodisplásico, leucemia mielóide y leucemia promielocítica; tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma y neurilemomas; tumores de origen mesenquimatoso, incluyendo fibrosarcoma, rhabdomiocarcinoma y osteosarcoma; y otros tumores, incluyendo melanoma, xenoderma pigmentoso, queratoacantoma, seminoma, cáncer folicular de tiroides, teratocarcinoma, carcinoma de células renales (CCR), cáncer de páncreas, mieloma, leucemia mielóide y linfoblástica, neuroblastoma y glioblastoma, oncología de adultos y pediátrica, crecimiento de tumores sólidos/neoplasias malignas, carcinoma mixoide y de células redondas, tumores localmente avanzados, cáncer metastásico, sarcomas de tejidos blandos humanos, incluyendo sarcoma de Ewing, metástasis de cánceres, incluyendo metástasis linfáticas, carcinoma de células escamosas, particularmente de la cabeza y el cuello, carcinoma de células escamosas del esófago, carcinoma oral, neoplasias malignas de glóbulos sanguíneos, incluyendo mieloma múltiple, leucemias, incluyendo leucemia linfocítica aguda, leucemia no

5 linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielocítica crónica y leucemia de células pilosas, linfomas de derrame (linfomas basados en las cavidades corporales), linfoma tímico cáncer de pulmón (incluyendo carcinoma de células pequeñas, linfoma cutáneo de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, cáncer de la corteza suprarrenal, tumores que producen ACTH, cánceres no microcíticos, cáncer de mama, incluyendo carcinoma de células pequeñas y carcinoma ductal), cánceres gastrointestinales (incluyendo cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer colorrectal y pólipos asociados con neoplasia colorrectal), cáncer de páncreas, cáncer de hígado, cánceres urinarios (incluyendo cáncer de vejiga, tal como tumores primarios de vejiga superficial, carcinoma invasivo de células de transición de la vejiga y cáncer de vejiga invasivo del músculo), cáncer de próstata, neoplasias malignas del aparato genital

10 femenino (incluyendo carcinoma de ovario, neoplasias epiteliales peritoneales primarias, carcinoma de cuello uterino, cánceres endometriales uterinos, cáncer de vagina, cáncer de la vulva, cáncer de útero y tumores sólidos en el folículo ovárico), neoplasias malignas del aparato genital masculino (incluyendo cáncer de testículo y cáncer de pene), cáncer de riñón (incluyendo carcinoma de células renales, cáncer de cerebro (incluyendo tumores de cerebro intrínsecos, neuroblastoma, tumores de cerebro astrocíticos, gliomas e invasión de células de tumor metastásico en el sistema nervioso central), cánceres de hueso (incluyendo osteomas y osteosarcomas), cánceres de piel (incluyendo melanoma maligno, progresión tumoral de queratinocitos cutáneos humanos y cáncer de células escamosas), cáncer de tiroides, retinoblastoma, neuroblastoma, derrame peritoneal, derrame pleural maligno, mesotelioma, tumores de Wilms, cáncer de vesícula biliar, neoplasias trofoblásticas, hemangiopericitoma y sarcoma de Kaposi.

15