



Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO INHIBIDOR DE INMUNOPROTEASOMA DE
PÉPTIDO EPOXICETONA CRISTALINO

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL _____

71. SOLICITANTE ONYX THERAPEUTICS, INC.

DOMICILIO South San Francisco, California, Estados
Unidos de América

74. APODERADO HUMBERTO RUBIO CAMACHO
COD. 4134

22. BOGOTÁ, D.C., 5 DE OCTUBRE DE 2012

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 12-175456- -00000-0000 Fecha: 2012-10-05 14:22:39 Tra. 11 PATENTEI/II Act. 411 PRESENTACION Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Eve: 378 FASENACIONALI Folios: 50	vo de radicación
---	---	------------------

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL –PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I ☐ Capítulo II	☐ Patente de Modelo de Utilidad
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/US2011/031436	Fecha 06/04/2011
Publicación Internacional No.		WO 2011/136905	Fecha 03/11/2011
3	TÍTULO DE LA INVENCIÓN (200 caracteres o espacios máximos)		
INHIBIDOR DE INMUNOPROTEASOMA DE PÉPTIDO EPOXICETONA CRISTALINO			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP)		
5	SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
ONYX THERAPEUTICS, INC.			
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN		No. TELÉFONO	
249 E. Grand Avenue			
CIUDAD		CORREO ELECTRÓNICO	
South San Francisco			
DEPARTAMENTO/ESTADO		NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN	
California 94080		Estados Unidos de America	
PAÍS DE RESIDENCIA		Estados Unidos de America	
7	INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
PHIASIVONGSA		Pasit	Estadounidense
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
PAÍS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
1. Estados Unidos de America	California 94513	Brentwood	2712 Saint Regis Avenue
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			
9	☐ REPRESENTANTE LEGAL ☒ APODERADO		
APELLIDOS		NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
RUBIO CAMACHO		HUMBERTO	C.C. 17'192.062 T.P. 50.007
DIRECCIÓN		No. TELÉFONO	
Carrera 7 # 74-64 Oficina 506		3132408	
CIUDAD		CORREO ELECTRÓNICO	
Bogotá, D.C.		mail@rubiolawyers.com	
PAÍS		No. RADICACIÓN DE PROTOCOLO DE PODER GENERAL	
Colombia			
10	DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO		
(33) PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO
1.Estados Unidos de America		US	61/321,577
			(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
			07/04/2010
11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS		
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.			
☐ SI ☐ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.			

3

12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES		
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina. ☐ SI ☐ NO Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.			
13	REDUCCIÓN DE TASAS		
Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente. ☐ SI ☐ NO Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento. Micro, pequeñas y medianas empresas Universidades públicas o privadas Entidades sin ánimo de lucro			
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos			
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☒ SI ☐ NO		
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.			
15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N° 12-104463 12-104464	Fecha 04/10/2012 04/10/2012
16	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL		
Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)  FIRMA HUMBERTO RUBIO CAMACHO NOMBRE DEL FIRMANTE 17'192.062 DOCUMENTACIÓN DE IDENTIFICACIÓN 50.007 C.S.J. TARJETA PROFESIONAL			
17	ANEXOS		
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano 1. ☒ Descripción N° de folios: 33 2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 28 3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios: 6 4. ☒ Resumen. 5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso. 6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso. 7. ☒ Arte final 12 x 12. 8. ☐ Anexo formato digital.		Documentación Jurídica 9. ☒ Poderes, si fuera el caso. 10. ☐ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante. 11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso. 12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso. 13. Reducción de tasas Micro, pequeñas o medianas empresas ☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea. ☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004. Universidades públicas o privadas ☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación Entidades sin ánimo de lucro ☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio. ☐ Hoja de información complementaria. ☐ Otros, especificar 14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud. 15. ☒ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad. 16. ☒ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación. 17. ☐ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.	

INHIBIDOR DE INMUNOPROTEASOMA DE PÉPTIDO EPOXICETONA CRISTALINO

Antecedentes de la invención

5 En eucariotas, la degradación de proteínas está mediada principalmente a través de la ruta de ubiquitina en la cual las proteínas dirigidas para la destrucción se ligan al polipéptido de 76 aminoácidos ubiquitina. Una vez dirigidas, las proteínas ubiquitinadas después sirven como sustratos para el proteasoma 26S, una proteasa multicatalítica, que escinde las proteínas en péptidos cortos a través de la acción de
10 sus tres actividades proteolíticas principales. Además de tener una función general en la renovación de proteína intracelular, la degradación mediada por proteasoma también juega un papel clave en muchos procesos tales como presentación de complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (CMH), apoptosis y viabilidad celular, procesamiento de antígeno, activación de NF- κ B y transducción de señales pro-inflamatorias.

15 El proteasoma 20S es un complejo de proteasa multicatalítico de forma cilíndrica de 700 kDa que comprende 28 subunidades, clasificadas como de tipo α y β , que están dispuestas en 4 anillos heptaméricos apilados. En levaduras y otros eucariotas, 7 subunidades α diferentes forman los anillos exteriores y 7
20 subunidades β diferentes comprenden los anillos interiores. Las subunidades α sirven como sitios de unión para los complejos reguladores 19S (PA700) y 11S (PA28), así como también como una barrera física para la cámara proteolítica interior formada por los dos anillos de subunidad β . Por tanto, *in vivo*, se cree que el proteasoma existe como una partícula 26S ("el proteasoma 26S"). Los
25 experimentos *in vivo* han demostrado que la inhibición de la forma 20S del proteasoma se puede correlacionar fácilmente con la inhibición del proteasoma 26S.

La escisión de las prosequencias amino-terminales de subunidades β durante la formación de partícula expone restos de treonina amino-terminal, que
30 sirven como los nucleófilos catalíticos. Por tanto, las subunidades responsables de la actividad catalítica en proteasomas poseen un resto nucleofílico amino terminal y estas subunidades pertenecen a la familia de las hidrolasas de nucleófilo N-terminal (Ntn) (donde el resto nucleofílico N-terminal es, por ejemplo, Cys, Ser, Thr y otros restos nucleofílicos). Esta familia incluye, por ejemplo, penicilina G acilasa (PGA),
35 penicilina V acilasa (PVA), glutamina PRPP aminotransferasa (GAT) y glicosilasparaginasa bacteriana. Además de las subunidades β expresadas ubicuamente, los vertebrados superiores también poseen las subunidades β inducibles por interferón γ (LMP7, LMP2 y MECL1), que reemplazan a sus homólogos normales, β 5, β 1 y β 2, respectivamente. Cuando las tres subunidades
40 inducibles por IFN- γ están presentes, el proteasoma se denomina un "inmunoproteasoma". Por tanto, las células eucariotas pueden poseer dos formas

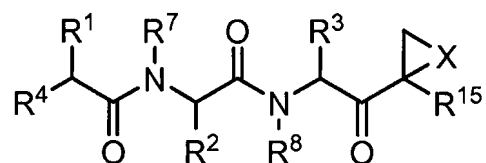
de proteasomas en diversas proporciones.

A través del uso de diferentes sustratos peptídicos, se han definido tres actividades proteolíticas principales para los proteasomas 20S eucariotas: actividad similar a quimotripsina (CT-L), que escinde después de restos hidrófobos grandes; actividad similar a tripsina (T-L), que escinde después de restos básicos; y actividad hidrolizante de péptido peptidil glutamil (PGPH), que escinde después de restos ácidos. También se han adscrito dos actividades adicionales menos caracterizadas al proteasoma: actividad BrAAP, que escinde después de aminoácidos de cadena ramificada; y actividad SNAAP, que escinde después de aminoácidos neutros pequeños. Aunque ambas formas del proteasoma poseen las cinco actividades enzimáticas, se han descrito diferencias en el alcance de las actividades entre las formas en base a sustratos específicos. Para ambas formas del proteasoma, las actividades proteolíticas de proteasoma principales parecen estar contribuidas por diferentes sitios catalíticos dentro del núcleo 20S.

Existen varios ejemplos de moléculas pequeñas que se han usado para inhibir la actividad de proteasoma; sin embargo, estos compuestos carecen en general de especificidad para delinear entre las dos formas del proteasoma. Lo que se necesita son composiciones y métodos mejorados para preparar y formular inhibidor o inhibidores de proteasoma.

Sumario de la Invención

Un aspecto de la Invención se refiere a compuestos cristalinos que tienen una estructura de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos,



(I)

- en la que
- cada Ar es independientemente un grupo aromático opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes;
- cada A se selecciona independientemente entre C=O, C=S y SO₂; o
- A es opcionalmente un enlace covalente cuando es adyacente a una aparición de Z;
- B está ausente o es N(R⁹)R¹⁰;
- L está ausente o se selecciona entre C=O, C=S y SO₂;
- M está ausente o es alquilo C₁₋₁₂;
- Q está ausente o se selecciona entre O, NH, y N-alquilo C₁₋₆;
- X se selecciona entre O, S, NH, y N-alquilo C₁₋₆;
- Y está ausente o se selecciona entre C=O y SO₂;
- cada Z se selecciona independientemente entre O, S, NH y N-alquilo C₁₋₆; o
- Z es opcionalmente un enlace covalente cuando es adyacente a una aparición de A;

La figura 1 muestra un termograma DSC del solvato de tolueno cristalino del Compuesto 1.

La figura 2 muestra un XRPD del solvato de tolueno cristalino del Compuesto 1.

5 La figura 3 muestra un termograma TG del solvato de tolueno cristalino del Compuesto 1.

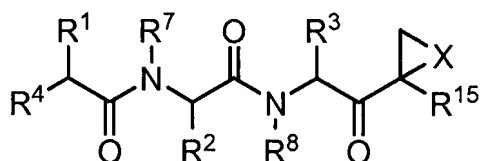
La figura 4 muestra un diagrama ORTEP de una sola molécula del solvato de tolueno cristalino del Compuesto 1.

10 La figura 5 muestra un termograma DSC de una forma amorfa del Compuesto 1.

La figura 6 muestra un patrón XRPD de una forma amorfa del Compuesto 1.

Descripción detallada de la invención

15 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a compuestos cristalinos que tienen una estructura de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos,



(I)

en la que

cada Ar es independientemente un grupo aromático opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes;

20 cada A se selecciona independientemente entre C=O, C=S y SO₂; o

A es opcionalmente un enlace covalente cuando es adyacente a una aparición de Z; B está ausente o es N(R⁹)R¹⁰;

L está ausente o se selecciona entre C=O, C=S y SO₂;

M está ausente o es alquilo C₁₋₁₂;

25 Q está ausente o se selecciona entre O, NH, y N-alquilo C₁₋₆;

X se selecciona entre O, S, NH y N-alquilo C₁₋₆;

Y está ausente o se selecciona entre C=O y SO₂;

cada Z se selecciona independientemente entre O, S, NH, y N-alquilo C₁₋₆; o

Z es opcionalmente un enlace covalente cuando es adyacente a una aparición de A;

30 R¹ se selecciona entre H, -alquil C₁₋₆-B, hidroxialquilo C₁₋₆, alcoxialquilo C₁₋₆, arilo y aralquilo C₁₋₆;

cada uno de R² y R³ se selecciona independientemente entre arilo, aralquilo C₁₋₆, heteroarilo y C₁₋₆heteroaralquilo;

R⁴ es N(R⁵)L-Q-R⁶;

35 R⁵ se selecciona entre hidrógeno, OH, aralquilo C₁₋₆ y alquilo C₁₋₆;

R⁶ se selecciona entre hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₁₋₆, alquinilo C₁₋₆, Ar-Y-, carbociclilo, heterociclilo, un grupo protector N-terminal, arilo, aralquilo C₁₋₆,

- R^{11} ZAZ-alquil C_{1-8} -, R^{14} Z-alquil C_{1-8} -, $(R^{11}O)(R^{12}O)P(=O)O$ -alquil C_{1-8} -ZAZ-alquil C_{1-8} -, R^{11} ZAZ-alquil C_{1-8} -ZAZ-alquil C_{1-8} -, heterociclilMZAZ-alquil C_{1-8} -, $(R^{11}O)(R^{12}O)P(=O)O$ -alquil C_{1-8} -, $(R^{13})_2N$ -alquil C_{1-12} -, $(R^{13})_3N^+$ -alquil C_{1-12} -, heterociclilM-, carbociclilM-, $R^{14}SO_2$ alquil C_{1-8} - y $R^{14}SO_2NH$; o
- 5 R^5 y R^6 son juntos alquil C_{1-6} -Y-alquilo C_{1-6} , alquil C_{1-6} -ZAZ-alquilo C_{1-6} , ZAZ-alquil C_{1-6} -ZAZ-alquilo C_{1-6} , ZAZ-alquil C_{1-6} -ZAZ o alquil C_{1-6} -A, formando por tanto un anillo;
 R^7 y R^8 se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo C_{1-6} y aralquilo C_{1-6} ;
- 10 R^9 se selecciona entre hidrógeno, OH y alquilo C_{1-6} ; y
 R^{10} es un grupo protector N-terminal;
 R^{11} y R^{12} se seleccionan independientemente entre hidrógeno, catión metálico, alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{1-6} , alquinilo C_{1-6} , arilo y aralquilo C_{1-6} ;
cada R^{13} se selecciona independientemente entre hidrógeno y alquilo C_{1-6} ;
- 15 R^{14} se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{1-6} , alquinilo C_{1-6} , carbociclilo, heterociclilo, arilo y aralquilo C_{1-6} ; y
 R^{15} se selecciona entre alquilo C_{1-6} , hidroxialquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , $-C(O)O$ alquilo C_{1-6} , $-C(O)NH$ alquilo C_{1-6} y aralquilo C_{1-6} ;
- con la condición de que en cualquier aparición de la secuencia ZAZ, al menos
- 20 un miembro de la secuencia debe ser distinto de un enlace covalente.
- En determinadas realizaciones, R^7 y R^8 se seleccionan independientemente entre hidrógeno y alquilo C_{1-6} , preferiblemente R^7 y R^8 son los dos hidrógeno.
- En determinadas realizaciones, R^{15} se selecciona entre alquilo C_{1-6} e hidroxialquilo C_{1-6} . En determinadas de dichas realizaciones, R^{15} se selecciona
- 25 entre metilo, etilo, hidroximetilo y 2- hidroxietilo, preferiblemente metilo.
- En determinadas realizaciones, R^5 es hidrógeno o alquilo C_{1-6} , preferiblemente R^5 es hidrógeno.
- En determinadas realizaciones, R^1 se selecciona entre -alquil $C_{1-6}B$ y aralquilo C_{1-6} . En determinadas realizaciones preferidas, R^1 se selecciona entre
- 30 metilo, etilo, isopropilo, carboximetilo y bencilo, preferiblemente metilo.
- En determinadas realizaciones, R^2 se selecciona entre aralquilo C_{1-6} y heteroaralquilo C_{1-6} . En determinadas de dichas realizaciones, R^2 se selecciona entre alquil C_{1-6} -fenilo, alquil C_{1-6} -indolilo, alquil C_{1-6} -tienilo, alquil C_{1-6} -tiazolilo y alquil C_{1-6} -isotiazolilo, preferiblemente alquil C_{1-6} -fenilo.
- 35 En determinadas realizaciones, R^2 se selecciona entre



10

15

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un compuesto cristalino de Fórmula (II)



8

preparación de un compuesto cristalino de Fórmula (I) o (II), comprendiendo uno o más de: (i) preparar el compuesto amorfo, por ejemplo, de acuerdo con La Solicitud de Patente de Estados Unidos N° de Serie 11/820.490; (ii) disolver el compuesto amorfo en un disolvente orgánico; (iii) llevar la solución a supersaturación para
5 provocar la formación de cristales; y (iv) aislar los cristales, por ejemplo, filtrando los cristales, decantando el fluido de los cristales o por cualquier otra técnica de separación adecuada. En determinadas realizaciones, la preparación comprende adicionalmente inducir la cristalización. En determinadas realizaciones, la preparación comprende adicionalmente lavar los cristales filtrados, por ejemplo, con
10 un disolvente o fluido sin disolvente. En determinadas realizaciones, la preparación comprende adicionalmente secar, preferiblemente a presión reducida, tal como presión de vacío.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para la preparación de un compuesto cristalino de Fórmula (I) o (II), comprendiendo uno o
15 más de: (i) preparar una solución del compuesto amorfo, pudiendo prepararse dicho compuesto de acuerdo con, por ejemplo, la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° de Serie 11/820.490, en un disolvente orgánico; (ii) llevar la solución a supersaturación para provocar la formación de cristales; y (iii) aislar los cristales, por ejemplo, filtrando los cristales, decantando el fluido de los cristales o por cualquier
20 otra técnica de separación adecuada. En determinadas realizaciones, la preparación comprende adicionalmente inducir la cristalización. En determinadas realizaciones, la preparación comprende adicionalmente lavar los cristales filtrados, por ejemplo, con un disolvente fluido sin disolvente. En determinadas realizaciones, la preparación comprende adicionalmente secar, preferiblemente a presión
25 reducida, tal como presión de vacío.

En determinadas realizaciones, el compuesto amorfo puede disolverse en un disolvente orgánico seleccionado entre acetonitrilo, acetona, éter dietílico, éter diisopropílico, etanol, acetato de etilo, heptanos, acetato de isopropilo, metanol, metil terc-butil éter, tetrahidrofurano, tolueno, heptanos o cualquier combinación de
30 los mismos. En determinadas realizaciones, el compuesto amorfo puede disolverse en un disolvente orgánico seleccionado entre acetonitrilo, acetona, éter dietílico, éter diisopropílico, acetato de etilo, heptanos, acetato de isopropilo, metanol, metil terc-butil éter, tetrahidrofurano, tolueno, heptanos o cualquier combinación de los mismos. En determinadas realizaciones, el compuesto amorfo puede disolverse en
35 un disolvente orgánico seleccionado entre éter dietílico, éter diisopropílico, metil terc-butil éter, tetrahidrofurano, tolueno, heptanos o cualquier combinación de los mismos. En determinadas realizaciones, el compuesto amorfo puede disolverse en tolueno, metil terc-butil éter, heptanos o una combinación de los mismos. En determinadas realizaciones preferidas, el compuesto amorfo puede disolverse en
40 tolueno.

En determinadas realizaciones, llevar la solución a supersaturación

comprende la adición de un anti-disolvente, tal como otro líquido miscible con el disolvente orgánico, dejando que se enfríe solución, reduciendo el volumen de la solución o cualquier combinación de los mismos. En determinadas realizaciones, llevar la solución a supersaturación comprende añadir un anti-disolvente, enfriar la solución a temperatura ambiente o inferior, y reducir el volumen de la solución, por ejemplo, evaporando el disolvente de la solución. En determinadas realizaciones, dejar que la solución se enfríe puede ser pasivo (por ejemplo, dejar que la solución repose a temperatura ambiente) o activo (por ejemplo, enfriar la solución en un baño de hielo o congelador).

En determinadas realizaciones, el método comprende adicionalmente inducir precipitación o cristalización. En determinadas realizaciones, inducir la precipitación o cristalización comprende nucleación secundaria, en la que la nucleación sucede en presencia de cristales de siembra o interacciones con el ambiente (paredes del cristalizador, impulsores de agitación, sonicación, etc.).

En determinadas realizaciones, lavar los cristales comprende lavar con un líquido seleccionado entre anti-disolvente, acetonitrilo, acetona, éter dietílico, éter diisopropílico, etanol, acetato de etilo, heptanos, acetato de isopropilo, metanol, metil terc-butil éter, tolueno, tetrahidrofurano o cualquier combinación de los mismos. En determinadas realizaciones, los cristales se lavan con un disolvente orgánico seleccionado entre acetonitrilo, acetona, éter dietílico, éter diisopropílico, acetato de etilo, heptanos, acetato de isopropilo, metanol, metil terc-butil éter, tetrahidrofurano, tolueno o cualquier combinación de los mismos. En determinadas realizaciones, los cristales se lavan con tolueno, metil terc-butil éter, heptanos o una combinación de los mismos.

En determinadas realizaciones, lavar los cristales comprende lavar el compuesto cristalino de Fórmula (II) con tolueno o tolueno junto con metil terc-butil éter.

En determinadas realizaciones, la DSC de un compuesto cristalino de Fórmula (II) tiene un máximo endotérmico fuerte en aproximadamente 83 °C (inicio en aproximadamente 78 °C, velocidad de calentamiento de 10 °C/min) resultante de la fusión y descomposición de las formas cristalina como se muestra en la Figura 1.

En determinadas realizaciones, el patrón de polvo de rayos-X de un compuesto cristalino de Fórmula (II) es (θ -2 θ): 3,62±0,20; 6,52±0,20; 7,20±0,20; 8,66±0,20; 10,04±0,20; 10,82±0,20; 12,98±0,20; 14,42±0,20; 16,46±0,20; 17,32±0,20; 17,98±0,20; 18,02±0,20; 18,88±0,20; 19,06±0,20; 19,56±0,20; 19,88±0,20; 20,40±0,20; 21,36±0,20; 22,16±0,20; 23,20±0,20; 25,40±0,20; 28,82±0,20 como se muestra en la Figura 2.

En determinadas realizaciones, el termograma de TG de un compuesto cristalino de Fórmula (II) muestra pérdidas de peso del 5,6% hasta 150 °C como se muestra en la Figura 3.

En determinadas realizaciones, un compuesto cristalino de Fórmula (II) no

está solvatado (por ejemplo, la red cristalina no comprende moléculas de un disolvente). En determinadas realizaciones, un compuesto cristalino de Fórmula (II) está solvatado. En determinadas realizaciones preferidas, un compuesto cristalino de Fórmula (II) es un solvato de tolueno.

5 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para la preparación de un compuesto amorfo de Fórmula (II), comprendiendo uno o más de (i) disolver el compuesto cristalino en un disolvente orgánico; (ii) llevar la solución a supersaturación para provocar la formación de cristales; y (iii) aislar los cristales, por ejemplo, filtrando los cristales, decantando el fluido de los cristales o por cualquier
10 otra técnica de separación adecuada. En determinadas realizaciones, la preparación comprende adicionalmente inducir la precipitación. En determinadas realizaciones, la preparación comprende adicionalmente lavar el compuesto amorfo. En determinadas realizaciones, el método comprende adicionalmente secar, preferiblemente a presión reducida, tal como presión de vacío.

15 En determinadas realizaciones, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto cristalino de Fórmula (I) o (II) y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica se selecciona entre comprimidos, cápsulas e inyecciones.

20 Usos de inhibidores de enzima

Las consecuencias biológicas de la inhibición de proteasoma son numerosas. La inhibición de proteasoma se ha sugerido como una prevención y/o tratamiento de una multitud de enfermedades incluyendo, pero sin limitación, enfermedades proliferativas, enfermedades neurotóxicas/degenerativas,
25 afecciones isquémicas, inflamación, enfermedades relacionadas con el sistema inmune, VIH, cánceres, rechazo de injerto de órgano, choque séptico, infecciones virales y parasitarias, afecciones asociadas con acidosis, degeneración macular, afecciones pulmonares, enfermedades de desgaste muscular, enfermedades fibróticas, enfermedades del crecimiento de hueso y el pelo.

30 Los inhibidores de proteasoma se pueden usar para tratar afecciones mediadas directamente por la función proteolítica del proteasoma tal como desgaste muscular o mediadas indirectamente a través de proteínas que se procesan mediante el proteasoma tales como NF- κ B. El proteasoma participa en la eliminación rápida y el procesamiento post-traducciona de proteínas (por ejemplo, enzimas) implicadas en regulación celular (por ejemplo, ciclo celular, transcripción
35 génica y rutas metabólicas), comunicación intercelular y la respuesta inmune (por ejemplo, presentación de antígeno).

A nivel celular, la acumulación de proteínas poliubiquitinadas, los cambios morfológicos celulares y la apoptosis se han registrado tras el tratamiento de células
40 con diversos inhibidores de proteasoma. Sin embargo, se ha de indicar que los inhibidores de proteasoma disponibles en el mercado inhiben las formas tanto

constitutivas como inmunes de proteasoma. Incluso bortezomib, el único inhibidor de proteasoma aprobado por la FDA para el tratamiento de pacientes con recaída de mieloma múltiple, no distingue entre las dos formas (Altun *et al.*, Cancer Res 65: 7896, 2005). Por tanto, lo que se conoce acerca de la inhibición de proteasoma terapéutica se basa en trabajo con moléculas que inhiben ambas formas del proteasoma. Por consiguiente, los compuestos de la invención pueden ser beneficiosos para reducir la gravedad de los efectos secundarios asociados con moléculas que inhiben ambas formas del proteasoma.

La expresión de inmunoproteasoma ocurre principalmente en células y órganos que forman el sistema linfático, tales como glóbulos blancos (leucocitos), médula ósea y el timo, bazo y ganglios linfáticos. Aunque algunos órganos expresan preferentemente proteasomas constitutivos (por ejemplo, corazón), otros tales como la adrenal, el hígado, el pulmón y el intestino, parecen expresar ambas formas.

El sistema inmune, de los cuales los leucocitos y los tejidos linfoides juegan un papel principal, es responsable de la protección de un organismo de las influencias biológicas exteriores. Cuando funcionan de forma apropiada, el mismo protege el organismo frente a infecciones bacterianas y virales. El sistema inmune también selecciona células autólogas que han experimentado transformación oncogénica. La proteólisis intracelular genera péptidos pequeños para presentación de linfocitos T para inducir respuestas inmunes mediadas por CMH de clase I. El proteasoma es el principal proveedor de estos péptidos precursores; sin embargo, se han observado diferencias entre péptidos antigénicos entre células con cantidades variables de cada forma de proteasoma (Cascio *et al.*, EMBO J 20: 2357-2366, 2001). En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para inhibir la presentación de antígeno en una célula, incluyendo exponer la célula a un compuesto como se ha descrito en el presente documento. En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para alterar el repertorio de péptidos antigénicos producidos por el proteasoma u otro Ntn con actividad multicatalítica. Por ejemplo, si la actividad del proteasoma inmunoproteasoma se inhibe de forma selectiva, se puede producir un conjunto de péptidos antigénicos por el proteasoma constitutivo restante y presentarse en moléculas de CMH en las superficies de células diferente que lo que se produciría y presentaría sin una inhibición enzimática.

Varios trastornos y patologías se han asociado con función del sistema inmune aberrante, denominadas en el presente documento afecciones relacionadas con el sistema inmune. Tal vez la afección relacionada con el sistema inmune más común son los trastornos alérgicos tales como alergias, asma y dermatitis atópica como eczema. Éstas ocurren cuando el sistema inmune reacciona exageradamente a la exposición a antígenos en el ambiente. Por tanto, una realización adicional es un método para suprimir el sistema inmune de un sujeto, que comprende

administrar al sujeto una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor de proteasoma de una manera descrita en el presente documento.

Los trastornos de inmunodeficiencia ocurren cuando una parte del sistema inmune no trabaja apropiadamente o no está presente. Los mismos pueden afectar a linfocitos B, linfocitos T o fagocitos y ser heredados (por ejemplo, deficiencia de IgA, inmunodeficiencia combinada grave (SCID), displasia tímica y granulomatosa crónica) o adquirida (por ejemplo, síndrome de inmunodeficiencia (SIDA), virus de inmunodeficiencia humana (VIH) e inmunodeficiencias inducidas por fármacos). Se puede usar una estrategia de dosificación que utilice inhibidores de proteasomas selectivos de la invención para tratar afecciones relacionadas con el sistema inmune tales como trastornos de inmunodeficiencia.

En trastornos autoinmunes, el sistema inmune ataca de forma inapropiada a los órganos y los tejidos sanos del organismo como si fueran invasores extraños. Un ejemplo de enfermedad autoinmune es el Síndrome de Sjogren, que se caracteriza por infiltración y acumulación focal de linfocitos en las glándulas exocrinas. Un estudio que examina el nivel de expresión de proteasoma reveló una regulación positiva significativa de beta5i (LMP7) exclusivamente en las glándulas salivares de pacientes SS (Egerer *et al.*, Arthritis Rheum 54: 1501-8, 2006). Otros ejemplos de tales afecciones relacionadas con el sistema inmune incluyen lupus (tal como nefritis por lupus y lupus eritematoso sistémico), artritis reumatoide (tal como artritis reumatoide juvenil y artritis reumatoide psoriática), escleroderma, espondilitis anquilosante, dermatomiositis, psoriasis, esclerosis múltiple (tanto formas recurrente remitentes como progresiva crónicas) y enfermedad intestinal inflamatoria (tal como colitis ulcerativa y enfermedad de Crohn). El rechazo de trasplante de tejido/órgano ocurre cuando el sistema inmune ataca de forma errónea a las células que se introducen en el organismo del hospedador. La enfermedad de injerto contra huésped (GVHD), que se produce como resultado de trasplante alogénico, surge cuando las células T del tejido donante pasan a la ofensiva y atacan los tejidos del hospedador. En las tres circunstancias, la enfermedad autoinmune, rechazo de trasplante y GVHD, la modulación del sistema inmune mediante el tratamiento del sujeto con un compuesto de la invención podría ser beneficiosa.

La inflamación es la primera respuesta del sistema inmune a la infección o irritación. Un componente celular de inflamación implica el movimiento de leucocitos, que expresan inmunoproteasoma, desde los vasos sanguíneos hacia el tejido inflamado. Estas células toman el papel importante de eliminar al irritante, bacteria, parásito o detritus celular. Los inhibidores de proteasoma ya se conoce que tienen actividad antiinflamatoria (Meng *et al.*, PNAS 96: 10403-10408, 1999). En casos de inflamación crónica, que se caracteriza por una presencia dominante de macrófagos, las células que sirvieron originalmente como agentes defensivos comienzan a liberar toxinas y citoquinas, incluyendo TNF- α , ahora se vuelven

dañinas para el organismo, dando como resultado daño y pérdida de tejido. En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para tratar inflamación y enfermedades inflamatorias que comprende administrar un compuesto como se ha descrito en el presente documento. Las enfermedades inflamatorias incluyen afecciones agudas (por ejemplo, bronquitis, conjuntivitis, pancreatitis) y crónicas (por ejemplo, colecistitis crónica, bronquiectasis, estenosis de la válvula aórtica, reestenosis, psoriasis y artritis), junto con afecciones asociadas con inflamación tales como fibrosis, infección e isquemia. En determinadas realizaciones, la invención se refiere a métodos para tratar afecciones mediante las cuales un órgano está inflamado, tales como miocarditis autoinmune y tiroiditis autoinmune.

A continuación del daño tisular, incluyendo daño debido al proceso de inflamación, comienza la progresión de la regeneración y la reparación. Durante la etapa de regeneración, la pérdida de tejido se reemplaza por proliferación de células del mismo tipo, que reconstruyen la arquitectura normal. Sin embargo, la regeneración inapropiada de la arquitectura del tejido puede tener consecuencias graves. En algunos casos de enfermedad hepática inflamatoria crónica, el tejido regenerado forma una arquitectura nodular anormal que conduce a cirrosis e hipertensión portal. El proceso de reparación da como resultado pérdida de tejidos que se reemplazan por una cicatriz fibrosa que se produce a partir de tejido de granulación. La fibrosis es la formación excesiva y persistente del tejido cicatricial que se produce como resultado del crecimiento hiperproliferativo de fibroblastos y está asociada con la activación de la ruta de señalización de TGF- β . La fibrosis implica depósito extensivo de matriz extracelular y puede ocurrir dentro de prácticamente cualquier tejido o a través de varios tejidos diferentes. Normalmente, el nivel de proteína de señalización intracelular (Smad) que activa la transcripción de genes diana tras la estimulación de TGF- β está regulado por la actividad de proteasoma (Xu *et al.*, 2000). Sin embargo, la degradación acelerada de los componentes de señalización TGF- β se ha observado en cánceres y otras afecciones hiperproliferativas. Por lo tanto, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para tratar una afección hiperproliferativa seleccionada entre diabetes (tal como de tipo 1, de tipo 2 y síndrome metabólico), retinopatía diabética, degeneración macular, nefropatía diabética, glomérulo esclerosis, nefropatía de IgA, cirrosis, atresia biliar, insuficiencia cardíaca congestiva, esclerodermia, fibrosis inducida por radiación y fibrosis pulmonar (fibrosis pulmonar idiopática, enfermedad vascular del colágeno, sarcoidosis, enfermedades pulmonares intersticiales y trastornos pulmonares extrínsecos), que comprende administrar un compuesto como se describe en el presente documento. El tratamiento de víctimas quemadas con frecuencia está obstaculizado por fibrosis, por tanto, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a la administración tópica o sistémica de un compuesto como se describe en el presente documento

para tratar quemaduras. El cierre de heridas a continuación de cirugía con frecuencia está asociado con cicatrices desfigurantes, que se pueden prevenir mediante la inhibición de la fibrosis. Por tanto, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para la prevención o reducción de cicatrización, que comprende administrar un compuesto como se describe en el presente documento.

La infección por bacterias, parásitos o virus da como resultado el inicio del proceso inflamatorio. Cuando la inflamación resultante abruma a todo el organismo, se produce el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS). El término sepsis se aplica cuando éste se debe a infección. La sobreproducción de citoquinas inducidas por lipopolisacárido (LPS) tales como $\text{TNF}\alpha$ se considera que es central al proceso asociado con choque séptico. De forma no sorprendente, LPS también induce un aumento en todos los componentes de las rutas de CMH-1 incluyendo las subunidades de inmunoproteasoma LMP2 y LMP7 (MacAry *et al.*, PNAS 98: 3982-3987, 2001). Además, se acepta de forma general que la primera etapa en la activación de células por LPS es la unión de LPS a receptores de membrana específicos. Las subunidades α y β del complejo de proteasoma 20S se han identificado como proteínas de unión a LPS, sugiriendo que la transducción de señal inducida por LPS puede ser una diana terapéutica importante en el tratamiento o prevención de sepsis (Qureshi, N. *et al.*, J. Immun. (2003) 171: 1515-1525). Por lo tanto, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a prevenir o tratar choque séptico, que comprende administrar un compuesto como se divulga en el presente documento.

En otra realización, las composiciones divulgadas son útiles para el tratamiento de una infección parasitaria, tal como infecciones causadas por parásitos protozoarios. El proteasoma de estos parásitos se considera que está implicado principalmente en actividades de diferenciación y replicación celular (Paugam *et al.*, Trends Parasitol. 2003, 19(2): 55-59). Además, se ha demostrado que especies de entamoeba pierden la capacidad de enquistación cuando se exponen a inhibidores de proteasoma (Gonzales, *et al.*, Arch. Med. Res. 1997, 28, Spec N°: 139-140). En determinadas de tales realizaciones, los compuestos divulgados en el presente documento son útiles para el tratamiento de infecciones parasitarias en seres humanos causadas por un parásito protozoario seleccionado entre *Plasmodium* *sps.* (incluyendo *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale*, que causan malaria), *Trypanosoma* *sps.* (incluyendo *T. cruzi*, que causa enfermedad de Chagas y *T. brucei* que causa enfermedad del sueño africano), *Leishmania* *sps.* (incluyendo *L. amazonensis*, *L. donovani*, *L. infantum*, *L. mexicana*, etc.), *Pneumocystis carinii* (un protozoario que se conoce que causa neumonía en pacientes con SIDA o inmunosuprimidos por otras causas), *Toxoplasma gondii*, *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba invadens* y *Giardia lamblia*. En determinadas realizaciones, las composiciones divulgadas son útiles para el tratamiento de

infecciones parasitarias en animales y ganado causadas por un parásito protozooario seleccionado entre *Plasmodium hermani*, *Cryptosporidium* sps., *Echinococcus granulosus*, *Eimeria tenella*, *Sarcocystis neurona* y *Neurospora crassa*. Otros compuestos útiles como inhibidores de proteasoma en el tratamiento de enfermedades parasitarias se describen en el documento WO 98/10779, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

En determinadas realizaciones, los compuestos divulgados en el presente documento pueden inhibir la actividad de proteasoma en un parásito sin recuperación en glóbulos blancos. En determinadas de tales realizaciones, la semivida larga de los glóbulos blancos puede proporcionar protección prolongada con respecto a la terapia frente a exposiciones recurrentes a parásitos. En determinadas realizaciones, los compuestos como se describe en el presente documento pueden proporcionar protección prolongada con respecto a quimioprolifaxis frente a infección futura.

Las infecciones virales contribuyen a la patología de muchas enfermedades. Las afecciones cardíacas tales como miocarditis en curso y cardiomiopatía dilatada se han relacionado con el coxsakievirus B3. En análisis de microserie de genoma completo comparativo de corazones de ratón infectados, las tres subunidades de proteasoma se regularon positivamente de forma uniforme en corazones de ratones que desarrollaron miocarditis crónica (Szalay *et al.*, Am J Pathol 168: 1542-52, 2006). Algunos virus utilizan el sistema de ubiquitina-proteasoma en la etapa de entrada viral donde el virus se libera a partir del endosoma en el citosol. El virus de hepatitis de ratón (MHV) pertenece a la familia *Coronaviridae*, que también incluye el coronavirus de síndrome respiratorio agudo grave (SARS). Yu y Lai (J Virol 79: 644-648, 2005) demostraron que el tratamiento de células infectadas con MHV con un inhibidor de proteasoma daba como resultado una reducción de la replicación viral, que se correlacionaba con el título viral reducido en comparación con el de células no tratadas. El virus de hepatitis humana B (HBV), un miembro de la familia de virus *Hepadnaviridae*, requiere que se propaguen las proteínas de envuelta codificadas viralmente. La inhibición de la ruta de degradación de proteasoma provoca una reducción significativa en la cantidad de proteínas de envuelta secretadas (Simsek *et al.*, J Virol 79: 12914-12920, 2005). Además de HBV, otros virus de hepatitis (A, C, D y E) también utilizan la ruta de degradación de ubiquitina-proteasoma para secreción, morfogénesis y patogénesis. Por consiguiente, en determinadas realizaciones la invención se refiere a tratamiento de una infección viral, que comprende administrar un compuesto como se divulga en el presente documento.

La bacteria *Listeria monocytogenes* provoca una afección conocida como listeriosis, cuyas manifestaciones varían desde leves (náusea, vómitos y diarrea) a graves (septicemia, meningitis, encefalitis). Un análisis cuantitativo de los cambios en la composición de subunidad de proteasoma reveló que la infección de ratones

con virus de coriomeningitis linfocítica o *Listeria monocytogenes* conduce a un reemplazo casi completo de los proteasomas constitutivos por inmunoproteasomas en el hígado en el intervalo de siete días (Khan *et al.*, J Immunol 167: 6859-6868, 2001). Los procariotas tienen lo que es equivalente a la partícula de proteasoma 20S de eucariotas. Mientras que la composición de subunidad de la partícula 20S de procariotas es más simple que la de los eucariotas, la misma tiene la capacidad de hidrolizar enlaces peptídicos de una manera similar. Por ejemplo, el ataque nucleofílico del enlace peptídico ocurre a través del resto de treonina en el extremo N de las subunidades β . Por tanto, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para tratar infecciones procariotas, que comprenden administrar un compuesto como se divulga en el presente documento. Las infecciones procariotas pueden incluir enfermedades causadas por *mycobacteria* (tal como tuberculosis, lepra o Úlcera de Buruli) o *archaeobacteria*.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para tratar infección (por ejemplo, bacteriana, parasitaria o viral), que comprende poner en contacto una célula con un compuesto como se divulga en el presente documento. En determinadas realizaciones alternativas, la invención se refiere a un método para tratar infección, que comprende administrar un compuesto como se divulga en el presente documento.

La isquemia y lesión de reperfusión da como resultado hipoxia, una afección en la cual existe una deficiencia de oxígeno que llega a los tejidos del organismo. Esta afección causa degradación aumentada de $I\kappa$ -B α , dando como resultado de ese modo la activación de NF- κ B (Koong *et al.*, 1994). De forma interesante, los factores que se habían identificado como que son capaces de potenciar la expresión de inmunoproteasoma, TNF- α y lipopolisacárido, también estimulan la activación de NF- κ B. Se ha demostrado que la gravedad de la lesión que da como resultado hipoxia se puede reducir con la administración de un inhibidor de proteasoma (Gao *et al.*, 2000; Bao *et al.*, 2001; Pye *et al.*, 2003). Por lo tanto, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para tratar una afección isquémica o lesión de reperfusión, que comprende administrar un compuesto como se divulga en el presente documento. Los ejemplos de tales afecciones o lesiones incluyen, pero sin limitación, síndrome coronario agudo (placas vulnerables), enfermedad oclusiva arterial (oclusiones cardíaca, cerebral, arterial periférica y vascular), aterosclerosis (esclerosis coronaria, arteriopatía coronaria), infartos, insuficiencia cardíaca, pancreatitis, hipertrofia miocárdica, estenosis y reestenosis.

La caquexia es un síndrome caracterizado por el desgaste del músculo esquelético asociado con proteólisis potenciada debido a la ruta de ubiquitina-proteasoma. La inhibición del proteasoma reduce la proteólisis, reduciendo de ese modo tanto la pérdida de proteína muscular como la carga de nitrógeno en riñones o hígado (Tawa *et al.*, JCI 100: 197-203, 1997). En caquexia,

se ha registrado la expresión elevada de citoquinas proinflamatorias, TNF- α e IFN- γ , las cuales estimulan la expresión de subunidades de inmunoproteasoma (Acharyya *et al.*, JCI 114: 370-378, 2004). De hecho, la mayoría de los tipos de atrofia muscular muestran índices elevados de degradación de proteína (Lecker *et al.*, FASEB J 18: 39-51, 2004). El desgaste muscular se manifiesta por sí mismo en varias enfermedades con peligro para la vida, incluyendo cáncer, sepsis, insuficiencia renal, SIDA, ayuno, atrofia por denervación, acidosis, diabetes, atrofia por desuso e insuficiencia cardíaca congestiva. En determinadas realizaciones, la invención se refiere al tratamiento de caquexia o enfermedad de desgaste muscular, que comprende administrar un compuesto como se divulga en el presente documento. Los compuestos de la invención pueden ser útiles para tratar afecciones tales como cáncer, enfermedades infecciosas crónicas, fiebre, desuso muscular (atrofia) y denervación, lesión nerviosa, ayuno, insuficiencia renal asociada con acidosis e insuficiencia hepática. Véase, por ejemplo, Goldberg, Patente de Estados Unidos N° 5.340.736.

La degradación de determinadas proteínas mediante los mecanismos de señalización con efectos de proteasoma que, a su vez, producen la transcripción génica, el ciclo celular y las rutas metabólicas. Como se ha indicado anteriormente, los inhibidores de proteasoma, bloquean tanto la degradación como el procesamiento de NK- κ B ubiquitinado *in vitro* e *in vivo*. Los inhibidores de proteasoma también bloquean la degradación de I κ B-A y la activación de NF- κ B (Palombella *et al.*, Cell (1994) 78: 773-785; y Traenckner *et al.*, EMBO I. (1994) 13: 5433-5441). En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para inhibir la degradación de I κ B- α , que comprende poner en contacto la célula con un compuesto como se describe en el presente documento.

En determinadas realizaciones, la invención se refiere a métodos para influir sobre los ciclos de células eucariotas dependientes de ciclina, incluyendo exponer a una célula (*in vitro* o *in vivo*) a un compuesto como se divulga en el presente documento. Las ciclinas son proteínas implicadas en el control del ciclo celular. El proteasoma participa en la degradación de ciclinas. Los ejemplos de ciclinas, incluyen ciclinas mitóticas, ciclinas G1 y ciclina B. La degradación de ciclinas posibilita que una célula salga de una fase de ciclo celular (por ejemplo, mitosis) y entre en otra (por ejemplo, división). Se cree que todas las ciclinas están asociadas con proteína quinasa p34^{cdc2} o quinasas relacionadas. La señal de dirección de proteólisis se localiza en los aminoácidos 42-50 (caja de destrucción). Existe evidencia de que la ciclina se convierte en una forma vulnerable a una ubiquitina ligasa o que una ligasa específica de ciclina se activa durante la mitosis (Ciechanover, A., Cell, (1994) 79: 13-21). La inhibición de proteasoma inhibe la degradación de ciclina y por lo tanto inhibe la proliferación celular, por ejemplo, en cánceres relacionados con ciclina (Kumatori *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990) 87: 7071-7075). En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un

método para tratar una enfermedad proliferativa en un sujeto (por ejemplo, cáncer, psoriasis o reestenosis), que comprende administrar un compuesto como se divulga en el presente documento. En determinadas realizaciones, la invención también se refiere a un método para tratar inflamación relacionada con ciclina, que comprende

5 administrar un compuesto como se describe en el presente documento.

En reticulocitos en maduración y fibroblastos en crecimiento o células privadas de insulina o suero, la velocidad de proteólisis casi se duplica, sugiriendo un papel para el proteasoma en el metabolismo celular. Por consiguiente, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a métodos para reducir la

10 velocidad de degradación de proteína intracelular en una célula. Cada uno de estos métodos comprende poner en contacto una célula (*in vivo* o *in vitro*) con un compuesto como se divulga en el presente documento.

La enfermedad de Alzheimer (AD) es un trastorno progresivo de enfermedad neurodegenerativa asociado con una pérdida de función cognitiva superior. Las

15 huellas patológicas de la enfermedad incluyen placas amiloides seniles, ovillos neurofibrilares, neuritis distrófica y pérdida neuronal significativa en regiones seleccionadas del cerebro. La microglia, los macrófagos residentes en el cerebro, liberan numerosas citoquinas proinflamatorias, incluyendo TNF- α , cuando se activan mediante A β 42, un péptido asociado con placas amiloides neuríticas y

20 vasculares. Esta respuesta inflamatoria mediada por la microglia contribuye a pérdida neuronal significativa. Estudios basados en células demostraron que neuronas corticales primarias tratadas con medio condicionado a partir de células BV2 de microglia estimuladas con LPS/INF- γ o sonicadas con péptidos A β 42 dieron como resultado aproximadamente una reducción del 60% en viabilidad celular (Gan

25 *et al.*, 1. Biol. Chem. 279: 5565-5572, 2004). Una expresión más elevada de inmunoproteasoma se encuentra en tejido cerebral de pacientes con AD que en la de adultos mayores sin demencia (Mishto *et al.*, Neurobiol Aging 27: 54-66, 2006).

Los pacientes que sufren enfermedad de Huntington (HD), otro trastorno neurodegenerativo, presentan disfunción motora y deterioro cognitivo a lo largo de

30 un período de años hasta la muerte. Tras la autopsia, la presencia de inclusiones o agregados intraneuronales, causados por una mutación de expansión poliQ (también denominada expansión de repetición de triplete CAG), se puede detectar, acompañada por atrofia significativa en las partes del estriado y la corteza del cerebro. La inmunohistoquímica reveló que había una potenciación significativa en

35 la expresión de inmunoproteasoma en el estriado y la corteza frontal de cerebros de pacientes con HD en comparación con aquellos de adultos normales de igual edad (Díaz-Hernández *et al.*, J Neurosci 23: 11653-11661, 2003). Tras análisis posterior, se descubrió que la potenciación ocurría principalmente en las neuronas en degeneración. Usando un modelo de ratón de HD, los investigadores observaron un

40 aumento selectivo en actividades tanto similar a quimotripsina como similar a tripsina en las regiones afectadas y que contenían agregados del cerebro,

principalmente la corteza y el estriado (Díaz-Hernández *et al.*, J Neurosci 23: 11653-11661, 2003).

Por consiguiente, determinadas realizaciones de la invención se refieren a un método para tratar una enfermedad o afección neurodegenerativa, que comprende

5 administrar un compuesto como se divulga en el presente documento. Las enfermedades y afecciones neurodegenerativas incluyen, pero sin limitación, apoplejía, daño isquémico al sistema nervioso, trauma neural (por ejemplo, daño cerebral por percusión, lesión de médula espinal y daño traumático al sistema nervioso), esclerosis múltiple y otras neuropatías mediadas por el sistema inmune

10 (por ejemplo, Síndrome Guillain-Barre y sus variantes, neuropatía axonal motora aguda, polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda y Síndrome de Fisher), complejo de demencia por VIH/SIDA, axonomía, neuropatía diabética, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, meningitis bacteriana, parasitaria, fúngica y viral, encefalitis, demencia vascular, demencia multi-infarto,

15 demencia por cuerpos de Lewy, demencia de lóbulo frontal tal como enfermedad de Pick, demencias subcorticales (tal como Huntington o parálisis supranuclear progresiva), síndromes de atrofia cortical focal (tal como afasia primaria), demencias metabólicas-tóxicas (tal como hipotiroidismo crónico o deficiencia de B12) y demencias causadas por infecciones (tales como sífilis o meningitis crónica).

20 También se ha demostrado que los inhibidores que se unen al proteasoma 20S estimulan la formación de hueso en cultivos de órgano óseo. Además, cuando tales inhibidores se han administrado por vía sistémica a ratones, determinados inhibidores de proteasoma aumentaron el volumen óseo y los índices de formación ósea por encima del 70% (Garrett, 1. R. *et al.*, J. Clin. Invest. (2003) 111: 1771-

25 1782), sugiriendo por lo tanto que la maquinaria de ubiquitina-proteasoma regula la diferenciación de osteoblastos y la formación ósea. Por lo tanto, las composiciones inhibitoras de proteasoma divulgadas pueden ser útiles en el tratamiento y/o prevención de enfermedades asociadas con pérdida ósea, tales como osteoporosis.

Cáncer es un término general para enfermedad caracterizada por

30 crecimiento descontrolado y anormal de células. Muchos cánceres surgen a través de rutas multietapa que implican la inactivación de proteínas supresoras de tumor y activación de péptidos oncogénicos. Las células de cáncer se pueden propagar a otras partes del organismo a través del sistema linfático o el torrente sanguíneo. Habitualmente, el cáncer se clasifica de acuerdo con el tipo de tejido o célula que

35 está implicado de forma más prominente. Como se ha indicado previamente, la inhibición de proteasoma se ha validado previamente como una estrategia terapéutica para el tratamiento de cáncer, particularmente mieloma múltiple. Las células del mieloma múltiple poseen ambas formas de proteasoma, aunque la proporción puede variar en algún grado. El mieloma múltiple es una enfermedad

40 hematológica caracterizada por un número excesivo de células plasmáticas anormales en la médula ósea. Las células plasmáticas se desarrollan a partir de

células B, por tanto, no es sorprendente que otras malignidades de células B también expresen inmunoproteasoma a algún nivel. Excepto por dos líneas de células de leucemia mielógena crónica, los cánceres hemo-relacionados (por ejemplo, mieloma múltiple, leucemias y linfomas) generalmente parecen expresar inmunoproteasoma. Las células de cáncer que se originan a partir de células linfoides expresan el 30% o más de inmunoproteasoma. En determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para el tratamiento de cáncer, que comprende administrar un compuesto como se ha descrito en el presente documento. En determinadas realizaciones preferidas, el cáncer es un trastorno hemo-relacionado. En determinadas realizaciones, el cáncer se selecciona entre un tumor sólido, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma cervical y carcinoma de pulmón de células pequeñas.

El tratamiento de células con INF- γ puede inducir expresión de inmunoproteasoma. Por lo tanto, en determinadas realizaciones, la invención se refiere a un método para tratar cáncer que comprende administrar un compuesto como se divulga en el presente documento.

Administración

Los compuestos preparados como se ha descrito en el presente documento se pueden administrar de diversas formas, dependiendo del trastorno que se tiene que tratar y la edad, condición y peso corporal del paciente, como se conoce bien en la técnica. Por ejemplo, cuando los compuestos se tienen que administrar por vía oral, los mismos se pueden formular como comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos o jarabes; o para administración parenteral, los mismos se pueden formular como inyecciones (intravenosa, intramuscular o subcutánea), preparaciones de infusión de goteo o supositorios. Para aplicación mediante la vía de la membrana mucosa oftálmica, las mismas se pueden formular como colirios o ungüentos oculares. Estas formulaciones se pueden preparar mediante medios convencionales y, si se desea, el ingrediente activo se puede mezclar con cualquier aditivo o excipiente convencional, tal como un aglutinante, un agente disgregante, un lubricante, un corrector, un agente solubilizante, una ayuda de suspensión, un agente emulsificante, un agente de revestimiento, una ciclodextrina y/o un tampón. Aunque la dosis variará dependiendo de los síntomas, la edad y peso corporal del paciente, la naturaleza y gravedad del trastorno que se tiene que tratar o prevenir, la vía de administración y la forma del fármaco, en general, se recomienda una dosis diaria de desde 0,01 hasta 2000 mg del compuesto para un paciente humano adulto, y ésta se puede administrar en una dosis única o en dosis divididas. La cantidad del ingrediente activo que se puede combinar con un material de transporte para producir una forma de dosificación única generalmente será aquella cantidad del compuesto que produzca un efecto terapéutico.

El tiempo exacto de la administración y/o la cantidad de la composición que producirá los resultados más eficaces en términos de la eficacia del tratamiento en

un paciente dado dependerán de la actividad, farmacocinética y biodisponibilidad de un compuesto particular, condición fisiológica del paciente (incluyendo edad, sexo, tipo de enfermedad y fase, condición física general, sensibilidad a una dosis determinada y tipo de la medicación), vía de administración, etc. Sin embargo, las

5 directrices anteriores se pueden usar como la base para ajustar el tratamiento, por ejemplo, determinar el momento óptimo y/o la cantidad de la administración, que requerirá no más que experimentación de rutina que consiste en la supervisión del sujeto y el ajuste de la dosis y/o el tiempo.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente

10 documento para referirse a aquellos ligandos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance de la buena práctica médica, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, acorde con una proporción beneficio/riesgo razonable.

15 La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" como se usa en el presente documento significa un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como una carga, diluyente, excipiente, disolvente o material de encapsulación líquido o sólido. Cada vehículo tiene que ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la

20 formulación y no dañinos para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz, almidón de patata y β -ciclodextrina sustituida o no sustituida; (3) celulosa, y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4), goma tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco;

25 (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras de supositorios; (9) aceites, tales como aceite de cacahuate, aceite de semilla de algodón, aceite de colza, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja, (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes de tamponamiento, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua sin pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones de tampón fosfato; y (21) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones

35 farmacéuticas. En determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención son no pirógenas, es decir, no inducen elevación de temperatura significativa cuando se administran a un paciente.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales de adición de ácido inorgánicas y orgánicas relativamente no tóxicas del inhibidor o

40 inhibidores. Estas sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento y purificación finales del inhibidor o inhibidores o sometiendo a reacción por separado

un inhibidor o inhibidores purificados en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y aislando la sal formada de ese modo. Las sales representativas incluyen las sales de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato, laurilsulfonato y sales de aminoácidos y similares (Véase, por ejemplo, Berge *et al.* (1977) "Pharmaceutical Salts", 1. Pharm. Sci. 66: 1-19.)

En otros casos, los inhibidores útiles en los métodos de la presente invención pueden contener uno o más grupos funcionales ácidos y, por tanto, ser capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con bases farmacéuticamente aceptables. La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" en estos casos se refiere a las sales de adición de bases inorgánicas y orgánicas relativamente no tóxicas de un inhibidor o inhibidores. Estas sales de igual forma se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento y purificación finales del inhibidor o inhibidores o sometiendo a reacción por separado el inhibidor o inhibidores purificados en su forma de ácido libre con una base adecuada, tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión de metal farmacéuticamente aceptable, con amoníaco o con una amina primaria, secundaria o terciaria orgánica farmacéuticamente aceptable. Las sales alcalinas o alcalinotérreas representativas incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio y similares. Las aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de base incluyen dietilamina, etilenodiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, y similares (véase, por ejemplo, Berge *et al.*, mencionado anteriormente).

En las composiciones también pueden estar presentes agentes humectantes, emulsificantes y lubricantes, tales como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como también agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de revestimiento, edulcorantes, saporíferos y agentes de perfume, conservantes y antioxidantes.

Los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio y similares; (2) antioxidantes solubles en aceites, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, propil galato, alfa-tocoferol y similares; y (3) agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilenodiamina tetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares.

Las formulaciones adecuadas para administración oral pueden estar en forma de cápsulas, obleas, píldoras, comprimidos, grageas (usando una base saborizada, habitualmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto), polvos, gránulos o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como

una emulsión de aceite-en-agua o de agua-en-aceite o como un elixir o jarabe o como pastillas (que usan una matriz inerte, tal como gelatina y glicerina o sacarosa o goma arábica) y/o como enjuagues bucales y similares, cada uno conteniendo una cantidad predeterminada de un inhibidor o inhibidores como un ingrediente activo. Una composición también se puede administrar como un bolo, remedio o pasta.

En formas de dosificación sólidas para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el ingrediente activo se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o cualquiera de los siguientes: (1) cargas o prolongadores, tales como almidones, ciclodextrinas, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o goma arábica; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o de tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y carbonato de sodio; (5) agentes retardantes de solución, tales como parafina; (6) aceleradores de absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol acetílico y monoestereato de glicerol; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio y mezclas de los mismos; y (10) agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes de tamponamiento. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como cargas en cápsulas de gelatina blandas y duras rellenas usando excipientes tales como lactosa o azúcares de leche, así como también polietilenglicoles de peso molecular elevado y similares.

Un comprimido se puede preparar mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos preparados por compresión se pueden preparar usando aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetil celulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, glicolato de almidón de sodio o carboximetilcelulosa de sodio reticulada), agente tensioactivo o de dispersión. Los comprimidos preparados por moldeo se pueden preparar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del inhibidor o los inhibidores en polvo humedecida con diluyente líquido inerte.

Los comprimidos y otras formas de dosificación sólidas, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, se pueden ranurar opcionalmente o preparar con revestimientos y cubiertas, tales como revestimientos entéricos y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Los mismos también se pueden formular de forma de proporcionar liberación lenta o controlada del ingrediente activo en el mismo usando, por ejemplo,

hidroxipropilmetil celulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Los mismos se pueden esterilizar mediante, por ejemplo, filtración a través de un filtro que retiene bacterias o mediante incorporación de agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en agua estéril o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes del uso. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden ser de una composición tal que las mismas liberen el ingrediente o los ingredientes activos únicamente o, preferentemente, en una parte determinada del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de una manera retardada. Los ejemplos de composiciones de incrustación que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también puede estar en forma microencapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

Las formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Adicionalmente al ingrediente activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes de solubilización y emulsificantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de ajonjolí), glicerol, alcohol tetrahidrofurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grados de sorbitán y mezclas de los mismos.

Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsificantes y de suspensión, edulcorantes, saporíferos, colorantes, perfumes y agentes conservantes.

Las suspensiones, además del inhibidor o inhibidores activos pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilen sorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto y mezclas de los mismos.

Las formulaciones para administración rectal o vaginal se pueden presentar como un supositorio, que se puede preparar mezclando uno o más inhibidores con uno o más excipientes o vehículos no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera de supositorio o un salicilato, que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a la temperatura corporal y, por lo tanto, se fundirá en el recto o cavidad vaginal y liberará el agente activo.

Las formulaciones que son adecuadas para administración vaginal también incluyen compresas, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones

de pulverización que contienen tales vehículos como se conoce que es apropiado en la técnica.

Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un inhibidor o inhibidores incluyen polvos, pulverizados, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. El componente activo se puede mezclar en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y con cualquier conservante, tampón o propulsor que pueda ser necesario.

Los ungüentos, pastas, cremas y geles pueden contener, además del inhibidor o inhibidores, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de cinc o mezclas de los mismos.

Los polvos y pulverizaciones pueden contener, además de un inhibidor o inhibidores, excipientes, tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida o mezclas de estas sustancias. Las pulverizaciones pueden contener adicionalmente propulsores habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos no sustituidos volátiles, tales como butano y propano.

El inhibidor o inhibidores se pueden administrar de forma alternativa mediante aerosoles. Esto se consigue preparando un aerosol acuoso, preparación liposomal o partículas sólidas que contienen la composición. Se podría usar una suspensión no acuosa (por ejemplo, propulsor de fluorocarbono). Los nebulizadores sónicos se prefieren debido a que los mismos minimizan la exposición del agente a la rotura, lo cual puede dar como resultado la degradación del compuesto.

De forma ordinaria, un aerosol acuoso se prepara formulando una solución acuosa o suspensión del agente junto con vehículos y estabilizantes farmacéuticamente aceptables convencionales. Los vehículos y estabilizantes varían con los requerimientos de la composición particular, pero típicamente incluyen tensioactivos no iónicos (Tweens, Pluronic, ésteres de sorbitán, lecitina, Cremophors), codisolventes farmacéuticamente aceptables tales como polietilenglicol, proteínas inocuas tales como albúmina sérica, ácido oleico, aminoácidos tales como glicina, tampones, sales, azúcares o alcoholes de azúcar. Los aerosoles generalmente se preparan a partir de soluciones isotónicas.

Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar administración controlada de un inhibidor o inhibidores al organismo. Tales formas de dosificación se pueden preparar disolviendo o dispersando el agente en el medio apropiado. También se pueden usar potenciadores de absorción para aumentar el flujo del inhibidor o inhibidores a través de la piel. La velocidad de tal flujo se puede controlar proporcionando una membrana de control de velocidad o dispersando el inhibidor o inhibidores en una matriz polimérica o gel.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para

administración parenteral comprenden uno o más inhibidores en combinación con una o más soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas estériles farmacéuticamente aceptables o polvos estériles que se pueden reconstituir en soluciones inyectables estériles o dispersiones inmediatamente
5 antes del uso, que puedan contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos, solutos que vuelven a formulación isotónica con la sangre del receptor pretendido o agentes de suspensión o espesantes.

Los ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que se pueden emplear en las composiciones farmacéuticas de la invención, incluyen agua, etanol,
10 polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares) y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. La fluidez apropiada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de materiales de revestimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula necesario en el caso de
15 dispersiones y mediante el uso de tensioactivos.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes, tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsificantes y agentes de dispersión. La prevención de la acción de microorganismos se puede asegurar mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por
20 ejemplo, parabeno, clorobutanol, ácido sórbico de fenol y similares. También puede ser deseable incluir agentes de ajuste de tonicidad, tales como azúcares, cloruro de sodio y similares en las composiciones. Adicionalmente, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable se puede conseguir mediante la inclusión de agentes que retardan la absorción tales como monoestearato de aluminio y
25 gelatina.

En algunos casos, con el fin de prolongar el efecto de un fármaco, es deseable ralentizar la absorción del fármaco a partir de la inyección subcutánea o intramuscular. Por ejemplo, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada por vía parenteral se consigue disolviendo o suspendiendo el fármaco
30 en un vehículo oleoso.

Las formas de liberación prolongada inyectables se preparan formando matrices de microcápsulas del inhibidor o inhibidores en polímeros biodegradables tales como poliláctido-poliglicólico. Dependiendo de la proporción de fármaco a polímeros y de la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar la
35 velocidad de liberación del fármaco. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de liberación prolongada también se preparan atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con el tejido corporal.

Las preparaciones de agentes se pueden proporcionar por vía oral, por vía
40 parenteral, por vía tópica o por vía rectal. Las mismas se proporcionan, por supuesto, mediante formas adecuadas para cada vía de administración. Por

ejemplo, las mismas se administran en forma de comprimidos o cápsulas, mediante inyección, inhalación, loción ocular, ungüento, supositorio, infusión; por vía tópica mediante loción o ungüento; y por vía rectal mediante supositorios. Se prefiere la administración oral.

5 Las expresiones "administración parenteral" y "administrado por vía parenteral" como se usan en el presente documento significan modos de administración diferentes a la administración enteral y tópica, habitualmente mediante inyección e incluye, sin limitación, inyección intravenosa, intramuscular, intra-arterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, 10 intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intra-articular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal e infusión.

Las expresiones "administración sistémica", "administrado por vía sistémica", "administración periférica" y "administrado por vía periférica" como se usan en el presente documento significa la administración de un ligando, fármaco u otro 15 material de otra manera diferente a directamente al sistema nervioso central, de forma que el mismo entra al sistema del paciente y por tanto, se somete al metabolismo y otros procesos similares, por ejemplo, administración subcutánea.

Este inhibidor o inhibidores se pueden administrar a seres humanos y otros animales para terapias mediante cualquier vía de administración adecuada, 20 incluyendo por vía oral, por vía nasal, como por, por ejemplo, una pulverización, por vía rectal, por vía intravaginal, por vía parenteral, por vía intracisternal y por vía tópica, como mediante polvos, ungüentos o gotas, incluyendo por vía bucal y por vía sublingual.

Independientemente de la vía de administración seleccionada, el inhibidor o 25 inhibidores, que se pueden usar en una forma hidratada adecuada y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la materia.

Los niveles de dosis reales de los ingredientes activos en las composiciones 30 farmacéuticas de la presente invención se pueden variar de forma para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para conseguir la respuesta terapéutica deseada para un paciente particular, composición y modo de administración, sin ser tóxico para el paciente.

La concentración de un compuesto divulgado en una mezcla 35 farmacéuticamente aceptable variará dependiendo de varios factores, incluyendo la dosis del compuesto que se tiene que administrar, las características farmacocinéticas del compuesto o compuestos empleados y la vía de administración. En general, las composiciones de la presente invención se pueden proporcionar en una solución acuosa que contiene aproximadamente el 0,1-10% p/v 40 de un compuesto divulgado en el presente documento, entre otras sustancias, para administración parenteral. Los intervalos de dosis típicos son desde

aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal por día, proporcionados en 1-4 dosis divididas. Cada dosis dividida puede contener el mismo o compuestos diferentes de la invención. La dosis será una cantidad eficaz dependiendo desde varios factores incluyendo la salud global de un paciente y la formulación y vía de administración del compuesto o compuestos seleccionados.

Otro aspecto de la invención proporciona una terapia conjunta en la que uno o más agentes terapéuticos se administran con el inhibidor de proteasoma. Tal tratamiento conjunto se puede conseguir por medio de dosificación simultánea, secuencial o separada de los componentes individuales del tratamiento.

En determinadas realizaciones, un compuesto de la invención se administra conjuntamente con uno o más inhibidor o inhibidores de proteasoma diferentes.

En determinadas realizaciones, un compuesto de la invención se administra conjuntamente con un quimioterapéuticos. Los quimioterapéuticos adecuados pueden incluir, productos naturales tales como alcaloides de vinca (por ejemplo, vinblastina, vincristina y vinorelbina); paclitaxel; epidipodofilotoxinas (por ejemplo, etopósido, tenipósido); antibióticos (por ejemplo, dactinomicina (actinomicina D) daunorrubicina, doxorrubicina e idarrubicina); antraciclinas; mitoxantrona; bleomicinas; plicamicina (mitramicina) y mitomicina; enzimas (L-asparaginasa que metaboliza sistémicamente L-asparagina y priva a las células que no tienen la capacidad de sintetizar su propia asparagina); agentes antiplaquetarios; agentes alquilantes antiproliferativos/antimitóticos tales como mostazas de nitrógeno (mecloretamina, ciclofosfamida y análogos, melfalán, clorambucilo), etileniminas y metilmelaminas (hexametilmelamina y tiotepa); alquil sulfonatos (busulfán); nitrosoureas (carmustina (BCNU) y análogos, estreptozocina); tracenos (por ejemplo, dacarbazina (DTIC)); antimetabolitos antiproliferativos/antimitóticos tales como análogos de ácido fólico (metotrexato), análogos de pirimidina (fluorouracilo, floxuridina y citarabina), análogos de purina e inhibidores relacionados (mercaptopurina, tioguanina, pentostatina y 2-clorodesoxiadenosina); inhibidores de aromatasas (anastrozol, exemestano y letrozol) y complejos de coordinación de platino (cisplatino, carboplatino); procarbazina; hidroxiurea; mitotano; aminoglutetimida; hormonas (por ejemplo, estrógeno); y agonistas de hormonas tales como agonistas de la hormona de liberación de hormona leutinizante (LHRH) (por ejemplo, goserelina, leuprolida y triptorelina).

En determinadas realizaciones, el otro agente terapéutico es un inhibidor de HDAC (por ejemplo, Tricostatina A, depsipéptido, apicidina, A-161906, scriptaid, PXD-101, CHAP, ácido butírico, depudecina, oxamflatina, fenilbutirato, ácido valproico, SAHA (Vorinostat), MS275 (N-(2-Aminofenil)-4-[N-(piridina-3-ilmetoxi-carbonil)aminometil]benzamida), LAQ824/LBH589, CI994 o MGCD0103). En determinadas de tales realizadas el otro agente es SAHA (ácido suberoilánilida hidroxámico).

En determinadas realizaciones, el otro agente terapéutico es un inhibidor de

proteína quinasa (por ejemplo, sorafenib, imatinib, dasatinib, sunitinib, pazopanib y nilotinib). En determinadas de tales realizaciones el inhibidor de proteína quinasa es sorafenib.

5 En determinadas realizaciones, el otro agente quimioterapéutico se selecciona entre mecloretamina, camptotecina, ifosfamida, tamoxifeno, raloxifeno, gemcitabina, navelbina o cualquier análogo o variante derivada de los anteriores.

En determinadas realizaciones, un compuesto de la invención se administra conjuntamente con un esteroide. Los esteroideos adecuados pueden incluir, pero sin limitación, 21-acetoxipregnenolona, alclometasona, algestona, amcinonida, 10 beclometasona, betametasona, budesonida, cloroprednisona, clobetasol, clocortolona, cloprednol, corticosterona, cortisona, cortivazol, deflazacort, desonida, desoximetasona, dexametasona, diflorasona, diflucortolona, difuprednato, enoxolona, fluazacort, fluccloronida, flumetasona, flunisolida, fluocinolona acetona, fluocinonida, fluocortin butilo, fluocortolona, fluorometolona, fluperolona acetato, 15 fluprednidenol acetato, fluprednisolona, flurandrenolida, propionato de fluticasona, formocortal, halcinonida, propionato de halobetasol, halometasona, hidrocortisona, etabonato de loteprednol, mazipredona, medrisona, meprednisolona, metilprednisolona, furoato de mometasona, parametasona, prednicarbat, prednisolona, 25-dietilaminoacetato de prednisolona, fosfato sódico de 20 prednisolona, prednisona, prednival, prednilideno, rimexolona, tixocortol, triamcinolona, triamcinolona acetona, triamcinolona benetonida o triamcinolona hexacetona o una sal o derivados de los mismos.

En determinadas realizaciones, un compuesto de la invención se administra conjuntamente con un agente inmunoterapéutico. Los agentes inmunoterapéuticos 25 adecuados pueden incluir, pero sin limitación, ciclosporina, talidomida (o análogos de talidomida tales como lenalidomida) o anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos monoclonales pueden estar desnudos o conjugados tales como rituximab, tositumomab, alemtuzumab, epratuzumab, ibritumomab tiuxetan, gemtuzumab ozogamicina, bevacizumab, cetuximab, erlotinib o trastuzumab.

30 Definiciones

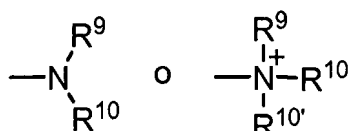
La expresión "alquilo C_{x-y}" se refiere a grupos hidrocarburo saturados, sustituidos o sin sustituir, incluyendo grupos alquilo de cadena lineal y de cadena ramificada que contienen de x a y carbonos en la cadena, incluyendo grupos haloalquilo, tales como trifluorometilo y 2,2,2-trifluoroetilo, etc. alquilo C₀ indica un 35 hidrógeno en el que el grupo está en una posición terminal, un enlace si es interno. Las expresiones "alqueno C_{2-y}" y "alquino C_{2-y}" se refieren a grupos alifáticos insaturados, sustituidos o sin sustituir, análogos en longitud y sustitución posible a los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un doble enlace o un triple enlace, respectivamente.

40 El término "alcoxi" se refiere a un grupo alquilo que tiene un oxígeno conectado al mismo. Los grupos alcoxi representativos incluyen metoxi, etoxi,

propoxi, terc-butoxi y similares. Un "éter" son dos hidrocarburos unidos covalentemente mediante un oxígeno. Por consiguiente, el sustituyente de un alquilo que hace que dicho alquilo sea un éter o se parezca a un alcoxi.

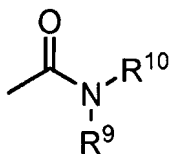
La expresión "aralquilo C₁₋₆", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ sustituido con un grupo arilo.

Los términos "amina" y "amino" están reconocidos en la técnica y se refieren a aminas sin sustituir y sustituidas, y sales de las mismas, por ejemplo, un resto que puede representarse por las fórmulas generales:



en las que cada uno de R⁹, R¹⁰ y R¹⁰ representa independientemente un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo, -(CH₂)_m-R⁸, o R⁹ y R¹⁰ tomados junto con el átomo de N al que están conectados completan un heterociclo que tiene de 4 a 8 átomos en la estructura de anillo; R⁸ representa un arilo, un cicloalquilo, un cicloalquenilo, un heterociclilo o un policiclilo; y m es cero o un número entero de 1 a 8. En realizaciones preferidas, sólo uno de R⁹ o R¹⁰ puede ser un carbonilo, por ejemplo, R⁹, R¹⁰ y el nitrógeno no forman juntos una amida. En realizaciones incluso más preferidas, R⁹ y R¹⁰ (y opcionalmente R¹⁰) representan cada uno independientemente un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo o -(CH₂)_m-R⁸. En determinadas realizaciones, el grupo amino es básico, significando que la forma protonada tiene un pK_a > 7,00.

Los términos "amida" y "amido" están reconocidos en la técnica como un carbonilo sustituido con amino e incluyen un resto que puede representarse por la fórmula general:



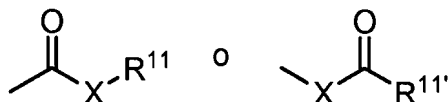
en la que R⁹, R¹⁰ son como se han definido anteriormente. Las realizaciones preferidas de la amida no incluirán imidas que pueden ser inestables.

El término "arilo", como se usa en el presente documento, incluye grupos aromáticos de un solo anillo, sustituidos o sin sustituir, de 5, 6 y 7 miembros en los que cada átomo del anillo es carbono. El término "arilo" también incluye sistemas de anillo policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos, en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos anexos, en los que al menos uno de los anillos es aromático, por ejemplo, pudiendo ser los otros anillos cicloalquilo, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclilos. Los grupos arilo incluyen benceno, naftaleno, fenantreno, fenol, anilina y similares.

Los términos "carbociclo" y "carbociclilo", como se usa en el presente

documento, se refieren a anillos no aromáticos, sustituidos o no sustituidos en los que cada átomo del anillo es carbono. Los términos "carbociclo" y "carbociclilo" también incluyen sistemas de anillo policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos anexos, en los que al menos uno de los anillos es carbocíclico, por ejemplo, pudiendo ser los otros anillos cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclilos.

El término "carbonilo" está reconocido en la técnica e incluye tales restos que pueden representarse por la fórmula general:



en la que X es un enlace o representa un oxígeno o un azufre y R^{11} representa un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo, $-(\text{CH}_2)_m\text{R}^8$ o una sal farmacéuticamente aceptable, R^{11} representa a hidrógeno, un alquilo, un alquenilo o $-(\text{CH}_2)_m\text{R}^8$, en el que m y R^8 son como se han definido anteriormente. Cuando X es un oxígeno y R^{11} o $\text{R}^{11'}$ no es hidrógeno, la fórmula representa un "éster". Cuando X es un oxígeno y R^{11} es un hidrógeno, la fórmula representa un "ácido carboxílico".

Los términos "heteroarilo" incluyen estructuras de anillo aromáticas, sustituidas o sin sustituir, de 5 a 7 miembros, más preferiblemente anillos de 5 a 6 miembros, cuyas estructuras de anillo incluyen de uno a cuatro heteroátomos. El término "heteroarilo" también incluye sistemas de anillo policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos anexos, en los que al menos uno de los anillos es heteroaromático, por ejemplo, pudiendo ser los otros anillos cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclilos. Los grupos heteroarilo incluyen, por ejemplo, pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, triazol, pirazol, piridina, pirazina, piridazina y pirimidina, y similares.

El término "heteroátomo", como se usa en el presente documento, significa un átomo de cualquier elemento distinto de carbono o hidrógeno. Son heteroátomos preferidos nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre.

Las expresiones "heterociclilo" o "grupo heterocíclico" se refieren a estructuras de anillo no aromáticas, sustituidas o sin sustituir de 3 a 10 miembros, más preferiblemente anillos de 3 a 7 miembros, cuyas estructuras de anillo incluyen de uno a cuatro heteroátomos. La expresión "heterociclilo" o "grupo heterocíclico" también incluyen sistemas de anillo policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos anexos, en los que al menos uno de los anillos es heterocíclico, por ejemplo, pudiendo ser los otros anillos cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclilos. Los grupos heterociclilo incluyen, por ejemplo, piperidina, piperazina, pirrolidina, morfolina, lactonas, lactamas y similares.

El término "hidroxialquilo C_{1-6} " se refiere a un grupo alquilo C_{1-6} sustituido con

un grupo hidroxilo.

Los términos "policiclilo" o "policíclico" se refieren a dos o más anillos (por ejemplo, cicloalquilos, cicloalquenos, cicloalquinos, arilos, heteroarilos y/o heterociclilos) en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos anexos, por ejemplo, los anillos son "anillos condensados". Cada uno de los anillos del policiclo puede estar sustituido o sin sustituir.

El término "proteasoma", como se usa en el presente documento, pretende incluir inmunoproteasomas y proteasomas constitutivos.

La expresión "sustancialmente puro", como se usa en el presente documento, se refiere a un polimorfo cristalino que tiene una pureza de más del 90%, significando que tiene menos del 10% de cualquier otro compuesto, incluyendo el compuesto amorfo correspondiente. Preferiblemente, el polimorfo cristalino tiene una pureza superior al 95%, o incluso pureza superior al 98%.

El término "sustituido" se refiere a restos que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno en uno o más de los carbonos de la estructura principal. Se entenderá que "sustitución" o "sustituido con" incluye la condición implícita de que dicha sustitución esté de acuerdo con la valencia permitida de átomo sustituido y del sustituyente, y que la sustitución de como resultado un compuesto estable, por ejemplo, que no experimente espontáneamente transformación, tal como reordenamiento, ciclación, eliminación, etc. Como se usa en el presente documento, el término "sustituido" tiene previsto incluir todos los sustituyentes todos los sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos. En un amplio aspecto, los sustituyentes permisibles incluyen sustituyentes acíclicos y cíclicos, ramificados o no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos de compuestos orgánicos. Los sustituyentes permisibles pueden ser uno o más, e iguales o diferentes para compuestos orgánicos adecuados. Para los propósitos de la presente invención, los heteroátomos, tales como nitrógeno, pueden tener sustituyentes de hidrógeno y/o cualquiera de los sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos descritos en el presente documento que satisfagan las valencias de los heteroátomos. Los sustituyentes pueden incluir, por ejemplo, un halógeno, un hidroxilo, un carbonilo (tal como un carboxilo, un alcoxicarbonilo, un formilo o un acilo), un tiocarbonilo (tal como un tioéster, un tioacetato o un tioformiato), un alcoxilo, un fosforilo, un fosfato, un fosfonato, un fosfinato, un amino, un amido, una amidina, una imina, un ciano, un nitro, un azido, un sulfhidrilo, un alquiltio, un sulfato, un sulfonato, un sulfamoilo, un sulfonamido, un sulfonilo, un heterociclilo, un aralquilo o un resto aromático o heteroaromático. Se entenderá por los expertos en la materia que los restos sustituidos en la cadena de carbono pueden estar a sí mismo sustituidos, si fuera adecuado.

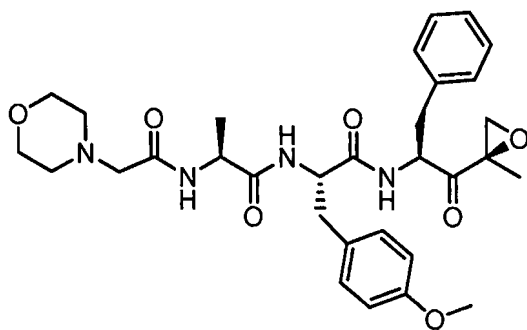
Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto con respecto al método de tratamiento objeto, se refiere a una cantidad del compuesto o compuestos en una preparación que, cuando se administra como parte de un

régimen de dosificación deseado (a un mamífero, preferentemente un ser humano) alivia un síntoma, alivia una afección o ralentiza la aparición de patologías de acuerdo con estándares clínicamente aceptables para el trastorno o afección que se tiene que tratar o el fin cosmético, por ejemplo, a una proporción beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico.

Como se usa en el presente documento, el término "tratar" o "tratamiento" incluye invertir, reducir o detener los síntomas, signos clínicos y patología subyacente de una afección de manera de mejorar o estabilizar la condición de un sujeto.

10 **Ejemplos**

Ejemplo 1



Compuesto 1

El compuesto amorfo 1 (pureza del 90,8% según HPLC, 6,56 g) preparado de acuerdo con la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° de Serie 11/820.490, se disolvió en tolueno (129 ml) en un baño de aceite 60 °C, la solución se enfrió a temperatura ambiente y la mezcla se agitó durante tres horas. Los cristales resultantes se filtraron, se lavaron con tolueno y se secaron al vacío durante 12 horas a 22 °C para proporcionar un solvato de tolueno del Compuesto 1 (pureza del 99,4% según HPLC, 4,63 g).

La curva de DSC característica de la muestra, como se muestra en la Figura 1, se registró en un Calorímetro de Exploración Diferencial 2920 de TA Instruments a una velocidad de calentamiento de 10 °C/minuto.

El patrón de polvo de rayos X característico, como se muestra en la Figura 2, se registró en un Shimadzu XRD-6000 en radiación de Cu Ka [voltaje y corriente establecidos a 40 kV y 40 mA; rendijas de divergencia y dispersión ajustadas a 1° y rendija de recepción ajustada a 0,15 mm; detector de centelleo de NaI usado para radiación difractada; se usó una exploración continua de θ -2 θ a 3°/min (0,4 sec/0,02° etapa) de 2,5 a 40° 2 θ ; las muestras se pusieron en un soporte de aluminio con inserción de silicio; y los datos se recogieron y se analizaron con XRD-6100/7000 v.5.0].

Los análisis termogravimétricos se realizaron con un 2950 de TA Instruments a una velocidad de calentamiento de 10 °C/minuto.

Ejemplo 2

El compuesto amorfo 1 (221 g), preparado de acuerdo con la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° de Serie 11/820.490, se disolvió en 1:1 de tolueno-metil terc-butil éter (4,2 l), se sembró con un solvato de tolueno cristalino del Compuesto 1 y se dejó cristalizar de 15 °C a 25 °C durante 24 horas. Los cristales se
5 filtraron, se lavaron con heptanos y se secaron al vacío durante 24 horas a 40 °C para proporcionar un solvato de tolueno cristalino del Compuesto 1 (pureza de >97,0% según HPLC, 115 g).

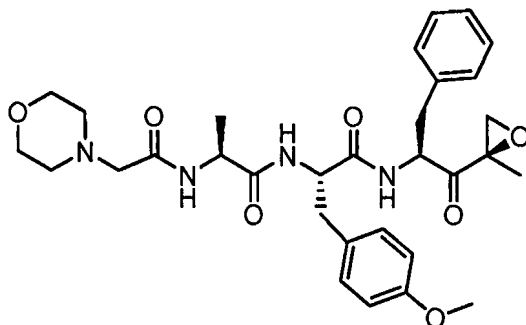
Equivalentes

Los expertos en materia reconocerán, o serán capaces de determinar
10 usando no más que la experimentación de rutina, numerosos equivalentes a los compuestos y métodos de uso de los mismos descritos en el presente documento. Dichos equivalentes se consideran dentro del alcance de la presente invención y están cubiertos por las siguientes reivindicaciones.

Todas las referencias y publicaciones citadas anteriormente se incorporan
15 por la presente por referencia.

REIVINDICACIONES

1. Un método para prepara un compuesto cristalino de Fórmula (II)

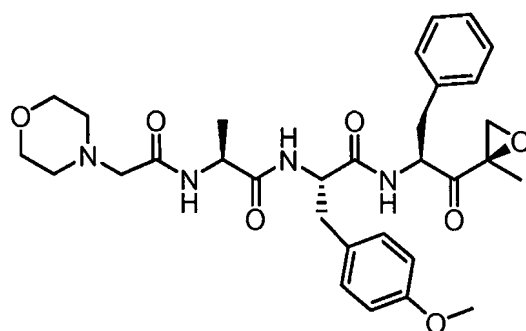


(II)

- 5 que comprende (i) preparar una solución de un compuesto de Fórmula (II) en un disolvente orgánico; (ii) llevar la solución a supersaturación para provocar la formación de cristales; y (iii) aislar los cristales.
- 10 2. Un método de la reivindicación 1, en el que el disolvente orgánico se selecciona entre acetonitrilo, acetona, éter dietílico, éter diisopropílico, acetato de etilo, heptanos, acetato de isopropilo, metanol, metil terc-butil éter, tetrahidrofurano, tolueno o cualquier combinación de los mismos.
- 15 3. Un método de la reivindicación 2, en el que el disolvente orgánico se selecciona entre tolueno, metil terc-butil éter, heptanos o una combinación de los mismos.
- 20 4. Un método de la reivindicación 1, en el que llevar la solución a supersaturación comprende la adición de un anti-disolvente, dejar que se enfríe solución, reducir el volumen de la solución o cualquier combinación de los mismos.
- 25 5. Un método de la reivindicación 4, en el que llevar la solución a supersaturación comprende enfriar la solución a temperatura ambiente y reducir el volumen de la solución.
6. Un método de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente lavar los cristales.
- 30 7. Un método de la reivindicación 6, en el que el lavado comprende lavar con un líquido seleccionado entre anti-disolvente, acetonitrilo, acetona, éter dietílico, éter diisopropílico, etanol, acetato de etilo, heptanos, acetato de isopropilo, metanol, metil terc-butil éter, tetrahidrofurano, tolueno o cualquier combinación de los mismos, o una combinación de los mismos.

39
38

8. Un método de la reivindicación 8, en el que el lavado comprende lavar con una combinación de tolueno y metil terc-butil éter.
9. Un método de la reivindicación 7, en el que el lavado comprende lavar con tolueno.
10. Un método de la reivindicación 1, en el que el aislamiento de los cristales comprende filtrar los cristales.
11. Un método de la reivindicación 1, que comprende además secar los cristales a presión reducida.
12. Un método de la reivindicación 1, en el que el compuesto cristalino de Fórmula (II) es un solvato.
13. Un método de la reivindicación 12, en el que el compuesto cristalino de Fórmula (II) es un solvato de tolueno.
14. Un compuesto cristalino que tiene una estructura de Fórmula (II)



(II)

15. Un compuesto cristalino de la reivindicación 14, que tiene un termograma de DSC sustancialmente como se muestra en la Figura 1.
16. Un compuesto cristalino de la reivindicación 14, que tiene un patrón de XRPD sustancialmente como se muestra en la Figura 2.
17. Un compuesto cristalino de la reivindicación 14 que tiene valores de 2θ $3,62 \pm 0,20$; $6,52 \pm 0,20$; $7,20 \pm 0,20$; $8,66 \pm 0,20$; $10,04 \pm 0,20$; $10,82 \pm 0,20$; $12,98 \pm 0,20$; $14,42 \pm 0,20$; $16,46 \pm 0,20$; $17,32 \pm 0,20$; $17,98 \pm 0,20$; $18,02 \pm 0,20$; $18,88 \pm 0,20$; $19,06 \pm 0,20$; $19,56 \pm 0,20$; $19,88 \pm 0,20$; $20,40 \pm 0,20$; $21,36 \pm 0,20$; $22,16 \pm 0,20$; $23,20 \pm 0,20$; $25,40 \pm 0,20$; $28,82 \pm 0,20$.
18. Un compuesto cristalino de la reivindicación 14, que es un solvato.

37

19. Un compuesto cristalino de la reivindicación 18, que es un solvato de tolueno.
- 5 20. Un método para tratar una enfermedad o afección seleccionada entre una enfermedad relacionada con el sistema inmune, cáncer, inflamación, infección, enfermedad proliferativa o enfermedad neurodegenerativa, que comprende administrar un compuesto cristalino de la reivindicación 14.
- 10 21. Un método de la reivindicación 20, en el que la enfermedad o afección es una enfermedad relacionada con el sistema inmune.
- 15 22. Un método de la reivindicación 21, en el que la enfermedad relacionada con el sistema inmune se selecciona entre enfermedad autoinmune, enfermedad de Crohn, diabetes, lupus, esclerosis múltiple, miositis, psoriasis, artritis reumatoide y colitis ulcerativa.
23. Un método de la reivindicación 20, en el que la enfermedad o afección es cáncer.
- 20 24. Un método de la reivindicación 23, en el que el cáncer se selecciona entre leucemia, linfoma y mieloma múltiple.
- 25 25. Un método de la reivindicación 20, en el que la enfermedad o afección es inflamación.
26. Un método de la reivindicación 20, en el que la enfermedad o afección es una infección.
- 30 27. Un método de la reivindicación 20, en el que la enfermedad o afección es una enfermedad proliferativa.
28. Un método de la reivindicación 20, en el que la enfermedad o afección es una enfermedad neurodegenerativa.

41
40

Figura 1

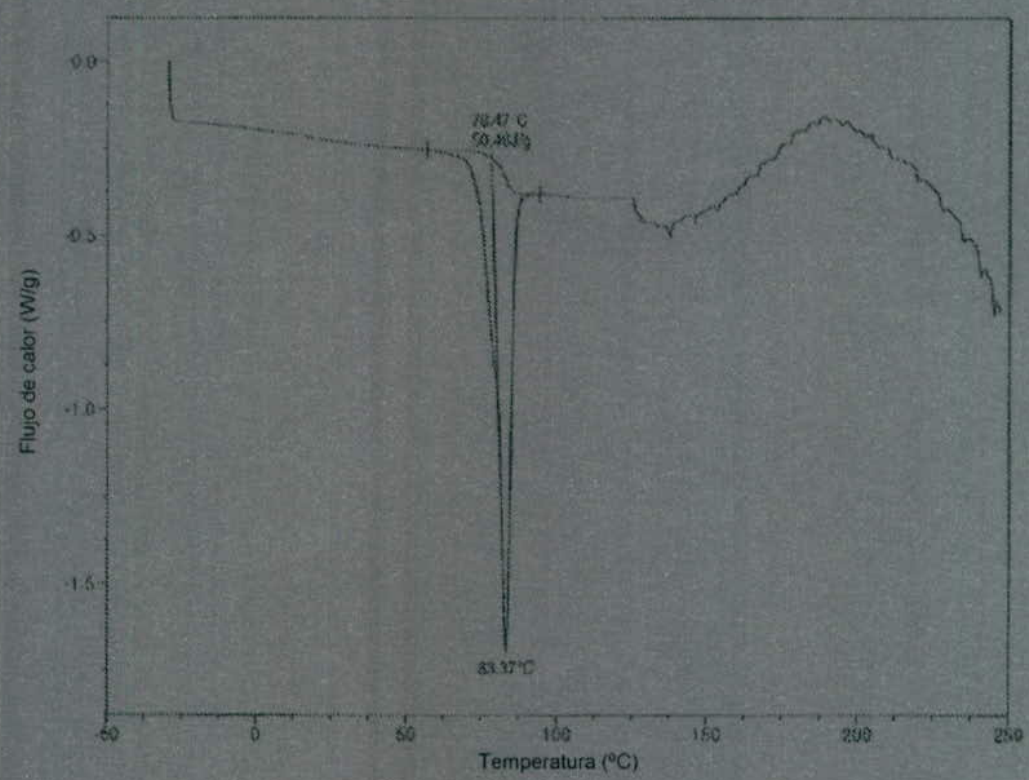
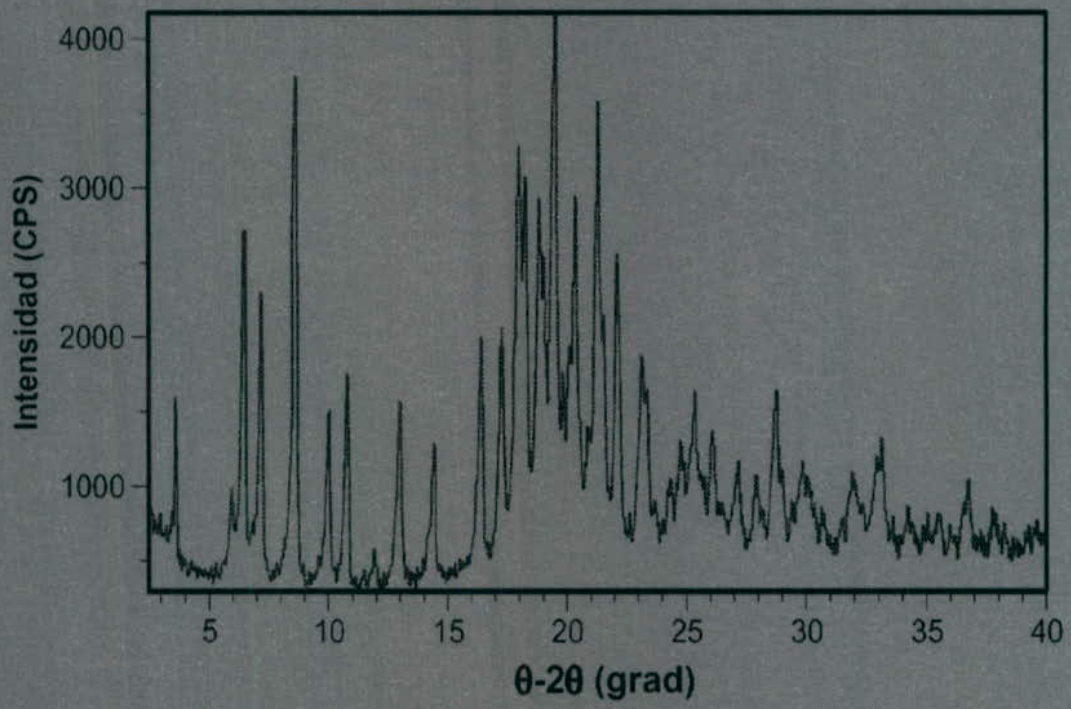


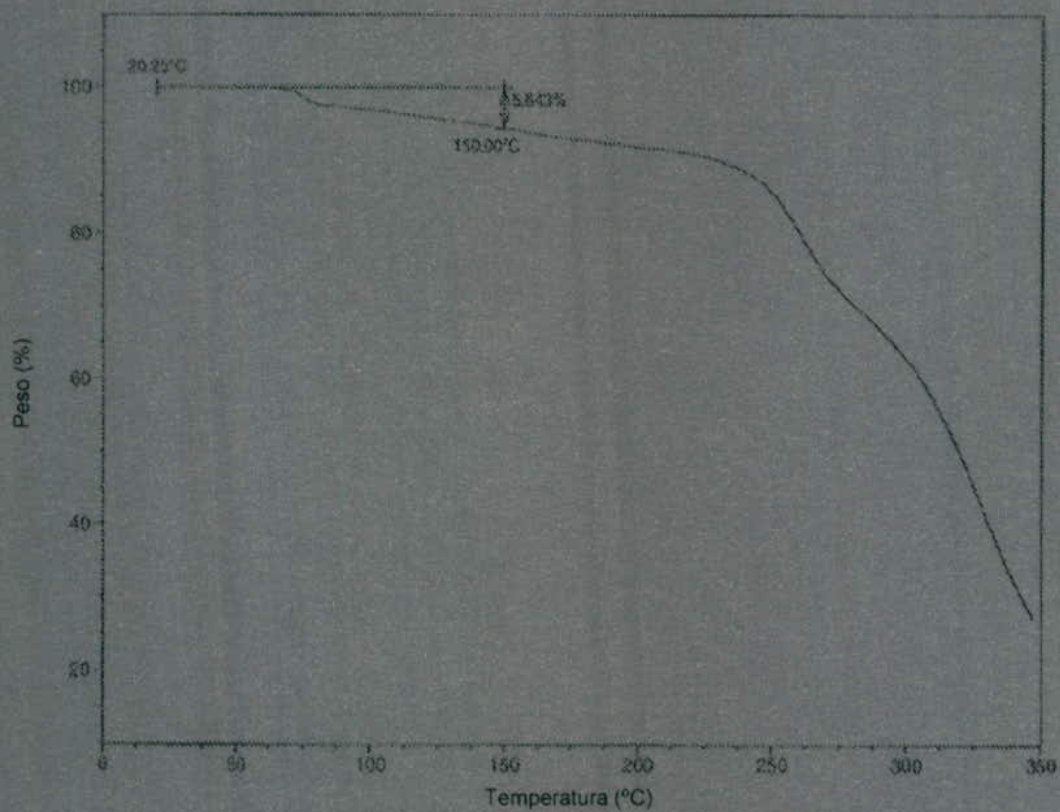
Figura 2



42
41

Figura 3

TGA



41

Figura 4

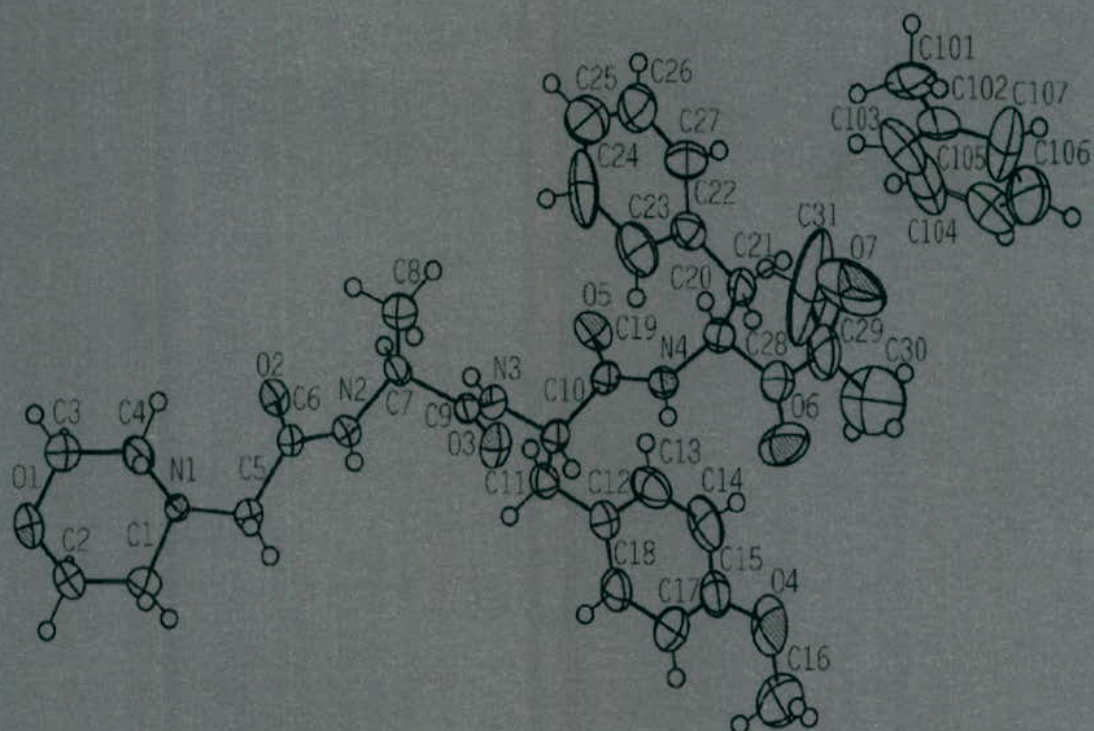
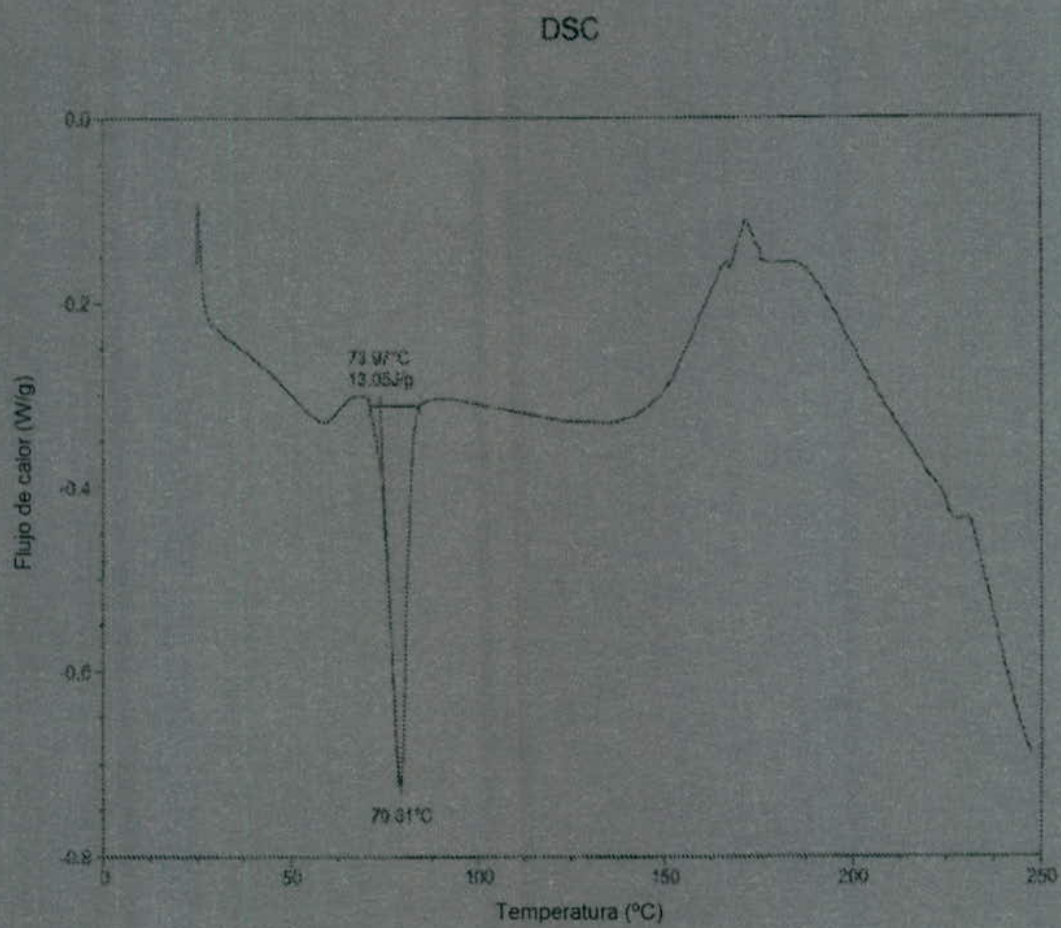
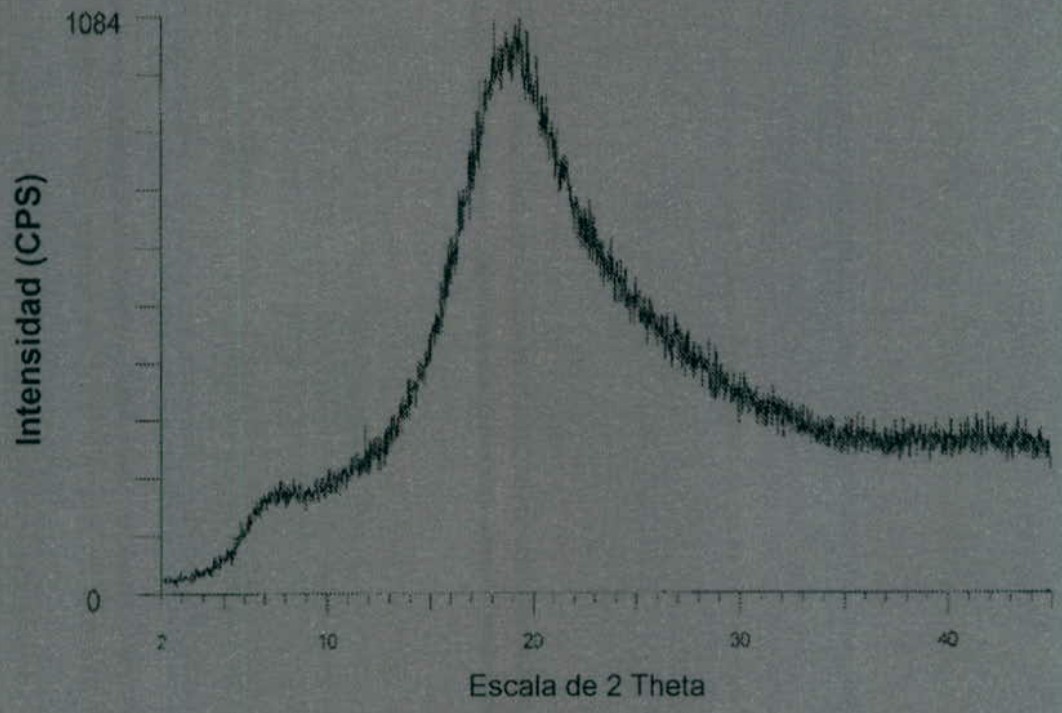


Figura 5



44

Figura 6



44

46
45

RESUMEN

La invención se refiere a compuestos de péptido epoxicetona cristalinos, a métodos para su preparación y a composiciones farmacéuticas relacionadas.

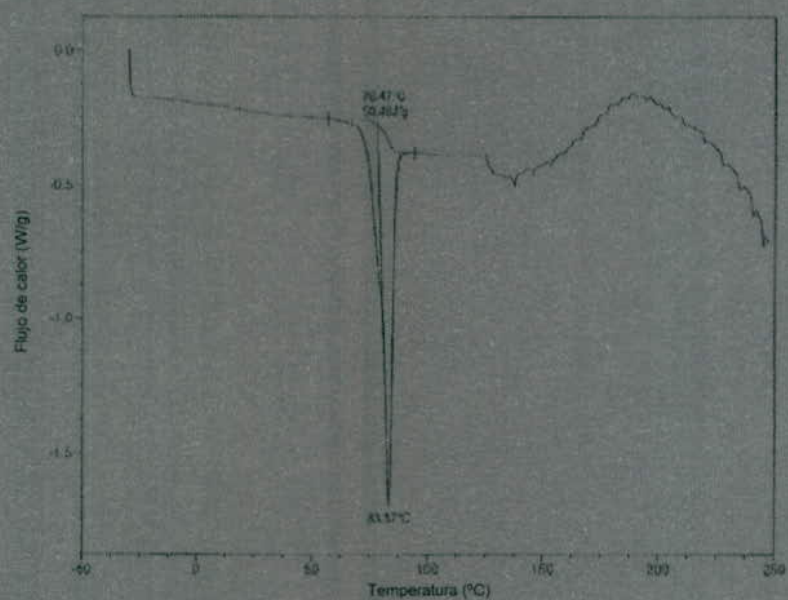
5

45

47
46

1/6

Figura 1



46

48
47

**HUMBERTO RUBIO & CIA LTDA.
ABOGADOS**

PODER

POWER OF ATTORNEY

El abajo firmado, en nombre y representación de

The undersigned, in the name and on behalf of

ONYX THERAPEUTICS, INC.

Domiciliado en:

with domicile at:

**249 E. Grand Avenue,
South San Francisco, California 94080, Estados Unidos de America**

por el presente conferimos poder amplio y suficiente a HUMBERTO RUBIO CAMACHO y/o TINEKE STOL TERZANI y/o ALVARO DIAZ LOZANO domiciliados en Bogotá, Colombia, para solicitar de las oficinas y autoridades correspondientes la obtención de registros, renovaciones, traspasos y en general todo lo relacionado con el mantenimiento, obtención y protección de sus marcas de fábrica, marcas colectivas, marcas de certificación, denominaciones comerciales, marcas de comercio, patentes, diseños industriales, modelos de utilidad, nombres de dominio, licencias sanitarias, derechos de autor, inscripción de licencias para explotación de derechos patrimoniales en obras de propiedad intelectual, inscripción de licencias de uso, limitaciones de los productos y o servicios y cancelaciones en los registros a cuyo efecto le faculta para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios en cumplimiento del objeto indicado; elevar solicitudes, descripciones, protestas, declaraciones, apelaciones y reclamos; abonar todos los impuestos y cuotas de cualquier otros pagos determinados por la Ley; recibir todos los documentos presentados, solicitar testimonios, desistir, modificar y enmendar solicitudes, cobrar y percibir para oponerse y protestar contra cualquier solicitud, que a juicio del apoderado, pudieran prestarse a confusión o infringir o de cualquier modo perjudicar las marcas, denominaciones o patentes del Mandante; renuncia parcial o total los derechos otorgados mediante el registro de marcas, patentes y demás modalidades de la Propiedad Industrial. A los mandatarios se les otorga autorización amplia y bastante para contestar todos los reclamos y las demandas presentadas ante autoridades administrativas y judiciales, desistir de procedimientos, transar conflictos, pudiendo así mismo sustituir este Poder en todo o en parte y revocar dichas sustituciones.

Dado y firmado hoy

En

Firma(s)/ Signature(s)

Nombre de cada firmante/ Gregory J. (firma)

Name of each signor

Cargo de cada firmante/ Vice President, Intellectual Property

hereby grant full and sufficient Power of Attorney to a HUMBERTO RUBIO CAMACHO y/o TINEKE STOL TERZANI y/o ALVARO DIAZ LOZANO from Bogotá, Colombia, to apply to the proper officers and authorities for the issue of registrations, renewals, assignments, proofs of renewals and in general all that is related to the maintenance, obtention and protection of its trademarks, trade names, collective marks, certification marks, commercial marks, patents, industrial designs, utility models, domain names, and sanitary licenses, copyright, inscription of licenses for the exploitation of patrimonial rights with respect to copyright, registration of licenses of use, limitation of the goods and or services and cancellations on registrations; to which end it empowers them to take all steps necessary before said authorities for the object stated; to file petitions, prepare descriptions; make protests, declarations, appeals and objections; pay taxes and other charges required by law; apply for certifications, receive documents and take testimony abandon and amend applications and collect refunds; to oppose, ask for the cancellation of and protest any application or registration which in their judgment could lend to confusion or could be considered an infringement or could in any form prejudice the undersigned's trademarks, trade names, patents and commercial marks; resigns partial or total the rights granted by means of the registry of marks, patents and all matters related to the Industrial Property To the said mandatory sufficient Power is granted hereby to answer in the matter of all claims and demands that maybe presented, before administrative or judicial officers of any class, giving them likewise Power to abandon proceeding, settle conflicts, substitute these present in whole or in part and revoke such substitutions.

Given and signed this

In South San Francisco, CA USA

May 2, 2011

47

49
48

HUMBERTO RUBIO & CIA LTDA.
ABOGADOS

CERTIFICADO NOTARIAL (Individuo)

A los días del mes de ante mi,
Notario Público de compareció personalmente

a quien(es) doy fe de conocer y me consta que
es(son) la(s) persona(s) firmante(s) del documento
que precede, y quien(es) tiene(n) capacidad legal para
otorgarlo.

NOTARIAL CERTIFICATE (Individual)

On this day of before me, a Notary
Public of personally appeared to

me known, and known to me to be the person(s) who
executed that foregoing document, and who has
(have) legal capacity to execute it.

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Hoy de de
compareció(eron) personalmente

a quien(es) conozco como la(s) persona(s) que
firma(n) este documento en representación de la
sociedad/compañía denominada

ONYX THERAPEUTICS, INC.

Certifico:

a) Que

ONYX THERAPEUTICS, INC.

es una sociedad/compañía legalmente constituida y
existente de acuerdo con las Leyes de **Estados**
Unidos de America

b) Que el domicilio de dicha sociedad/compañía es
249 E. Grand Avenue,
South San Francisco, California 94080,
Estados Unidos de America

c) Que el objeto u objetos para los cuales se otorga el
presente poder están comprendidos dentro del objeto
social de la mencionada sociedad/compañía.

d) Que

está autorizado para otorgar el presente poder. Lo
anterior está probado por medio de los documentos,
que certifico he visto.

Ciudad hoy de
de

NOTARIAL CERTIFICATE (Corporation)

On this day of
personally appeared

whom I know to be the person(s) who signed this
document as representative(s) of the
corporation/company named

ONYX THERAPEUTICS, INC.

I Certify:

a) That

ONYX THERAPEUTICS, INC.

is a corporation/company legally constituted and in
existence accordance with the law of **United**
States of America

b) That the domicile of said corporation/company is
249 E. Grand Avenue,
South San Francisco, California 94080,
Estados Unidos de America

c) That the purpose or purposes for which the present
Power of Attorney is granted are comprised
within the object set forth in the charter of the
mentioned corporation/company.

d) That Mr(s).

is authorized to grant the present Power of Attorney.
The aforementioned was duly proven through the
documents and I duly verify having seen them.

State
This day of

48

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 12 - 104463

Bogotá D.C., Octubre 04 de 2012 - 11:33:46

RECIBIDO DE : HUMBERTO RUBIO & CIA ABOGADOS LTDA

NI 830.000.228

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	446247992	04/10/2012	1.130.000.00

CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	446247992	04/10/2012	1.130.000.00
--------------	-----------------	-----------	-----------	------------	--------------

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
------------------	----------	---------------	--------------

1 50005-01-01 SOLICITUDES

1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN

590.000.00

590.000.00

\$590.000.00

SON: **QUINIENTOS NOVENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsible:

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-175456- -0000-0000
 Fecha: 2012-10-05 14:22:39 Dep. 2020 DIR.NUEVASC
 Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 50

Tra. 11 PATENTEIYU

Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 50

SOLICITUD DE PATENTE:

PCT/US2011/031436

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mai: Info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

, Octubre 4 de 2012 - 11:33:47

49

50

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO NIT : 800.176.089-2 - / -					
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA			No. 12 - 104464	
				Bogotá D.C., Octubre 04 de 2012 - 11:33:46	
RECIBIDO DE : HUMBERTO RUBIO & CIA ABOGADOS LTDA				NI 830.000.228	
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	446247992	04/10/2012	1.130.000.00
*** Conceptos Pagados ***					
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO	
18 50005-01-01	SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INICIALES	30.000.00	540.000.00	
				=====	
				\$540.000.00	
SON: **QUINIENTOS CUARENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***					
Responsable: _____ -*****- Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____					
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO					
					
No. 12-175456- -00000-0000					
Fecha: 2012-10-05 14:22:39 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 50					
EXCESO DE REIVINDICACIONES: PCT/US2011/031436					
Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240 Octubre 4 de 2012 - 11:33:47					

50



No. 12-175456-00000-0000

Fecha: 2012-10-05 14:22:39 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 50LISTA DE CHEQUEO
ADMISIÓN A TRÁMITE - NUEVAS CREACIONESPATENTE DE INVENCION ☐MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☒	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐