

OK



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

2006
NOV 22

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

06-118730

54. TITULO "COMPUESTOS [3.2.0] HETEROCÍCLICOS Y MÉTODOS PARA USARLOS"

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL Δ61K 31/407 Δ61P 35/00, 37/00.
Δ61K 31/337.

71. SOLICITANTE NEREUS PHARMACEUTICALS, INC.

DOMICILIO San Diego, Estado de California, Estados Unidos de América.

74. REPRESENTANTE LEGAL ALICIA LLOREDÁ RICAURTE
T.P. 53.215

22. BOGOTÁ, D.C. 22 NOV 2006

(FORMA P 10)

SS

PETITORIO

1



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-118730- -00000-0000
Fec: 2006-11-23 18:53:29 Dep. 2020 NUECREACIONE:
Tra. 11 PATENTEYII
Eve: 3/8 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios: 285

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

30/11/06

1

SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención ☐ Patente de Modelo de Utilidad

☒ Capítulo I. ☐ Capítulo II.

2

SOLICITANTE

(71)

Nombre: NEREUS PHARMACEUTICALS, INC.

Dirección: 10480 Wateridge Circle, San Diego,
CA 92121, Estados Unidos de América.

Nacionalidad o Domicilio: San Diego, Estado de
California, Estados Unidos de América.

Lugar de Constitución: Estado de California,
Estados Unidos de América.

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

3

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: ALICIA LLORED A RICAURTE

Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5º,
Bogotá- Colombia

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 39.690.713 TP 53.215

4

INVENTOR(ES)

(72)

Nombre: POTTS, Barbara, Christine; MACHERLA, Venkata, Rami, Reddy; MITCHELL,
Scott, Sherman; MANAM, Rama, Rao; REED, Katherine, Anne; LAM, Kin, Sing;
NEUTEBOOM, Saskia, Theodora, Cornelia; CHAO, Ta-Hsiang; NICHOLSON, Benjamin y
BILLSTROM, Cheryl.

Dirección: 2029 Oro Verde Road, Escondido, CA 92027; 10868 Caminito Arcada, San
Diego, CA 92131; 1641 Brittan Avenue, San Carlos, CA 94070; 11633-3 Compass Point
Drive, San Diego, CA 92126; 4633 Lenore Drive, San Diego, CA 92115; 10951 Vereda Sol
Del Dios, San Diego, CA 92130; 7865 Palmilla Drive, Apt. 5402, San Diego, CA 92122;
7016 Enders Avenue, San Diego, CA 92122; 3936 Goldfinch Street, San Diego, CA 92103 y
5845 Friars Road, #1306, San Diego, CA 92110.

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos de América.

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2005/014846

Fecha: 29/04/05

Publicación Internacional No. WO2006/028525 A2

Fecha: 16/03/06

6

Título (54) COMPUESTOS [3.2.0] HETEROCÍCLICOS Y MÉTODOS PARA USARLOS

7

Clasificación Internacional (51) A61K 31/407; A61P 35/00, 37/00.

8

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

US

30-04-04

60/567,336

US

18-06-04

60/580,838

US

28-07-04

60/591,190

US

12-11-04

60/627,462

US

13-01-05

60/644,132

US

04-03-05

60/659,385

9

Comprobante de Pago No. 06-88.783

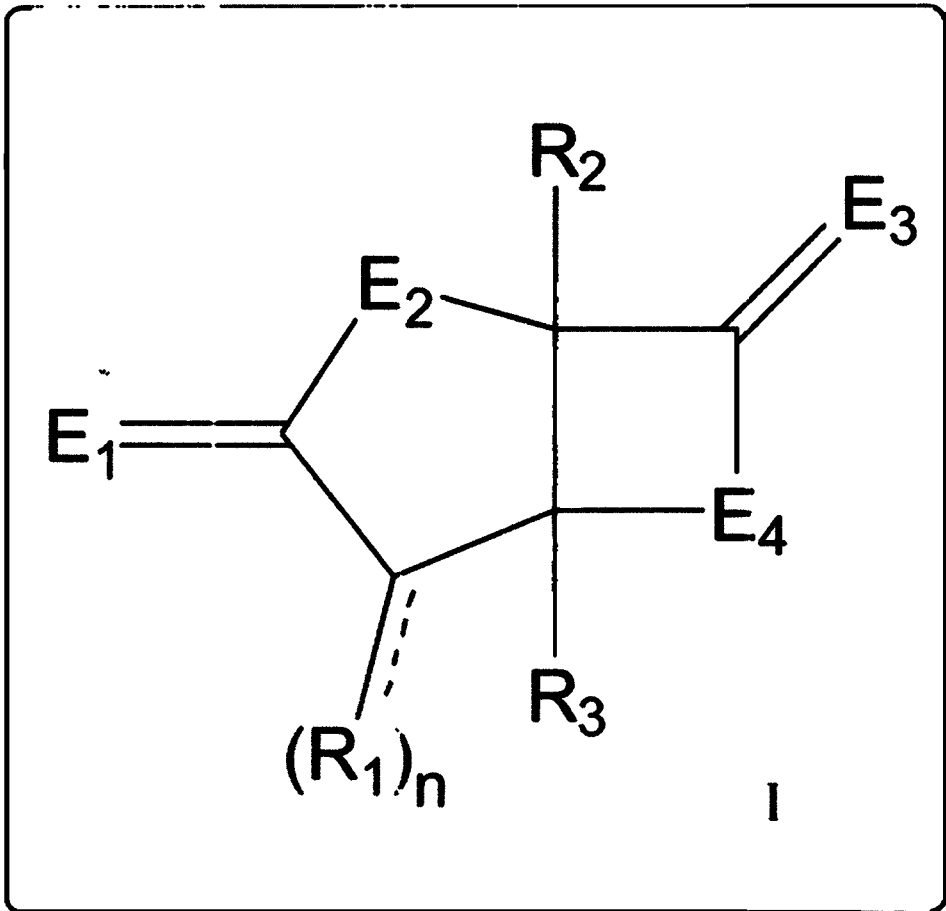
Fecha: 17 de Noviembre de 2006

1

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Documento de Representación Legal
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano (resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA)
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ Arte Final 12X12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Publicación con su traducción

FIGURA CARACTERISTICA:



Solicito la concesión de la patente

NOMBRE ALICIA LLOREDA RICAURTE

FIRMA

C C 39 690 713 Usaquen T P 53 215

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-118730- -00000-0000
Fee: 2008-11-23 18:53:28 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEM/II
Eve: 378 FASENACIONAL/II
Act 411 PRESENTACION
Folios: 285

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176009-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 88,783
FECHA : NOVIEMBRE 17 DE 2006

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	55643021	17/11/2006	4,837,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	463,000.
	TOTAL :	\$ 463,000.00

CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ANEXO

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se esta presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.


ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. No. 53.215

Traducción Oficial de un documento escrito originalmente en Inglés, el cual para identificación lleva el sello de Ibar A. Español Español, Traductor e Intérprete Oficial, según Resolución # 0920, 1996 del Ministerio de Justicia, República de Colombia.

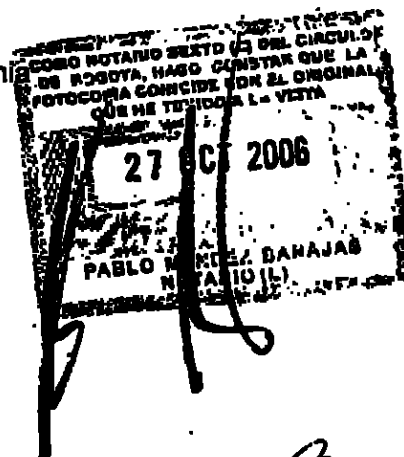
ESTADO DE CALIFORNIA
SECRETARIO DE ESTADO
APOSTILLE

(Convención de la Haya de Octubre 5, 1961)

1. País: *Estados Unidos de América*
2. Este Documento Público ha sido firmado por Linda D. Rodríguez
3. En ejercicio de su investidura de Notario Público, Estado de California
4. Lleva el sello/timbre de Linda D. Rodríguez, Notario Público, Estado de California

CERTIFICADO

5. Certificado en Sacramento, California
 6. Fecha: Mayo 31, 2005
 7. Por el Subsecretario de Estado, Estado de California
 8. N° 241115
 9. Sello/ timbre
 10. Firma (Ilegible)
- Secretario de Estado



N. del T. hay un sello dorado en relieve: "The Great Seal of the State of California".

[Signature]
IBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Intérprete Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

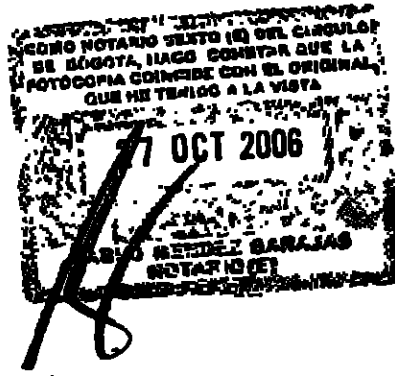


MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

SE SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2777077
Ilbar Espinola
FOLIA FOLIA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

2006 JUN 16 A 11:10
ues
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.



Estado de California)
Condado de San Diego).ss.

El día 23 de Mayo, año 2005, ante mi, Linda D. Rodríguez, Notario Público, compareció personalmente Kobi M. Sethna, de Nereus Phamaceuticals, Inc., a quien conozco personalmente cómo la persona cuyo nombre suscribe el presente instrumento y quien reconoció en mi presencia haber formalizado el mismo dentro de su investidura, y que mediante su firma en el documento, la persona o entidad en cuyo nombre actuó, formalizó el documento.

En TESTIMONIO firmo y sello

Firma (ilegible)

N. del T: hay un sello de tinta: Linda D. Rodríguez. Comisión N° 1523682, Notario Público, California, Condado de San Diego. La comisión expira: Oct. 31, 2008.

PODER DE REPRESENTACION LEGAL

Documento escrito en Inglés y Español.

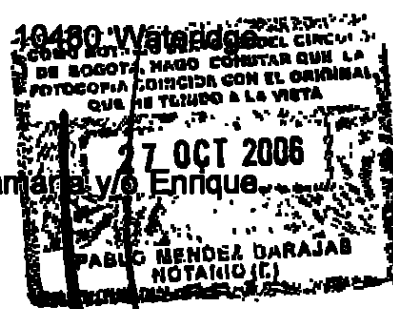
DE: NEREUS PHARMACEUTICALS, INC., con domicilio en 10480 Wateridge
Circle, San Diego, CA 92121, U.S.A.

PARA: Alicia Lloreda y/o Gustavo Tamayo y/o Ignacio Santamaría y/o Enrique
Alvarez de Bogotá, Colombia.

Dado y firmado el día 23 de Mayo, año 2005.

(firma ilegible)

Kobi M. Sethna, Presidente y Gerente General (CEO)



ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Intérprete Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

Traducción Oficial de un documento escrito originalmente en inglés, al cual para identificación lleva el sello de Ilbar A. Español Español, Traductor e Intérprete Oficial, según Resolución # 0920, 1996 del Ministerio de Justicia, República de Colombia.

CERTIFICADO DEL REPRESENTANTE CORPORATIVO

Por el presente declaro que Nereus Pharmaceuticals Inc., es una corporación debidamente organizada y existente bajo las leyes de California, U.S.A., con su sede comercial principal en 10480 Wateridge Circle, San Diego, CA 92121 U.S.A. y que yo Kobi M. Sethna soy el Presidente y Gerente General de dicha corporación y estoy debidamente autorizado como representante legal para formalizar ciertos documentos relacionados con patentes, modelos de utilidad, diseños y marcas registradas, en nombre y beneficio de la corporación.

Por el presente testifico que Nereus Pharmaceuticals Inc., está constituida legalmente por un periodo de duración aún no vencido, la cual ejerce su objeto social de conformidad con las leyes de California, U.S.A. Yo he visto el Acta Constitutiva de dicha corporación, formalizada en San Diego, California, en la fecha de Mayo 23, 2005, y por el presente doy fe que los hechos contenidos en el presente son ciertos.

Fecha: Mayo 23, 2005

En nombre de Nereus Pharmaceuticals, Inc

Por: (firma ilegible)

Kobi M. Sethna, Presidente & Gerente General



ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Intérprete Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

7

ESTADO DE CALIFORNIA
SECRETARIO DE ESTADO
APOSTILLE

(Convención de la Haya de Octubre 5, 1961)

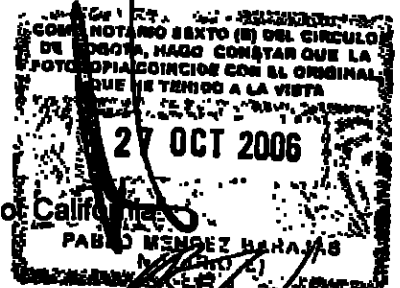
1. País: *Estados Unidos de América*
2. Este Documento Público ha sido firmado por Linda D. Rodríguez
3. En ejercicio de su investidura de Notario Público, Estado de California
4. Lleva el sello/timbre de Linda D. Rodríguez, Notario Público, Estado de California

CERTIFICADO

5. Certificado en Sacramento, California
6. Fecha: Mayo 31, 2005
7. Por el Subsecretario de Estado, Estado de California
8. N° 241116
9. Sello/ timbre
10. Firma (Ilegible)

Secretario de Estado

N. del T. hay un sello dorado en relieve: "The Great Seal of the State of California"



ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interprete Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996

A

Estado de California)

Condado de San Diego) ss.

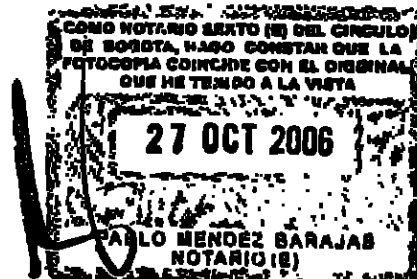
El día 23 de Mayo, año 2005, ante mi, Linda D. Rodriguez, Notario Público, compareció personalmente Kobi M. Sethna, de Nereus Pharmaceuticals, Inc., a quien conozco personalmente cómo la persona cuyo nombre suscribe el presente instrumento y quien reconoció en mi presencia haber formalizado el mismo dentro de su investidura, y que mediante su firma en el documento, la persona o entidad en cuyo nombre actuó, formalizó el documento.

En TESTIMONIO firmo y sello

Firma (Ilegible)

N. del T: hay un sello de tinta: Linda D. Rodriguez. Comisión N° 1523682, Notario Público, California, Condado de San Diego. La comisión expira: Oct. 31, 2008.

ILBAR A. ESPAÑOL ESPAÑOL
Traductor e Interpretre Oficial
Inglés Español Inglés
Resolución Minjusticia No. 0920
Agosto de 1996



MINISTERIO DE
FISCALIA

11:11 PM

1403
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTIA D.C.

227004
21/09/2019
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

27 OCT 2006

ARLO MENDEZ BARAJAS
NOTARIO(E)

9

State of California

SECRETARY OF STATE

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: United States of America
This public document
2. has been signed by Linda D. Rodriguez
3. acting in the capacity of Notary Public, State of California
4. bears the seal/stamp of Linda D. Rodriguez, Notary Public,
State of California

CERTIFIED

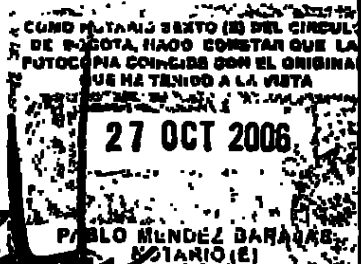
5. At Sacramento, California
6. the 31st day of May 2005
7. by Deputy Secretary of State, State of California
8. No. 241115
9. Seal/Stamp:

10. Signature



Pablo Mendez Barajas

Secretary of State



STATE OF California

) ss.

COUNTY OF San Diego

On 05/23/05, before me, Linda D. Rodriguez, Notary Public personally appeared Kabi M. Sethna, of Nereus Pharmaceuticals, Inc., personally known to me (or ~~proved to me on the basis of satisfactory evidence~~) to be the person(s) whose name(s) ~~is~~ are subscribed to the within instrument, and acknowledged to me that ~~he~~ she ~~they~~ executed the same in ~~his~~ her ~~their~~ authorized capacity(ies), and that by ~~his~~ her ~~their~~ signature(s) on the instrument the person(s), or the entity upon behalf of which the person(s) acted, executed the instrument.

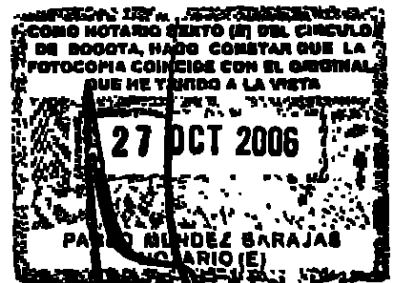
WITNESS my hand and official seal.

[SEAL]



Linda D. Rodriguez
Signature

1710742
051205



1710742

051205

Los abajo firmados.

The undersigned,

NEREUS PHARMACEUTICALS, INC.

Una sociedad organizada y existente bajo las leyes de California, Estados Unidos de America.

con domicilio en

10480 Wateridge Circle
San Diego, CA 92121
Estados Unidos de America

NEREUS PHARMACEUTICALS, INC.

A corporation organized and existing under the laws of the California, United States of America.

domiciled at

10480 Wateridge Circle
San Diego, CA 92121
United States of America

nombramos por el presente a ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al párrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

hereby appoint, ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, of Bogotá, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of article 543 of decree 410 of 1971.

Los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistir, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resultan necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

Doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, resources and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications, file oppositions; file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests; and in case of opposition, where the proceedings be passed over to the courts, we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required, and we hereby declare from now on as valid and good all that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit.

Asimismo, facultamos a los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

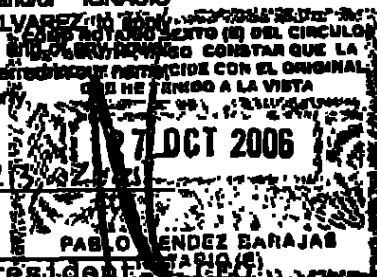
We also authorize doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, to seek for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred before the Office of Industrial Property.

Dado y firmado 23 de Mayo de 2005.

Given and signed this

Kobi M. Sethna
Kobi M. Sethna, President

NOTA RY SHOULD EXECUTE OTHER SIDE



CORPORATION NATIONALITY REPRESENTATIVE CERTIFICATE

I hereby declare that Nereus Pharmaceuticals, Inc., of USA, is a corporation duly organized and existing under the laws of California, USA, and having its principle place of business at 10480 Wateridge Circle, San Diego, CA 92121 USA, and that I, Kobi M. Sethna, am President and Chief Executive Officer of said corporation and am duly authorized as a lawful representative to execute certain documents relating to patents, utility models, designs and trademarks on behalf of the corporation.

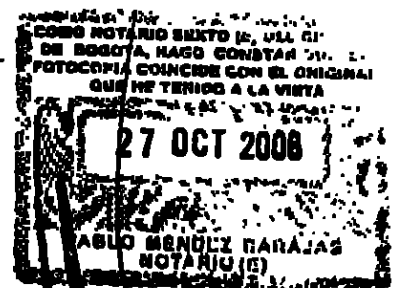
I hereby attest that Nereus Pharmaceuticals, Inc. is legally constituted for a period of tenure not yet expired, which exercises its corporate purpose in accordance with the laws of California, USA. I have seen the Articles of Incorporation of said corporation executed at San Diego, California, under date of May 23, 2005, and hereby attest that the facts therein contained are true.

Dated this 23rd day of May 2005

On behalf of Nereus Pharmaceuticals, Inc.

By: Kobi M. Sethna

Printed Name and Title: Kobi M. Sethna, President & CEO



State of California

SECRETARY OF STATE

APOSTILLE

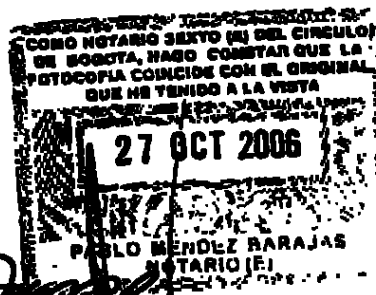
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: *United States of America*
This public document
2. *has been signed by Linda D. Rodriguez*
3. *acting in the capacity of Notary Public, State of California*
4. *bears the seal/stamp of Linda D. Rodriguez, Notary Public, State of California*

CERTIFIED

5. *At Sacramento, California*
6. *the 31st day of May 2005*
7. *by Deputy Secretary of State, State of California*
8. *No. 241116*
9. *Seal/Stamp:*

10. Signature



[Signature]
Secretary of State

 Industria y Comercio		FORMATO DE DIGITALIZACION RELACION DE ANEXOS		 Royal Technologies S.A.
Expediente No			No de Folios	
Item		No de unidades		
1	CD		✓	
2	DVD			
3	REVISTA			
4	LIBRO			
5	PERIODICO			
6	DISQUETES			
7	SOBRE DE MANILA	2	✓	
8	SOBRE BLANCO TAMAÑO CARTA			
9	SOBRE BLANCO TAMAÑO OFICIO			
10	OTROS:			
Observaciones: Art. Final				

Folios 17 y 18

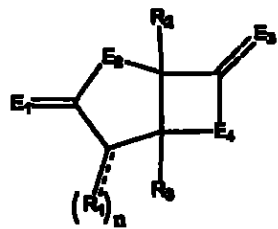
· Tarjetas

temáticas

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud: 06 - 118730		(51) Int Cl: A61 K 31/467; A61 P 35/00; 37A6	
22) Fecha de solicitud: 23-11-06		(71) Solicitante(s) NEREUS PHARMACEUTICALS, INC.	
(30) Prioridad (31) No. Prioridad (32) Fecha (33) País		POTTS, Barbara, Christine; MACHERLA, Venkata, Rami, Reddy; MITCHELL, Scott, Sherman; MANAM, Rama, Rao; REED, Katherine, Anne; LAM, Kin, Sing; NEUTEBOOM, Saskia, Theodora, Cornelia; CHAO, Ta-Hsiang; NICHOLSON, Benjamin y BILLSTROM, Cheryl.	
60/567,336 30-04-04 US		(72) Inventor(es)	
60/580,838 18-06-04 US		(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE	
60/591,190 26-07-04 US			
60/627,462 12-11-04 US			
60/644,132 13-01-05 US			
60/659,385 04-03-05 US			
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 30-11-06		(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 16-03-06	
Fecha de presentación de la solicitud: 29-04-05		N° publicación: WO2006/028525 A2	
No. de solicitud PCT/ US2005/014848			
(54) Título: COMPUESTOS [3.2.0] HETEROCÍCLICOS Y MÉTODOS PARA USARLOS			

Resumen - Reivindicación(es):
Reivindicación número 1.-

Un compuesto que tiene la estructura de la Formula I y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármaco de los mismos:



Formula I

en donde las líneas punteadas indican que el enlace designado es un enlace simple o un enlace doble, y en donde R₁ puede ser seleccionado por separado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituídas, poli-sustituídas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C₁-C₂₄ saturado, alquenilo C₂-C₂₄ o alquinilo C₂-C₂₄ insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarbonilo, arilo, ariloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, ariilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilalco, amino, aminocarbonilo, aminocarbonilo, nitro, azido, fenilo, cicloalquilalco, hidroxil, alquilalco, ariilo, oxisulfonilo, carboxil, ciano, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado, en donde n es igual a 1 o 2, y si n es igual a 2, entonces R₁ puede ser igual o diferente;

en donde R₂, se selecciona del grupo que consiste de hidrógeno, halógeno, variantes mono-sustituídas, poli-sustituídas o no sustituidas de los siguientes residuos: alquilo C₁-C₂₄ saturado, alquenilo C₂-C₂₄ o alquinilo C₂-C₂₄ insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarbonilo, arilo, ariloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, ariilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilalco, amino, aminocarbonilo, aminocarbonilo, nitro, azido, fenilo, cicloalquilalco, hidroxil, alquilalco, ariilo, oxisulfonilo, carboxil, ciano y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado;

en donde R₃ puede seleccionarse del grupo que consiste de halógeno, variantes mono-sustituídas, poli-sustituídas o no sustituidas de los siguientes residuos: alquilo C₁-C₂₄ saturado, alquenilo C₂-C₂₄ o alquinilo C₂-C₂₄ insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarbonilo, arilo, ariloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, ariilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilalco, amino, aminocarbonilo, aminocarbonilo, nitro, azido, fenilo, cicloalquilalco, hidroxil, alquilalco, ariilo, oxisulfonilo, carboxil, ciano y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado;

en donde cada uno de E₁, E₂, E₃ y E₄ es un heteroátomo sustituido o no sustituido; y

con la condición que la Formula I no es el Compuesto II-16 o Compuesto II-17.

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA SEGÚN EL TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación Internacional
16 de marzo de 2006 (16.03.2006)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2006/028525 A2

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷: No clasificado

(21) Número de Solicitud Internacional: PCT/US2005/014846

(22) Fecha de Registro Internacional: 29 de Abril de 2005
(29.04.2005)

(25) Idioma de registro: Inglés

(26) Idioma de Publicación: Inglés

(30) Información de Prioridad:

60/567,336	30 de abril de 2004	(30.04.2004)	US
60/580,838	18 de junio de 2004	(18.06.2004)	US
60/591,190	26 de julio de 2004	(26.07.2004)	US
60/627,462	12 de noviembre de 2004	(12.11.2004)	US
60/644,132	13 de enero de 2005	(13.01.2005)	US
60/659,385	4 de marzo de 2005	(04.03.2005)	US

(71) Solicitante (Para todos los estados designados excepto Estados Unidos): NEREUS PHARMACEUTICALS, INC. [US/US]; 10480 Wateridge Circle, San Diego, CA 92121 (US).

(72) Inventor; e

(75) Inventor/solicitante: (para US solamente): POTTS, Barbara, Christine [US/US]; 2029 Oro Verde Road, Escondido, CA 92027 (US). MACHIERLA, Venkata, Rami, Reddy [IN/US]; 10868 Camino Arcada, San Diego, CA 92131 (US). MITCHELL, Scott, Sherman [US/US]; 1641 Brittan Avenue, San Carlos, CA 94070 (US). MANAM, Rama, Rao [IN/US]; 11633-3 Compass Point Drive, San Diego, CA 92126 (US). REED, Katherine, Anne [US/US]; 4633 Lenore Drive, San Diego, CA 92115 (US). LAM, Kin, Sing [US/US]; 10951 Vereda Sol Del Dia, San Diego, CA 92130

(US). NEUTEBOOM, Saskia, Theodora, Corsetta [NL/US]; 7665 Palmilla Drive, Apt. 5402, San Diego, CA 92122 (US). CHAO, Ts-Hsiang [US/US]; 7016 Enders Avenue, San Diego, CA 92122 (US). NICHOLSON, Benjamin, [GB/US]; 3936 Goldfinch Street, San Diego, CA 92103 (US). BILLSTROM, Cheryl [US/US]; 5845 Friars Road, # 1306, San Diego, CA 92110 (US).

(74) Agente: MALLON, Joseph, J.; KNOBBE, MARTENS, OLSON, & BEAR, LLP, 2040 Main Street, 14th Floor, Irvine, CA 92614 (US).

(81) Estados Designados (a menos que sea indicado de otra forma, para toda clase de protección nacional requerida): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

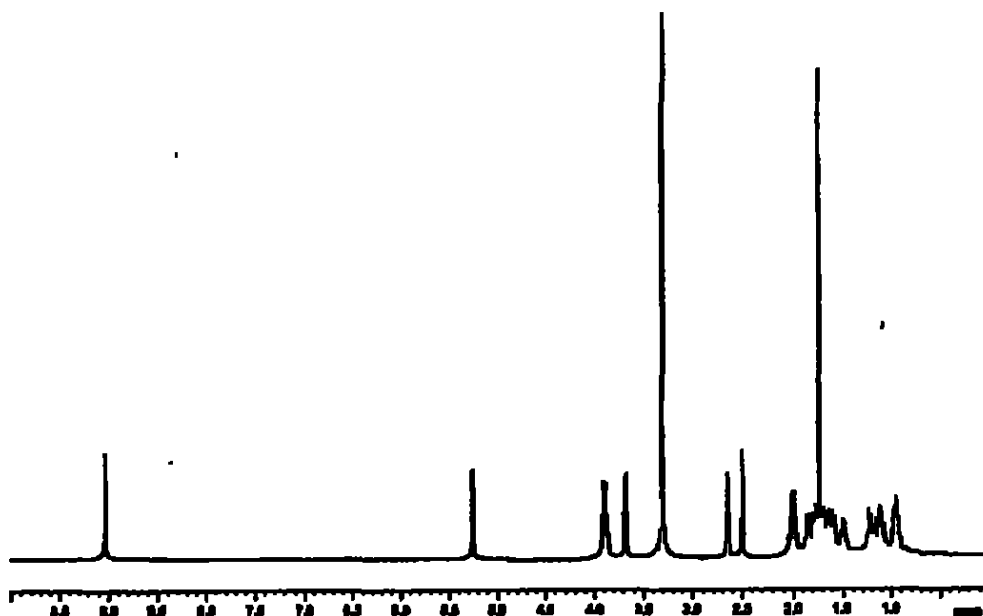
(84) Estados Designados (a menos que sea indicado de otra forma, para toda clase de protección regional requerida): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW). Euratética (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM). Europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR). OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, OQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TO).

Publicado:

- Sin reporte de Búsqueda Internacional y para ser republicado al recibo de ese reporte.

Para los códigos de dos letras y otras abreviaturas, véanse a "Las Notas Guías sobre Códigos y Abreviaturas" que aparecen al comienzo de cada edición regular de la Gaceta PCT.

(54) Título: COMPUESTOS [3.2.0] HETEROCÍCLICOS Y MÉTODOS PARA USARLOS



Espectro de RMN 1H del compuesto de Fórmula II-2

(57) Resumen: Se revelan compuestos de las fórmulas I-VI y derivados de los mismos que tienen propiedades anti-cáncer, anti-inflamatorias y anti-microbianas y composiciones que incluyen uno o más de los compuestos y sus derivados o análogos que tienen propiedades anti-cáncer, anti-inflamatorias y anti-microbianas. También se revelan composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos y métodos para tratar el cáncer, condiciones inflamatorias e infecciones microbianas con los compuestos revelados o las composiciones farmacéuticas reveladas.

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
16 March 2006 (16.03.2006)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2006/028525 A2

(51) International Patent Classification: Not classified

(21) International Application Number:
PCT/US2005/014846

(22) International Filing Date: 29 April 2005 (29.04.2005)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/567,336 30 April 2004 (30.04.2004) US
60/580,838 18 June 2004 (18.06.2004) US
60/591,190 26 July 2004 (26.07.2004) US
60/627,462 12 November 2004 (12.11.2004) US
60/644,132 13 January 2005 (13.01.2005) US
60/659,385 4 March 2005 (04.03.2005) US

(71) Applicant (for all designated States except US): NEREUS
PHARMACEUTICALS, INC. [US/US]; 10480 Wa-
teridge Circle, San Diego, CA 92121 (US).

(72) Inventor; and

(73) Inventor/Applicants (for US only): POTTS, Barbara,
Christine [US/US]; 2029 Oro Verde Road, Escondido,
CA 92027 (US). MACHEKLA, Venkata, Ravi, Reddy
[IN/US]; 10868 Caminito Arcada, San Diego, CA 92131

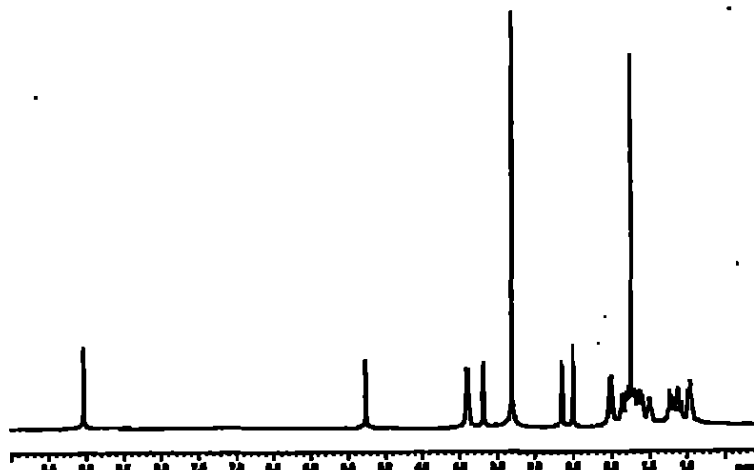
(US). MITCHELL, Scott, Sherman [US/US]; 1641
Brittan Avenue, San Carlos, CA 94070 (US). MANAM,
Rama, Rao [IN/US]; 11633-3 Compass Point Drive,
San Diego, CA 92126 (US). REED, Katherine, Anne
[US/US]; 4633 Lenore Drive, San Diego, CA 92115
(US). LAM, Kin, Sing [US/US]; 10951 Vareda Sol Del
Dios, San Diego, CA 92130 (US). NEUTEBOOM,
Saskia, Theodora, Cornelia [NL/US]; 7665 Palmilla
Drive, Apt. 5402, San Diego, CA 92122 (US). CHAO,
Te-Hsiung [US/US]; 7016 Rindera Avenue, San Diego, CA
92122 (US). NICHOLSON, Benjamin [GB/US]; 3936
Goldfish Street, San Diego, CA 92103 (US). BILL-
STROM, Cheryl [US/US]; 5845 Friars Road, #1306, San
Diego, CA 92110 (US).

(74) Agent: MALLON, Joseph, J.; KNOBBE, MARTENS,
OLSON & BEAR, LLP, 2040 Main Street, 14th Floor,
Irvine, CA 92614 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GU, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA,

[Continued on next page]

(54) Title: [3.2.0] HETEROCYCLIC COMPOUNDS AND METHODS OF USING THE SAME



¹H NMR spectrum of compound of Formula II-2.

(57) Abstract: Compounds of Formulas I-VI and derivatives thereof having anti-cancer, anti-inflammatory, and anti-microbial properties and to compositions that include one or more of compounds and their derivatives or analogs having anti-cancer, anti-inflammatory and anti-microbial properties are disclosed. Pharmaceutical compositions comprising such compounds and methods of treating cancer, inflammatory conditions, and microbial infections with the disclosed compounds or the disclosed pharmaceutical compositions are also disclosed.

WO 2006/028525 A2

MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM,
PG, PH, PL, PT, RQ, RU, SC, SD, SE, SQ, SK, SL, SM,
SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN,
YU, ZA, ZM, ZW.

SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— without international search report and to be republished upon receipt of that report

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO,

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

COMPUESTOS [3.2.0] HETEROCÍCLICOS Y MÉTODOS PARA USARLOS**RESUMEN, OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION**

5 Se revelan compuestos de las fórmulas I-VI y derivados de los mismos que
 tienen propiedades anti-cáncer, anti-inflamatorias y anti-microbianas y
 composiciones que incluyen uno o más de los compuestos y sus derivados o
 análogos que tienen propiedades anti-cáncer, anti-inflamatorias y anti-
10 microbianas. También se revelan composiciones farmacéuticas que
 comprenden tales compuestos y métodos para tratar el cáncer, condiciones
 inflamatorias e infecciones microbianas con los compuestos revelados o las
 composiciones farmacéuticas reveladas.

15

20

25

30

35

COMPUESTOS [3.2.0] HETEROCÍCLICOS Y MÉTODOS PARA USARLOS

Referencia Cruzada con Solicitudes Relacionadas

5

[0001] Esta solicitud reivindica prioridad bajo 35 U.S.C. § 119 (e) a las Solicitudes Internacionales No. 60/567,336, presentada el 30 de Abril de 2004; 60/580,838, presentada el 18 de Junio de 2004; 60/591,190 presentada el 26 de Julio de 2004; 60/627462, presentada el 12 de Noviembre de 2004; 10 60/644,132 presentada el 13 de Enero de 2005; y 60/659,385, presentada el 4 de Marzo de 2005; cada una de las cuales está titulada COMPUESTOS HETEROCICLICOS Y METODOS PARA USARLOS; y cada una de las cuales está incorporada aquí para referencia en su totalidad.

15

Antecedentes de la Invención

Campo de la Invención

[0002] La presente invención se refiere a ciertos compuestos y a 20 métodos para la preparación y el uso de ciertos compuestos en los campos de química y medicina. Más específicamente, la presente invención se refiere a compuestos y procedimientos para hacer y usar los compuestos que son útiles como agentes anti-cáncer, anti-inflamatorios y anti-microbianos, y se refiere a las formas de dosis farmacéuticas que comprenden tales compuestos.

25

Descripción de la Técnica Relacionada

[0003] El cáncer es una causa principal de muerte en los Estados Unidos. A pesar de los esfuerzos significativos para encontrar nuevos enfoques 30 para tratar el cáncer, las opciones de tratamiento primarias permanecen siendo la cirugía, quimioterapia y terapia de radiación, ya sea solas o en combinación. La cirugía y terapia de radiación, sin embargo, son útiles en general solo para tipos de cáncer bastante definidos, y son de uso limitado para tratar pacientes con enfermedad diseminada. La quimioterapia es el método que es 35 generalmente útil para tratar pacientes con cáncer metastásico o cánceres difusos tales como leucemias. Aunque la quimioterapia puede proporcionar un beneficio terapéutico, a menudo falla en producir la cura de la enfermedad

28

22

debido a que las células de cáncer del paciente se vuelven resistentes al agente quimioterapéutico. Debido en parte, a la probabilidad que las células de cáncer se vuelvan resistentes a un agente quimioterapéutico, estos agentes se emplean comúnmente en combinación para tratar a los pacientes.

5

[0004] Similarmente, las enfermedades infecciosas provocadas por ejemplo, por bacterias, hongos y protozoarios se vuelven cada vez más difíciles de tratar y curar. Por ejemplo, cada vez más bacterias, hongos y protozoarios están desarrollando resistencia a los antibióticos y agentes quimioterapéuticos actuales. Ejemplos de estos microbios incluyen *Bacillus*,
10 *Leishmania*, *Plasmodium* y *Trypanosoma*.

[0005] Además, un número creciente de enfermedades y condiciones médicas se clasifican como enfermedades inflamatorias. Estas enfermedades incluyen condiciones tales como asma a enfermedades cardiovasculares. Estas enfermedades continúan afectando cada vez más grandes números de personas en todo el mundo a pesar de nuevas terapias y avances médicos.

[0006] Por lo tanto, existe una necesidad de agentes quimioterapéuticos, agentes anti-microbianos y agentes anti-inflamatorios adicionales para tratar cáncer, enfermedades inflamatorias y enfermedad infecciosa. Un esfuerzo continuo es hecho por investigadores individuales, academias y empresas para identificar nuevos agentes quimioterapéuticos y
20 anti-microbianos potencialmente útiles.

[0007] Productos naturales derivados marinos son una fuente rica de nuevos agentes anti-cáncer y agentes anti-microbianos potenciales. Los océanos son masivamente complejos y albergan un conjunto diverso de microbios que se encuentran en ambientes de variaciones extremas de presión, salinidad y temperatura. Los microorganismos marinos por lo tanto han desarrollado capacidades metabólicas y fisiológicas únicas que no solo aseguran la supervivencia en habitats extremos y variados, sino que también ofrecen el potencial por producir metabolitos que no se observan en
30 microorganismos terrestres (Okami, Y. 1993 *J Mar Biotechnol* 1:59). Clases estructurales representativas de estos metabolitos incluyen terpenos, péptidos, policetidas y compuestos con orígenes biosintéticos mixtos. Muchas de estas
35

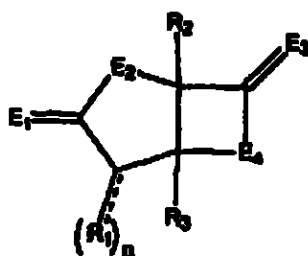
23

moléculas tienen actividades demostrables anti-tumor, anti-bacterianas, anti-fungales, anti-inflamatorias o inmunosupresoras (Bull, A. T. *et al.*, 2000 *Microbiol Mol Biol Rev* 64: 573; Cragg, G. M. & D. J. Newman 2002 *Trends Pharmacol Sci* 23: 404; Kerr, R. G. & S. S. Kerr 1999 *Exp Opin Ther Patents* 9: 1207; Moore, B. S 1999 *Nat Prod Rep* 16: 653; Faulkner, D. J. 2001 *Nat Prod Rep* 18: 1; Mayer, A. M. & V. K. Lehmann 2001 *Anticancer Res* 21: 2489), validando la utilidad de esta fuente para aislar agentes terapéuticos invaluables. Además, el aislamiento de agentes anti-cáncer y anti-microbianos novedosos que representan clases mecanísticas alternas a aquellas actuales en el mercado, ayudará a atender consideraciones de resistencia incluyendo cualquier resistencia basada en mecanismo que puede haber sido diseñada en patógenos para propósitos de bioterrorismo.

Resumen de la Invención

[0008] Aquí se revelan compuestos, composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos, usos de tales compuestos y composiciones, y los métodos para la preparación de tales compuestos, que tienen la estructura de las Formulas I-IV:

[0009] Algunas realizaciones se refieren a los compuestos que tienen la estructura de Formula I, y las sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármaco de las mismas.



Formula I

[0010] en donde las líneas punteadas indican que el enlace designado es un enlace simple o un enlace doble, y en donde R₁ puede ser seleccionado por separado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C₁-C₂₄ saturado, alquenilo C₂-C₂₄ o alquinilo C₂-C₂₄

insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo (incluyendo por ejemplo, ciclohexilcarbinol, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxí, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado, en donde n es igual a 1 o 2, y si n es igual a 2, entonces R₁ puede ser igual o diferente;

[0011] en donde R₂, puede seleccionarse del grupo que consiste de hidrógeno, halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los siguientes residuos: alquilo C₁-C₂₄ saturado, alquenilo C₂-C₂₄ o alquinilo C₂-C₂₄ insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo (incluyendo por ejemplo, ciclohexilcarbinol), cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxí, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado;

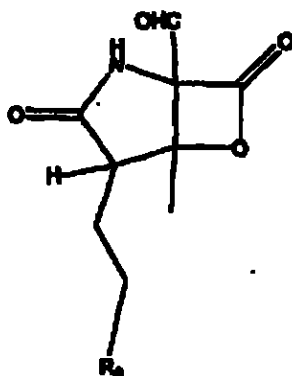
[0012] en donde R₃ puede seleccionarse del grupo que consiste de halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los siguientes residuos: alquilo C₁-C₂₄ saturado, alquenilo C₂-C₂₄ o alquinilo C₂-C₂₄ insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxí, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado; en donde cada uno de E₁, E₂, E₃ y E₄ es un heteroátomo sustituido o no sustituido; y con la condición que la Formula I no es el Compuesto II-16 o Compuesto II-17.

[0013] En algunas realizaciones R₂ no es ciclohex-2-enil carbinol cuando uno de los sustituyentes R₁ es etilo o cloroetilo y R₃ es metilo.

[0014] En algunas realizaciones, R₁ es preferiblemente un alquilo C₁ a C₅ sustituido o no sustituido. Por ejemplo se prefieren metilo, etilo,

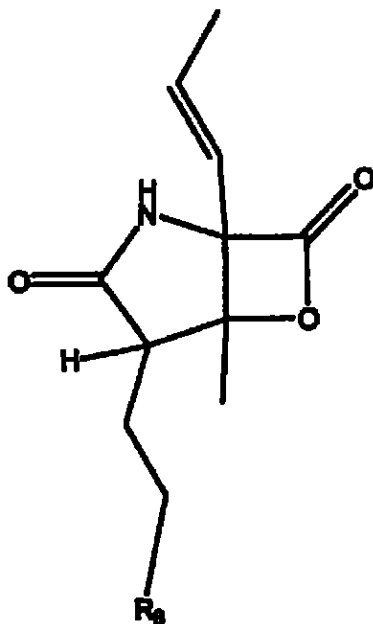
propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, ter-butilo, y pentilo. En algunas realizaciones, R_1 no es alquilo C_6 sustituido o no sustituido, no ramificado.

[0015] R_2 puede ser formilo. Por ejemplo, el compuesto puede ser.



[0016] en donde R_6 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br y I.

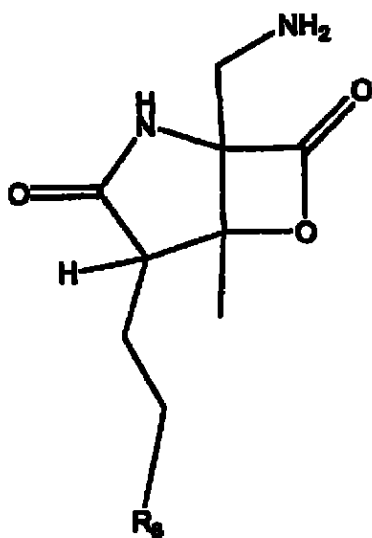
[0017] Como otro ejemplo, el compuesto puede ser:



[0018] en donde R_8 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

[0019] Como un ejemplo adicional, el compuesto puede ser:

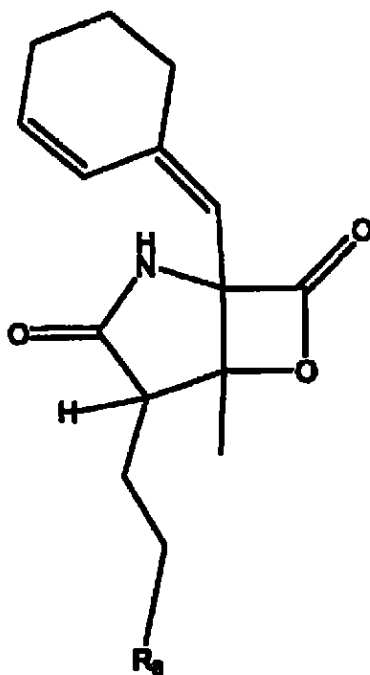
6



[0020] en donde R_6 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

5 [0021] Además, R_2 puede ser in ciclohexenilmetileno o 3-metilenciclohexeno.

10 [0022] Por ejemplo, el compuesto puede ser:

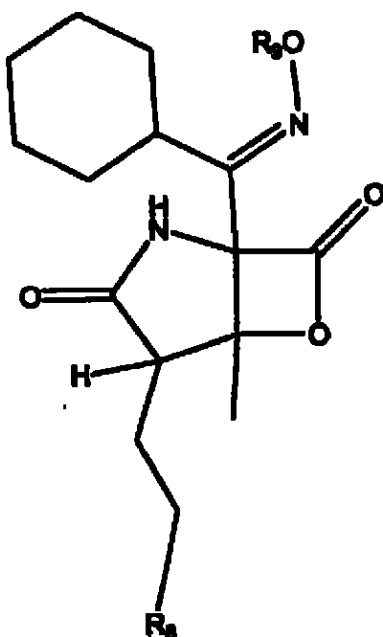


15 [0023] en donde R_6 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

[0024] R_2 puede ser una ciclohexilamina, una C-ciclohexilmetilenamina, o una ciclohexanocarbaldehído O-oxima.

[0025] Por ejemplo, el compuesto puede ser:

5



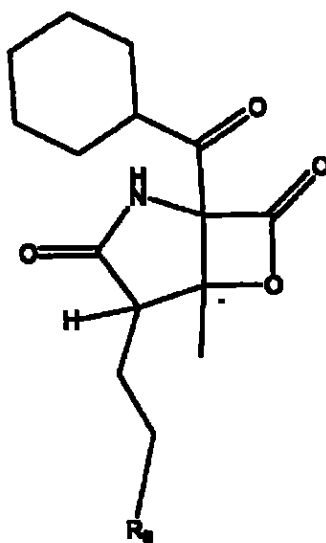
[0026] en donde R_3 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I; y en donde R_4 se selecciona del grupo que consiste de hidrógeno, variantes substituidas o no substituidas de los siguientes: alquilo, acilo, arilo y heteroarilo.

10

[0027] Adicionalmente, R_2 puede ser un cicloalquilacilo.

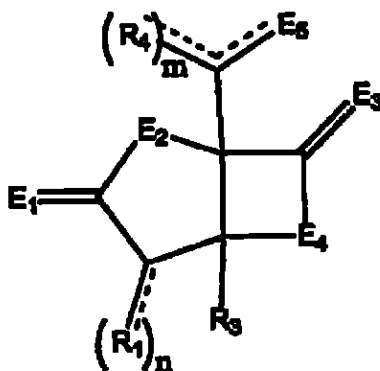
15

[0028] Como un ejemplo, el compuesto puede ser:



[0029] en donde R_3 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, I y Br.

[0030] Realizaciones adicionales se refieren a compuestos que tienen la estructura de Formula II, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos:



Formula II

[0031] en donde las líneas punteadas indican que el enlace designado es un enlace simple o un enlace doble, y en donde R_1 puede ser seleccionado por separado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, ariloxycarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado, en donde n es igual a 1 o 2, y si n es igual a 2, entonces R_1 puede ser igual o diferente;

[0032] en donde R_3 puede seleccionarse del grupo que consiste de un halógeno, variantes mono-substituidas, poli-substituidas o no substituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, ariloxycarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido,

29
sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado;

5 **[0033]** en donde R_4 puede seleccionarse del grupo que consiste de un halógeno, variantes mono-substituidas, poli-substituidas o no substituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, 10 **azido, fenilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado, y m es igual a 1 o 2, y si m es igual a 2, entonces R^4 puede ser igual o diferente;**

15 **[0034]** en donde cada uno de E_1 , E_2 , E_3 , E_4 y E_5 puede ser un heteroátomo substituido o no substituido; y

20 **[0035]** con la condición que la Formula II no es el Compuesto II-16 o el Compuesto II-17. Algunas realizaciones incluyen la condición que un R_4 no es ciclohex-2-enil, si el otro R_4 es hidrógeno y si m y n son iguales a 2, y si R_3 es metilo, y si uno de los substituyentes R_1 es etilo o cloroetilo mientras que el otro R_1 es hidrógeno.

25 **[0036]** Como un Ejemplo, E_5 se puede seleccionar del grupo que consiste de OH, O, S, N, NH, NH_2 , NOH, NHOH, OR_{10} , SR_{11} , NR_{12} , y $NHOR_{13}$, en donde cada uno de R_{10} , R_{11} , R_{12} y R_{13} pueden seleccionarse por separado del grupo que consiste de hidrógeno, y un alquilo, acilo, arilo y heteroarilo substituido o no substituido.

30 **[0037]** n puede ser igual a 1 o 2, y en donde n es igual a 2, al menos un R_1 puede ser CH_2CH_2X , en donde X se puede seleccionar del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

35 **[0038]** Como otro ejemplo, R_3 puede ser metilo. Adicionalmente, E_5 puede ser OH. Cada uno de E_1 , E_3 y E_4 pueden ser O y E_2 puede ser NH. Al menos un R_4 puede ser un cicloalcano o cicloalqueno, por ejemplo. En otro ejemplo, n es igual a 2 y al menos uno de los substituyentes R_1 es hidrógeno y el

5

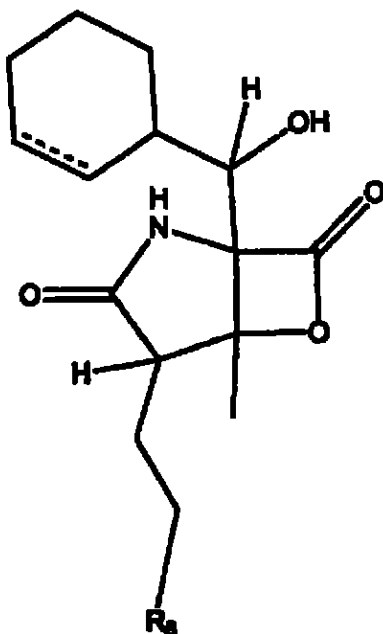
otro sustituyente R_1 es $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{X}$, en donde X se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I; en donde al menos un R_4 es ciclohexano o ciclohexeno; en donde E_5 es OH, en donde R_3 es metilo; y en donde cada uno de E_1 , E_3 y E_4 es O y E_2 es NH.

5

[0039] En algunas realizaciones, R_1 es preferiblemente un alquilo C_1 a C_5 sustituido o sin sustituir. For ejemplo se prefieren metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, ter-butilo y pentilo. En algunas realizaciones, R_1 no es un alquilo C_6 sustituido o no sustituido, no ramificado.

10

[0040] Como un ejemplo, la estructura puede ser:

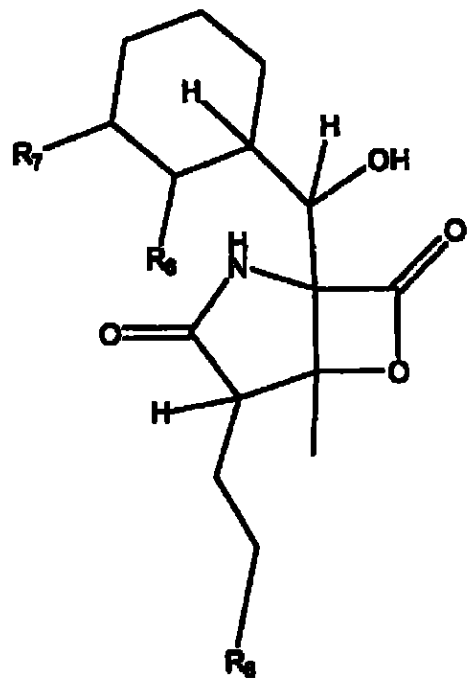


15

[0041] en donde R_6 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

20

[0042] Al menos un R_4 puede ser un ciclohexano di-sustituido, por ejemplo,



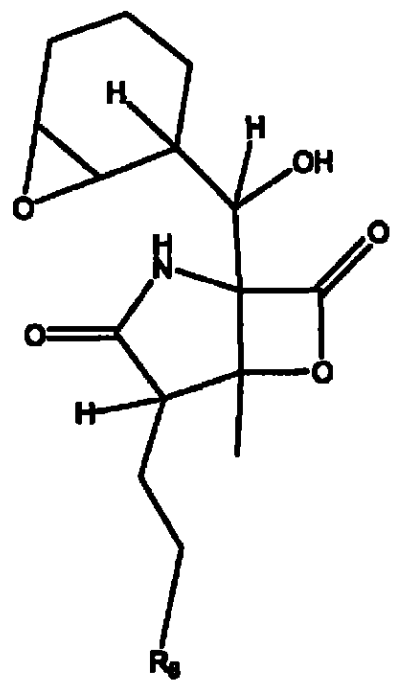
[0043] en donde R_6 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

5

[0044] R_6 y R_7 pueden ser ambos OH.

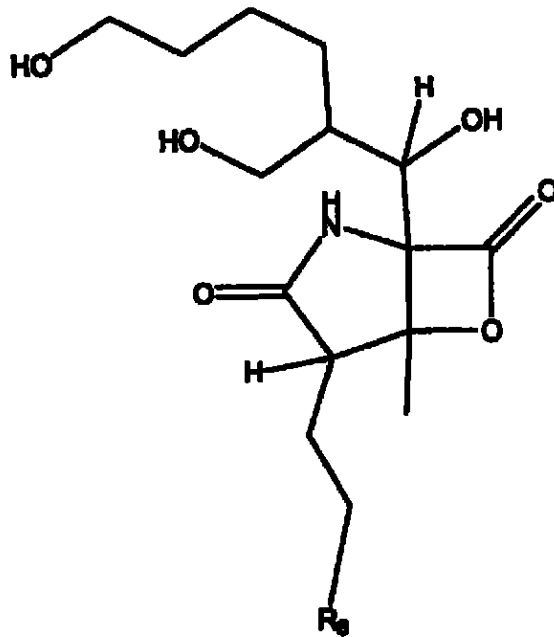
[0045] Al menos un R_4 puede ser un 7-oxa-biciclo[4.1.0]hept-2-ilo, por ejemplo:

10



[0046] en donde R_3 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

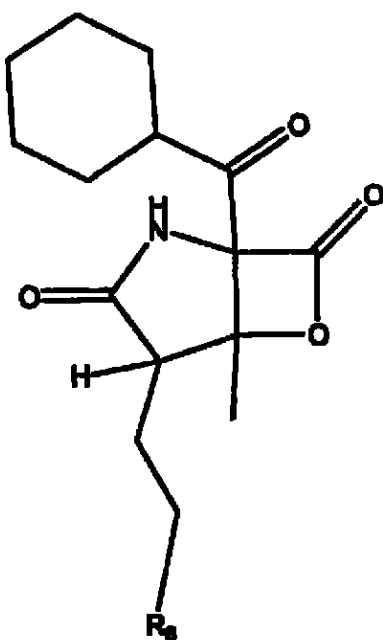
[0047] También, al menos un R_4 puede ser un alquilo ramificado substituido o no substituido, por ejemplo el siguiente compuesto:



[0048] en donde R_6 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

[0049] Adicionalmente, al menos un R_4 puede ser un cicloalquilo y E_5 puede ser un oxígeno.

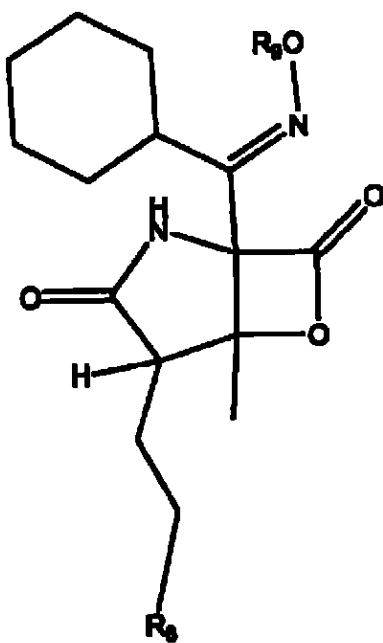
[0050] Como un ejemplo, el compuesto puede ser:



[0051] en donde R_6 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

5

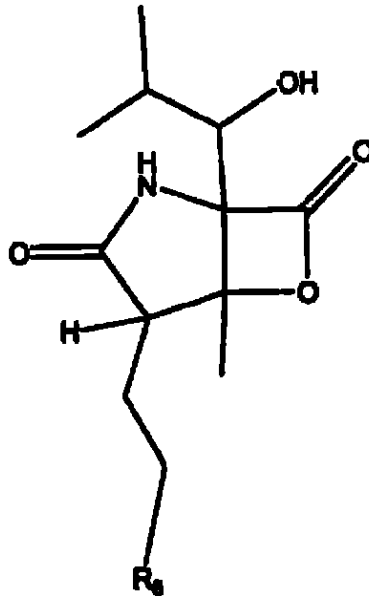
[0052] Como un ejemplo adicional, el compuesto puede ser:



10

[0053] en donde R_6 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I; y R_7 se puede seleccionar del grupo que consiste de H, alquilo sustituido y no sustituido, arilo sustituido y no sustituido, y heteroarilo sustituido y no sustituido.

[0054] En aún un ejemplo adicional el compuesto puede ser:

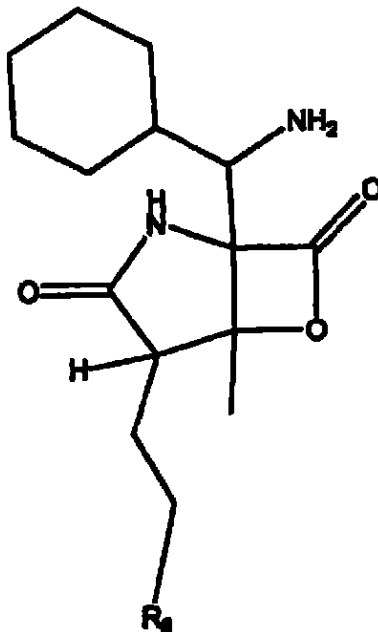


[0055] en donde R_6 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

5

[0056] También, al menos un R_4 puede ser un cicloalquilo y E_5 puede ser NH_2 . Por ejemplo, el compuesto puede ser:

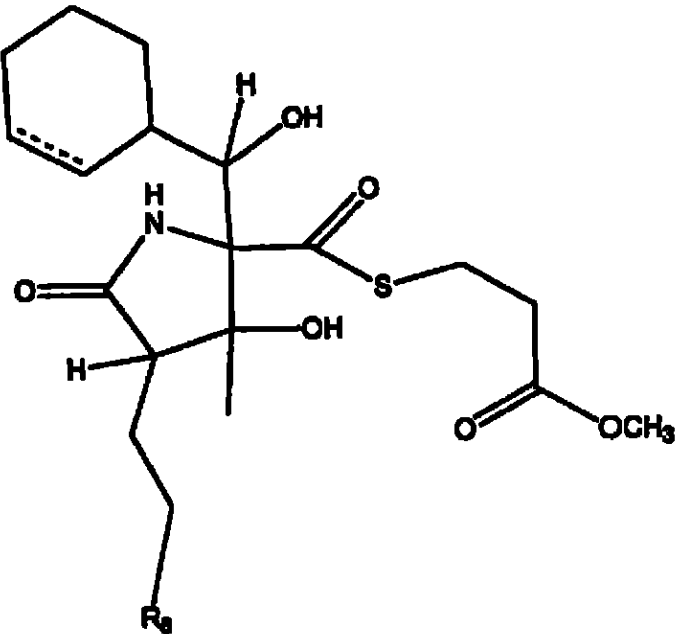
10



[0057] en donde R_6 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

15

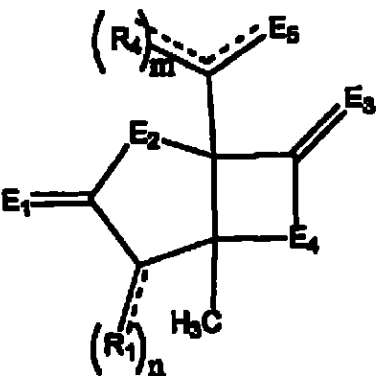
[0058] En aún un ejemplo adicional, el compuesto puede ser un éster o tioéster profármaco, por ejemplo, el compuesto puede ser:



5

[0059] en donde R_6 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

[0060] Otras realizaciones se refieren a compuestos que tienen la estructura de la Formula III, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármaco de los mismos:



Formula III

[0061] en donde las líneas punteadas indican que el enlace designado es un enlace simple o un enlace doble, y en donde R_1 puede ser seleccionado por separado del grupo que consiste de un hidrógeno, un

15

halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los
residuos siguientes: alquilo C₁-C₂₄ saturado, alquenilo C₂-C₂₄ o alquinilo C₂-C₂₄
insaturados, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo,
cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi
5 carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo,
hidroxi, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona,
ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado
incluyendo alquilo polihalogenado, en donde n es igual a 1 o 2, y si n es igual a
2, entonces R₁ puede ser igual o diferente;

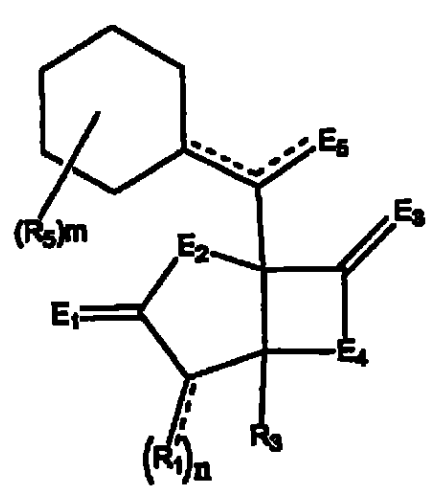
10

[0062] en donde R₄, puede seleccionarse por separado del grupo
que consiste de hidrógeno, un halógeno, variantes mono-substituidas, poli-
substituidas o no substituidas de los siguientes residuos: alquilo C₁-C₂₄
saturado, alquenilo C₂-C₂₄ o alquinilo C₂-C₂₄ insaturados, acilo, aciloxi,
15 alquilocarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo cicloalquenilo, alcoxi,
cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino,
aminocarbonilo, aminocarboniloxi, nitro, azido, fenilo, hidroxi, alquiltio, ariltio,
oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano,
ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo
20 polihalogenado, y m es igual a 1 o 2, y si m es igual a 2, entonces R₄ pueden
ser iguales o diferentes; y en donde cada uno de E₁, E₂, E₃, E₄ y E₅ es un
heteroátomo substituido o no substituido; y con la condición que la Formula III
no es el Compuesto II-16 o el Compuesto II-17. Algunas realizaciones incluyen
la condición que uno de R₄ no es ciclohex-2-inil, si el otro R₄ es hidrógeno, y si
25 m y n son iguales a 2 y si uno de los substituyentes R₁ es etilo o cloroetilo
mientras el otro R₁ es hidrógeno.

[0063] En algunas realizaciones, R₁ es preferiblemente alquilo C₁
a C₅ substituido o no substituido. Por ejemplo se prefieren metilo, etilo, propilo,
30 isopropilo, butilo, isobutilo, ter-butilo, y pentilo. En algunas realizaciones, R₁ no
es un alquilo C₆ substituido o no substituido, no ramificado.

[0064] Aún realizaciones adicionales se refieren a los compuestos
que tienen la estructura de la formula IV, y sales farmacéuticamente aceptables
y ésteres profármacos de los mismos:

35



Formula IV

[0065] en donde las líneas punteadas indican que el enlace designado es un enlace simple o un enlace doble, y en donde R₁ puede ser seleccionado por separado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C₁-C₂₄ saturado, alquenilo C₂-C₂₄ o alquinilo C₂-C₂₄ insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxycarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado, y n es igual a 1 o 2, y si n es igual a 2, entonces R₁ puede ser igual o diferente;

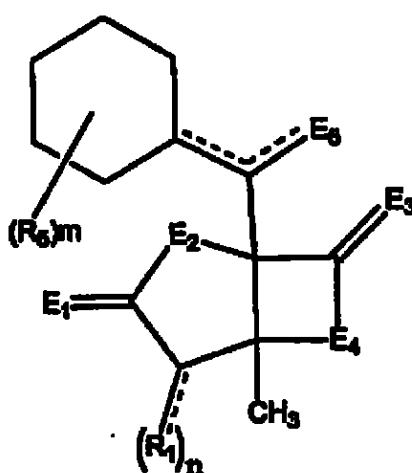
[0066] en donde R₃ puede seleccionarse del grupo que consiste de halógeno, variantes mono-substituidas, poli-substituidas o no substituidas de los siguientes residuos: alquilo C₁-C₂₄ saturado, alquenilo C₂-C₂₄ o alquinilo C₂-C₂₄ insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxycarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado;

[0067] en donde R₅ puede seleccionarse por separado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-substituidas, poli-

10

15

20



Formula V

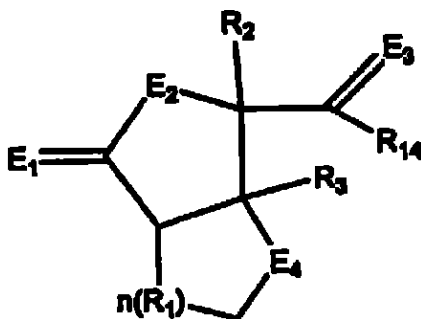
25

residuos siguientes: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboloxi, nitro, azido, fenilo, hidroxi, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado, y n es igual a 1 o 2, y si n es igual a 2, entonces R_1 puede ser igual o diferente;

[0071] en donde R_5 puede seleccionarse por separado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboloxi, nitro, azido, fenilo, oxi, hidroxi, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado, en donde m es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 y si m es más de 1, entonces R_5 puede ser igual o diferente; y en donde los sustituyentes R_5 pueden formar un anillo; y en donde cada uno de E_1 , E_2 , E_3 , E_4 y E_5 es un heteroátomo sustituido o no sustituido.

[0072] En algunas realizaciones R_1 es preferiblemente alquilo C_1 a C_5 sustituido o no sustituido. Por ejemplo, se prefieren metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, ter-butilo y pentilo. En algunas realizaciones, R_1 no es un alquilo C_6 sustituido o no sustituido, no ramificado.

[0073] Otras realizaciones se refieren a compuestos que tienen la estructura de la Formula VI, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos:



Formula VI

[0074] en donde R₁ puede ser seleccionado por separado del grupo que consiste de variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C₁-C₂₄ saturado, alquenilo C₂-C₂₄ o alquinilo C₂-C₂₄ insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxycarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, fenilo, cicloalquilacilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, tio, sulfóxido, ésteres de ácido sulfonaborónico, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado, y n es igual a 1 o 2, y si n es igual a 2, entonces R₁ puede ser igual o diferente;

[0075] en donde R₂ puede ser seleccionado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C₁-C₂₄ saturado, alquenilo C₂-C₂₄ o alquinilo C₂-C₂₄ insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxycarboniloxi, cicloalquilo (incluyendo, por ejemplo, ciclohexilcarbinol), cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado;

[0076] en donde R₃ puede ser seleccionado del grupo que consiste de un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C₁-C₂₄ saturado, alquenilo C₂-C₂₄ o alquinilo C₂-C₂₄ insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi,

ariloxycarbonilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboilo, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado; en donde cada uno de E₁, E₂, E₃ y E₄ pueden ser un heteroátomo sustituido o no sustituido.

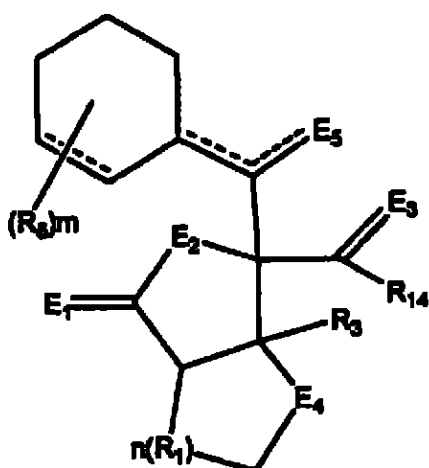
[0077] En algunas realizaciones, R₂ no es ciclohex-2-enil carbinol cuando un o de los sustituyentes R₁ es etilo o cloroetilo y R₃ es metilo.

[0078] En algunas realizaciones R₁ es preferiblemente alquilo C₁ a C₅ sustituido o no sustituido. Por ejemplo, se prefieren metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, ter-butilo y pentilo. En algunas realizaciones,

[0079] en donde R₁₄ puede ser seleccionado del grupo que consiste de un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C₁-C₂₄ saturado, alquenilo C₂-C₂₄ o alquinilo C₂-C₂₄ insaturados, acilo, aciloxi, alquilo, ariloxycarbonilo, ariloxycarbonilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboilo, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, tioésteres, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado.

[0080] En algunas realizaciones R₁₄ es preferiblemente un alquiltiol o alquiltiol sustituido, y E₃ es un oxígeno.

[0081] Algunas realizaciones ejemplares se refieren a compuestos de Formula VI que tienen la siguiente estructura, y que son referidos como Formula VI-1:



Formula VI-1

[0082] en donde R_1 puede ser seleccionado por separado del grupo que consiste de variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, ariloxycarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ésteres de ácido borónico y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado; n es igual a 1 o 2, y si n es igual a 2, entonces R_1 puede ser el mismo o diferente.

[0083] en donde R_3 puede ser seleccionado del grupo que consiste de un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, ariloxycarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, clano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado; en donde cada uno de E_1 , E_2 , E_3 y E_4 pueden ser un heteroátomo sustituido o no sustituido.

[0084] en donde R_5 puede ser seleccionado por separado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C_1-C_{24}

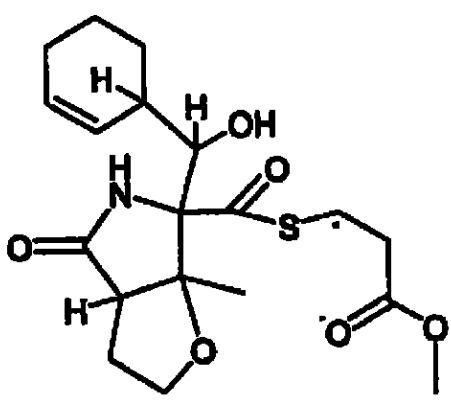
saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, oxi, hidroxil, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxil, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado; en donde m es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, u 11, y si m es más de 1, entonces R_5 puede ser el mismo o diferente, y en donde los sustituyentes R_5 pueden formar un anillo; y en donde cada uno de E_1 , E_2 , E_3 , E_4 y E_5 es un heteroátomo sustituido o no sustituido.

[0085] En algunas realizaciones R_1 es preferiblemente alquilo C_1 a C_5 sustituido o no sustituido. Por ejemplo, se prefieren metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, ter-butilo y pentilo.

[0086] en donde R_{14} puede ser seleccionado del grupo que consiste de un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxil, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxil, ciano, tio, tioésteres, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado.

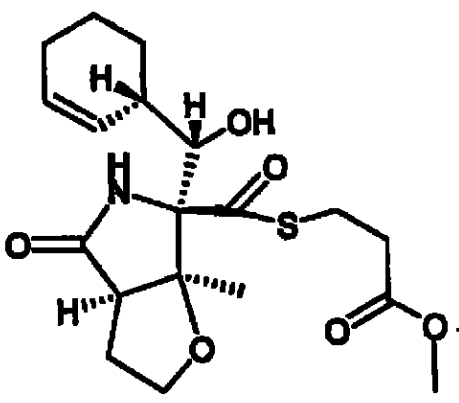
[0087] En algunas realizaciones, R_{14} es preferiblemente alquiltiol o alquiltiol sustituido y E_3 es un oxígeno.

[0088] Por ejemplo, el compuesto tiene la siguiente estructura VI-A:



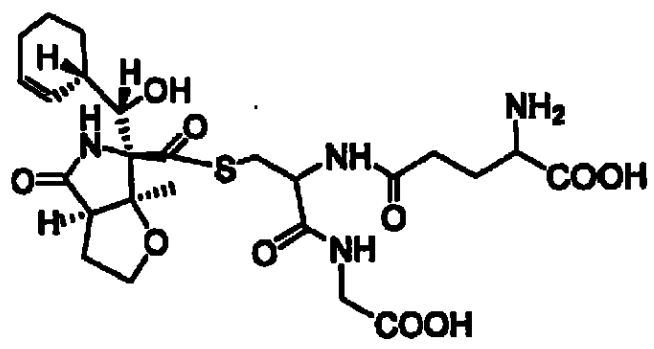
Formula VI-1A

[0089] La estereoquímica ejemplar puede ser la siguiente:



5

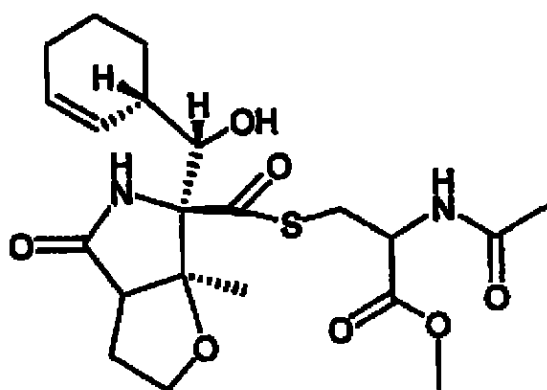
[0090] Por ejemplo, un compuesto ejemplar de Formula VI tiene la siguiente estructura y estereoquímica VI-1B:



Formula VI-1B

10

[0091] Otro ejemplo, el compuesto de Formula VI tiene la siguiente estructura y estereoquímica VI-1C:



Formula VI-1C

[0092] Algunas realizaciones de la invención se refieren a composiciones farmacéuticas que incluyen un compuesto como se describe aquí. Las composiciones farmacéuticas además pueden incluir un agente anti-microbiano.

[0093] Otras realizaciones se refieren a métodos para tratar el cáncer. Los métodos pueden incluir, por ejemplo, administrar un compuesto o composición como se describe aquí, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos. Los métodos pueden además incluir los pasos de: identificar un sujeto que se beneficiaría de la administración de un agente anticáncer; y realizar el método en el sujeto. El cáncer puede ser, por ejemplo, un mieloma múltiple, un carcinoma colorectal, un carcinoma de próstata, un adenocarcinoma de seno, un carcinoma pulmonar de célula no pequeña, un carcinoma de ovario, un melanoma y similares. El cáncer puede ser un cáncer resistente a los fármacos, y el cáncer resistente a los fármacos puede mostrar al menos uno de los siguientes: niveles elevados de bomba de eflujo de P-glicoproteína, expresión aumentada de la proteína asociada a resistencia a múltiples fármacos 1 codificada por *MRP1*, absorción de fármaco reducida, alteración del objetivo del fármaco o aumento en la reparación de daño de ADN inducido por fármaco, alteración de la ruta apoptótica o la activación de las enzimas citocromo P450. Como un ejemplo, el cáncer resistente a fármaco puede ser un sarcoma.

25

[0094] Aún realizaciones adicionales se refieren a los métodos para inhibir el crecimiento de una célula de cáncer. Los métodos pueden incluir, por ejemplo contactar una célula de cáncer con un compuesto o composición como se describe aquí, y sus sales farmacéuticamente aceptables y ésteres

profármacos de los mismos. La célula de cáncer puede ser, por ejemplo, un mieloma múltiple, un carcinoma colorectal, un carcinoma de próstata, un adenocarcinoma de seno, un carcinoma pulmonar de célula no pequeña, un carcinoma de ovario, un melanoma y similares.

5

[0095] Otras realizaciones se refieren a métodos para inhibir la actividad de proteasoma, que comprende el paso de contactar una célula una célula con un compuesto o composición como se describe aquí, y las sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármaco de los mismos.

10

[0096] Realizaciones adicionales se refieren a métodos para inhibir la activación de NF- κ B. Los métodos pueden incluir, por ejemplo, el paso de contactar una célula con un compuesto o composición como se describe aquí, y las sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármaco de los mismos.

15

[0097] Aún otras realizaciones se refieren a los métodos para tratar una condición inflamatoria. Los métodos pueden incluir, por ejemplo, administrar una cantidad efectiva de un compuesto o composición como se describe aquí, a un paciente en necesidad de la misma. La condición inflamatoria puede ser, por ejemplo, artritis reumatoide, asma, esclerosis múltiple, soriasis, apoplejía, infarto al miocardio y similares.

20

[0098] Algunas realizaciones se refieren a métodos para tratar una enfermedad microbiana que puede incluir administrar una cantidad efectiva de un compuesto o composición como se describe aquí, a un paciente en necesidad del mismo. La enfermedad microbiana puede ser causada por, por ejemplo, *B. anthracis*, *Plasmodium*, *Leishmania* y *Trypanosoma*.

25

[0099] Otras realizaciones se refieren a usos de uno o más compuestos de las Formulas I, II, III, IV, V o VI, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos en el tratamiento de un cáncer, una condición inflamatoria o una infección microbiana. El uno o más compuestos es uno o más de un compuesto de cualquiera de los compuestos descritos aquí, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos. El cáncer puede ser, por ejemplo, un mieloma múltiple, un carcinoma colorectal, un carcinoma de próstata, un adenocarcinoma de seno,

30

35

un carcinoma pulmonar de célula no pequeña, un carcinoma de ovario o un melanoma. También, el cáncer puede ser un cáncer resistente a fármaco, por ejemplo, uno que muestra al menos uno de los siguientes: niveles elevados de bomba de eflujo de P-glicoproteína, expresión aumentada de la proteína asociada a resistencia a múltiples fármacos 1 codificada por *MRP1*, absorción de fármaco reducida, alteración del objetivo del fármaco o aumento en la reparación de daño de ADN inducido por fármaco, alteración de la ruta apoptótica o la activación de las enzimas citocromo P450. La condición inflamatoria puede ser, por ejemplo, artritis reumatoide, asma, esclerosis múltiple, soriasis, apoplejía o infarto al miocardio. La infección microbiana puede ser causada por, por ejemplo, *B. anthracis*, *Plasmodium*, *Leishmania* y *Trypanosoma*.

[0100] Aún realizaciones adicionales se refieren a los usos de uno o más compuestos de las Formulas I, II, III, IV, V, o VI como se describen aquí, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos, para la inhibición de angiogénesis, inhibición de una actividad de proteasoma, o inhibición de la activación de NF- κ B.

[0101] Algunas realizaciones se refieren a los usos de un compuesto de Formula I, II, III, IV, V o VI, sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de un cáncer, una condición inflamatoria, o una infección microbiana o para la inhibición de angiogénesis, una actividad de proteasoma, o activación de NF- κ B. Los usos pueden incluir además el uso de un agente quimioterapéutico, un agente anti-angiogénico, un agente anti-inflamatorio, o un inhibidor de proteasoma.

Breve Descripción de los Dibujos

[0102] Los dibujos acompañantes que se incorporan en y forman parte de la descripción, simplemente ilustran ciertas modalidades preferidas de la presente invención. Junto con el resto de la descripción, se pretende que sirvan para explicar modos preferidos para producir ciertos compuestos de la invención para los expertos en la técnica. En los dibujos:

[0103] FIG. 1 describe el espectro de RMN ^1H de un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-2.

5 **[0104]** FIG. 2 describe el espectro de masas de un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-2.

[0105] FIG. 3 describe el espectro de RMN ^1H de un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-3.

10

[0106] FIG. 4 describe el espectro de masas de un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-3.

15

[0107] FIG. 5 describe el espectro de RMN ^1H de un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-4.

[0108] FIG. 6 describe el espectro de masas de un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-4.

20

[0109] FIG. 7 describe el espectro de RMN ^1H de un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-5A.

[0110] FIG. 8 describe el espectro de masas de un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-5A.

25

[0111] FIG. 9 describe el espectro de RMN ^1H de un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-5B.

30

[0112] FIG. 10 describe el espectro de masas de un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-5B.

[0113] FIG. 11 describe el efecto de las Formulas II-2, II-3, E II-4 contra la citotoxicidad mediada por LeTx.

35

[0114] FIG. 12 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-8C.

[0115] FIG. 13 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-13C.

5 **[0116]** FIG. 14 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-18.

[0117] FIG. 15 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-19.

10 **[0118]** FIG. 16 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-20.

[0119] FIG. 17 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-21.

15 **[0120]** FIG. 18 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-22.

[0121] FIG. 19 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-24C.

20 **[0122]** FIG. 20 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-25.

25 **[0123]** FIG. 21 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula IV-3C en DMSO-d_6 .

[0124] FIG. 22 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula IV-3C en $\text{C}_6\text{D}_6/\text{DMSO-d}_6$.

30 **[0125]** FIG. 23 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-26 en DMSO-d_6 .

[0126] FIG. 24 describe la gráfica ORTEP generada por computadora del compuesto de Formula II-26.

35

[0127] FIG. 25 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-27 en DMSO- d_6 .

5 [0128] FIG. 26 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-28 en DMSO- d_6 .

[0129] FIG. 27 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-29 en DMSO- d_6 .

10 [0130] FIG. 28 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-30 en DMSO- d_6 .

[0131] FIG. 29 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-44 en DMSO- d_6 .

15

[0132] FIG. 30 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula I-7 en DMSO- d_6 .

20

[0133] FIG. 31 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-47 en DMSO- d_6 .

[0134] FIG. 32 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-38 en DMSO- d_6 .

25

[0135] FIG. 33 describe el espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-50 en DMSO- d_6 .

Descripción Detallada de la Realización Preferida

30

[0136] Se citan numerosas referencias aquí. Las referencias citadas aquí, incluyendo las patentes Americanas citadas aquí, se consideran cada una incorporada para referencia en su totalidad en esta descripción.

35

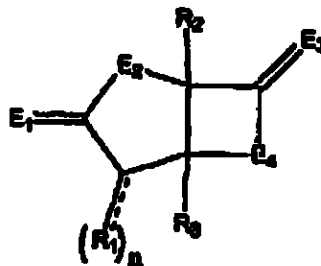
[0137] Las realizaciones de la invención incluyen, pero no están limitadas a proporcionar un método para la preparación de compuestos, incluyendo compuestos novedosos, por ejemplo incluyendo los compuestos

descritos aquí y análogos de los mismos, y proporcionar un método para producir por ejemplo composiciones anti-microbianas, anti-cáncer y anti-inflamatorias farmacéuticamente aceptables. Los métodos pueden incluir las composiciones con rendimiento relativamente alto, en donde los compuestos y/o sus derivados están entre los ingredientes activos en estas composiciones. Otras realizaciones se refieren a proporcionar compuestos novedosos que no se obtienen por métodos actualmente disponibles. Además, las realizaciones se refieren a métodos para tratar cáncer, inflamación y enfermedades infecciosas, particularmente aquellas que afectan humanos. Los métodos pueden incluir por ejemplo, el paso de administrar una cantidad efectiva de un miembro de una clase de nuevos compuestos. Las realizaciones preferidas se refieren a compuestos y métodos para producir y utilizar estos compuestos revelados aquí, pero no necesariamente en todas las realizaciones de la presente invención, se cumplen estos objetivos.

[0138] Para los compuestos aquí descritos, cada carbono estereogénico puede ser de configuración R o S. Aunque los compuestos específicos ejemplificados en esta solicitud pueden ilustrarse en una configuración particular, los compuestos que tienen la estereoquímica opuesta en cualquier centro quiral dado o sus mezclas, también se prevén. Cuando se encuentran centros quirales en los derivados de esta invención, se entenderá que los compuestos abarcan todos los estereoisómeros posibles.

Compuestos de la Formula I

[0139] Algunas realizaciones proporcionan compuestos y métodos para producir una clase de compuestos, sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos, en donde los compuestos se representan por la Formula I:

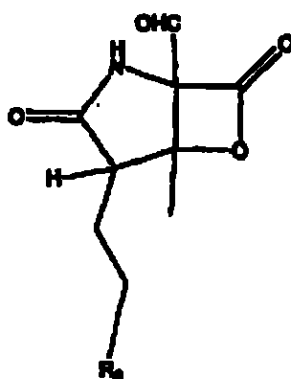


Formula I

[0140] En ciertas realizaciones, el(los) sustituyente(s) R_1 , R_2 y R_3 separadamente pueden incluir un hidrógeno, un halógeno, una variante mono-sustituida, poli-sustituida o no sustituida de los siguientes residuos: alquilo C_1 - C_{24} saturado, alquenilo C_2 - C_{24} o alquinilo C_2 - C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxycarboniloxi, cicloalquilo (incluyendo por ejemplo, ciclohexilcarbinol), cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado, incluyendo alquilo polihalogenado. Además, en ciertas realizaciones, cada uno de E_1 , E_2 , E_3 y E_4 puede ser un heteroátomo o heteroátomos sustituidos, por ejemplo un heteroátomo seleccionado por separado del grupo que consiste de nitrógeno, azufre y oxígeno. La línea punteada indica que el enlace designado es un enlace sencillo o un enlace doble. En algunas realizaciones, R_1 es preferiblemente un alquilo C_1 a C_5 sustituido o no sustituido. Por ejemplo se prefieren metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, ter-butilo y pentilo. En algunas realizaciones, R_1 no es un alquilo C_6 sustituido o no sustituido, no ramificado.

[0141] En algunas realizaciones n puede ser igual a 1 o igual a 2. Cuando n es igual a 2, los sustituyentes pueden ser iguales o pueden ser diferentes. Además, algunas realizaciones incluyen la condición que R_2 no es ciclohex-2-enil-carbinol o ciclohex-2-enil-carbinol sustituido. Además, algunas realizaciones incluyen la condición que la Formula I no es el Compuesto II-16 o el Compuesto II-17. Otras realizaciones incluyen la condición que R_2 no es ciclohex-2-enil-carbinol, cuando R_3 es metilo. Adicionalmente, en algunas realizaciones R_3 no es hidrógeno.

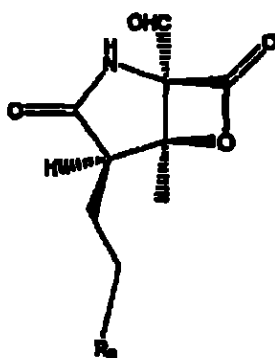
[0142] De preferencia, R_2 puede ser un formilo. Por ejemplo, el compuesto puede tener la siguiente estructura I-1:



Formula I-1

5 **[0143]** R_6 puede incluir, por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

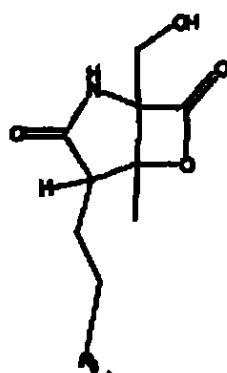
[0144] De preferencia, la estructura de la Formula I-1 puede tener la siguiente estereoquímica:



10

[0145] R_6 puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

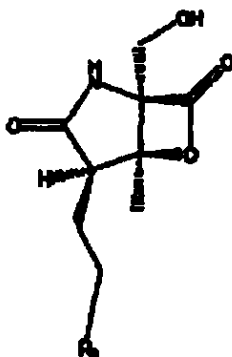
15 **[0146]** De preferencia, R_2 puede ser un carbinol. Por ejemplo, el compuesto puede tener la siguiente estructura I-2:



Formula I-2

5 **[0147]** R_8 puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

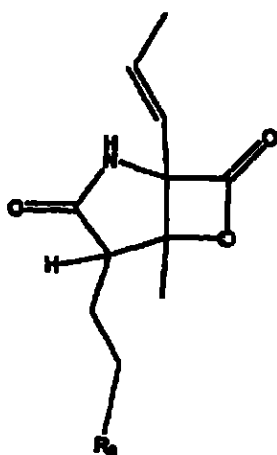
[0148] Como un ejemplo, la estructura de la Formula I-2 puede tener la siguiente estereoquímica:



10

[0149] R_8 puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

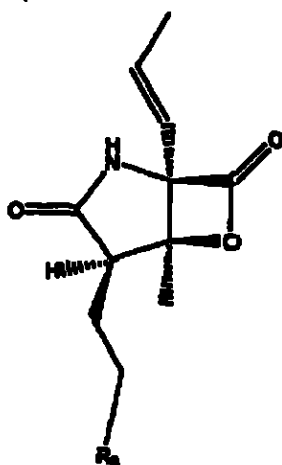
15 **[0150]** Como compuesto ejemplar de la Formula I puede ser el compuesto que tiene la siguiente estructura I-3:



Formula I-3

5 **[0151]** R_8 puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

[0152] El compuesto de la Formula I-3 puede tener la siguiente estructura estereoquímica:

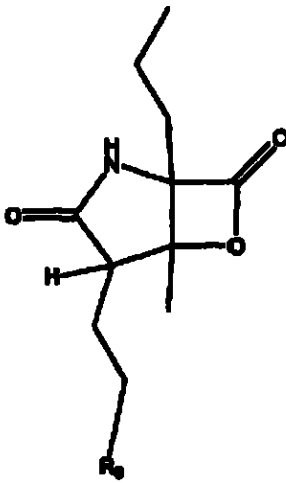


10

[0153] R_8 puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

15 **[0154]** Otro compuesto ejemplar de la Formula I puede ser el compuesto que tiene la siguiente estructura I-4:

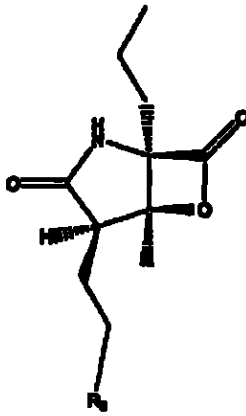
56



Formula I-4

5 [0155] R₆ puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

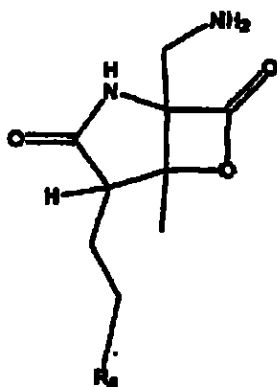
 [0156] De preferencia, el compuesto de la Formula I-4 puede tener la siguiente estructura estereoquímica:



10 [0157] R₆ puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

15 [0158] Un compuesto ejemplar aún adicional de la Formula I es el compuesto que tiene la siguiente estructura I-5:

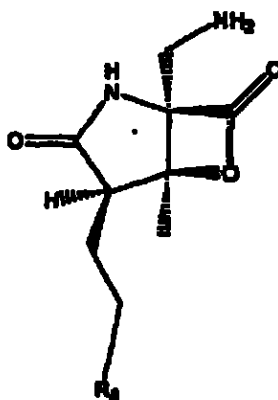
56



Formula I-5

5 **[0159]** R_6 puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

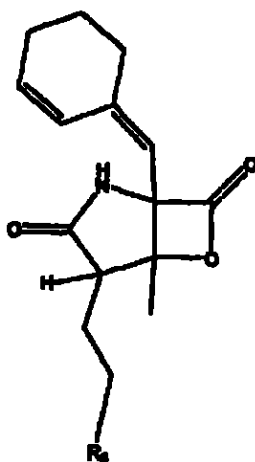
[0160] Por ejemplo, el compuesto de la Formula I-5 puede tener la siguiente estereoquímica:



10

[0161] R_6 puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

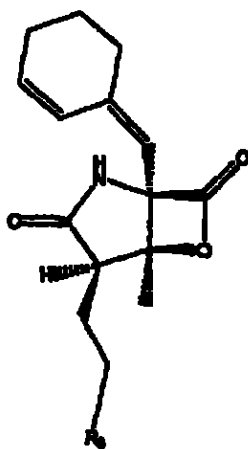
15 **[0162]** En algunas realizaciones R_2 de la Formula I puede ser por ejemplo, un ciclohex-2-enilidenmetilo. Por ejemplo, el compuesto puede tener la siguiente estructura de la Formula I-6:



Formula I-6

5 **[0163]** R_6 puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

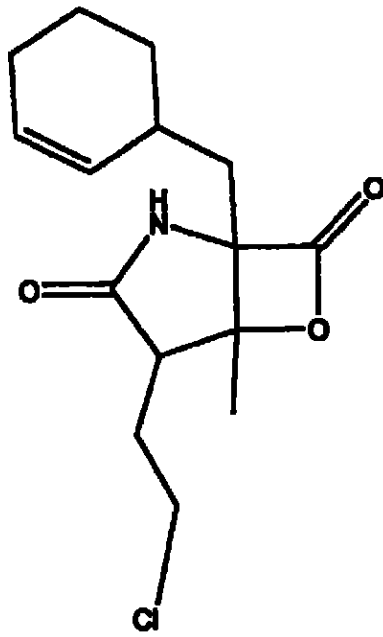
10 **[0164]** De preferencia, el compuesto de la Formula 1-6 puede tener la siguiente estereoquímica:



10

15 **[0165]** R_6 puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

20 **[0166]** En realizaciones adicionales, el R_2 de la Formula I puede ser, por ejemplo, un ciclohex-2-enilmetilo. Por ejemplo, el compuesto puede tener la siguiente estructura de Formula I-7:

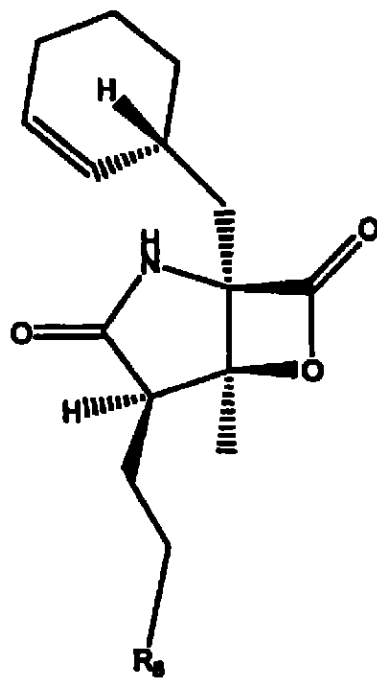


Formula I-7

[0167] R_8 puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

5

[0168] De preferencia, el compuesto de Formula I-7 puede tener la siguiente estereoquímica:



[0169] R_8 puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

10

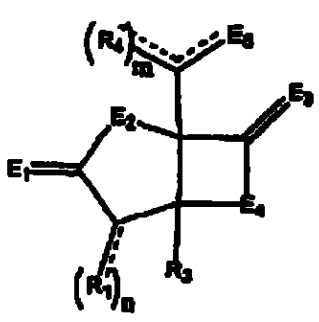
[0170] En otras realizaciones, R^2 puede ser una ciclohexilalquilamina.

5 [0171] También, en otras realizaciones, R_2 puede ser una C-ciclohexil-metilenamina. En otras, R_2 puede ser una ciclohexancarbaldehído 0-oxima.

[0172] Además, en algunas realizaciones R_2 puede ser un cicloalquilacilo.
10

Compuestos de la Formula II

[0173] Otras realizaciones proporcionan compuestos y métodos
15 para producir una clase de compuestos, sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos, en donde los compuestos se representan por la Formula II:



Formula II

[0174] En ciertas realizaciones, el(los) sustituyente(s) R_1 , R_3 , y R_4
por separado pueden incluir un hidrógeno, un halógeno, una variante mono-
substituida, poli-substituida o no substituida de los siguientes residuos: alquilo
25 C_1-C_{24} saturado, alquenoilo C_2-C_{24} o alquinoilo C_2-C_{24} insaturado, acilo, aciloxi,
alquilocarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenoilo, alcoxi,
cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino,
aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitró, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxilo,
alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxilo, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de
30 sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo
alquilo polihalogenado. Además, en ciertas realizaciones, cada uno de E_1 , E_2 ,

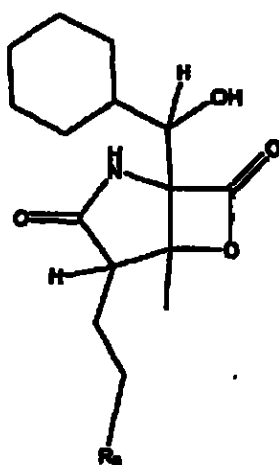
E_3 y E_4 pueden ser un heteroátomo sustituido o no sustituido. Por ejemplo el heteroátomo puede ser nitrógeno, azufre y oxígeno. La línea punteada indica que el enlace designado es un enlace sencillo o un enlace doble.

5 **[0175]** En algunas realizaciones, n o m pueden ser igual a 1, mientras que en otros puede ser igual a 2. Cuando n o m es igual a 2, los sustituyentes pueden ser iguales o pueden ser diferentes. Además, en algunas realizaciones incluyen la condición que la Formula II no es el Compuesto II-16 o el Compuesto II-17. Realizaciones adicionales incluyen la
10 condición que R_4 no es ciclohex-2-enilo, cuando R_3 es metilo. Adicionalmente, en algunas realizaciones R^3 no es un hidrógeno.

[0176] E_5 puede ser por ejemplo, OH, O, OR_{10} , S, SR_{11} , SO_2R_{11} , NH, NH_2 , NOH, $NHOH$, NR_{12} y $NHOR_{13}$, en donde R_{10-13} pueden por separado
15 incluir por ejemplo hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, heteroarilo y similares. También, R_1 puede ser CH_2CH_2X , en donde X puede ser por ejemplo, H, F, Cl, Br e I. R_3 puede ser metilo. Además, R_4 puede incluir ciclohexilo. También, cada uno de E_1 , E_3 y E_4 pueden ser O y E_2 puede ser NH. De preferencia, R_1 puede ser CH_2CH_2X , en donde X se elige del grupo que
20 consiste de H, F, Cl Br e I; en donde R_4 puede incluir un ciclohexilo; en donde R_3 puede ser metilo; y en donde cada uno de E_1 , E_3 y E_4 por separado pueden ser O y E_2 puede ser NH.

[0177] En algunas realizaciones, R_1 es preferiblemente un alquilo
25 C_1 a C_5 sustituido o no sustituido. Por ejemplo se prefieren metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, ter-butilo y pentilo. En algunas realizaciones R_1 no es un alquilo C_6 sustituido o no sustituido, no ramificado.

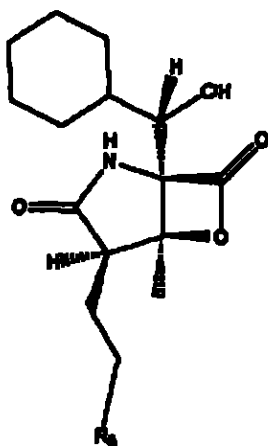
[0178] Por ejemplo, un compuesto ejemplar de la Formula II tiene
30 la siguiente estructura II-1:



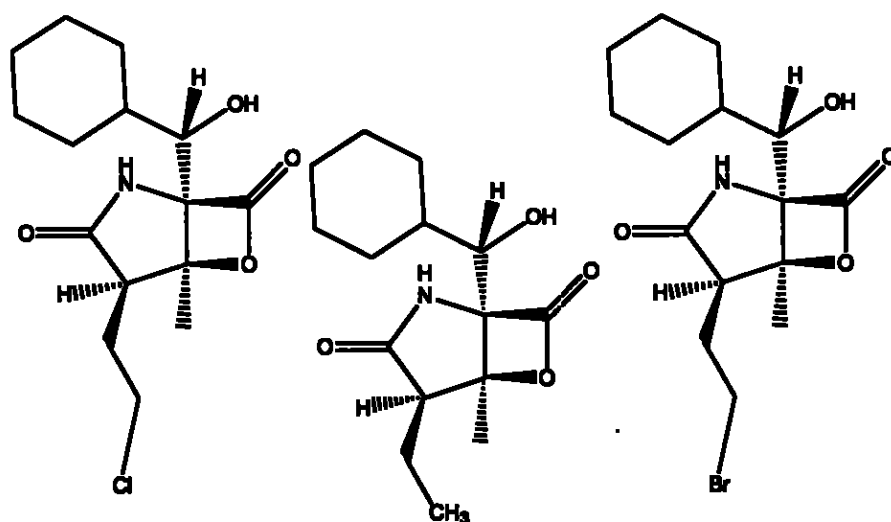
Formula II-1

5 [0179] R₆ puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

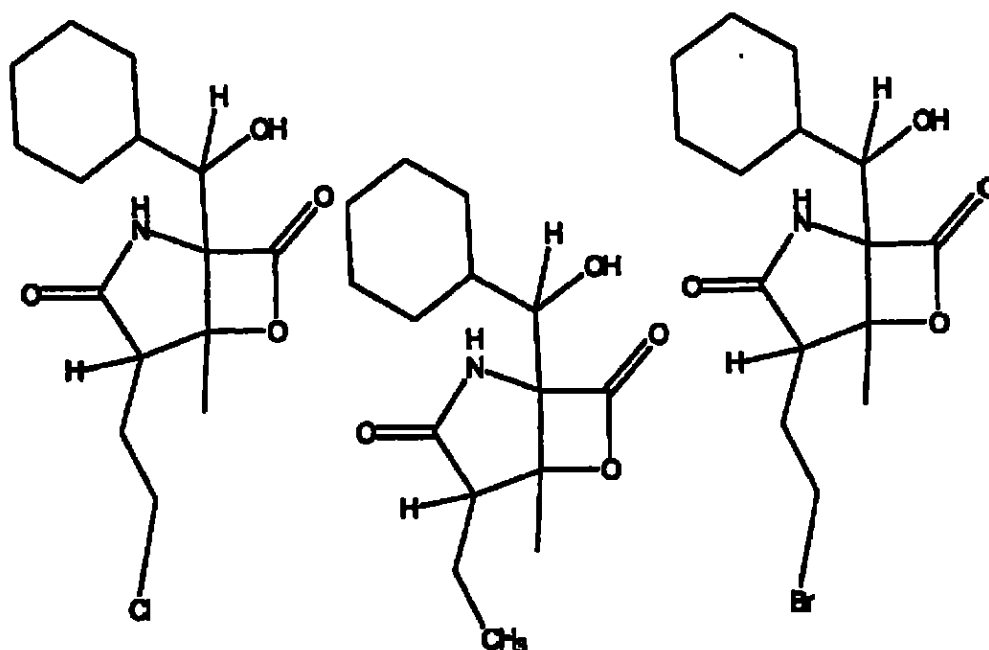
[0180] La estereoquímica ejemplar puede ser como sigue:



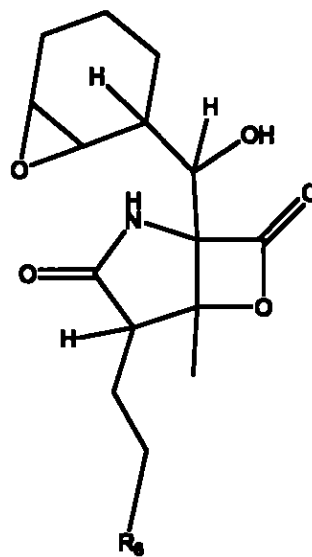
10 [0181] En realizaciones preferidas, el compuesto de la Formula II tiene cualquiera de las siguientes estructuras II-2, II-3 o II-4, respectivamente:



[0182] Se notará que la estereoquímica de las estructuras anteriores puede cambiar a la estereoquímica opuesta en uno o más de los centros quirales. Por ejemplo, algunas realizaciones incluyen las siguientes estructuras mostradas sin estereoquímica:



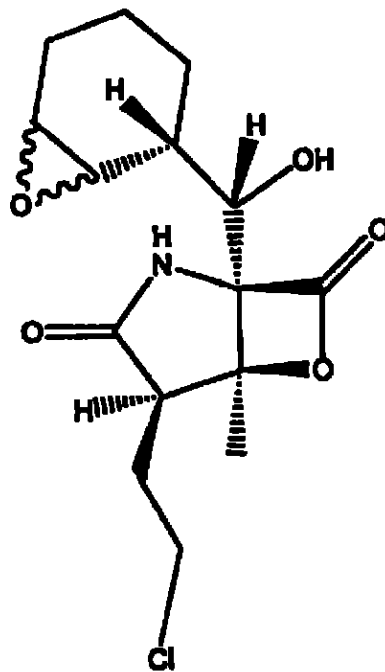
[0183] En otras realizaciones en donde R_4 puede ser 7-oxa-biciclo[4.1.0] hept-2-ilo. Un compuesto ejemplar de la Formula II es la siguiente estructura II-5:



Formula II-5

5 **[0184]** R_6 puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

[0185] Los siguientes son ejemplos de compuestos que tienen la estructura de la Formula II-5:

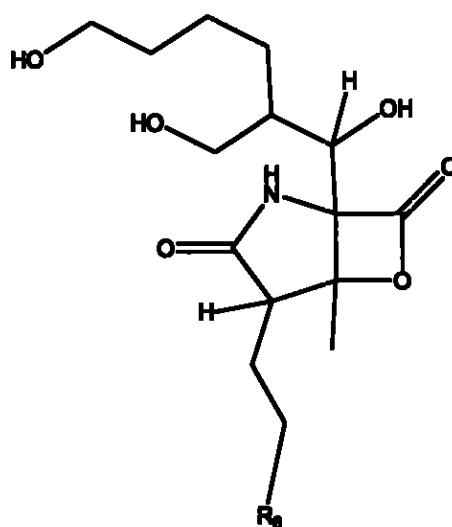


Formulas II-5A y II-5B

10

[0186] En realizaciones aún adicionales, R_4 puede incluir un alquilo ramificado sustituido o sin sustituir. Por ejemplo, un compuesto de Formula II puede ser la siguiente estructura II-6:

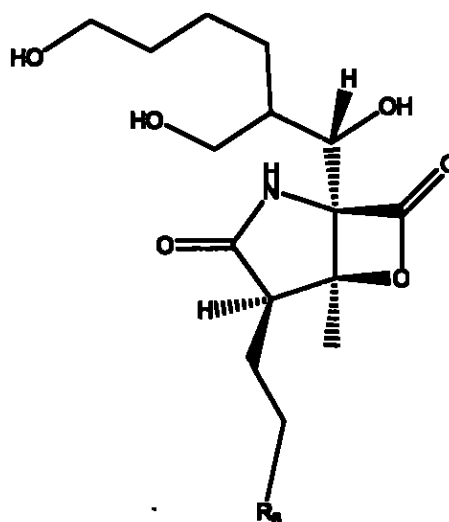
15



Formula II-6

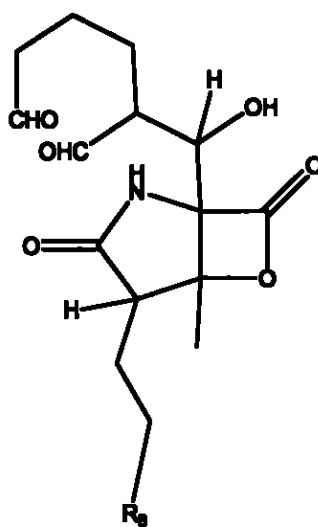
5 [0187] R^6 puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

[0188] La siguiente es estereoquímica ejemplar para un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-6:



10

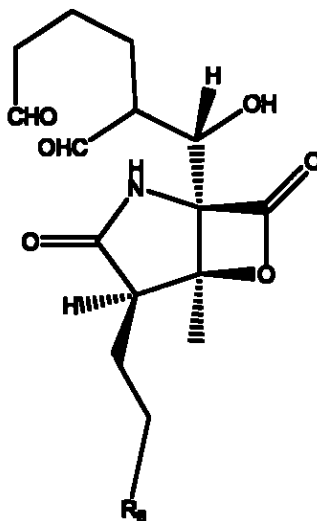
[0189] Como otro ejemplo, el compuesto de Formula II puede ser la siguiente estructura II-7:



Formula II-7

[0190] R_6 puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo
5 y yodo.

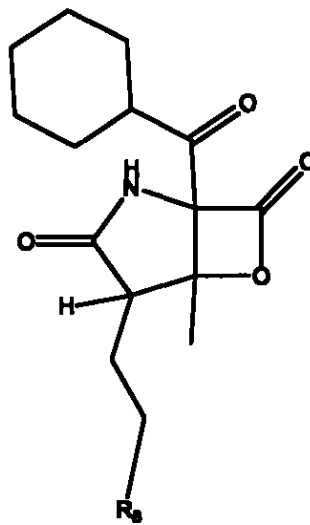
[0191] La siguiente es estereoquímica ejemplar para un
compuesto que tiene la estructura de la Formula II-7:



10

[0192] En otras realizaciones, R_4 puede ser un cicloalquilo y E_5
puede ser un oxígeno. Un compuesto ejemplar de Formula II puede ser la
siguiente estructura II-8:

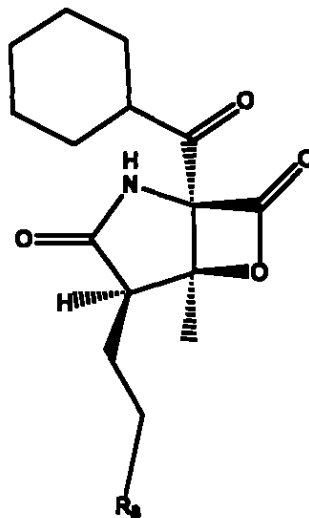
15



Formula II-8

5 **[0193]** R_8 puede incluir por ejemplo, hidrógeno (II-8A), flúor (II-8B), cloro (II-8C), bromo (II-8D) y yodo (II-8E).

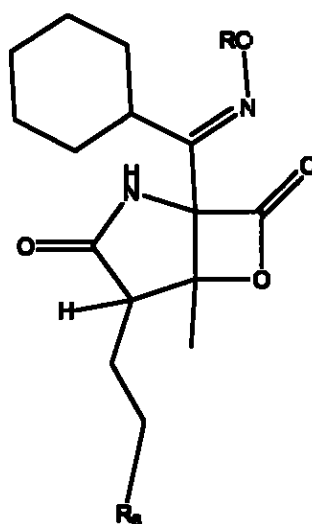
[0194] La siguiente es estereoquímica ejemplar para un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-8:



10

[0195] En algunas realizaciones, E5 puede ser un amina óxido, dando lugar a una oxima. Un compuesto ejemplar de la Formula II tiene la siguiente estructura II-9:

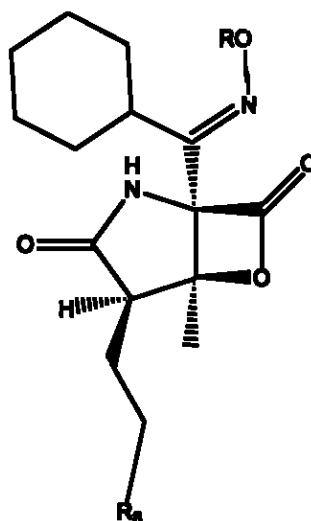
15



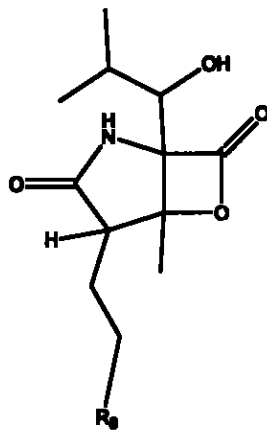
Formula II-9

[0196] R₈ puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo; R puede ser hidrógeno, alquilo o alquilo sustituido, por ejemplo.

[0197] La siguiente es estereoquímica ejemplar para un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-9:



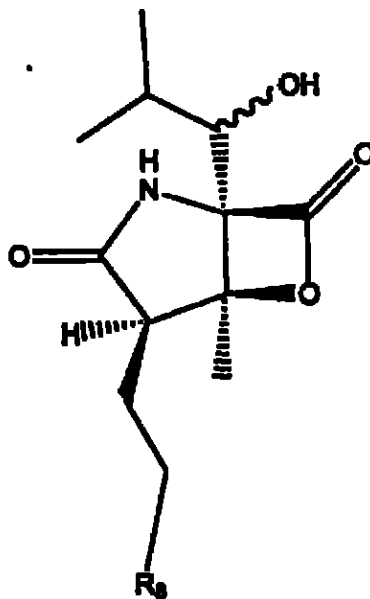
[0198] Un compuesto ejemplar adicional de la Formula II tiene la siguiente estructura II-10:



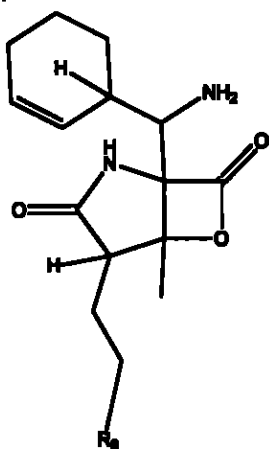
Formula II-10

5 **[0199]** R⁶ puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

10 **[0200]** La siguiente es estereoquímica ejemplar para un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-10 (el enlace ondulado indica que se permite cualquier estereoquímica):



[0201] En algunas realizaciones, E₅ puede ser NH₂. Un compuesto ejemplar de la Formula II tiene la siguiente estructura II-11:

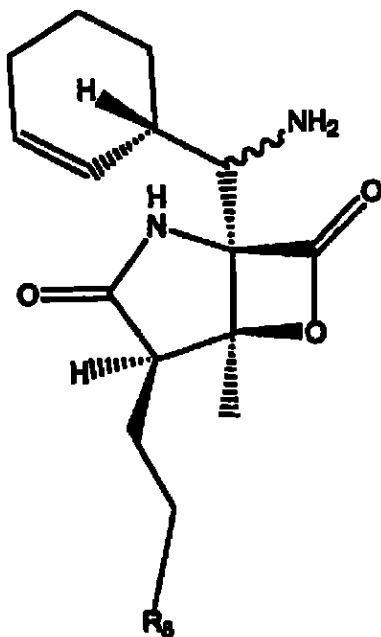


Formula II-11

5 [0202] R_6 puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

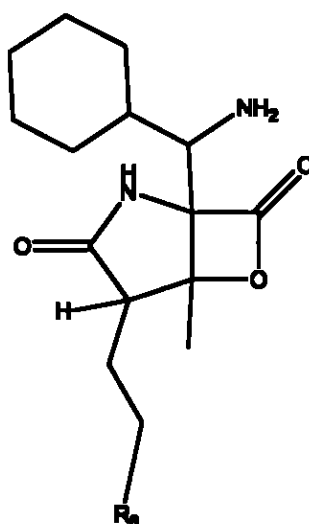
 [0203] La siguiente es estereoquímica ejemplar para un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-11:

10



 [0204] En algunas realizaciones, R_4 puede incluir un cicloalquilo y E_5 puede ser NH_2 . Un compuesto ejemplar de la Formula II tiene la siguiente estructura II-12:

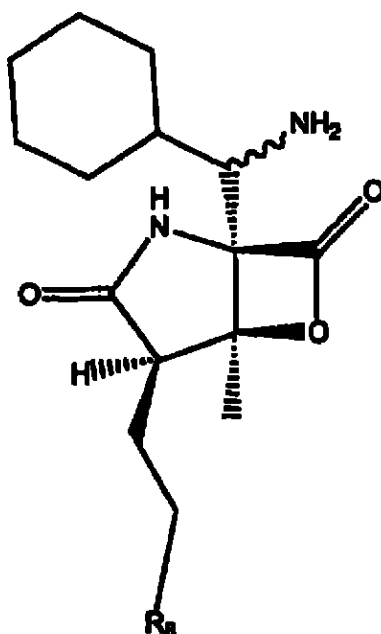
15



Formula II-12

5 [0205] R₈ puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

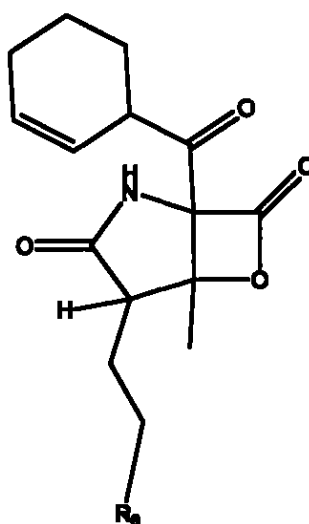
[0206] La siguiente es estereoquímica ejemplar para un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-12:



10

[0207] Un compuesto ejemplar adicional de la Formula II tiene la siguiente estructura II-13:

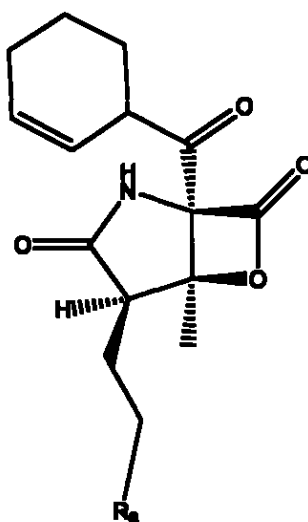
15



Formula II-13

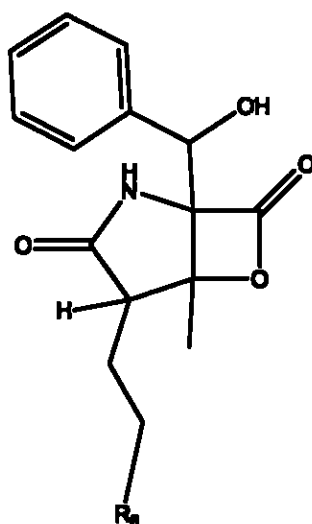
5 [0208] R_6 puede incluir por ejemplo, hidrógeno (II-13A), flúor (II-13B), cloro (II-13C), bromo (II-13D) e yodo (II-13E).

[0209] La siguiente es estereoquímica ejemplar para un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-13:



10

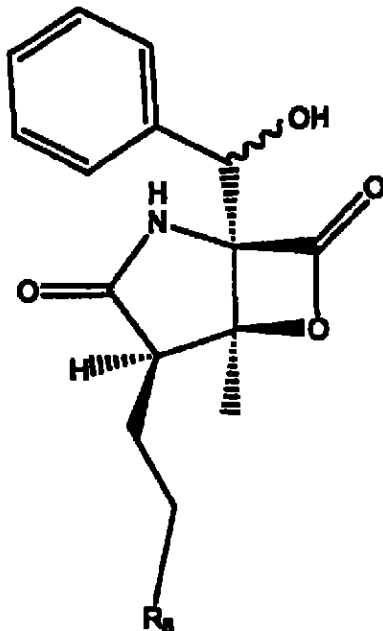
[0210] Un compuesto ejemplar aún adicional de la Formula II tiene la siguiente estructura II-14:



Formula II-14

5 [0211] R⁶ puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

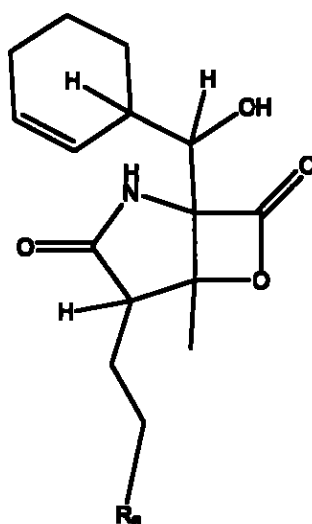
[0212] La siguiente es estereoquímica ejemplar para un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-14:



10

[0213] En algunas realizaciones, los compuestos de la Formula II, puede incluir como R₄ al menos un cicloalqueno, por ejemplo. Además, en algunas realizaciones, los compuestos pueden incluir un hidroxí en E₅, por ejemplo. Un compuesto ejemplar adicional de la Formula II tiene la siguiente estructura II-15:

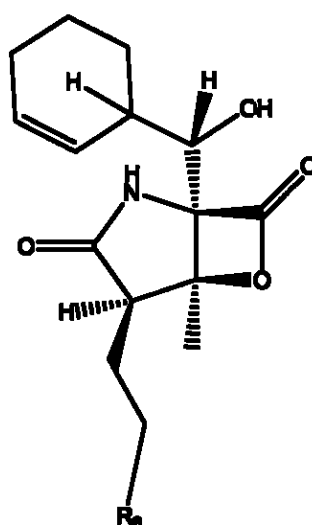
15



Formula II-15

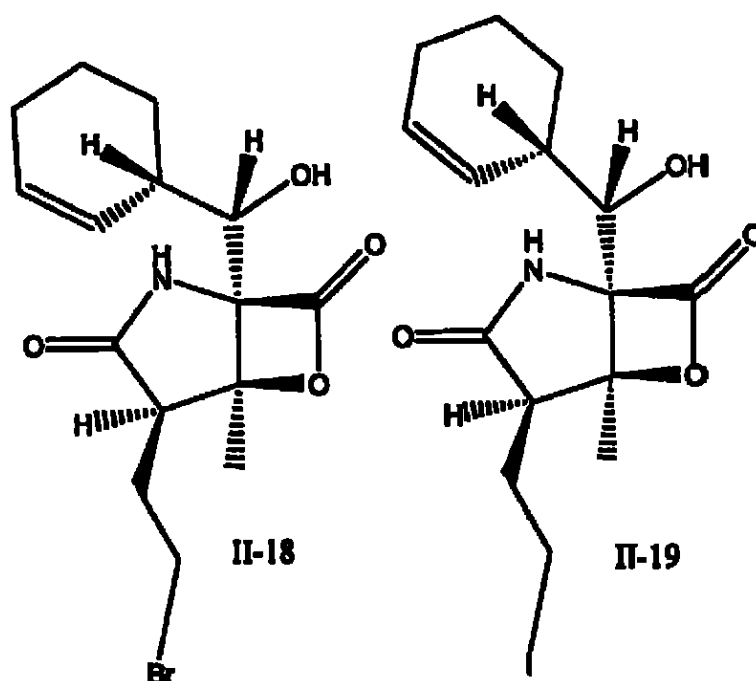
5 [0214] R₈ puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo. En algunas realizaciones, R₈ no incluye hidrógeno o cloro.

[0215] La estereoquímica ejemplar puede ser como sigue:



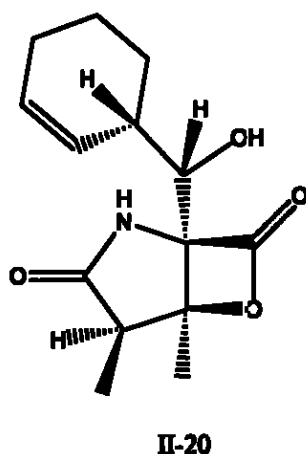
10

[0216] La siguiente es estereoquímica ejemplar para compuestos que tienen las estructuras II-18, y II-19, respectivamente:

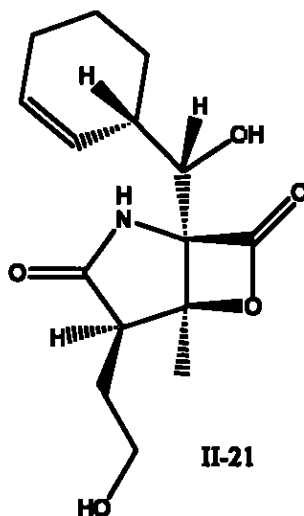


[0217] Los compuestos de las Formulas II-18 y II-19 pueden obtenerse por fermentación, síntesis o semi-síntesis y aislarse/purificarse como se establece a continuación. Además, los compuestos de las Formulas II-18 y II-19 pueden emplearse, y se refieren como "materiales de partida" para producir otros compuestos aquí descritos.

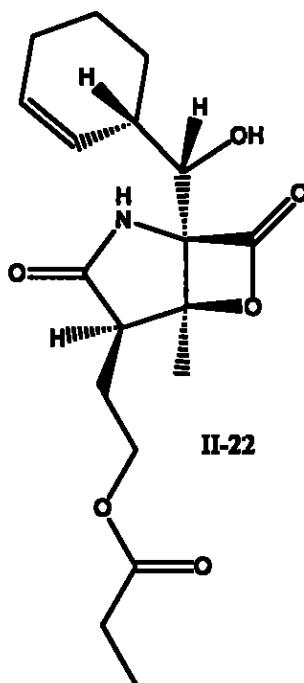
[0218] En algunas realizaciones, los compuestos de la Formula II pueden incluir un grupo metilo como R₁ por ejemplo. Un compuesto ejemplar adicional, Formula II-20, tiene la siguiente estructura y estereoquímica:



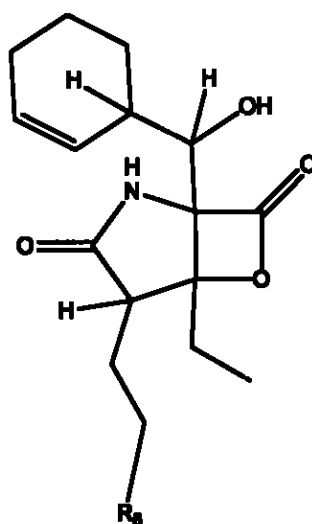
[0219] En algunas realizaciones, los compuestos de la Formula II, pueden incluir hidroxietilo como R₁, por ejemplo. Un compuesto ejemplar adicional, Formula II-21, tiene las siguientes estructuras y estereoquímicas:



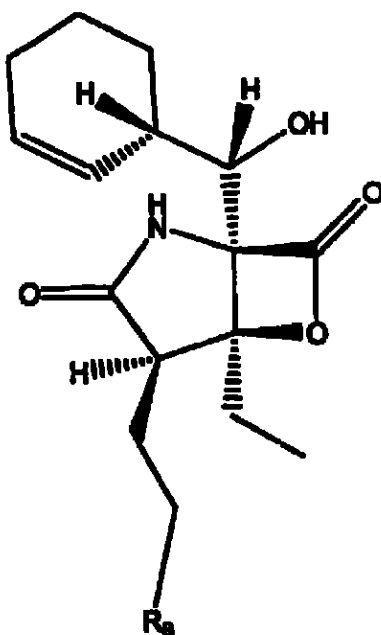
[0220] En algunas realizaciones, el grupo hidroxilo de la Formula II-21 puede ser esterificado de forma que R_1 puede incluir etilpropionato, por ejemplo. Un compuesto ejemplar, Formula II-22, tiene las siguientes estructura y estereoquímica:



[0221] En algunas realizaciones, los compuestos de la Formula II pueden incluir un grupo etilo como R_3 , por ejemplo. Un compuesto ejemplar adicional de la Formula II tiene la siguiente estructura II-23:

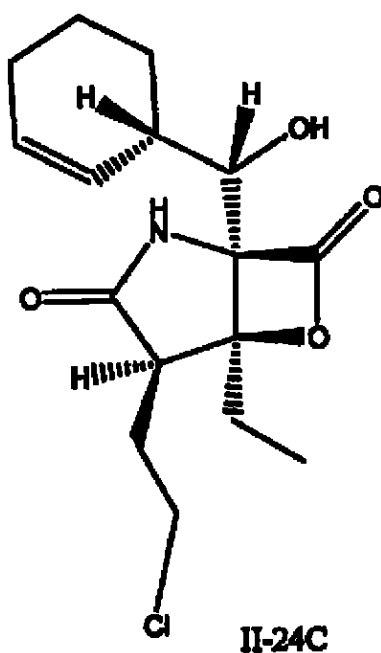


[0222] R₈ puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo. La estereoquímica ejemplar puede ser como sigue:

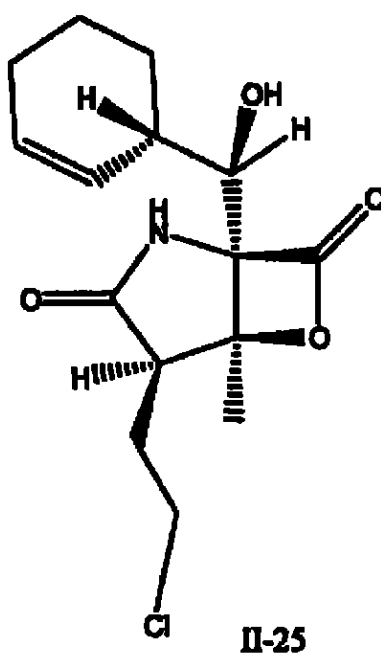


5

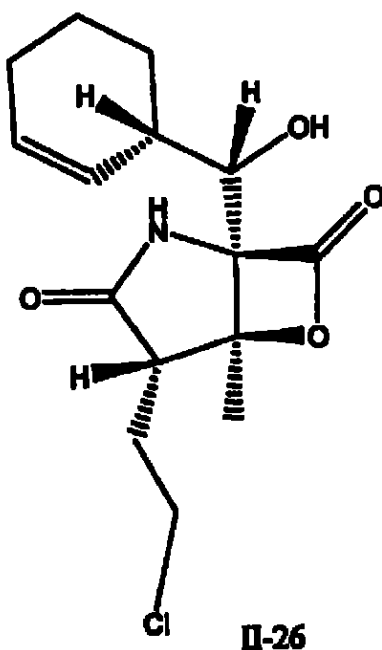
[0223] En algunas realizaciones, los compuestos de la Formula II-23 pueden tener la siguiente estructura y estereoquímica, ejemplificadas por la Formula II-24C, en donde R₃ es etilo y R₈ es cloro:



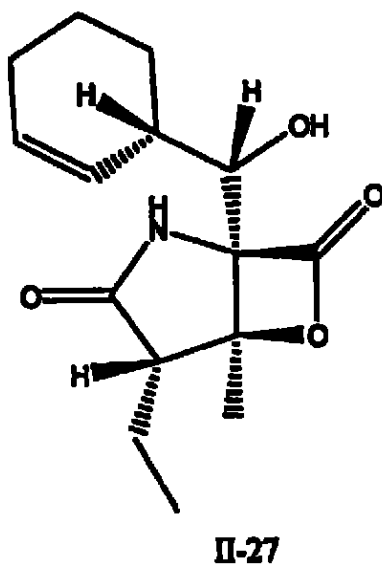
[0224] En algunas realizaciones, los compuestos de la Formula II-15 pueden tener la siguiente estereoquímica, ejemplificada por el compuesto de la Formula II-25, en donde R^3 es cloro:



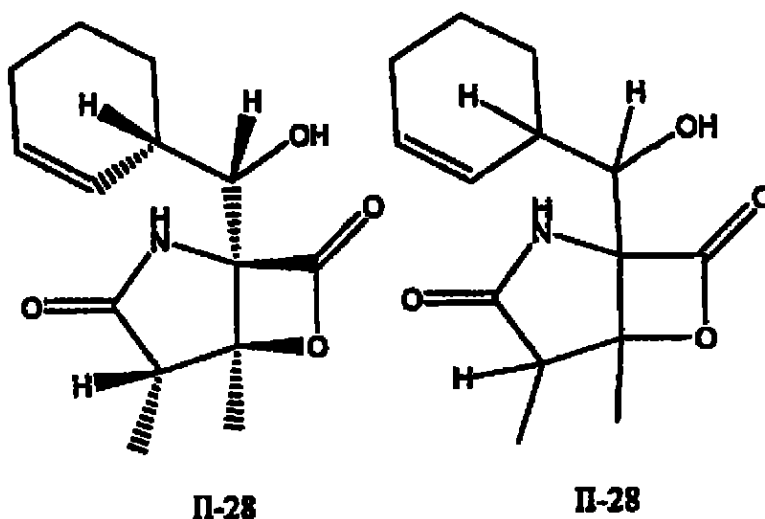
[0225] En algunas realizaciones, el compuesto de Formula II-15 puede tener la siguiente estereoquímica, ejemplificada por el compuesto de Formula II-26, en donde R^6 es cloro:



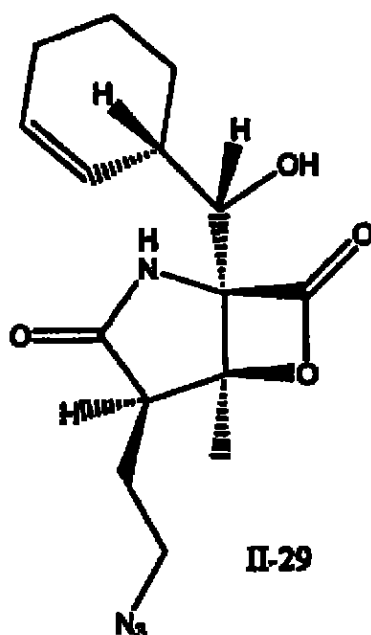
[0226] En algunas realizaciones, el compuesto de Formula II puede tener la siguiente estructura y estereoquímica, ejemplificada por la Formula II-27, en donde R_1 es etilo:



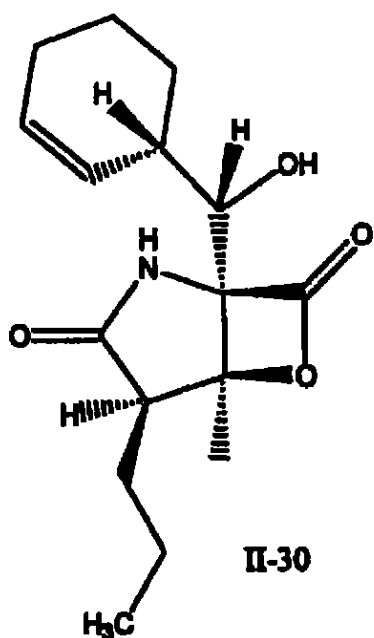
[0227] En algunas realizaciones, el compuesto de Formula II puede tener la siguiente estructura (mostrada sin estereoquímica y con estereoquímica ejemplar), ejemplificada por la Formula II-28, en donde R_1 es metilo:



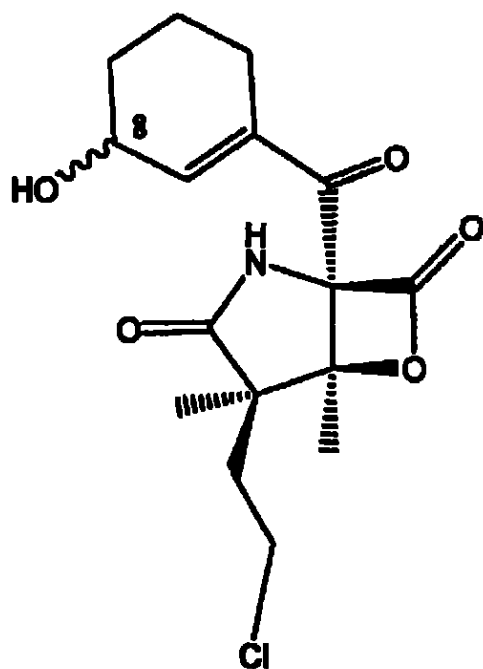
[0228] En algunas realizaciones, los compuestos de Formula II pueden incluir azidoetilo como R₁, por ejemplo. Un compuesto ejemplar adicional, la Formula II-29, tiene la siguiente estructura y estereoquímica:



[0229] En algunas realizaciones, los compuestos de Formula II pueden incluir propilo como R₁, por ejemplo. Un compuesto ejemplar adicional, la Formula II-30, tienen la siguiente estructura y estereoquímica:

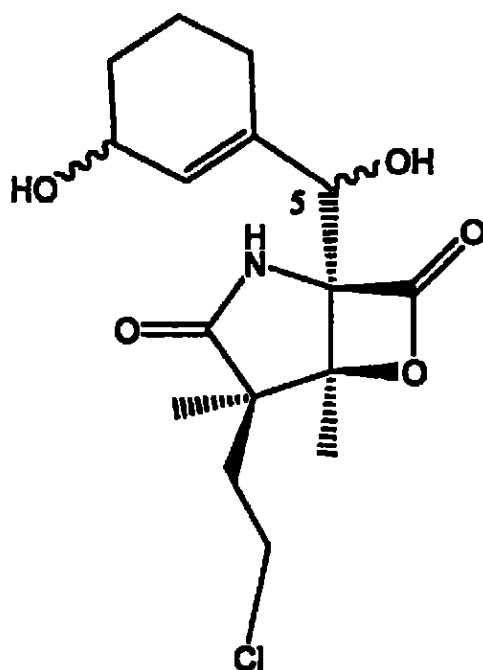


[0230] Aún compuestos ejemplares adicionales, las Formulas II-31 y II-32, tienen la siguiente estructura y estereoquímica:



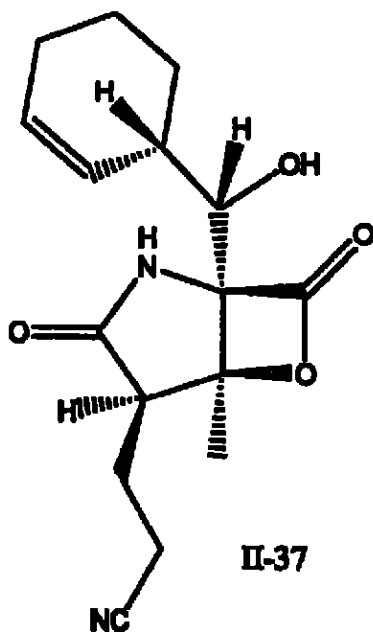
Formula II-31 y II-32

[0231] Otros compuestos ejemplares, las Formulas II-33, II-34, II-35 y II-36, tienen la siguiente estructura y estereoquímica:



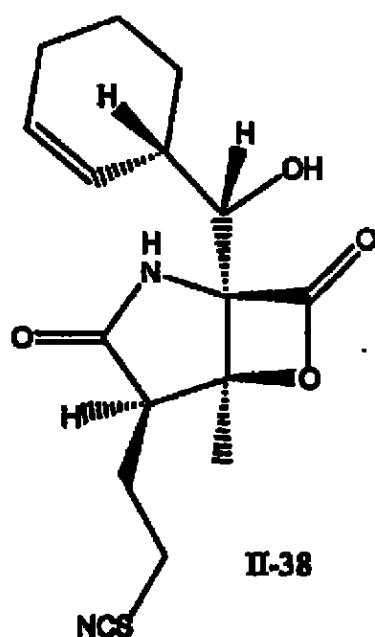
Formula II-33 – II-36

[0232] En algunas realizaciones, el compuesto de Formula II puede incluir cianoetilo como R₁; por ejemplo, el compuesto de Formula II-37 tiene la siguiente estructura y estereoquímica:

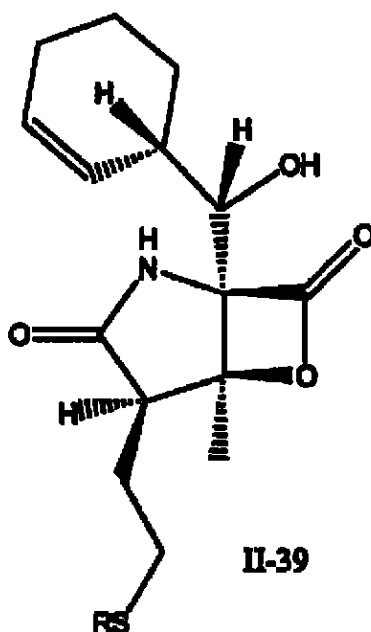


II-37

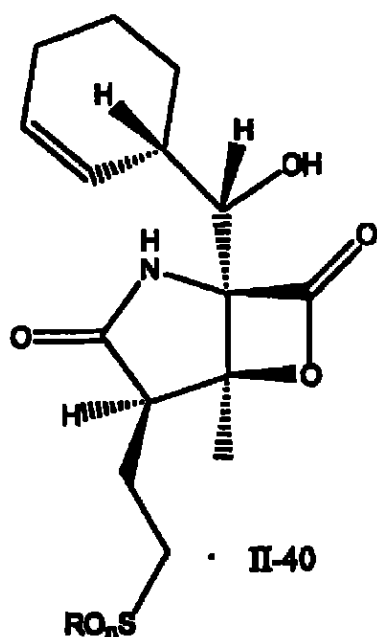
[0233] En otra realización, el compuesto de Formula II puede incluir etiltiocianato como R₁; por ejemplo, el compuesto de Formula II-38 tiene la siguiente estructura y estereoquímica:



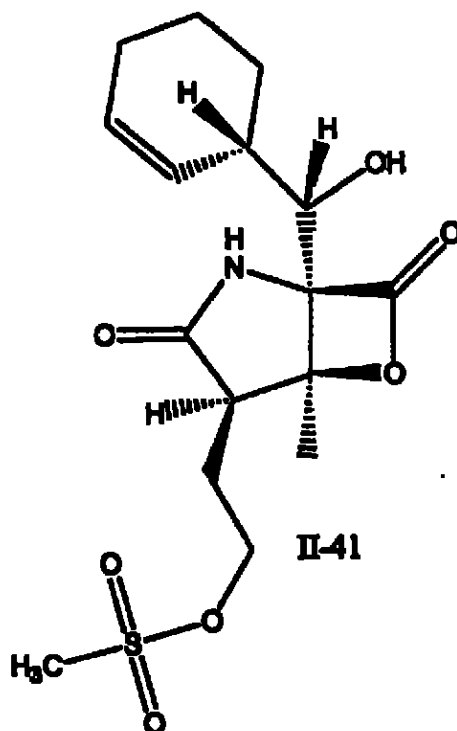
[0234] En algunas realizaciones, los compuestos de Formula II pueden incluir un tior como R_1 . Un compuesto ejemplar adicional, la Formula II-39, tiene la siguiente estructura y estereoquímica, en donde $R = H$, alquilo, arilo o alquilo o arilo sustituido:



[0235] En un compuesto ejemplar adicional, el azufre del compuesto de la Formula II-39 puede ser oxidado a un sulfóxido ($n=1$) o sulfona ($n=2$), por ejemplo, como en el compuesto de Formula II-40:

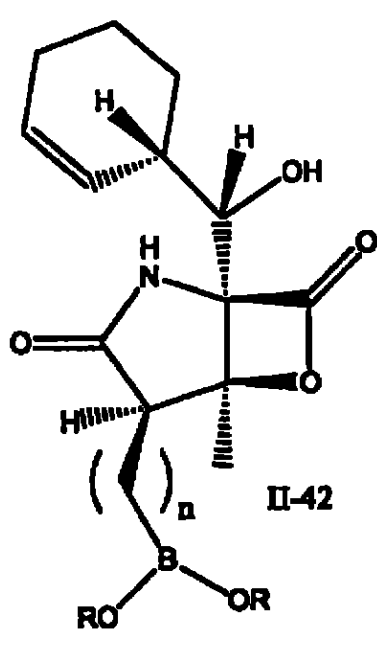


[0236] En algunas realizaciones, el sustituyente R_1 del compuesto de Formula II puede incluir un grupo saliente, por ejemplo, un halógeno, como en los compuestos II-18 y II-19, u otro grupo saliente, tal como un éster de sulfonato. Un ejemplo es el metano sulfonato (mesilato) de Formula II-41:

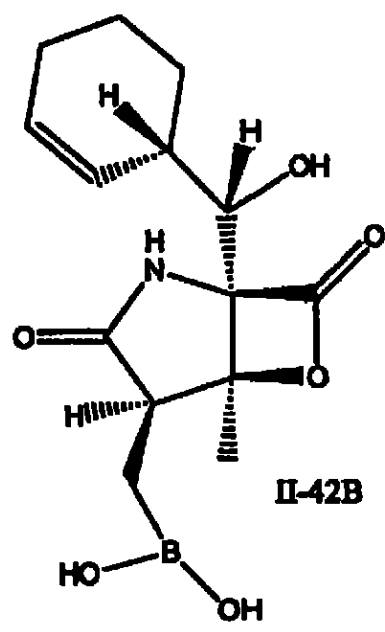
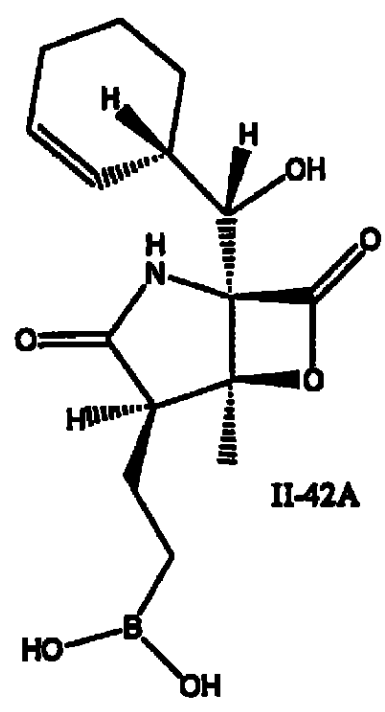


[0237] En algunas realizaciones, el sustituyente R_1 del compuesto de Formula II puede incluir aceptores de electrones. El aceptor de electrón puede ser, por ejemplo, un ácido de Lewis, tal como ácido o éster borónico. Un compuesto ejemplar, la Formula II-42, tiene la siguiente estructura y

estereoquímica, en donde $n = 0, 1, 2, 3, 4, 5$ o 6 , por ejemplo, y en donde $R = H$ o alquilo, por ejemplo:

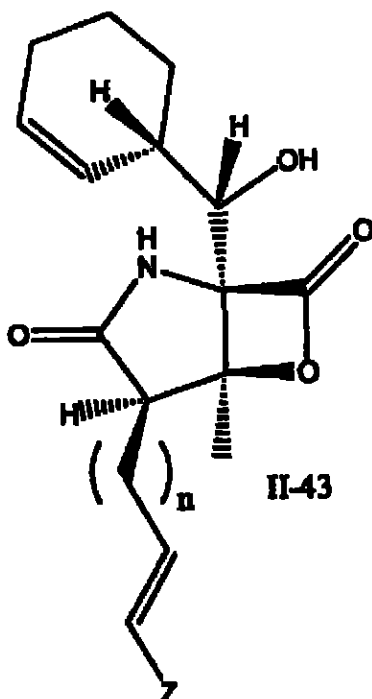


5 **[0238]** Compuestos ejemplares adicionales de Formula II-42 son los compuestos de Formula II-42A, en donde $n = 2$, $R = H$, y el compuesto de Formula II-42B, en donde $n = 1$ y $R = H$:

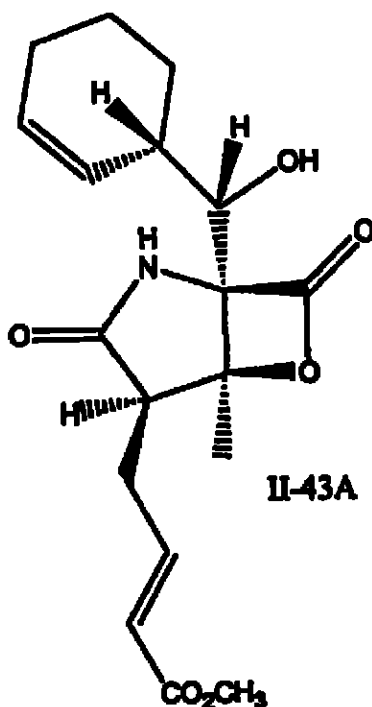


[0239] En algunas realizaciones en donde el sustituyente R_1 de la Formula II incluye un aceptor de electrones, el aceptor de electrón puede ser, por ejemplo, un aceptor de Michael. Un compuesto ejemplar, la Formula II-43

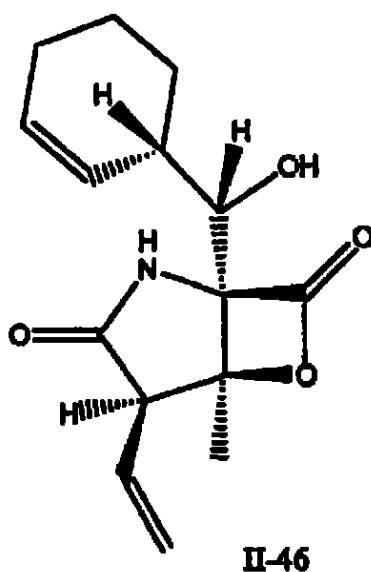
tiene la siguiente estructura, en donde $n = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6$, y en donde Z es un grupo que retira electrones, por ejemplo, CHO , COR , COOR , CONH_2 , CN , NO_2 , SOR , SO_2R , etc.:



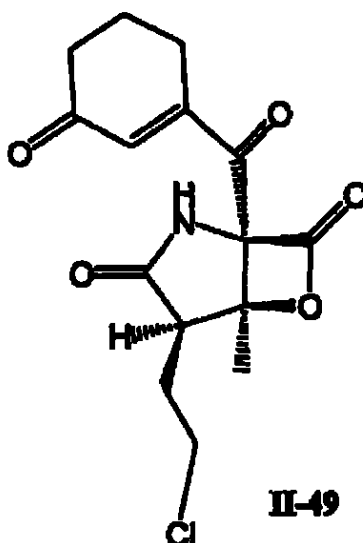
5 [0240] Un compuesto ejemplar adicional de Formula II-43 es el compuesto de Formula II-43A, en donde $n = 1$ y $Z = \text{CO}_2\text{CH}_3$:



10 [0241] En algunas realizaciones, los compuestos de Formula II pueden incluir un grupo alquenilo como R_1 , por ejemplo, etilenilo. Un compuesto ejemplar adicional, la Formula II-46, tiene la siguiente estructura y estereoquímica:



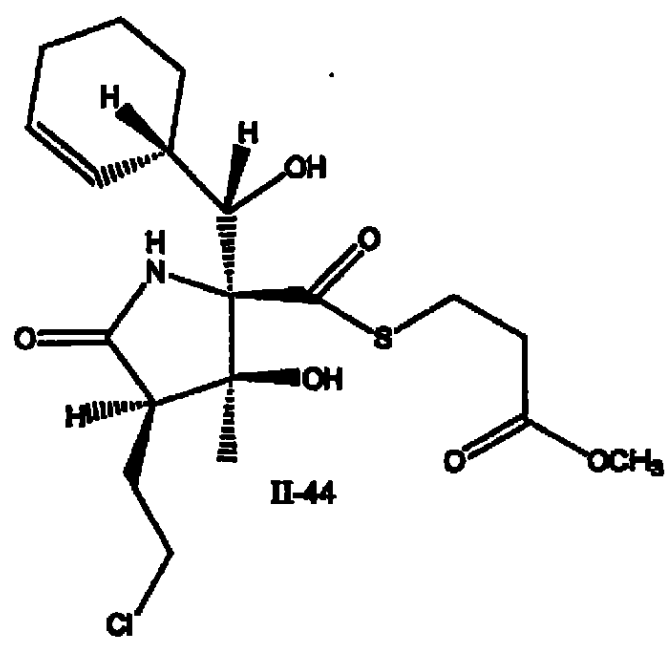
[0242] Otro compuesto ejemplar, la Formula II-49, puede tener la siguiente estructura y estereoquímica:



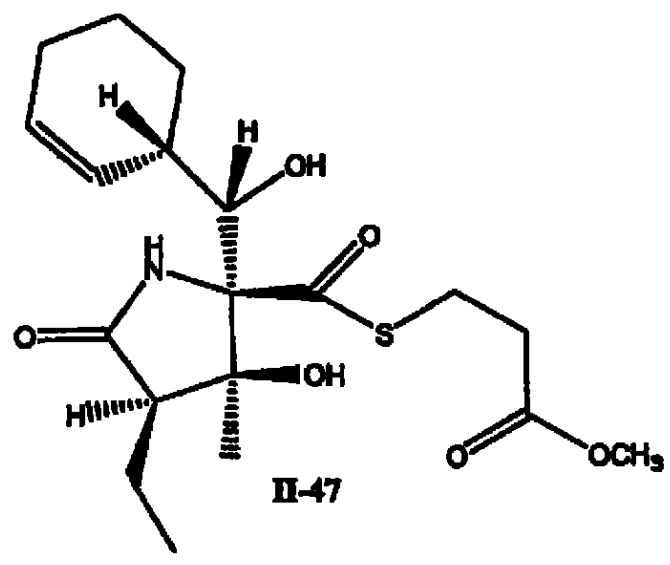
5

[0243] En algunas realizaciones, los compuestos pueden ser ésteres o tioésteres profármacos de los compuestos de Formula II. Por ejemplo, el compuesto de Formula II-44 (como tioéster profármaco del compuesto de Formula II-16) tiene la siguiente estructura y estereoquímica:

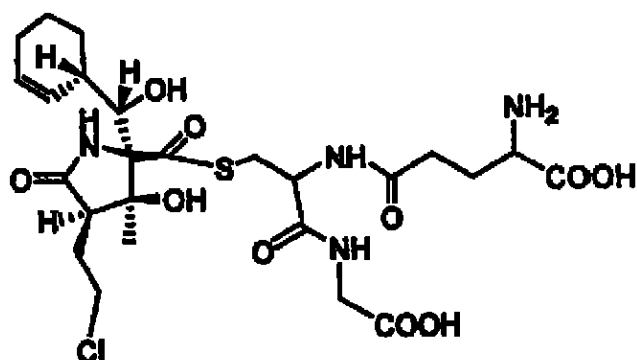
10



[0244] En otro ejemplo, el compuesto de Formula II-47 (un tioéster profármaco del compuesto de Formula II-17) tiene la siguiente estructura y estereoquímica:

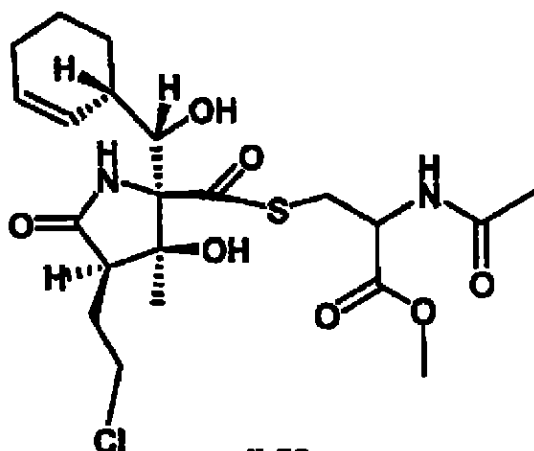


[0245] En ya otro ejemplo, el compuesto de Formula II-48 tiene la siguiente estructura y estereoquímica:



II-48

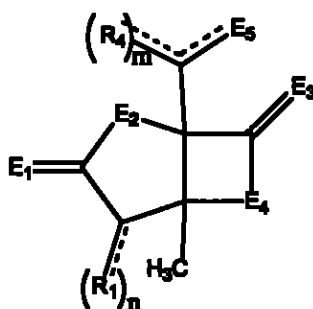
[0246] En otro ejemplo, el compuesto de Formula II-50 (éster profármaco del compuesto de Formula II-16) tiene la siguiente estructura y estereoquímica:



II-50

Compuestos de la Formula III

[0247] Otras realizaciones proporcionan compuestos y métodos para producir una clase de compuestos, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármaco de los mismos, en donde los compuestos se representan por la Formula III:



Formula III

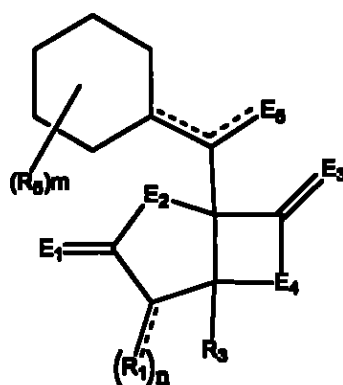
[0248] En ciertas realizaciones, el(los) sustituyente(s) R_1 puede(n) incluir por ejemplo un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-substituidas, poli-substituidas o no substituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturado, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, ariloalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado. Por ejemplo, n puede ser igual a 1 o 2. Cuando n es igual a 2, los sustituyentes pueden ser los mismos o diferentes. La línea punteada indica que el enlace designado es un enlace simple o un enlace doble.

[0249] En ciertas realizaciones, R_4 puede ser por ejemplo, un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-substituidas, poli-substituidas o no substituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturado, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, ariloalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenil, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado. Por ejemplo, m puede ser igual a 1 o 2. Cuando m es igual a 2, los sustituyentes pueden ser iguales o diferentes. Algunas realizaciones incluyen la condición que la Formula III no es el Compuesto II-16 o el Compuesto II-17. Realizaciones adicionales incluyen la condición que R_4 no es ciclohex-2-enilo o ciclohex-2-enilo substituido. También cada uno de E_1 , E_2 , E_3 , E_4 y E_5 puede ser por ejemplo un heteroátomo o heteroátomo substituido. Por ejemplo, el heteroátomo puede ser nitrógeno, azufre u oxígeno.

[0250] En algunas realizaciones, R_1 es preferiblemente un alquilo C_1 a C_5 substituido o no substituido. Por ejemplo se prefieren metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, ter-butilo, y pentilo. En algunas realizaciones, R_1 no es un alquilo C_6 substituido o no substituido, no ramificado.

Compuestos de la Formula IV

[0251] Otras realizaciones proporcionan compuestos y métodos para producir una clase de compuestos, sales farmacéuticamente aceptables o ésteres profármaco de los mismos, en donde los compuestos se representan por la Formula IV:



Formula IV

10

[0252] En ciertas realizaciones, el(los) sustituyente(s) R_1 , R_3 , y R_5 pueden incluir por separado un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los siguientes residuos:

15 alquilo C_1 - C_{24} saturado, alquenilo C_2 - C_{24} o alquinilo C_2 - C_{24} insaturado, acilo, aciloxi, alquiloilcarboniloxi, ariloilcarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, ariloalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano,

20 ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado. También, cada uno de E_1 , E_2 , E_3 , E_4 y E_5 puede ser un heteroátomo o heteroátomo sustituido, por ejemplo, nitrógeno, azufre u oxígeno. En algunas realizaciones, R_3 no es un hidrógeno. n es igual a 1 o 2. Cuando n es igual a 2, los sustituyentes pueden ser iguales o diferentes.

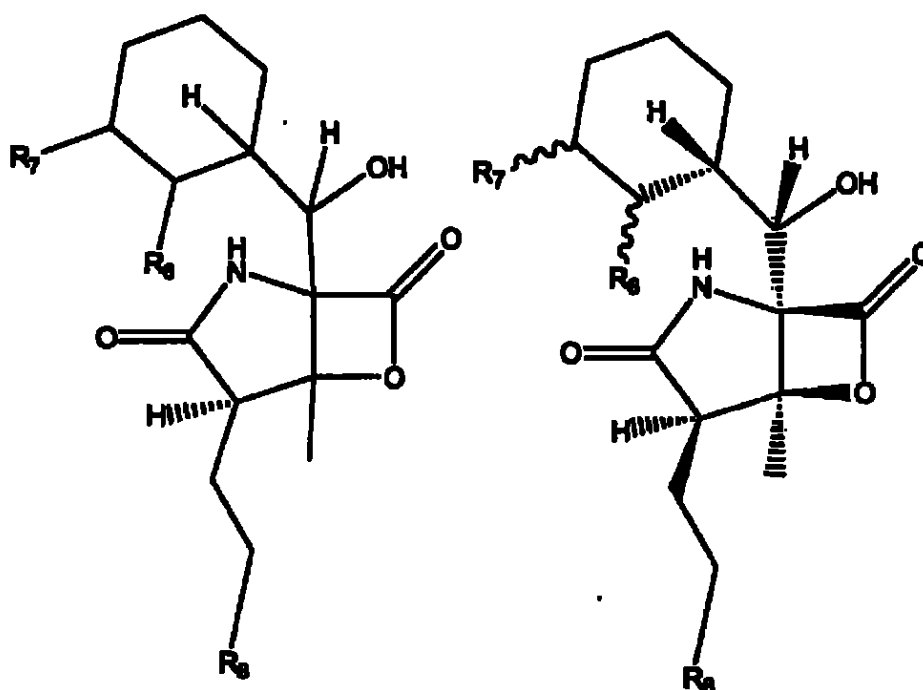
25 También, m puede ser 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, u 11 y si m es mayor que 1, entonces R_5 puede ser igual o diferente. Adicionalmente, los sustituyentes R_5 pueden formar un anillo, por ejemplo, un epóxido. La línea punteada indica que el enlace designado es un enlace simple o un enlace doble.

[0253] En algunas realizaciones, R_1 es preferiblemente un alquilo C_1 a C_5 sustituido o no sustituido. Por ejemplo se prefieren metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, ter-butilo, y pentilo. En algunas realizaciones, R_1 no es un alquilo C_6 sustituido o no sustituido, no ramificado.

5

[0254] En algunas realizaciones, los sustituyentes R_5 pueden dar lugar a, por ejemplo, un ciclohexilo di-sustituido. Un compuesto ejemplar de la Formula IV es la siguiente estructura IV-1, con y sin estereoquímica ejemplar (las líneas de enlace onduladas indican que se permite cualquier orientación estereoquímica):

10



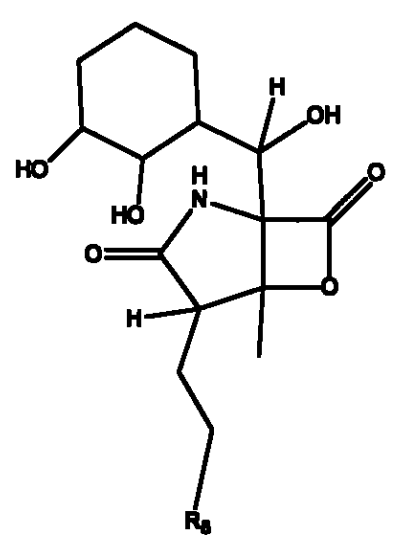
Formula IV-1

[0255] R_8 puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo. El(los) sustituyente(s) R_8 y R_7 pueden incluir por separado un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1 - C_{24} saturado, alquenilo C_2 - C_{24} o alquinilo C_2 - C_{24} insaturado, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, arloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboniloxi, nitro, azido, fenilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado. Además, R_6 y R_7 ambos pueden ser iguales o diferentes.

15

20

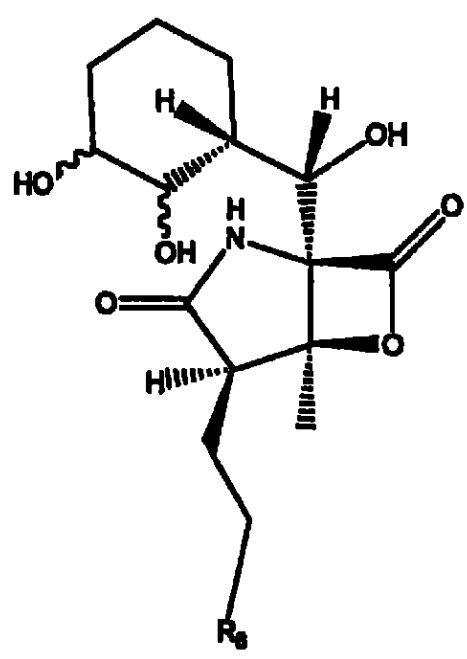
[0256] Por ejemplo, un compuesto ejemplar de la Formula IV tiene la siguiente estructura IV-2:



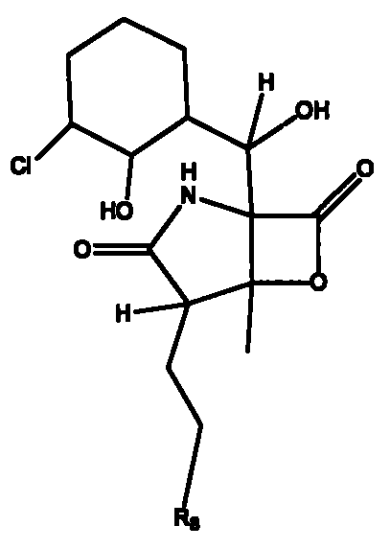
Formula IV-2

[0257] R₈ puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo y yodo.

[0258] La estereoquímica ejemplar puede ser como sigue:



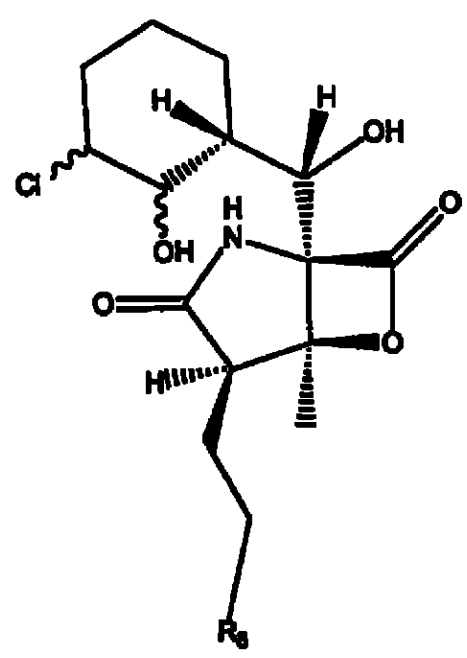
[0259] Por ejemplo, un compuesto ejemplar de la Formula IV tiene la siguiente estructura IV-3:



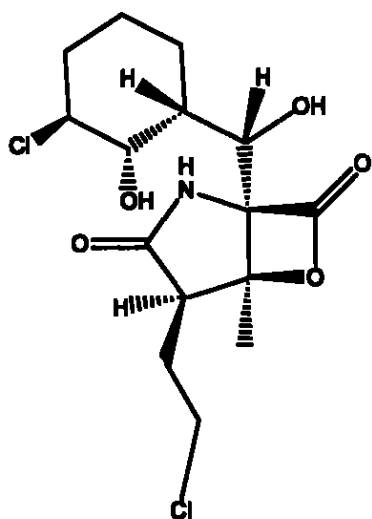
Formula IV-3

[0260] R₈ puede incluir por ejemplo, hidrógeno (IV-3A), flúor (IV-3B), cloro (IV-3C), bromo (IV-3D) y yodo (IV-3E).

[0261] Estructura y estereoquímica ejemplares pueden ser como sigue:

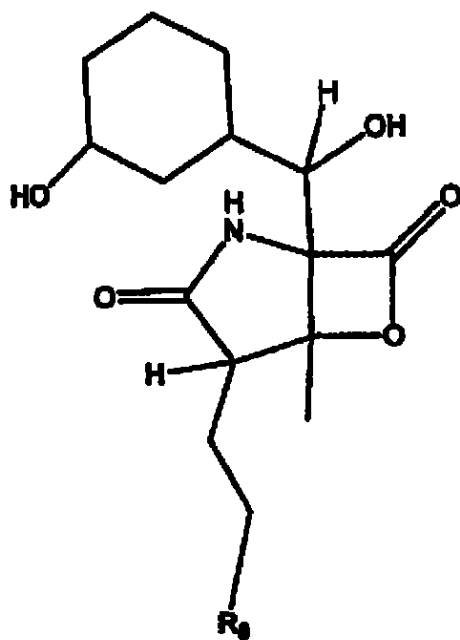


[0262] Estructura y estereoquímica ejemplares adicionales pueden ser como sigue:



Formula IV-3C

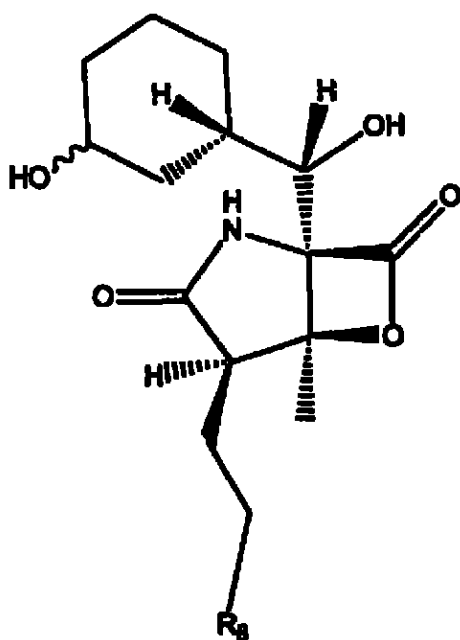
[0263] Por ejemplo, un compuesto ejemplar de la Formula IV tiene
5 la siguiente estructura IV-4:



Formula IV-4

[0264] R₈ puede incluir por ejemplo, hidrógeno, flúor, cloro, bromo
10 y yodo.

[0265] La estereoquímica ejemplar puede ser como sigue:

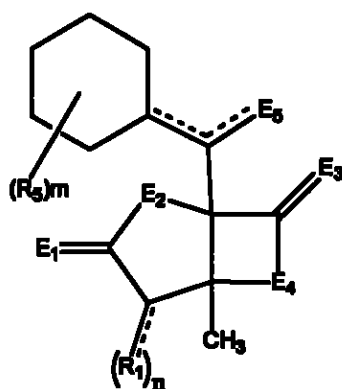


Compuestos de la Formula V

5

[0266]

Algunas realizaciones proporcionan compuestos y métodos para producir una clase de compuestos, sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármaco de los mismos, en donde los Compuestos se representan por la Formula V:



10

Formula V

[0267]

En ciertas realizaciones, el(los) sustituyente(s) R_1 y R_5 pueden incluir por separado un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-substituidas, poli-substituidas o no substituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturado, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, arilocarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, oxi, hidroxilo, alquiltio, ariltio,

15

oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado. En ciertas realizaciones, cada uno de E₁, E₂, E₃, E₄ y E₅ puede ser un heteroátomo o heteroátomo sustituido, por ejemplo, nitrógeno, azufre u oxígeno. Preferiblemente, m puede, por ejemplo, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11, y si m es más de 1, entonces R₅ puede ser el mismo o diferente. Adicionalmente, los sustituyentes R₅ pueden formar un anillo, por ejemplo, un epóxido. La línea punteada indica que el enlace designado es un enlace sencillo o un enlace doble.

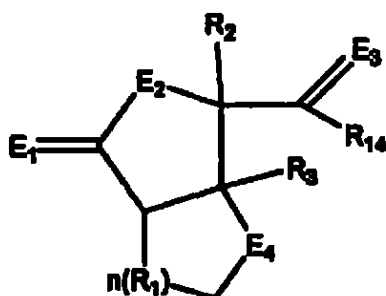
10

[0268] En algunas realizaciones, R₁ es preferiblemente un alquilo C₁ a C₅ sustituido o no sustituido. Por ejemplo se prefieren metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, ter-butilo, y pentilo. En algunas realizaciones, R₁ no es un alquilo C₆ sustituido o no sustituido, no ramificado.

15

Compuestos de Formula VI

[0269] Algunas realizaciones proveen compuestos y métodos para producir una clase de compuestos, sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármaco de los mismos, en donde los compuestos se representan por la Formula VI:



Formula VI

25

[0270] en donde R₁ puede seleccionarse por separado del grupo que consiste de variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los siguientes residuos: alquilo C₁-C₂₄ saturado, alquenilo C₂-C₂₄ o alquinilo C₂-C₂₄ insaturado, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxicarboniloxi,

cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, ariloalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboilo, fenilo, cicloalquilacilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, tio, sulfóxido, ésteres de ácido sulfonaborónico, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado.
 5 n es igual a 1 o 2, y si n es igual a 2, entonces R₁ puede ser el mismo o diferente;

[0271] en donde R₂ puede seleccionarse del grupo que consiste de variantes mono-substituidas, poli-substituidas o no substituidas de los
 10 siguientes residuos: alquilo C₁-C₂₄ saturado, alquenilo C₂-C₂₄ o alquinilo C₂-C₂₄ insaturado, acilo, aciloxi, alquiloalcoxi, ariloalcoxi, cicloalquilo (incluyendo por ejemplo, ciclohexilcarbinol), cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, ariloalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboilo, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxi,
 15 alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado;

[0273] en donde en donde R₃ puede seleccionarse del grupo que consiste de variantes mono-substituidas, poli-substituidas o no substituidas de los
 20 siguientes residuos: alquilo C₁-C₂₄ saturado, alquenilo C₂-C₂₄ o alquinilo C₂-C₂₄ insaturado, acilo, aciloxi, alquiloalcoxi, ariloalcoxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, ariloalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboilo, nitro, azido, fenilo,
 25 cicloalquilacilo, hidroxi, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado; en donde cada uno de E₁, E₂, E₃, E₄ y E₅ puede ser un heteroátomo o heteroátomo substituido.

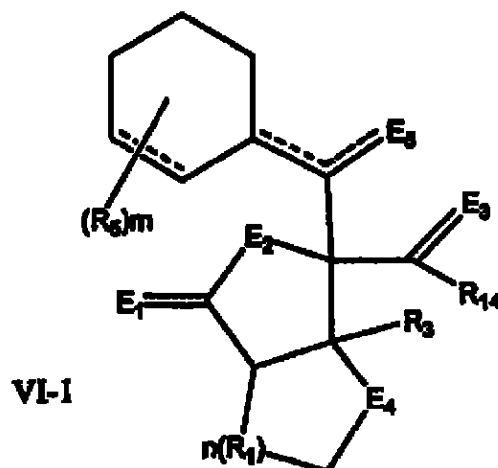
[0273] En algunas realizaciones, R₂ no es ciclohex-2-enil carbinol cuando uno de los substituyentes R₁ es etilo o cloroetilo y R₃ es metilo.

[0274] En algunas realizaciones, R₁ es preferiblemente un alquilo C₁ a C₅ substituido o no substituido. Por ejemplo se prefieren metilo, etilo,
 35 propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, ter-butilo, y pentilo.

[0275] en donde R_{14} puede seleccionarse del grupo que consiste de un halógeno, variantes mono-substituidas, poli-substituidas o no substituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturado, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, ariloxycarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, tioésteres, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado.

[0276] En algunas realizaciones, R_4 es preferiblemente alquiltiol o alquiltiol substituido, y E_3 es un oxígeno.

[0277] Por ejemplo, en algunas realizaciones, algunos de los compuestos de Formula VI pueden tener la siguiente estructura referida como la Formula VI-1:



[0278] en donde R_1 puede seleccionarse por separado del grupo que consiste de variantes mono-substituidas, poli-substituidas o no substituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturado, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, ariloxycarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, fenilo, cicloalquilacilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de ácido borónico, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado. n es igual a 1 o 2, y si n es igual a 2, entonces R_1 puede ser el mismo o diferente;

[0279] en donde R_3 puede seleccionarse del grupo que consiste de un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturado, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboniloxi, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado; en donde cada uno de E_1 , E_2 , E_3 y E_4 puede ser un heteroátomo sustituido o no sustituido.

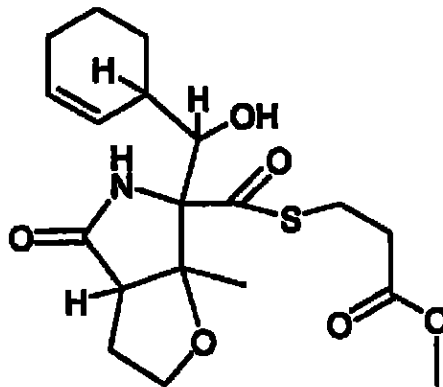
[0280] en donde R_5 puede seleccionarse por separado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturado, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboniloxi, nitro, azido, fenilo, oxi, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado; en donde m es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 y si m es más de uno, entonces R_5 puede ser el mismo o diferente; y en donde los sustituyentes R_5 pueden formar un anillo; y en donde cada uno de E_1 , E_2 , E_3 , E_4 y E_5 puede ser un heteroátomo sustituido o no sustituido.

[0281] En algunas realizaciones, R_1 es preferiblemente un alquilo C_1 a C_5 sustituido o no sustituido. Por ejemplo se prefieren metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, ter-butilo, y pentilo.

[0282] en donde R_{14} puede seleccionarse del grupo que consiste de un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturado, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboniloxi, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi,

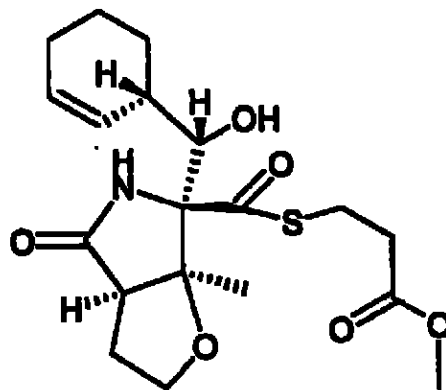
ciano, tio, tioésteres, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado.

5 **[0283]** Por ejemplo, el compuesto tiene la siguiente estructura VI-1A:



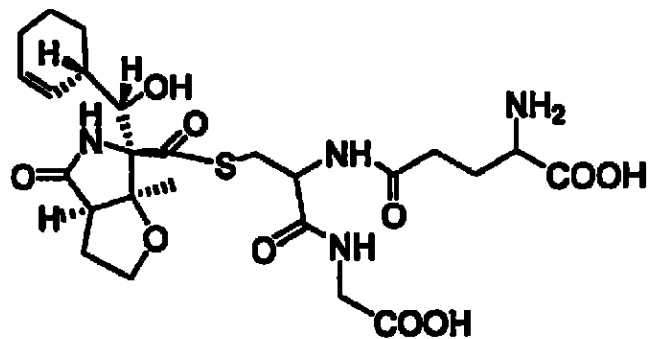
Formula VI-1A

[0284] La estereoquímica puede ser la siguiente:



10

[0285] Por ejemplo, un compuesto ejemplar de Formula VI tiene la siguiente estructura y estereoquímica VI-1B:

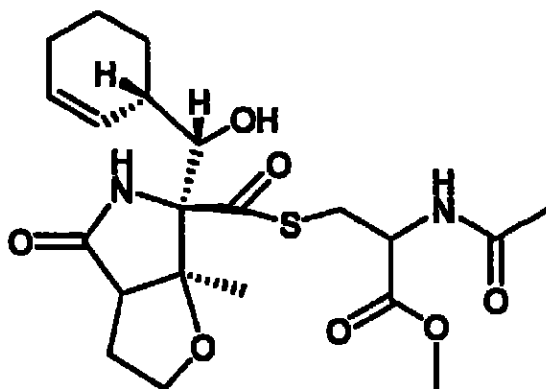


Formula VI-1B

15

45

[0286] En otro ejemplo, el compuesto de Formula VI tiene la siguiente estructura y estereoquímica VI-1C:



Formula VI-1C

[0287] Ciertas realizaciones también proporcionan sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármaco del compuesto de las Formulas I-VI, y proporcionan métodos para obtener y purificar estos compuestos por los métodos aquí descritos.

[0288] El término "éster profármaco", especialmente cuando se refiere a un éster profármaco del compuesto de la Formula I sintetizado por los métodos aquí descritos, se refiere a un derivado químico del compuesto que se transforma rápidamente *in vivo* para dar el compuesto, por ejemplo, por hidrólisis en sangre o dentro de tejidos. El término "éster profármaco" se refiere a derivados de los compuestos revelados aquí formados por la adición de cualquiera de varios grupos formadores éster o tioéster que se hidrolizan bajo condiciones fisiológicas. Ejemplos de grupos éster profármaco incluyen pivoiloximetilo, acetoximetilo, ftalidilo, indanilo y metoximetilo, y tioéster, así como otros grupos conocidos en la técnica, incluyendo un grupo (5-R-2-oxo-1,3-dioxolen-4-ilo)metilo. Otros profármacos pueden prepararse haciendo el tioéster correspondiente del compuesto, por ejemplo, por la reacción con un tiol apropiado, tal como tiofenol. Cisteína o derivados de la misma, o propanotiol, por ejemplo. Otros ejemplos de profármaco pueden encontrarse por ejemplo en T. Higuchi y V. Stella, en "Pro-drugs as Novel Delivery Systems", Vol. 14, A. C. S. Symposium Series, American Chemical Society (1975); y "Bioreversible Carriers in Drug Design: Theory y Application", editado por E. B. Roche, Pergamon Press: New York, 14-21 (1987) (que proporcionan ejemplos de ésteres útiles como profármacos para compuestos que contienen grupos

carboxilo). Cada una de las referencias mencionadas anteriormente está incorporada aquí para referencia en su totalidad.

5 **[0289]** El término "éster profármaco" como se usa aquí, también se refiere a un derivado químico del compuesto que se transforma rápidamente *in vivo* para dar el compuesto, por ejemplo por hidrólisis en la sangre.

10 **[0290]** El término "sal farmacéuticamente aceptable" como se usa aquí, y particularmente cuando se refiere a una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto, incluye las Formulas I-VI, y Formulas I-VI como se produce y sintetiza por los métodos revelados aquí, se refiere a cualesquiera sales farmacéuticamente aceptables de un compuesto, y de preferencia se refiere a una sal de adición de ácido de un compuesto. Ejemplos preferidos de una sal farmacéuticamente aceptable son las sales de metales alcalinos (sodio
15 o potasio), las sales de metales alcalinos térreos (calcio o magnesio), o sales de amonio derivadas de amoníaco o de aminas orgánicas farmacéuticamente aceptables, por ejemplo alquilamina C₁-C₇, ciclohexilamina, trietanolamina, etilendiamina o tris-(hidroximetil)-aminometano. Con respecto a compuestos sintetizados por el método de esta realización que son aminas básicas, los
20 ejemplos preferidos de sales farmacéuticamente aceptables, son sales de adición de ácido de ácidos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente aceptables, por ejemplo ácido hidrohálico, sulfúrico, fosfórico o ácidos carboxílicos o sulfónicos alifáticos o aromáticos, por ejemplo ácido acético, succínico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, nicotínico,
25 metanosulfónico, p-toluenosulfónico o naftalensulfónico.

[0291] Las composiciones farmacéuticas preferidas reveladas aquí incluyen sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármaco del compuesto de las Formulas I-VI obtenidas y purificadas por los métodos
30 revelados aquí. En consecuencia, si la fabricación de formulaciones farmacéuticas involucra mezclado íntimo de los excipientes farmacéuticos y el ingrediente activo en su forma de sal, entonces se prefiere utilizar excipientes farmacéuticos que no son básicos, esto es, excipientes ácidos o neutros.

35 **[0292]** También se apreciará que la frase "Compuestos y composiciones que comprenden el compuesto" o cualquier frase semejante, pretende que abarque compuestos en cualquier forma conveniente para

suministro farmacéutico, como se discute con mayor detalle aquí. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, los compuestos o composiciones que comprenden los mismos pueden incluir una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto.

5 **[0293]** En una realización, los compuestos pueden emplearse para tratar enfermedades microbianas, cáncer e inflamación. Se pretende que la enfermedad se considere ampliamente para cubrir enfermedades infecciosas y también enfermedades autoinmunes, enfermedades no infecciosas y condiciones crónicas. En una realización preferida, la enfermedad es
10 provocada por un microbio, tal como una bacteria, un hongo y protozoario, por ejemplo. Los métodos de uso también pueden incluir los pasos de administración de un compuesto o composición que comprende el compuesto a un individuo con una enfermedad infecciosa o cáncer. El compuesto o
15 composición puede ser administrada en una cantidad efectiva para tratar la enfermedad infecciosa, cáncer o condición inflamatoria particular.

[0294] La enfermedad infecciosa puede ser por ejemplo, una provocada por *Bacillus*, tal como *B.anthraxis* y *B.cereus*. La enfermedad infecciosa puede ser aquella provocada por un protozoario, por ejemplo, una *Leishmania*, un
20 *Plasmodium* o un *Trypanosoma*. El compuesto o composición puede administrarse con vehículo, diluyente, excipiente y similares, farmacéuticamente aceptables.

[0295] El cáncer puede ser por ejemplo, un mieloma múltiple, un
25 carcinoma colorectal, un carcinoma de próstata, un adenocarcinoma de seno, un carcinoma pulmonar de células no pequeñas, un carcinoma de ovario, un melanoma y similares.

[0296] La condición inflamatoria puede ser por ejemplo, artritis
30 reumatoide, asma, esclerosis múltiple, soriasis, apoplejía, infarto al miocardio, daño por reperfusión y similares.

[0297] El término "átomo de halógeno" como se usa aquí, significa uno cualquiera de los átomos radio estables de la columna 7 de la Tabla
35 Periódica de Elementos, es decir, flúor, cloro, bromo, o yodo, siendo bromo y cloro preferidos.

[0298] El término "alquilo" como se emplea aquí, significa cualquier hidrocarburo no ramificado o ramificado, sustituido o no sustituido, saturado, siendo más preferidos hidrocarburos no sustituidos o sustituidos, saturados o insaturados, ramificados o no ramificados C₁-C₂₄ y C₁-C₈, y siendo
5 los más preferidos metilo, etilo, isobutilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, terbutilo, y pentilo. Entre los hidrocarburos saturados sustituidos, se prefieren los hidrocarburos C₁-C₈ mono- y di- y per-halógeno sustituidos y los más preferidos son los hidrocarburos amino sustituidos.

[0299] El término "sustituido" tiene su significado ordinario, como se encuentra en numerosas patentes contemporáneas de la técnica relacionada. Ver por ejemplo, las Patentes de los E.U.A. Nos. 6,509,331; 6,506,787; 6,500,825; 5,922,683; 5,886,210; 5,874,443; y 6,350,759, todas las
10 cuales están incorporadas aquí en su totalidad para referencia. Específicamente, la definición de sustituido es tan amplia como se dispone en la Patente de los E.U.A. No. 6,509,331, que define el término "alquilo sustituido" de manera tal que se refiere a un grupo alquilo, de preferencia de 1 a 10 átomos de carbono, que tiene 1 a 5 sustituyentes, y de preferencia 1 a 3
15 sustituyentes, seleccionados del grupo que consiste de alcoxi, alcoxi sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, acilo, acilamino, aciloxi, amino, amino sustituido, aminoacilo, aminoaciloxi, oxiacilamino, ciano, halógeno, hidroxilo, carboxilo, carboxilalquilo, ceto, tioacetato, tiol, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, ariloxi, heteroarilo, heteroariloxi, heterocíclico, heterocíclooxi, hidroxi-amino, alcoxi-amino, nitro, -
20 SO-alquilo, -SO-alquilo sustituido, -SO-arilo, -SO-heteroarilo, -SO₂-alquilo, -SO₂-alquilo sustituido, -SO₂-arilo y SO₂-heteroarilo. Las otras patentes anteriormente citadas también proporcionan definiciones estándar para el término "sustituido" que son bien comprendidas por los expertos en la técnica.

[0300] El término "cicloalquilo" se refiere a cualquier anillo de hidrocarburo no aromático, de preferencia que tiene 5 a 12 átomos que comprenden el anillo. El término "acilo" se refiere a grupos alquilo o arilo derivados de un oxoácido, prefiriéndose un grupo acetilo.

[0301] El término "alquenilo" como se emplea aquí, significa cualquier hidrocarburo no ramificado o ramificado, sustituido o no sustituido, insaturado incluyendo hidrocarburos poliinsaturados, siendo preferidos los

hidrocarburos C_1-C_8 no ramificados, mono-saturados y di-insaturados, y siendo los más preferidos los hidrocarburos sustituidos con dihalógeno mono-insaturados. El término "cicloalqueno" se refiere a cualquier anillo hidrocarburo no aromático que de preferencia tiene de 5 a 12 átomos que comprenden el anillo.

[0302] Los términos "arilo", "arilo sustituido", "heteroarilo," y "heteroarilo sustituido", como se emplean aquí, se refieren a anillos hidrocarburo aromáticos que tienen de preferencia cinco, seis o siete átomos, y que tienen más preferiblemente seis átomos que comprenden el anillo. "Heteroarilo" y "heteroarilo sustituido", se refieren a anillos de hidrocarburo aromáticos, en los cuales al menos un heteroátomo, por ejemplo átomos de oxígeno, azufre o nitrógeno, está en el anillo junto con al menos un átomo de carbono. El término "heterociclo" o "heterocíclico" se refiere a cualquier compuesto cíclico que contiene uno o más heteroátomos. Los anillos, heterociclos y heteroarilos sustituidos pueden substituirse con cualquier substituyente, incluyendo aquellos descritos anteriormente y los conocidos en la técnica.

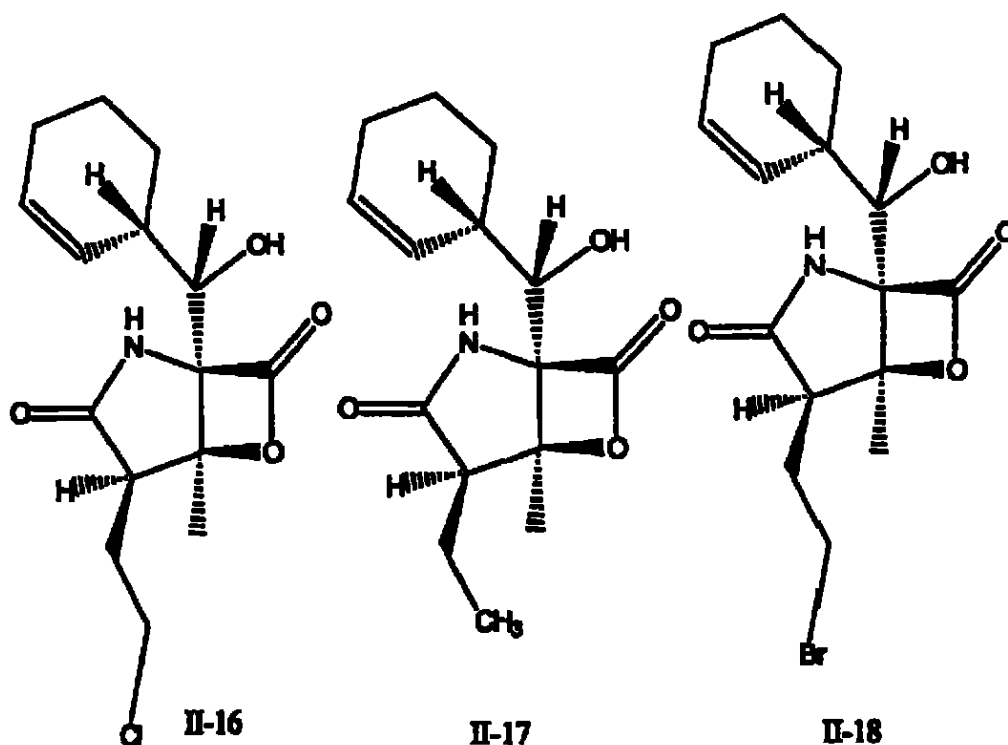
[0303] El término "alcoxi" se refiere a cualquier éter no ramificado, o ramificado, sustituido o sin substituir, saturado e insaturado, siendo preferidos éteres C_1-C_8 no ramificados, saturados, sin sustituir, siendo preferidos metoxi y también siendo preferidos dimetilo, dietilo, metil-isobutilo, y ésteres de metil-ter-butilo. El término "cicloalcoxi" se refiere a cualquier anillo hidrocarburo no aromático, que tienen de preferencia 5 a 12 átomos que comprenden el anillo. El término "alcoxi carbonilo" se refiere a cualquier alcoxi lineal, ramificado, cíclico, saturado, insaturado, alifático o aromático unido a un grupo carbonilo. Los ejemplos incluyen grupo metoxycarbonilo, grupo etoxycarbonilo, grupo propiloxycarbonilo, grupo isopropiloxycarbonilo, grupo butoxycarbonilo, grupo sec-butoxycarbonilo, grupo tert-butoxycarbonilo, grupo ciclopentiloxycarbonilo, grupo ciclohexiloxycarbonilo, grupo benciloxycarbonilo, grupo aliloxycarbonilo, grupo feniloxycarbonilo, grupo piridiloxycarbonilo, y similares.

[0304] Los términos "puro," "purificado", "substantialmente purificado", y "aislado" como se emplean aquí, se refieren al compuesto de la realización que está libre de otros compuestos diferentes, con los cuales el

compuesto, si se encuentra en su estado natural, se asociaría en su estado natural. En ciertas realizaciones descritas como "puro," "purificado", "substantialmente purificado", o "aislado", aquí, el compuesto puede comprender al menos 0.5%, 1%, 5%, 10%, o 20%, y más preferiblemente al menos 50% o 75% de la masa, en peso, de una muestra dada.

[0305] Los términos "derivado", "variante" u otro término similar se refieren a un compuesto que es análogo al compuesto.

[0306] Ciertos de los compuestos de la Formula I-VI pueden obtenerse y purificarse o pueden obtenerse mediante semi-síntesis de compuestos purificados como se establece aquí. En general, sin estar limitado a ello, se pueden obtener los compuestos de partida, tales como los Compuestos II-16, II-17 y II-18) siguientes, y los diferentes análogos pueden ser sintetizados a partir de ellos. Las síntesis ejemplares no limitantes se proveen aquí.



Producción de los Compuestos de Partida I-7, II-16, II-17 y II-18, II-20, II-24C, II-26, II-27 y II-28

[0307] La producción de los compuestos de partida I-7, II-16, II-17, II-18, II-20, II-24C, II-26, II-27 y II-28 se puede realizar cultivando la cepa CNB476 y la cepa NPS21184, una variante natural de la cepa CNB476, en un medio nutriente adecuado bajo condiciones descritas aquí, preferiblemente bajo condiciones aeróbicas sumergidas, hasta que se detectó una cantidad substancial de los compuestos en la fermentación; recolección mediante extracción de los componentes activos del caldo de fermentación con un solvente adecuado, concentración del solvente que contiene los componentes deseados; luego sometimiento del material concentrado a separación cromatográfica para aislar los compuestos de otros metabolitos también presentes en el medio de cultivo.

[0308] El cultivo (CNB476) se depositó el 20 de Junio de 2003 con la Colección de Cultivo Tipo Americana (American type Culture Collection) (ATCC) en Rockville, MD, se le asignó un número de declaración de patente ATCC PTA-5275. La cepa NPS21184, una variante natural de la cepa CNB476, fue derivada de la cepa CNB476 como un aislado de colonia simple. La cepa NPS21184 fue depositada al ATCC el 27 de Abril de 2005. El depósito de ATCC cumple con todos los requerimientos del tratado de Budapest. El cultivo también es mantenido y disponible en la Colección de Cultivo de Nereus Pharmaceutical en 10480 Wateridge Circle, San Diego, CA 92121. Además del microorganismo específico descrito aquí, se debe entender que los mutantes, tales como los descritos por el uso de mutágenos químicos o físicos incluyendo rayos X, etc., y los organismos cuya construcción genética ha sido modificada mediante técnicas de biología molecular, también pueden ser cultivados para producir los compuestos de partida I-7, II-16, II-17, II-18, II-20, II-24C, II-26, II-27 y II-28.

Fermentación de la cepa CNB476 y la cepa NPS21184

[0309] La producción de los compuestos se puede lograr a temperatura conductiva a crecimiento satisfactorio del organismo productos, e.g., de 16 grados C a 40 grados C, pero es preferible conducir la fermentación de 22 grados C a 32 grados C. El medio acuoso puede ser incubado por un período de tiempo necesario para completar la producción de los compuestos monitoreados mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC),

preferiblemente por un período de aproximadamente 2 a 10 días, en un agitador rotatorio que opera de aproximadamente 50 rpm a 400 rpm, preferiblemente de 150 rpm a 250 rpm, por ejemplo. La producción de los compuestos también se puede lograr cultivando la cepa de producción en un bioreactor, tal como un sistema de fermentador que es adecuado para el crecimiento de la cepa de producción.

[0310] El crecimiento de microorganismos puede ser logrado por un experto mediante el uso de medio apropiado. Ampliamente, las fuentes de carbono incluyen glucosa, fructosa, manosa, maltosa, galactosa, manitol y glicerol, otros azúcares y alcoholes de azúcar, almidones y otros carbohidratos, o derivados carbohidrato tales como dextrano, cerebrosa, así como nutrientes complejos tales como harina de avena, harina de maíz, mijo, maíz, y similares. La cantidad exacta de la fuente de carbono que se utiliza en el medio dependerá en parte, de los otros ingredientes en el medio, pero una cantidad de carbohidrato entre 0.5 a 25 por ciento en peso del medio puede ser empleado en forma satisfactoria, por ejemplo. Estas fuentes de carbono pueden utilizarse individualmente o varias de estas fuentes de carbono pueden combinarse en el mismo medio, por ejemplo. Se prefieren ciertas fuentes de carbono como se establece aquí.

[0311] Las fuentes de nitrógeno incluyen aminoácidos tales como glicina, arginina, treonina, metionina y similares, sal de amonio, así como fuentes complejas tales como extractos de levadura, licores de maíz resultantes de maceración de maíz, solubles de destilador, harina de soya, harina de semillas de algodón, harina de pescado, peptona y similares. Las diversas fuentes de nitrógeno pueden emplearse solas o en combinación en cantidades que varían de 0.5 a 25 por ciento en peso del medio, por ejemplo.

[0312] Entre las sales inorgánicas nutrientes, que pueden incorporarse en el medio de cultivo están las sales usuales capaces de producir iones, sodio, potasio, magnesio, calcio, fosfato, sulfato, cloruro, carbonato y similares. También se incluyen metales en trazas tales como cobalto, manganeso, hierro, molibdeno, zinc, cadmio, y similares.

Composiciones Farmacéuticas

[0313] En una realización, los compuestos revelados aquí se utilizan en composiciones farmacéuticas. Los compuestos opcionalmente y preferiblemente se producen por los métodos aquí descritos. Los compuestos pueden emplearse por ejemplo en composiciones farmacéuticas que comprenden un vehículo farmacéuticamente aceptable preparado para almacenamiento y posterior administración. También, las realizaciones se refieren a una cantidad farmacéuticamente efectiva de los productos y compuestos revelados anteriormente en un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Vehículos o diluyentes aceptables para uso terapéutico son bien conocidos en la técnica farmacéutica y se describen, por ejemplo en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985), que está incorporada aquí para referencia en su totalidad. Preservativos, estabilizantes, colorantes e incluso agentes saborizantes pueden proporcionarse en la composición farmacéutica. Por ejemplo, benzoato de sodio, ácido ascórbico y ésteres de ácido p-hidroxibenzóico pueden agregarse como preservativos. Además, pueden emplearse antioxidantes y agentes de suspensión.

[0134] Las composiciones, particularmente aquellas de las Formulas I-VI, pueden formularse y utilizarse como tabletas, cápsulas o elixires para administración oral; supositorios para administración rectal; soluciones, suspensiones estériles para administración inyectable; parches para administración transdérmica y depósitos sub-dérmicos y similares. Pueden prepararse inyectables en formas convencionales ya sea como soluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en líquido antes de inyección, o como emulsiones. Excipientes adecuados son por ejemplo agua, solución salina, dextrosa, manitol, lactosa, lecitina, albúmina, glutamato de sodio, clorhidrato de cisteína, y similares. Además si se desea, las composiciones farmacéuticas inyectables pueden contener cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas tales como agentes humectantes, agentes amortiguadores de pH y similares. Si se desea, pueden utilizarse preparaciones que mejoran la absorción (por ejemplo liposomas).

[0315] Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de los compuestos activos en forma

soluble en agua. Adicionalmente, las suspensiones de los compuestos activos pueden prepararse como suspensiones de inyección aceitosas apropiadas. Los solventes o vehículos lipofílicos convenientes incluyen aceites grasos tales como aceite de ajonjolí u otros agentes orgánicos tales como de soya, aceites
5 de toronja o de almendras, o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como etil oleato o triglicéridos o liposomas. Las suspensiones para inyección acuosas pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetil celulosa de sodio, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes o agentes adecuados que
10 aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de soluciones altamente concentradas.

[0316] Las preparaciones farmacéuticas para uso oral pueden obtenerse al combinar los compuestos activos con un excipiente sólido,
15 opcionalmente moliendo una mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, después agregando auxiliares adecuados, si se desea, para obtener tabletas o núcleos de grageas. Los excipientes adecuados son en particular, rellenos tales como azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol, o sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón
20 de trigo, almidón de arroz, almidón de papa, gelatina, goma tragacanto, metil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa, carboximetilcelulosa sodio, y/o polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, pueden agregarse agentes desintegrantes tales como polivinilpirrolidona reticulada, agar o ácido algínico o una sal del mismo, tal como alginato de sodio. Los núcleos de gragea se
25 proporcionan con recubrimientos adecuados. Para este propósito pueden emplearse soluciones de azúcar concentradas que pueden contener opcionalmente goma arábiga, talco, polivinil pirrolidona, gel carbopol, polietilen glicol y/o dióxido de titanio, soluciones de laca y solventes orgánicos adecuados o mezclas de solventes. Se pueden agregar colorantes o pigmentos a las
30 tabletas o recubrimientos de grageas para identificación o para caracterizar combinaciones diferentes de dosis de compuesto activo. Para este propósito, se pueden usar soluciones de azúcar concentrada, que opcionalmente pueden contener goma arábiga, talco, polivinil pirrolidona, gel carbopol, polietilen glicol y/o dióxido de titanio, soluciones de laca, y solventes orgánicos adecuados o
35 mezclas de solventes. Los colorantes o pigmentos pueden agregarse a las tabletas o recubrimientos de grageas para identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuestos activos. Estas formulaciones

pueden elaborarse utilizando métodos conocidos en la técnica (ver por ejemplo las patentes de los E.U.A. Números 5,733,888 (composiciones inyectables); 5,726,181 (compuestos deficientemente solubles en agua); 5,707,641 (péptidos o proteínas terapéuticamente activos); 5,667,809 (agentes lipofílicos); 5,576,012 (agentes poliméricos solubilizantes); 5,707,615 (formulaciones antivirales); 5,683,676 (medicamentos en partículas); 5,654,286 (formulaciones tópicas); 5,688,529 (suspensiones orales); 5,445,829 (formulaciones de liberación prolongada); 5,653,987 (formulaciones líquidas); 5,641,515 (formulaciones de liberación controlada) y 5,601,845 (formulaciones esféricas); todas las cuales están incorporadas aquí para referencia en sus totalidades.

[0317] Además se revelan aquí diversas composiciones farmacéuticas bien conocidas en la técnica farmacéutica para usos que incluyen suministro tópico, intraocular, intranasal e intraauricular. Las formulaciones farmacéuticas incluyen soluciones oftálmicas acuosas de los compuestos activos en forma soluble en agua tales como gotas para ojos, o en goma gelano (Shedden et al., *Clin. Ther.*, 23 (3): 440-50 (2001)) o hidrogeles (Mayer et al., *Ophthalmologica*, 210 (2): 101-3 (1996)); ungüentos oftálmicos; suspensiones oftálmicas tales como micropartículas, partículas poliméricas pequeñas que contienen fármaco que están suspendidas en un medio portador líquido (Joshi, A. 1994 *J Ocul Pharmacol* 10: 29-45), formulaciones solubles en líquidos (Alm et al., *Prog. Clin. Biol. Res.*, 312: 447-58 (1989)), y microesferas (Mordenti, *Toxicol. Sci.*, 52(1): 101-6 (1999)); e insertos oculares. Todas estas formulaciones farmacéuticas adecuadas usualmente y preferiblemente se formulan para ser estériles, isotónicas y amortiguadas para estabilidad y comodidad. Las composiciones farmacéuticas también pueden incluir gotas y atomizadores a menudo preparados para estimular en muchos aspectos las secreciones nasales para asegurar el mantenimiento de acción ciliar normal. Como se revela en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing, 18ava. Edición), que está incorporada aquí para referencia en su totalidad, y es bien conocido por los expertos en la técnica, las formulaciones adecuadas son más a menudo y de preferencia isotónicas, ligeramente amortiguadas para mantener un pH de 5.5 a 6.5, y más a menudo y de preferencia incluyen preservativos antimicrobianos y estabilizantes de fármaco adecuados. Las formulaciones farmacéuticas para suministro intraauricular incluyen suspensiones y ungüentos para aplicación tópica en el oído. Solventes comunes para estas formulaciones aurales incluyen glicerina y agua.

[0318] Cuando se utilizan como un compuesto anti cáncer, anti inflamatorio o anti microbiano, por ejemplo, los compuestos de las Formulas I-VO o composiciones que incluyen las Formulas I-VI pueden administrarse ya sea por rutas orales o no orales. Cuando se administran en forma oral, pueden administrarse en forma de cápsula, tabletas, gránulo, atomizador, jarabe u otras. Cuando se administran de manera no oral, pueden administrarse como una suspensión acuosa, una preparación oleosa o similares o como un goteo, supositorio, cataplasma, ungüento o similares, cuando se administran por inyección, en forma subcutánea intraperitoneal, intravenosa, intramuscular o similares.

[0319] En una realización, el anti cáncer, anti inflamatorio o anti microbiano puede mezclarse con sustancias adicionales para mejorar su efectividad. En una realización, el anti microbiano se combina con un anti microbiano adicional. En otra realización, el anti microbiano se combina con un fármaco o medicamento que es útil para un paciente que toma anti microbianos.

[0320] Los compuestos pueden ser administrados o usados en combinación con tratamientos tales como quimioterapia, radiación y terapias biológicas. En algunas realizaciones, los compuestos pueden ser administrados o usados con un agente quimioterapéutico. Ejemplos de tales quimioterapéuticos incluyen alcaloides, agentes alquilantes, antibióticos, antimetabolitos, enzimas, hormonas, compuestos de platino, inmunoterapéuticos (anticuerpos, células T, epítopos), modificadores de la respuesta biológica (BROS), y similares. Ejemplos incluyen, Vincristina, Vinblastina, Vendesina, Paclitaxel (Taxol), Docetaxel, epipodofilotoxinas inhibidoras de topoisomerasa (Etoposida (VP-16), Teniposida (VM-26)), Campotecina, Mostasa de nitrógeno (ciclofosfamida), Nitrosoúreas, Carmustina, lomustina, dacarbazina, hidroximetilamelamina, tiotepa y mitocicina C, Dactinomicina (Actinomicina D), antibióticos de antracidina (Daunorubicina, Daunomicina, Cerubidina), Doxorubicina (Adriamicina), Idarubicina (Idamicina), Antracenodionas (Mitoxantrona), Bleomicina (Blenoxano), Plicamicina (Mitramicina, Antifolatos (Metotrexato (Folex, Mexato)), antimetabolitos de purina (6-mercaptopurina (6-MP, Purinacol) y 6-tioguanina (6-TG)). Los dos fármacos anticáncer mayores en esta categoría son 6-mercaptopurina y 6-tioguanina, Clorodeoxiadenosina y Pentostatina, Pentostatina (2'-

deoxicoformicina), antagonistas de pirimidina, fluoropirimidinas (5-fluoracilo(Adrucilo), 5-fluorodeoxiuridina (FdUrd) (Floxuridina)), Citosina Arabinosida (Citosar, ara-C), Fludarabina, L-ASPARAGINASA, Hidroxiúrea, glucocorticoides, antiestrógenos, tamoxifeno, antiandrógenos no esteroideos, flutamida, inhibidores de la aromatasa Antrosol(Arimidex), Cisplatino, 6-Mercaptopurina y Tioguanina, Metotrexato, Citoxano, Citarabina, L-Asparaginasas, Esteroides: Prednisona y Dexametasona. Además, se puede usar inhibidores de la proteasoma tales como bortazomib en combinación con los compuestos presentes, por ejemplo. Ejemplos de biológicos pueden incluir agentes tales como anticuerpos TRAIL a TRAIL, integrinas tales como alfa-V-beta-3 ($\alpha V\beta 3$) y/u otras citocinas/factores de crecimiento que están involucrados en la angiogénesis, VEGF, EGF, FGF y PDGF. En algunos aspectos, los compuestos pueden ser conjugados con o entregados con un anticuerpo. Los métodos de combinación descritos anteriormente se pueden usar para tratar una variedad de condiciones, incluyendo cáncer y enfermedades neoplásicas, inflamación e infecciones microbianas.

Métodos de Administración

[0321] En una realización alternativa, los compuestos químicos revelados y las composiciones farmacéuticas reveladas se administran por un método particular como un anti microbiano. Estos métodos incluyen, entre otros, (a) administración a través de rutas orales, cuya administración incluye administración en formas de cápsula, tableta, gránulo, atomizador, jarabe u otras; (b) administración a través de rutas no orales, cuya administración incluye la administración como una suspensión acuosa, una preparación oleosa o similares, o como un goteo, supositorio, cataplasma, ungüento o similares; la administración mediante inyección, en forma subcutánea, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, intradérmica o similares; así como (c) administración tópica; (d) administración rectal o (e) administración vaginal, como se considere apropiado por los expertos en la técnica para llevar el compuesto de la presente realización en contacto con tejido vivo; y (f) administración mediante formulaciones de liberación controlada, formulaciones de depósito y suministro de bomba de infusión. Como ejemplos adicionales de estos modos de administración y como una revelación adicional de modos de administración, se revelan aquí diversos métodos para administración de los compuestos químicos

revelados y las composiciones farmacéuticas que incluyen los modos de administración a través de rutas intraocular, intranasal e intraauricular.

5 **[0322]** La cantidad farmacéuticamente efectiva de las composiciones que incluyen los compuestos descritos, incluyendo aquellos de las Formulas I-VI, requerida como una dosis, dependerá de la ruta de administración, el tipo de animal, incluyendo humano que se trata, y las características físicas del animal específico bajo consideración. La dosis puede ajustarse a la medida para lograr un efecto deseado, pero dependerá de
10 factores tales como peso, dieta, medicación concurrente y otros factores que los expertos en las técnicas médicas reconocerán.

[0323] Al practicar los métodos de la realización, los productos o composiciones pueden emplearse solos o en combinación con otro, o en
15 combinación con otros agentes terapéuticos o de diagnóstico. Estos productos pueden utilizarse *in vivo*, en forma ordinaria en un mamífero, de preferencia en un humano, o *in vitro*. Al emplearlos *in vivo*, los productos o composiciones pueden administrarse al mamífero en una variedad de formas, incluyendo en forma parenteral, intravenosa, subcutánea, intramuscular, colónica, rectal,
20 vaginal, nasal o intraperitoneal, empleando una variedad de formas de dosificación. Estos métodos también pueden aplicarse para probar actividad química *in vivo*.

[0324] Como será fácilmente obvio para los expertos en la técnica, la dosis útil *in vivo* a ser administrada y el modo de administración particular
25 variarán dependiendo de la edad, peso y especie mamífera tratada, los compuestos particulares empleados y el uso específico para el cual se emplean estos compuestos. La determinación de niveles de dosis efectivos, esto es, los niveles de dosis necesarios para lograr el resultado deseado, puede ser realizada por el experto en la técnica utilizando métodos farmacológicos
30 rutinarios. Típicamente, las aplicaciones clínicas en humanos de productos se inician a niveles menores de dosis, con un nivel de dosis que aumentan hasta que se logre el efecto deseado. En forma alterna, se pueden usar estudios *in vitro* aceptables para establecer dosis útiles y rutas de administración de las composiciones identificadas por los presentes métodos utilizando métodos
35 farmacológicos establecidos.

[0325] En estudios en animales no humanos, las aplicaciones de productos potenciales inician a niveles de dosis superiores, con las dosis que disminuyen hasta que el efecto deseado no se logre más o los efectos secundarios adversos desaparecen. La dosis puede variar ampliamente, dependiendo de los efectos deseados y la indicación terapéutica. Típicamente, las dosis pueden estar entre aproximadamente 10 microgramos/kg y 100 mg/kg de peso corporal, de preferencia entre aproximadamente 100 microgramos/kg y 10 mg/kg de peso corporal. En forma alterna, las dosis pueden basarse y calcularse en el área superficial del paciente, como lo entienden los expertos en la técnica. La administración es de preferencia oral en una base diaria o dos veces al día.

[0326] La formulación exacta, ruta de administración y dosis pueden ser elegida por el médico individual en vista de la condición del paciente. Ver por ejemplo Fingl *et al.*, en *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 1975, que está incorporada aquí para referencia en su totalidad. Habrá de notarse que el médico tratante sabrá cómo y cuando termina, interrumpir o ajustar la administración debido a toxicidad o a disfunciones de órganos. Por el contrario, el médico tratante también sabrá ajustar el tratamiento a niveles superiores si la respuesta clínica no fuera adecuada (evitando la toxicidad). La magnitud de una dosis administrada en el manejo del trastorno de interés, variará con la severidad de la condición a ser tratada y la ruta de administración. La severidad de la condición puede, por ejemplo, evaluarse en parte, por métodos de evaluación de pronóstico estándar. Además, la dosis y probablemente la frecuencia en la dosis también variarán de acuerdo con la edad, peso corporal y respuesta del paciente individual. Se puede usar un programa comparable con el discutido anteriormente en medicina veterinaria.

[0327] Dependiendo de las condiciones específicas que se tratan, estos agentes pueden formularse y administrarse en forma sistémica o local. Una variedad de técnicas para formulación y administración pueden encontrarse en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18ava. Edición, Mack Publishing Co., Easton, PA (1990), que está incorporada aquí para referencia en su totalidad. Rutas de administración convenientes pueden incluir administración oral, rectal, transdérmica, vaginal, transmucosal o intestinal; suministro parenteral, incluyendo inyecciones intramusculares, subcutáneas,

intramedulares, así como inyecciones intratecales, intraventriculares directas, intravenosas, intraperitoneales, intranasales o intraoculares.

5 **[0328]** Para inyección, los agentes de la realización pueden formularse en soluciones acuosas, de preferencia en amortiguadores fisiológicamente compatibles tales como solución de Hank, solución de Ringer o amortiguador en solución salina fisiológica. Para esta administración transmucosal, se utilizan penetrantes adecuados para la barrera a permear en la formulación. Estos penetrantes en general se conocen en la técnica. El uso de vehículos farmacéuticamente aceptables para formular los compuestos revelados aquí para la práctica de la realización en dosis adecuadas para administración sistémica está dentro del alcance de la realización. Con una selección adecuada de vehículo y una práctica de fabricación adecuada, las composiciones reveladas aquí, en particular aquellas formuladas como soluciones, pueden administrarse parenteralmente, tal como por inyección intravenosa. Los compuestos pueden formularse fácilmente utilizando vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica, en dosis adecuadas para administración oral. Estos vehículos permiten que los compuestos de la realización se formulen como tabletas, píldoras, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, lechadas, suspensiones y similares, para ingestión oral por un paciente a ser tratado.

10

15

20

[0329] Los agentes destinados para administrarse intracelularmente pueden administrarse utilizando técnicas bien conocidas por aquellos con destreza normal en la técnica. Por ejemplo, estos agentes pueden ser encapsulados en liposomas, después administrados como se describió anteriormente. Todas las moléculas presentes en una solución acuosa al tiempo de formación de liposoma se incorporan en el interior acuoso. Los contenidos liposomales están protegidos del micro ambiente externo y, debido a que los liposomas se fusionan con las membranas celulares, se suministran eficientemente en el citoplasma celular. Adicionalmente, debido a su hidrofobicidad, pequeñas moléculas orgánicas pueden ser administradas directamente en forma intracelular.

25

30

35 **[0330]** La determinación de las cantidades efectivas está bien dentro de la capacidad de los expertos en la técnica, en especial a la luz de la revelación detallada proporcionada aquí. Además de los ingredientes activos,

estas composiciones farmacéuticas pueden contener vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados que comprenden excipientes y auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que pueden utilizarse farmacéuticamente. Las preparaciones
5 formuladas para administración oral pueden estar en la forma de tabletas, grageas, cápsulas o soluciones. Las composiciones farmacéuticas pueden fabricarse en una forma que en sí es conocida, por ejemplo, mediante procesos convencionales de mezclado, disolución, granulación, producción de grageas, levitación, emulsificación, encapsulación, atrapamiento o liofilización.

10 [0331] Los compuestos revelados aquí pueden evaluarse para eficacia y toxicidad utilizando métodos conocidos. Por ejemplo, la toxicología de un compuesto particular o de un subconjunto de compuestos, que comparten ciertas mitades químicas, puede establecerse al determinar la toxicidad *in vitro*
15 hacia una línea celular, tal como una mamífera, y de preferencia una línea celular humana. Los resultados de estos estudios son a menudo predictivos de toxicidad en animales, tales como mamíferos, o más específicamente en humanos. En forma alterna, la toxicidad de compuestos particulares en un modelo animal, tal como ratones, ratas, conejos, perros o monos, puede
20 determinarse utilizando métodos conocidos. La eficacia de un compuesto particular puede establecerse utilizando varios métodos reconocidos en la técnica, tales como métodos *in vitro*, modelos de animales o pruebas clínicas en humanos. Los modelos *in vitro* reconocidos en la técnica existen para casi toda clase de condición, incluyendo las condiciones disminuidas por los compuestos
25 revelados aquí, incluyendo cáncer, enfermedad cardiovascular y diversas disfunciones inmunes, y enfermedades infecciosas. Similarmente, pueden emplearse modelos de animales aceptables para establecer la eficacia de químicos para tratar dichas condiciones. Cuando se elige un modelo para determinar la eficacia, la persona experta puede guiarse por el estado de la
30 técnica para elegir un modelo apropiado, dosis y ruta de administración y régimen. Por supuesto, también pueden utilizarse pruebas clínicas en humanos para determinar la eficacia de un compuesto en humanos.

[0332] Cuando se utilizan como un agente anti microbiano, anti
35 cáncer o anti inflamatorio, los compuestos revelados aquí pueden administrarse ya sea por rutas orales o no orales. Cuando se administran oralmente, pueden administrarse en forma de cápsula, tableta, granulo, atomizador, jarabe u otra.

Cuando se administran de manera no oral, pueden administrarse como una suspensión acuosa, una preparación oleosa o similares, o como un gotero supositorio, cataplasma, ungüento o similares, cuando se administran por inyección, en forma subcutánea, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, intradérmica, o similares. Las formulaciones de liberación controlada, formulaciones de depósito y suministro de bomba de infusión se contemplan igualmente.

[0333] Las composiciones reveladas aquí en composiciones farmacéuticas también pueden comprender un vehículo farmacéuticamente aceptable. Dichas composiciones pueden prepararse para almacenamiento y para administración posterior. Vehículos o diluyentes aceptables para uso terapéutico son bien conocidos en la técnica farmacéutica y se describen por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985). Por ejemplo, estas composiciones pueden formularse y emplearse como tabletas, cápsulas o soluciones para administración oral; supositorios para administración rectal o vaginal; soluciones o suspensiones estériles para administración inyectable. Los inyectables pueden prepararse en formas convencionales, ya sea como soluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en líquido antes de inyección o como emulsiones. Excipientes adecuados incluyen pero no están limitados a solución salina, dextrosa, manitol, lactosa, lecitina, albúmina, glutamato de sodio, clorhidrato de cisteína, y similares. Además, si se desea, las composiciones farmacéuticas inyectables pueden contener cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas tales como agentes humectantes, agentes amortiguadores de pH y similares. Si se desea, pueden utilizarse preparaciones que mejoran la absorción (por ejemplo liposomas).

[0334] La cantidad farmacéuticamente efectiva de la composición requerida como una dosis dependerá de la ruta de administración, el tipo de animal a tratar, y las características físicas del animal específico bajo consideración. La dosis puede ajustarse a la medida para lograr un efecto deseado, pero dependerá de factores tales como peso, dieta, medicación concurrente y otros factores que los expertos en las técnicas médicas reconocerán.

[0335] Los productos o composiciones de la realización, como se describió anteriormente, pueden ser empleados solos o en combinación con otro, o en combinación con otros agentes terapéuticos o de diagnóstico. Estos productos pueden utilizarse *in vivo* o *in vitro*. Las dosis útiles y los modos de administración más útiles variarán dependiendo de la edad, peso y animal tratado, los compuestos particulares empleados y el uso específico para el cual se emplea esta composición o composiciones. La magnitud de una dosis en el tratamiento o manejo de un trastorno particular variará con la severidad de la condición a ser tratada y la ruta de administración, y dependiendo de la condición de la enfermedad y su severidad, las composiciones pueden formularse y administrarse ya sea en forma sistémica o local. Una variedad de técnicas para formulación y administración pueden encontrarse en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing Co., Easton, PA(1990).

[0336] Para formular los compuestos de las Formulas I-VI como un agente anti microbiano, anti cáncer o anti inflamatorio, se pueden emplear agentes activos de superficie, excipientes, agentes suavizantes, agentes de suspensión y sustancias formadoras de película farmacéuticamente aceptables y auxiliares de recubrimiento y similares conocidos. De preferencia pueden emplearse alcoholes, ésteres, alcoholes alifáticos sulfatados y similares como agentes activos de superficie; sacarosa, glucosa, lactosa, almidón, celulosa cristalizada, manitol, silicato anhidro ligero, aluminato de magnesio, metasilicato de magnesio, silicato de aluminio sintético, carbonato de calcio, carbonato ácido de sodio, hidrógeno fosfato de calcio, carboximetil celulosa de calcio y similares, pueden emplearse como excipientes; esterato de magnesio, talco, aceite endurecido y similares, pueden emplearse como agentes suavizantes; aceite de coco, aceite de oliva, aceite de ajonjolí, aceite de cacahuete, aceite de soya, como agentes de suspensión o lubricantes; acetato ftalato de celulosa como un derivado de un carbohidrato tal como celulosa o azúcar, o copolímeros de metil acetato-metacrilato como un derivado de polivinilo, pueden emplearse como agentes de suspensión; y plastificantes tales como éster ftalatos y similares, pueden ser utilizados como agentes de suspensión. Además de los ingredientes preferidos anteriores, se pueden agregar endulzantes, fragancias, colorantes, preservativos y similares a la formulación administrada del compuesto producido por el método de la realización, particularmente cuando el compuesto se va a administrar oralmente.

[0337] Los compuestos y composiciones pueden ser administrados oralmente y no oralmente a un paciente humano en la cantidad de aproximadamente de 0.001 mg/kg/día a aproximadamente 10,000 mg/kg/día el ingrediente activo, y más preferiblemente de aproximadamente 0.1 mg/kg/día a aproximadamente 100 mg/kg/día del ingrediente activo, de preferencia, una vez al día o menos preferible, de más de dos a aproximadamente 10 veces al día. En forma alterna y también de preferencia, el compuesto producido por el método de la realización puede administrarse de preferencia en las cantidades establecidas continuamente, por ejemplo, por goteo intravenoso. Así, para el ejemplo de un paciente que pesa 70 kg, la dosis diaria preferida del ingrediente activo o anti-infeccioso sería de aproximadamente 0.07 mg/día a aproximadamente 700 gm/día, y más preferible de 7 mg/día a aproximadamente 7 gramos/día. Sin embargo, como lo comprenderán los expertos en la técnica, en ciertas situaciones pueda ser necesario el administrar el compuesto anti-cáncer, anti-inflamatorio o anti-infeccioso de la realización en cantidades que exceden, o incluso exceden bastante el rango de dosis preferido anteriormente establecido para tratar en forma efectiva y agresiva cánceres o infecciones particularmente avanzadas.

[0338] En el caso de utilizar el anti-cáncer, anti-inflamatorio o anti-microbiano producido por los métodos de la realización como un reactivo de prueba bioquímico, el compuesto producido por los métodos de la realización inhibe el avance de la enfermedad cuando se disuelve en un solvente orgánico o solvente orgánico hidratado, y se aplica directamente a cualquiera de diversos sistemas de células cultivadas. Solventes orgánicos utilizables incluyen por ejemplo, metanol, metilsulfoxido y similares. La formulación puede, por ejemplo, ser un polvo, granular u otro inhibidor sólido, o un inhibidor líquido preparado utilizando un solvente orgánico o un solvente orgánico hidroso. Mientras que una concentración preferida del compuesto producido por el método de la realización para uso como un compuesto anti-microbiano, anti-cáncer o anti-tumor, está generalmente en el rango de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 µg/ml, la cantidad de uso más apropiada varía dependiendo del tipo de sistema de células cultivadas y a propósito de uso, como lo apreciarán los de conocimiento ordinario en la técnica. También, en ciertas aplicaciones, puede ser necesario o preferido por personas con conocimiento ordinario en la técnica, utilizar una cantidad fuera del rango anterior.

122

[0339] En una realización, el método para usar un compuesto como un anti-microbiano, anti-cáncer o anti-inflamatorio, involucra administrar una cantidad efectiva de cualquiera de los compuestos de las Formulas I-VI o composiciones de aquellos compuestos. En una realización, el método involucra administrar el compuesto representado por la Formula II a un paciente que requiere un anti-microbiano, hasta que la necesidad se reduzca efectivamente o más preferiblemente se remueva.

[0340] Como lo entenderán los expertos en la técnica, "necesidad" no es un término absoluto y simplemente implica que el paciente puede beneficiarse del tratamiento del anti-microbiano, el anti-cáncer, o el anti-inflamatorio en uso. Por "paciente" se entiende que es un organismo que puede beneficiarse por el uso de un agente anti-microbiano, anti-cáncer o anti-inflamatorio. Por ejemplo, cualquier organismo con *B. anthracis*, *Plasmodium*, *Leishmania*, *Trypanosoma*, y similares, puede beneficiarse por la aplicación de un anti-microbiano que puede a su vez reducir la cantidad de microbios presentes en el paciente. Como otro ejemplo, cualquier organismo con cáncer, tal como, un carcinoma colorectal, un carcinoma de próstata, un adenocarcinoma de seno, un carcinoma pulmonar de células no pequeñas, un carcinoma de ovario, mielomas múltiples, melanoma y similares, puede beneficiarse de la aplicación de un agente anti-cáncer que puede a su vez reducir la cantidad de cáncer presente en el paciente. Además, cualquier organismo con unas condiciones inflamatorias, tales como, artritis reumatoide, asma, esclerosis múltiple, soriasis, apoplejía, daño por reperusión, infarto al miocardio, y similares, puede beneficiarse de la aplicación de un anti-inflamatorio que puede a su vez reducir la cantidad de células asociadas con la respuesta inflamatoria presentes en el paciente. En una realización, la salud del paciente puede no requerir que se administre un anti-microbiano, anti-cáncer, o anti-inflamatorio, sin embargo, el paciente aún puede obtener algún beneficio por la reducción del nivel de microbios, células de cáncer, o células inflamatorias presentes en el paciente, y de esta manera estar en necesidad. En una realización, el agente anti-microbiano o anti-cáncer es efectivo contra un tipo de microbio o cáncer, pero no contra otros tipos; permitiendo de esta manera un alto grado de selectividad en el tratamiento del paciente. En otras realizaciones, el anti-inflamatorio puede ser efectivo contra condiciones inflamatorias caracterizadas por diferentes células asociadas con la inflamación.

127

Al seleccionar dicho agente anti-microbiano, anti-cáncer o anti-inflamatorio, el método y los resultados revelados en los Ejemplos pueden ser útiles. En una realización alterna, el anti-microbiano puede ser efectivo contra un amplio espectro de microbios, de preferencia un amplio espectro de bacterias extrañas y más preferiblemente nocivas para el organismo huésped. En realizaciones, el agente anti-cáncer y/o anti-inflamatorio puede ser efectivo contra un amplio espectro de cánceres y condiciones/células/substancias inflamatorias. Todavía en otra realización, el anti-microbiano es efectivo contra todo los microbios, aún aquellos nativos para el huésped. Ejemplos de microbios que podrán ser objetivos de agentes anti-microbianos, incluyen, pero no están limitados a *B. anthracis*, *Plasmodium*, *Leishmania*, *Trypanosoma*, y similares. En realizaciones adicionales, el agente anti-cáncer es efectivo contra un amplio espectro de cánceres o todos los cánceres. Ejemplos de cánceres, contra los cuales los compuestos pueden ser efectivos, incluyen un carcinoma colorectal, un carcinoma de próstata, un adenocarcinoma de seno, un carcinoma pulmonar de células no pequeñas, un carcinoma de ovario, mielomas múltiples, melanoma y similares. Las condiciones inflamatorias ejemplares contra las cuales los agentes son efectivos incluyen artritis reumatoide, asma, esclerosis múltiple, soriasis, apoplejía, infarto al miocardio, y similares.

[0341] "Cantidad terapéuticamente efectiva", "cantidad farmacéuticamente efectiva", o términos similares, significan esa cantidad de fármaco o agente farmacéutico que producirá una respuesta biológica o médica de una célula, tejido, sistema, animal, o humano que se busca. En una realización preferida, la respuesta médica que buscada por un investigador, veterinario, médico, u otro clínico.

[0342] "Anti-microbiano" se refiere a un compuesto que reduce la probabilidad de supervivencia de microbios, o bloquea o alivia los efectos nocivos del microbio. En una realización se determina la probabilidad de supervivencia en una función del microbio individual; de esta manera, el anti-microbiano aumentará la posibilidad de que un microbio individual muera. En una realización se determina la probabilidad de supervivencia como una función de una población de microbios; de esta manera, el anti-microbiano aumentará las posibilidades de que haya una disminución en la población de microbios. En una realización, anti-microbiano significa antibiótico u otro término similar. Estos anti-microbianos son capaces de bloquear los efectos nocivos, destruir o

suprimir el crecimiento o reproducción de microorganismos, tales como bacterias. Por ejemplo, estos anti-bacterianos y otros anti-microbianos se describen en Antibiotics, Chemotherapeutics and Antibacterial Agents for Disease Control (M. Grayson, editor, 1982), y E. Gale et al., The Molecular Basis of Antibiotic Action 2d edición (1981). En otra realización, un anti-microbiano no cambiará la probabilidad de supervivencia, pero cambiará las posibilidades de que los microbios sean nocivos al huésped de alguna forma. Por ejemplo, si el microbio secreta una sustancia que es nociva para el huésped, el anti-microbiano puede actuar sobre el microbio para detener la secreción o puede contraatacar o bloquear el efecto nocivo. En una realización, un anti-microbiano, aunque aumenta la probabilidad que el(los) microbios mueran, es nociva en forma mínima a las células no microbianas circundantes. En una realización alterna, no es importante que tan nocivo es el anti-microbiano a las células circundantes no microbianas, siempre que reduzcan la probabilidad de supervivencia del microbio.

[0343] "Agente anti-cáncer" se refiere a un compuesto o composición que incluye el compuesto que reduce la probabilidad de supervivencia de una célula de cáncer. En una realización se determina la probabilidad de supervivencia como una función de una célula de cáncer individual; de esta manera, el agente anti-cáncer aumentará la probabilidad que una célula de cáncer individual muera. En una realización, la probabilidad de supervivencia se determina como una función de una población de células de cáncer; de esta manera, el agente anti-cáncer aumentará las posibilidades de que haya una disminución en la población de células de cáncer. En una realización, el agente anti-cáncer significa agente quimioterapéutico u otro término similar.

[0344] Un "agente quimioterapéutico" es un compuesto químico útil en el tratamiento de una enfermedad neoplásica, tal como cáncer. Ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes, tales como mostaza de nitrógeno, una etilenimina y una metilmelamina, un sulfonato de alquilo, una nitrosoúrea, y un triazeno, antagonistas de ácido fólico, antimetabolitos del metabolismo de ácido nucleico, antibióticos, análogos de pirimidina, 5-fluorouracilo, cisplatina, nucleosidos de purina, aminas, aminoácidos, nucleosidos de triazol, corticoesteroides, un producto natural tal como un vinca alcaloide, una epipodofilotoxina, un antibiótico, una enzima, un taxano,

y un modificador de la respuesta biológica o anticuerpos a los modificadores de la respuesta biológica u otros agentes; agentes misceláneos tales como complejo de coordinación de platino, una antracenodiona, una antraciclina, una urea substituida, un derivado de metil hidrazina, o un supresor adrenocortical; o una hormona, o un antagonista tal como un adrenocorticosteroide, una progestina, un estrógeno, un anti estrógeno, un andrógeno, un anti andrógeno, o un análogo de hormona de liberación de gonadotropina. Ejemplos específicos incluyen Adriamicina, Doxorubicina, 5-Fluorouracilo, Citosina arabinosida ("Ara-C"), Ciclofosfamida, Tiotepa, Busulfano, Citoxina, Taxol, Toxotero, Metotrexato, Cisplatino, Melfalan, Vinblastina, Bliomicina, Etoposida, Iposfamida, Mitomicina C, Mitoxantrona, Vincristina, Vinorelbina, Carboplatino, Teniposida, Daunomicina, Carminomicina, Aminopterina, Dactinomicina, Mitomicinas, Esperamicinas, Melfalan, y otras mostazas de nitrógeno relacionadas. También se incluyen en esta definición, agentes hormonales que actúan para regular o inhibir la acción hormonal en tumores, tales como tamoxifeno y onapristona.

[0345] El agente anti-cáncer puede actuar directamente sobre una célula de cáncer para exterminar las células, inducir la muerte de la célula para evitar la división de la célula y similares. En forma alterna, el agente anti-cáncer puede actuar indirectamente sobre la célula de cáncer al limitar el suministro de nutrientes o sangre a la célula, por ejemplo. Estos agentes anti-cáncer son capaces de destruir o suprimir el crecimiento o reproducción de células de cáncer, tal como un carcinoma colorectal, un carcinoma de próstata, un adenocarcinoma de seno, un carcinoma pulmonar de células no pequeñas, un carcinoma de ovario, mielomas múltiples, y melanoma y similares.

[0346] Una "enfermedad neoplásica" o un "neoplasma" se refiere a una célula o población de células que incluyen un tumor o tejido (incluyendo suspensiones celulares tales como médula ósea y fluidos tales como sangre o suero), que exhiben crecimiento anormal por proliferación celular mayor que el tejido normal. Los neoplasmas pueden ser benignos o malignos.

[0347] Una "condición inflamatoria" incluye, por ejemplo, condiciones tales como isquemia, choque séptico, enfermedades autoinmunes, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino, lupus sistémico hermatomatoso, esclerosis múltiple, asma, osteoartritis, osteoporosis, enfermedades fibróticas, dermatosis incluyendo soriasis, dermatitis atópica y

daño a la piel inducido por radiación ultravioleta (UV), artritis soriásica, espondilitis alquilosate, rechazo de tejidos y órganos, enfermedad de Alzheimer, apoplejía, arteroesclerosis, retenosis, diabetes, glomerulonefritis, cáncer, enfermedad de Hodgkins, caquexia, inflamación asociada con infección y
5 ciertas infecciones virales, incluyendo síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), síndrome de tensión respiratoria en adulto y ataxia Telangiectasia.

[0348] En una realización, un compuesto descrito, de preferencia un compuesto que tiene las Formulas I-VI, incluyendo aquellos descritos aquí,
10 se considera un anti-microbiano, anti-cáncer, o anti-inflamatorio efectivo si el compuesto puede influenciar el 10% de los microbios, células de cáncer, o células inflamatorias, por ejemplo. En una realización más preferida, el compuesto efectivo es efectivo si puede influenciar 10 a 50% los microbios, células de cáncer, o células inflamatorias. En una realización aún más
15 preferida, el compuesto es efectivo si puede influenciar 50-80% de los microbios, células de cáncer, o células inflamatorias. En una realización aún más preferida, el compuesto es efectivo si puede influenciar 80-95% de los microbios, células de cáncer, o células inflamatorias. Todavía en una realización aún más preferida, el compuesto es efectivo si puede influenciar 95-99% de los
20 microbios, células de cáncer, o células inflamatorias. "Influencia" se define por el mecanismo de acción para cada compuesto. De esta manera, por ejemplo, si un compuesto evita la reproducción de microbios, entonces la influencia es una medida de prevenir de la reproducción. Igualmente, si un compuesto destruye microbios, entonces la influencia es una medida de la muerte microbiana.
25 También, por ejemplo, si un compuesto evita la división de células de cáncer, entonces la influencia es una medida de prevención de división de células de cáncer. Además, por ejemplo, si un compuesto evita la proliferación de células inflamatorias, entonces la influencia es una medida de prevención de proliferación de células inflamatorias. No todos los mecanismos de acción
30 requieren estar al mismo porcentaje de efectividad. En una realización alterna, una efectividad de bajo porcentaje puede ser conveniente si el grado menor de efectividad de bajo porcentaje puede ser conveniente si el grado menor de efectividad está desplazado por otros factores tales como la especificidad del compuesto, por ejemplo. De esta manera, el compuesto que es sólo 10%
35 efectivo, por ejemplo, pero exhibe pocos efectos secundarios a manera de nocivos para el huésped, o microbios o células no nocivos, puede aún considerarse efectivo.

[0349] En una realización, los compuestos aquí descritos se administran simplemente para remover microbios, células de cáncer o células inflamatorias, y no requieren administrarse a un paciente. Por ejemplo, en situaciones en donde los microbios pueden presentar un problema, tal como en productos alimenticios, los compuestos aquí descritos pueden administrarse directamente a los productos para reducir el riesgo de microbios en los productos. En forma alterna, los compuestos pueden utilizarse para reducir el nivel de microbios presentes en el ambiente circundante tal como en superficies de trabajo. Como otro ejemplo, los compuestos pueden administrarse *ex vivo* a una muestra celular, tal como una médula ósea o trasplante de célula troncal para asegurar que sólo células no cancerosas se introduzcan al recipiente. Después que los compuestos se administran, pueden ser retirados opcionalmente. Esto puede ser particularmente conveniente en situaciones en donde las superficies de trabajo o productos alimenticios pueden entrar en contacto con otras superficies u organismos que pueden arriesgarse a ser dañados por los compuestos. En una realización alterna, los compuestos pueden dejarse en los productos alimenticios o en las superficies de trabajo para permitir mayor protección. Que esto sea o no una opción dependerá de las necesidades relativas de la situación y los riesgos asociados con el compuesto, que en parte pueden determinarse como se describe en los siguientes Ejemplos.

[0350] Los siguientes ejemplos no limitantes pretenden describir las realizaciones preferidas de los métodos. Las variaciones en los detalles de los métodos particulares empleados y las composiciones químicas precisas obtenidas sin duda serán apreciadas por los expertos en la técnica.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Fermentación del Compuesto de Partida II-16 y los Compuestos de Formulas I-7, II-17, II-20, y II-24C, II-26 y II-28 usando la cepa CNB476

[0351] La cepa CNB476 se cultivó en un frasco de 500 ml que contiene 100 ml de medio vegetativo que consiste en los siguientes por litro de agua desionizada: glucosa, 4 g; Bacto triptona, 3 g; Bacto casitona, 5 g; y sal de

mar sintética (Instant Ocean, Aquarium Systems), 30 g. El primer cultivo de siembra se incubó a 28 grados C por tres días en un agitador rotatorio que opera a 250 rpm. Cinco ml del primer cultivo de siembra se inoculó en tres frascos de 500 ml que contienen 100 ml de medio vegetativo. Los segundos

5 cultivos de siembra se incubaron a 28 grados C y 250 rpm en un agitador rotatorio por dos días. Cinco ml cada uno del segundo cultivo de siembra, se inocularon en treinta y cinco frascos de 500 ml que contienen 100 ml de medio vegetativo. Los terceros cultivos de siembra se incubaron a 28 grados y 250 rpm en un agitador rotatorio por dos días. Cinco ml cada uno del tercer cultivo

10 de siembra se inocularon en 400 frascos de 500 ml que contienen 100 ml de Medio de Producción A que consisten de lo siguiente por litro de agua desionizada: almidón, 10 g; extracto de levadura, 4 g; Hy- Soy, 4 g; sulfato férrico, 40 mg; bromuro de potasio, 100 mg; carbonato de calcio, 1 g; y sal de mar sintética (Instant Ocean, Aquarium Systems), 30 g. Los cultivos de producción se incubaron a 28 grados C y 250 rpm en agitadores rotatorios por un día. Aproximadamente dos a tres gramos de resina Amberlite XAD-7 estéril se agregaron a los cultivos de producción. Los cultivos de producción se incubaron adicionalmente a 28 grados C y 250 rpm en agitadores rotatorios por 5 días y alcanzaron un título del Compuesto II-16 a aproximadamente 200 mg/L.

15 El caldo de cultivo se filtró a través de estopa para recuperar la resina Amberlite XAD-7. La resina se extrajo 2 veces con 6 litros de acetato de etilo seguido por 1 vez de 1.5 litros de acetato de etilo. Los extractos combinados se secaron *al vacío*. El extracto seco fue entonces procesado para la recuperación del Compuesto II-16 y los compuestos de Formulas II-7, II-20, II-24C, II-26 y II-

20 28.

25

Elemplo 2

Fermentación del Compuesto de partida II-16 y los compuestos de Formulas

30 I-7, II-17, II-20, y II-24C, II-26 y II-28 usando la cepa NPS21184

[0352] La cepa NPS21184 se cultivó en un frasco de 500 ml que contiene 100 ml de medio vegetativo que consiste en los siguientes por litro de agua desionizada: glucosa, 8 g; extracto de levadura, 6g; Hy-Soy, 6g; y sal de

35 mar sintética (Instant Ocean, Aquarium Systems), 30 g. El primer cultivo de siembra se incubó a 28 grados C por tres días en un agitador rotatorio que opera a 250 rpm. Cinco ml del primer cultivo de siembra se inocularon en un

frasco de 500 ml que contienen 100 ml de medio vegetativo. Los segundos cultivos de siembra se incubaron a 28 grados C y 250 rpm en un agitador rotatorio por dos días. Cinco ml del segundo cultivo de siembra se inocularon un frasco de 500 ml que contiene 100 ml de medio vegetativo. Los terceros cultivos de siembra se incubaron a 28 grados y 250 rpm en un agitador rotatorio por dos días. Cinco ml cada uno del tercer cultivo de siembra se inocularon en un frasco de 500 ml que contiene 100 ml de Medio de Producción B que consisten de lo siguiente por litro de agua desionizada: almidón, 20 g; extracto de levadura, 4 g; Hy- Soy, 8 g; sulfato férrico, 40 mg; bromuro de potasio, 100 mg; carbonato de calcio, 1 g; y sal de mar sintética (Instant Ocean, Aquarium Systems), 30 g. Los cultivos de producción se incubaron a 28 grados C y 250 rpm en agitadores rotatorios por 1 día. Aproximadamente 2 a 3 gramos de resina Amberlite XAD-7 estéril se agregaron al cultivo de producción. El cultivo de producción se incubó adicionalmente a 28 grados C y 250 rpm en agitador rotatorio por 4 días y alcanzó un título de 350-400 mg/L para el Compuesto II-16,

[0353] Alternativamente, la producción de los compuestos se puede lograr en un sistema de fermentador de 42 L usando la cepa NPS21184. La cepa NPS21184 se cultivó en un frasco de 500 ml que contiene 100 ml de medio vegetativo que consiste de lo siguiente por litro de agua desionizada: glucosa, 8 g; extracto de levadura, 6 g; Hy-Soy, 6 g; y sal de mar sintética (Instant Ocean, Aquarium Systems), 30 g. El primer cultivo de siembra se incubó a 28 grados C por 3 días en un agitador rotatorio que opera a 250 rpm. Cinco ml del primer cultivo de siembra se inocularon en un frasco de 500 ml que contiene 100 ml de medio vegetativo. Los segundos cultivos de siembra se incubaron a 28 grados C y 250 rpm en un agitador rotatorio por 2 días. Veinte ml de cada uno del segundo cultivo de siembra se inocularon en un frasco de 2.8 L Femabach que contiene 400 ml de medio vegetativo. Los terceros cultivos de siembra se incubaron a 28 grados y 250 rpm en un agitador rotatorio por 2 días. 1.2 L del tercer cultivo de siembra se inocularon en un fermentador de 42 L que contiene 26L de Medio de Producción A. También se puede usar Medio de Producción B y Medio de Producción C, con la siguiente composición. El Medio de Producción consiste de lo siguiente por litro de agua desionizada: almidón, 15 g; extracto de levadura, 6 g; Hy- Soy, 6 g; sulfato férrico, 40 mg; bromuro de potasio, 100 mg; carbonato de calcio, 1 g; y sal de mar sintética (Instant Ocean, Aquarium Systems), 30 g. Los cultivos del fermentador se

operaron a los siguientes parámetros: temperatura, 28 grados C; agitación, 200 rpm; aereación, 13 L/min y contra presión, 4.5 psi ($3,1 \times 10^3$ Pa); A las 36 a 44 horas del ciclo de producción, se agregaron aproximadamente 600 gramos de la resina estéril XAD-7 al cultivo del fermentador. La cultivo de producción fue incubado adicionalmente en los parámetros de operación anteriores hasta el día 4 del ciclo de producción. La velocidad de aireación se disminuyó a 8 L/min. En el día 5 del ciclo de producción el cultivo del fermentador alcanzó un título de aproximadamente 300 mg/L para el Compuesto II-16. El caldo de cultivo se filtró a través de estopa para recuperar la resina Amberlite XAD-7. La resina se extrajo 2 veces con 4.5 litros de acetato de etilo. Los extractos combinados se secaron al vacío. El extracto seco fue entonces procesado para la recuperación del Compuesto II-16 y los compuestos de Formulas II-7, II-20, II-24C, II-26 y II-28.

Ejemplo 3

Purificación de los Compuestos de Partida II-16 y los Compuestos de las Formulas II-20, II-24C, II-26 y II-28.

3A: Purificación de II-16, II-20, II-24C, II-26 y II-28

[0354] El compuesto puros II-16, y los compuestos de Formulas II-20, II-24C, II-26 y II-28 se obtuvieron por cromatografía instantánea seguida por HPLC. Ocho gramos de extracto crudo que contienen 3.8 gramos de compuesto II-16 y menores cantidades II-20, II-24C, II-26 y II-28, se procesaron mediante cromatografía instantánea utilizando el sistema Biotage Flash 40i y el cartucho Flash 40M (KP-Sil Silice, 32-63 μ m, 90 gramos). La cromatografía instantánea se desarrolló mediante el siguiente gradiente en etapas:

1. Hexano (1L)
2. 10% de acetato de etilo en hexano (1 L)
3. 20% de acetato de etilo en hexano, primera elución (1 L)
4. 20% de acetato de etilo en hexano, segunda elución (1 L)
5. 20% de acetato de etilo en hexano, tercera elución (1 L)
6. 25% de acetato de etilo en hexano (1 L)
7. 50% de acetato de etilo en hexano (1 L)
8. Acetato de etilo (1 L)

[0355] Fracciones que contienen el Compuesto II-16 mayor o igual a 70% de pureza UV por HPLC fueron recolectadas y se sometieron a purificación por HPLC, como se describe a continuación, para obtener El Compuesto III-16, junto con II-20 y II-24C, cada uno como compuestos puros.

Columna	Phenomenex Luna 10u Sílice
Dimensiones	25 cm X 21.2 mm DI
Velocidad de flujo	25 ml/min
Detección	ELSD
Solvente	Gradiente de EtOAc al 24%/hexano por 19 min, EtOAc al 24%/hexano a EtOAc al 100% en 1 min, después EtOAc al 100% por 4 min.

[0356] La fracción enriquecida en el Compuesto II-16 (descrito anteriormente; ~70% puro respecto al Compuesto II-16) se disolvió en acetona (60 mg/ml). Alícuotas (950 ul) de esta solución se inyectaron en una columna de HPLC de fase normal utilizando las condiciones descritas anteriormente. El compuesto II-16 eluyó típicamente después de 14 minutos y los compuestos II-24C y II-26 se co-eluyeron como un solo pico a 11. Cuando se procesaron muestras base que contienen los compuestos II-27, II-20 y II-28, el Compuesto II-17 eluyó a los 22 minutos, mientras que II-20 y II-28 se co-eluyeron a los 23 minutos durante el lavado con acetato de etilo al 100%. Las fracciones que contienen el Compuesto II-16 y análogos menores fueron recolectados con base en la composición de los compuestos presentes, y se evaporaron bajo presión reducida en un evaporador rotatorio. Este proceso produjo el Compuesto II-16 puro, así como fracciones separadas de los compuestos II-20, II-24C, II-26 y II-28, que se purificaron adicionalmente como se describe a continuación.

[0357] La muestra que contiene II-24C y II-26 generados a partir del proceso anterior descrito, se separaron adicionalmente usando HPLC preparativa de fase reversa como sigue. La muestra (70mg) se disolvió en acetonitrilo a una concentración de 10mg/ml y 500 µl se cargaron en una columna HPLC con dimensiones 21 mm de d.i. por 15 cm de longitud que

contiene el soporte Eclipse XDB-C18. El gradiente de solvente aumentó linealmente del 15% de acetonitrilo/85% de agua al 100% de acetonitrilo durante 23 minutos a una velocidad de flujo de 14.5 ml/min. La composición de solvente se mantuvo al 100% de acetonitrilo por 3 minutos antes de regresar a la mezcla solvente de partida. El compuesto II-26 eluyó a 17.5 minutos mientras que el compuesto II-24C eluyó a 19 minutos bajo estas condiciones.

[0358] El II-26 cristalino se obtuvo usando un método de difusión de vapor. El Compuesto II-26 (15 mg) se disolvió en 100 μ l de acetona en un vial de HPLC de fondo v. Este vial fue entonces colocado dentro de un recipiente más grande taponado ajustadamente que contiene 1 ml de pentano. Se observaron cristales adecuados para experimentos de cristalografía de Rayos X a lo largo de los lados y el fondo del vial interno después de 48 horas de incubación a 4°C. Los datos de cristalografía fueron recolectados en un difractómetro de Rayos X Brucker SMART APEX CCD (F(000)=2656, radiación $\text{MoK}\alpha$, $\lambda = 0.71073$, $\text{\AA}^3$, $\mu = 0.264 \text{ mm}^{-1}$, $T = 100\text{K}$) en la Instalación de Cristalografía UCSD y el método de refinamiento usado fue de cuadrados de total-última matriz sobre F^2 . Datos del cristal NPI-2065; $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{ClNO}_4$, PM = 313.77, tetragonal, grupo de espacio $P4(1)2(1)2$, $a = b = 11.4901(3) \text{ \AA}$, $c = 46.444(2) \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$, vol = $6131.6(3) \text{ \AA}^3$, $Z = 16$, $\rho_{\text{calc}} = 1.360 \text{ g cm}^{-3}$, tamaño del cristal, $0.30 \times 0.15 \times 0.07 \text{ mm}^3$, rango θ , $1.75\text{-}26.00^\circ$, 35367 reflexiones recolectadas, 6025 reflexiones independientes ($R_{\text{int}}=0.0480$), índices R finales ($I > 2\sigma(I)$): $R_1 = 0.0369$, $wR_2 = 0.0794$, GOF = 1.060.

[0359] Con el fin de separar II-28 de II-200, se empleó un método isocrático de fase reversa. La muestra (69.2 g) que contiene ambos compuestos se disolvió en acetonitrilo a una concentración de 10 mg/ml, y 500 μ l se cargaron en una columna HPLC de fase reversa (ACE 5 μ C18-HL, 15 cm X 21 mm DI) por inyección. Se usó un sistema de solvente isocrático de 27 % de acetonitrilo/63% de agua a una velocidad de flujo de 14.5 ml/min para separar los compuestos II-28 y II-20, que se eluyó después de 14 y 16 minutos, respectivamente. Las fracciones que contienen los compuestos de interés fueron evaporadas inmediatamente bajo presión reducida a temperatura ambiente en un evaporador rotatorio. Las muestras fueron entonces cargadas en una columna pequeña de sílice y se eluyeron con 10 ml de hexano al 70%/acetona al 30% para remover las impurezas adicionales.

[0360] Las muestras generadas del método de HPLC preparativa de fase normal anterior, que contenían II-20 pero estaban libres de II-28 también se pudieron triturar con 100% de EtOAc para remover impurezas lipofílicas menores.

[0361] Compuesto de Partida II-16: UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 225 (sh) nm. Masa de baja resolución: m/z 314 (M+H), 336 (M+Na).

[0362] Compuesto la Formula II-20: UV(Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 225 (sh)nm. Masa de baja resolución: m/z 266 (M+H). HRMS (ESI), m/z 266.1396 (M+H), $\Delta_{\text{calc}} = 1.2$ ppm. FIG 16 describe el espectro de RMN ¹H de un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-20.

[0363] Compuesto la Formula II-24C: UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 225 (sh)nm.

[0364] Masa de baja resolución: m/z 328 (M+H), 350 (M+Na); HRMS (ESI), m/z 328.1309 (M+H), $\Delta_{\text{calc}} = 2.0$ ppm, C₁₆H₂₃NO₄Cl. La FIG 19 describe el espectro de RMN ¹H de un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-24C.

[0365] Compuesto la Formula II-26: UV(Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 225 (sh)nm. HRMS (ESI), m/z 314.1158 (M+H), $\Delta_{\text{calc}} = -0.4$ ppm, C₁₅H₂₁NO₄Cl; la FIG 23 describe el espectro de RMN ¹H de un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-26 en DMSO-d₆).

[0366] Compuesto la Formula II-28: UV(Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 225 (sh)nm. HRMS (ESI), m/z 266.1388 (M+H), $\Delta_{\text{calc}} = -1.8$ ppm, C₁₄H₂₀NO₄; la FIG 26 describe el espectro de RMN ¹H de un compuesto que tiene la estructura de la Formula II-28 en DMSO-d₆).

3B: Purificación a Gran Escala del Compuesto II-16:

[0367] Se desarrolló un proceso de dos etapas para la purificación del Compuesto II-16 a partir de extractos crudos obtenidos a partir del caldo de

5 cultico de NPS21184. La primera etapa del proceso involucra cromatografía instantánea de fase normal del extracto crudo para producir el material altamente enriquecido en el Compuesto II-16 (~ 95% de pureza). El material enriquecido es purificado adicionalmente mediante cristalizaciones múltiples hasta que no
estaban presentes impurezas solas a $\geq 1.0\%$ en el material cristalino incoloro final del Compuesto II-16.

Cromatografía Instantánea en Biotage (Etapas de Purificación 1)

10

[0368] El sistema Biotage Flash 75Li, incluyendo un cartucho KP-Sil 75L Flash, sin SIM, se usó para la cromatografía instantánea. Basado en los experimentos de desarrollo del método, se estableció que la capacidad de carga del sistema era 10 g de extracto crudo por 800 g de sílice. Se puede
15 obtener mejor resolución del Compuesto II-16 y el Compuesto II-17 cargando 8 g del extracto crudo en 800 g de sílice; sin embargo, la recuperación fue comparable usando cualquier carga.

20

[0369] El extracto crudo (10.0 g, secado en alto vacío) que contiene el Compuesto II-16 (5.30 g; estimados de la gráfica estándar bajo HPLC) en un frasco Erlenmeyer de 250 ml se disolvió a una concentración de 107 mg/ml de acetona (93.5 ml) sonicando la muestra a 40°C por aproximadamente 6 minutos. La muestra fue filtrada por gravedad usando papel filtro acanalado en otro frasco Erlenmeyer de 250 ml, y el papel filtro se
25 lavó con 5 ml de acetona. Una alícuota de 150 μ l de esta solución se transfirió en un vial de 1 dram tarado para el análisis de pureza y estimación de masa del Compuesto II-16. El extracto crudo filtrado fue directamente inyectado en un nuevo cartucho KP-Sil 75L Flash, usando una jeringa abierta de 60 ml como un embudo y transfiriendo la muestra del frasco a la jeringa usando una pipeta
30 volumétrica de vidrio. Debido a la baja viscosidad de la muestra, la gravedad fue suficiente para cargar la muestra en la columna; no se requirió presión adicional. Una vez la muestra entera fue absorbida en la columna, el sistema fue presurizado mediante aire de la habitación, y luego se corrió el siguiente gradiente de paso de solvente a través de la columna a aproximadamente 15
35 psi (1.03×10^3) y una velocidad de flujo entre 235 ml/min y 250 ml/min:

1. 3 CV* 10% de EtOAc en n-heptano

2. 15 CV* 25% de EtOAc en n-heptano

3. 5 CV* 30% de EtOAc en n-heptano

* Para cartucho de 75 L, 1 CV = 1070 ml

5 **[0370]** El eluyente para el primer paso fue recolectado como una fracción (~ 2500 ml), después de lo cual se recolectaron fracciones de 500 ml (volumen de columna de 0.47 ml). Con el fin de determinar qué fracciones contenían el Compuesto II-16, las fracciones fueron analizadas mediante TLC. Cada fracción fue manchada en una placa de Si TLC, desarrollada en EtOAc al 40%/hexanos al 60%, y se visualizó usando rociador de ácido fosfomolibdico, luego se calentó. Una alícuota de 1 ml fue posteriormente tomada de cada fracción que contiene el Compuesto II-16, secada bajo una corriente de nitrógeno, redisuelta en 0.5 ml de ACN, y analizada mediante LC-MS. Mientras las muestras empezaron a correr en LC-MS, las fracciones fueron cubiertas con lámina de aluminio y se dejaron permanecer a temperatura ambiente.

10

15

[0371] Los cromatogramas resultantes (UV @ 210 nm) se analizaron solamente integrando los picos del Compuesto II-16, el Compuesto II-26, y el Compuesto II-17. Aquellas fracciones que contienen el Compuesto II-16, así como < 10% del Compuesto II-26 y < 5% del Compuesto II-17, fueron recolectados y concentrados hasta 4-6% (~600 mL) de los volúmenes recolectados totales usando un Rotavapor Buche R-220, con temperatura de baño de agua entre 28°C y 30°C. El líquido amarillo en el frasco fue sifoneado lentamente dejando el sólido blanco. El sólido blanco se disolvió en acetona y se transfirió a un frasco de fondo redondo de 2L y se concentró mediante un evaporador rotatorio a 30°C y se pesó. La alícuota seca fue analizada en LC-MS. La pureza de la comida fue mayor de 95% (95.7%) y las impurezas mayores fueron el Compuesto II-26 (3.2%) y el Compuesto II-17 (0.38%). El rendimiento del Compuesto II-16 fue del 86% después del primer paso, calculado a partir de la masa del Compuesto II-16 recuperadas de la cromatografía instantánea versus la masa estimada del Compuesto II-16 presente en el extracto crudo. Las muestras que contienen el Compuesto II-16 fueron almacenadas a -20°C sin desecación hasta purificación adicional mediante cristalización.

20

25

30

35

[0372] En el Biotage múltiple se requieren corridas para procesar

las cantidades de extracto crudo que exceden la capacidad de carga de una sola columna, los procesos de purificación anteriores deben ser completados para cada corrida de Biotage individual. El material resultante de cada corrida puede entonces ser combinado y cristalizado usando los pasos descritos más adelante, con el fin de producir un lote final del Compuesto II-16.

Cristalización - Procedimiento General (Etapa de Purificación – 2):

10 **[0373]** Las muestras del Compuesto II-16 obtenidas de la cromatografía instantánea Biotage contienen típicamente aproximadamente 3% de NPI-2065. El objetivo principal del paso de cristalización es aumentar la pureza de NPI-0052 a > 97% y reducir el NPI-2065 a < 1%.

15 **[0374]** Las cristalizaciones se realizaron en muestras del Compuesto II-16 obtenidas de las Corridas Biotage disolviendo el sólido (4.56 g) en acetona:n-heptano 1:1 (910 ml) a una concentración final de 5 g/L. El solvente se evaporó lentamente bajo presión reducida (aproximadamente 275 mbar) usando un evaporador rotatorio con controlador de vacío (Rotovapor 20 Buche R-200) y una temperatura de baño de agua de aproximadamente 30°C hasta que el solvente se redujo hasta aproximadamente 43% ($\pm$ 6%) de su volumen original. Durante este proceso de evaporación, se formaron cristales alrededor de las paredes del frasco así como en la solución. La solución (sobrenadante) fue removida mediante sifoneado bajo presión de la habitación en un frasco Erlenmeyer de 500 ml, concentrada mediante evaporación 25 rotatoria y transferida a un vial de cintilación de 20 ml disolviéndola en acetona. La acetona fue removida bajo una corriente de N₂, y el sólido fue secado adicionalmente mediante alto vacío antes de ser pesado. La masa del material obtenido del sobrenadante se usó para aproximar la cantidad de material 30 cristalino obtenido remanente. Los cristales en el frasco de 2L se disolvieron en acetona (455 ml, el mismo volumen de acetona usado para la cristalización inicial). Con el fin de determinar la pureza, una alícuota (100 μ l) fue removida, concentrada bajo una corriente de N₂, redisoluelta en ACN hasta una concentración final de 1 mg/ml y analizada por LC-MS. Los resultados analíticos 35 mostraron un 31% de reducción del Compuesto II-26. Se agregó n-heptano (455 ml; el mismo volumen usado para la cristalización inicial para hacer una solución de acetona:n-heptano 1:1) al frasco de 2 L y el proceso de

cristalización se repitió. Este proceso fue reiterado hasta que el Compuesto II-26 fue reducido hasta <1%; se necesitaron 3-4 cristalizaciones para alcanzar este objetivo.

5 **[0375]** La cristalización final se realizó en solución de EtOAc/n-heptano. El material cristalino obtenido anteriormente se redisolvió en EtOAc:n-heptano 1:1 (la misma concentración que la primera cristalización acetona:n-heptano, i.e., 5 g/L). El solvente se evaporó lentamente bajo presión reducida (aproximadamente 130 mbar (3×10^3 Pa)) usando un evaporador
10 rotatorio con una temperatura de baño de agua de 30 °C hasta que el solvente se redujo a aproximadamente 30% de su volumen original. Durante este proceso de evaporación, la mayoría de los cristales permanecieron suspendidos en solución y no se adhirieron fuertemente a los lados del frasco. La solución (sobrenadante) fue removida mediante sifoneado bajo presión de la habitación
15 en un frasco Erlenmeyer de 500 ml, y luego se concentró mediante evaporación rotatoria en un frasco de fondo redondo de 250 ml, se secó mediante bomba de alto vacío y se pesó. Los cristales en el frasco de 2L fueron removidos del frasco. Unos pocos cristales se seleccionaron aleatoriamente de diferentes lugares del frasco para el análisis de pureza. El Compuesto II-26 se redujo de
20 0.98% a 0.66% (promedio de dos puntos de datos) en este paso.

[0376] El rendimiento fue de aproximadamente 87% (± 2) del extracto crudo a cromatografía Biotage y aproximadamente 56% (± 6) del Biotage a cristalización) con base en las dos corridas Biotage. El rendimiento
25 global de estos dos extractos crudos a producto final fue de 43% y 54%. Adicionalmente, el compuesto II-16 se obtuvo consistentemente en >98% de pureza, sin impurezas simples $\geq 1\%$. Específicamente, el Compuesto II-26 impureza se redujo a 0.5% después de cuatro rondas de cristalización. Finalmente, el material obtenido del último paso de cristalización, realizado en
30 EtOAc:n-heptano, produjo cristales que fueron fáciles de manejar en estado sólido y estos cristales pueden ser capturados fácilmente mediante filtración del licor madre.

35 **3C: Purificación de I-7**

[0377] El material sobrenadante del paso de cristalización de la

purificación a gran escala del Compuesto II-16 descrito anteriormente se disolvió en acetona (80 mg/ml). Se inyectaron alícuotas (500 ul) de esta solución en una columna HPLC de fase normal usando las condiciones descritas previamente para purificación de fase normal de los Compuestos II-16, II-24C, II-26 y II-28. El Compuesto de Formula I-7 se eluyó a 7.5 minutos como un compuesto puro.

[0378] El Compuesto de Formula I-7 (FIG. 30): UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 225(sh) nm. Masa de Baja Resolución: m/z 298 (M+H), 320 (M+Na).

Ejemplo 4

Fermentación de Iso Compuestos de Partida II-17 y II-18 y Compuesto de Formula II-27

[0379] La cepa CNB476 se cultivó en un frasco de 500 ml que contiene 100 ml del primer medio vegetativo que consiste de lo siguiente por litro de agua desionizada: glucosa, 4 g; Bacto triptona, 3 g; Bacto casitona, 5 g; y sal de mar sintética (Instant Ocean, Aquarium Systems), 30 g. El primer cultivo de siembra se incubó a 28 grados C por 3 días en un agitador rotatorio que opera a 250 rpm. Cinco ml del primer cultivo de siembras se inocularon en un frasco de 500 ml que contiene 100 ml del segundo medio vegetativo que consiste de lo siguiente por litro de agua desionizada: almidón, 10 g; extracto de levadura, 4 g; peptona, 2 g; sulfato férrico, 40 mg; bromuro de potasio, 100 mg; carbonato de calcio, 1 g; y bromuro sódico, 30 g. Los segundos cultivos de siembra se incubaron a 28 grados C por 7 días en un agitador rotatorio que opera a 250 rpm. Aproximadamente 2 a 3 gramos de resina Amberlite XAD-7 estéril se agregan al tercer cultivo de siembra. El tercer cultivo de siembra se incubó adicionalmente a 28 grados C por 2 días en un agitador rotatorio que opera a 250 rpm. Cinco ml del tercer cultivo de siembras se inoculó en un frasco de 500 ml que contiene 100 ml del segundo medio vegetativo. El cuarto cultivo de siembra se incubó a 28 grados C por 1 día en un agitador rotatorio que opera a 250 rpm. Aproximadamente 2 a 3 gramos de resina Amberlite XAD-7 estéril se agregaron al cuarto cultivo de siembra. El cuarto cultivo de siembra se incubó adicionalmente a 28 grados C por 1 día en un agitador rotatorio que opera a 250 rpm. Cinco ml del cuarto cultivo se inoculó en diez frascos de 500

ml que contienen 100 ml del segundo medio vegetativo. Los quintos cultivos de siembra se incubaron a 28 grados C por 1 día en un agitador rotatorio que opera a 250 rpm. Aproximadamente 2 a 3 gramos de resina Amberlite XAD-7 estéril se agregaron a los quintos cultivos de siembra. Los quintos cultivos de siembra se incubaron adicionalmente a 28 grados C por 3 días en un agitador rotatorio que opera a 250 rpm. Cuatro ml de cada uno de los quintos cultivos de siembra se inocularon en ciento cincuenta frascos de 500 ml que contienen 100 ml del medio de producción que tiene la misma composición que el segundo medio vegetativo. Aproximadamente 2 a 3 gramos de resina Amberlite XAD-7 estéril se agregaron también al cultivo de producción. Los cultivos de producción se incubaron a 28 grados C por 6 días en un agitador rotatorio que opera a 250 rpm. El caldo de cultivo se filtró a través de estopa para recuperar la resina Amberlite XAD-7. La resina se extrajo con 3 litros de acetato de etilo 2 veces seguido por 1 litro de acetato de etilo 1 vez. Los extractos combinados se secaron al vacío. El extracto seco, que contiene 0.42 g del Compuesto de Partida II-17 y 0.16 gramos del Compuesto de la Formula II-18, fue entonces procesado para la recuperación de los compuestos.

Ejemplo 5
Purificación de los Compuestos De Partida II-17, II-18 y el Compuesto II-27

[0380] Los compuestos puros II-17 y II-18 se obtuvieron mediante HPLC de fase inversa como se describe a continuación:

Columna	ACE 5 C18-HL
Dimensiones	15 cm X 21 mm DI
Velocidad de flujo	14.5 ml/min
Detección	214 nm
Solvente	gradiente de 35% de acetonitrilo/ 65% de H ₂ O a 90% de Acetonitrilo/10% de H ₂ O durante 15 minutos

[0381] El extracto crudo (100 mg) se disolvió en 15 ml de acetonitrilo. Alícuotas (900 ul) de esta solución se inyectaron en una columna

HPLC de fase inversa utilizando las condiciones descritas anteriormente. Los Compuestos II-17 y II-18 eluyeron a 7.5 y 9 minutos, respectivamente. Las fracciones que contienen los compuestos fueron primero concentradas usando nitrógeno para remover el solvente orgánico. La solución restante fue entonces congelada y liofilizada hasta sequedad.

[0382] Un método de purificación alternativo para el Compuesto II-17 y II-18 se desarrolló para purificación a mayor escala e involucró el fraccionamiento del extracto crudo en una columna VLC de fase normal. Bajo estas condiciones se identificaron cantidades suficientes de varios metabolitos menores, incluyendo el compuesto II-27. El extracto crudo (2.4 g) se disolvió en acetona (10 ml) y esta solución se adsorbió en gel de sílice (10 cc) por secado *al vacío*. El extracto crudo adsorbido fue cargado en una columna VLC de sílice de fase normal (250 cc de gel de sílice, dimensiones de columna 2.5 cm de diámetro por 15 m de longitud) y se lavó con un gradiente de paso de hexano/EtOAc, aumentando el porcentaje de hexano en pasos de 5% (100 ml de solvente por paso). La mayoría del Compuesto II-16 se eluyó en el lavado de 60% de hexano/40% de EtOAc mientras que la mayoría del Compuesto II-17 se eluyó en el lavado de 50% de hexano/50% de acetato de etilo. La separación final de los compuestos se logró usando cromatografía HPLC C18 (ACE 5 μ C18-HL, 150 mm X 21 mm DI) usando un sistema de solvente isocrático que consiste de 35% de ACN / 65% de H₂O. Bajo estas condiciones, el compuesto II-17 eluyó a 11 minutos, el compuesto II-17 eluyó a 12.00 minutos, las trazas del Compuesto II-16 eluyeron a 23.5 minutos, y el Compuesto II-18 eluyó a 25.5 minutos. Las muestras resultantes se secaron *al vacío* sin usar calor para remover la mezcla de solvente acuoso. Se encontró que los datos espectroscópicos para estas muestras de Compuesto II-16 y Compuesto II-18 eran idénticos a aquellos de muestras preparadas de métodos de purificación anteriores. Se encontró que la muestra del compuesto II-18 contenía 8% del producto de hidrólisis de lactona y se purificó adicionalmente lavando a través de un tapón de sílice de fase normal (1 cm de diámetro por 2 cl de altura) y eluyendo usando una mezcla de solvente de 20% de EtOAc / 80% de Hexanos (25 ml). Se encontró que la muestra resultante contenía el Compuesto II-18 puro.

[0383] Las fracciones que contienen el compuesto II-27 descrito anteriormente se purificaron adicionalmente usando HPLC semi preparativa de

fase normal (Phenomenex Luna Si 10 μ , 100 Å, 250 x 10 mm di) usando un gradiente de solvente en aumento desde 100% de hexano a 100% de EtOAc durante 20 minutos con una velocidad de flujo de 4 ml/min. El Compuesto II-27 eluyó como un compuesto puro después de 11.5 minutos (0.8 mg, 0.03% rendimiento aislado del peso de extracto seco).

[0384] Compuesto de Partida II-17: UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 225 (sh)nm. Masa de alta resolución (APCI): m/z 280.156 (M+H), Δ_{calc} = 2.2 ppm, C₁₅H₂₂NO₄.

[0385] Compuesto II-18: UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 225 (sh)nm. Masa de alta resolución (APCI): m/z 358.065 (M+H), Δ_{calc} = 2.2 ppm, C₁₅H₂₁NO₄Br, RMN ¹H en DMSO-d₆ (ver FIG. 14).

[0386] Compuesto II-27: UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 225 (sh)nm. MS (HR-ESI), m/z 280.1556 (M+H), Δ_{calc} = 2.7 ppm, C₁₅H₂₂NO₄, RMN ¹H (DMSO-d₆) ver FIG. 25.

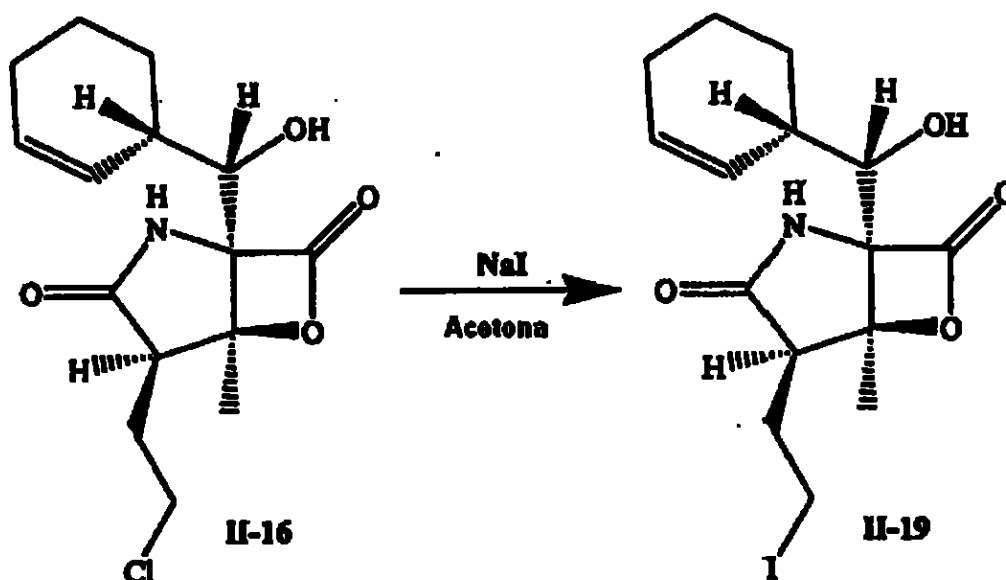
Ejemplo 6

Preparación del Compuesto de la Formula II-19 a partir del Compuesto de Partida II-16.

[0387] Una muestra del Compuesto II-16 (250 mg) se agregó a una solución en acetona de yoduro de sodio (1.5 g en 10 ml) y la mezcla resultante se agitó por 6 días. La solución fue entonces filtrada a través de un filtro de jeringa de 0.45 micrones y se inyectó directamente en una columna HPLC de sílice de fase normal (Phenomenex Luna 10u Sílice, 25 cm x 21.2 mm) en alícuotas de 0.95 ml. Las condiciones HPLC para la separación del compuesto de la Formula II-19 del Compuesto II-16 sin reaccionar empleó un método HPLC isocrático que consiste de acetato de atilo al 24% y hexano al 76%, en donde la mayoría del compuesto II-19 eluyó 2.5 minutos antes del

Compuesto II-16. Las fracciones equivalentes de cada una de 10 inyecciones se recolectaron para producir 35 mg del compuesto II-19. Compuesto II-19: UV (Acetonitrilo/H₂O) 225 (sh), 255 (sh) nm; ESMS, m/z 406.0 (M+H); HRMS (ESI), m/z 406.0513 [M+H]⁺, Δ_{calc} = -0.5 ppm, C₁₅H₂₁NO₄I; RMN ¹H en DMSO-d₆ (ver Figura 15).

5



10

Ejemplo 7

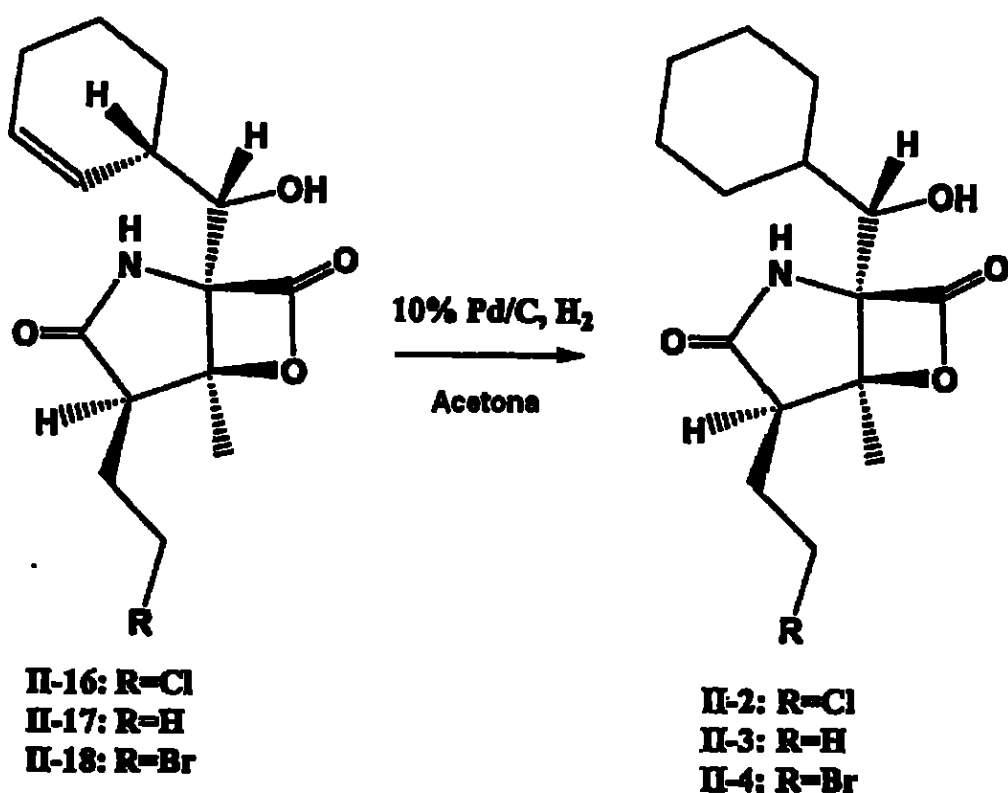
15

Síntesis de los Compuestos de Formulas II-2, II-3, y II-4

[0388] Los compuestos de las formulas II-2, II-3 y II-4 pueden sintetizarse de los Compuestos de Partida II-16, II-17 y II-18, respectivamente, mediante hidrogenación catalítica.

20

Ilustración ejemplar de síntesis



Ejemplo 7A: Hidrogenación Catalítica del Compuesto de Partida II-16

[0389] El compuesto de Partida II-16 (10 mg) se disolvió en acetona (5 mL) en un vial de cintilación (20 mL) al cual se le agregó el Pd/C al 10% (p/p) (1-2mg) y una barra agitadora magnética. La mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente por aproximadamente 15 horas. La mezcla de reacción se filtró a través de una columna de sílice de 3 cc y se lavó con acetona. El filtrado fue filtrado de nuevo a través de Gelman Acrodisc de 0.2 μ m para remover cualesquiera trazas del catalizador. El solvente fue evaporado del filtrado bajo presión reducida para dar el compuesto de la Formula II-2 como un polvo blanco puro:

Ejemplo 7B: Hidrogenación Catalítica del Compuesto de Partida II-17

[0390] El compuesto de Partida II-17 (5 mg) se disolvió en acetona (5 mL) en vial de cintilación (20 mL) a la cual se le agregó el Pd/C al 10% (p/p) (aproximadamente 1-2mg) y una barra agitadora magnética. La mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente por aproximadamente 15 horas. La mezcla de reacción fue filtrada a través de una Gelman Acrodisc de 0.2 μ m para remover el catalizador. El solvente fue

evaporado del filtrado para dar el compuesto de la Formula II-3 como un polvo blanco que fue purificado por HPLC de fase normal utilizando las siguientes condiciones:

5 Columna: Phenomenex Luna 10u Sílice
 Dimensiones: 25 cm x 21.2 mm DI
 Velocidad de flujo: 14.5 ml/min
 Detección: ELSD
 Solvente: 5% a 60% de EtOAc/Hex por 19 min, 60 a 100% de
10 EtOAc en 1 min, después 4 min a 100% de EtOAc

 [0391] El Compuesto de Formula II-3 eluyó a 22.5 min como un compuesto puro.

15

Ejemplo 7C: Hidrogenación Catalítica del Compuesto II-18

 [0392] 3.2 mg del Compuesto de Partida II-18 se disolvieron en acetona (3 mL) en un vial de cintilación (20 mL) al cual se le agregó el Pd/C al
20 10% (p/p) (aproximadamente 1 mg) y una barra agitadora magnética. La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente por aproximadamente 15 horas. La mezcla de reacción fue filtrada a través de una Gelman Acrodisc de 0.2 μ m para remover el catalizador. El solvente fue
 evaporado del filtrado para dar el compuesto de la Formula II-4 como un polvo
25 blanco que fue purificado adicionalmente por HPLC de fase normal utilizando las siguientes condiciones:

 Columna: Phenomenex Luna 10u Sílice
 Dimensiones: 25 cm x 21.2 mm DI
30 Velocidad de flujo: 14.5 ml/min
 Detección: ELSD
 Solvente: 5% a 80% de EtOAc/Hex por 19 min, 80 a 100% de
 EtOAc en 1 min, después 4 min a 100% de EtOAc

35 [0393] El Compuesto de Formula II-4 eluyó a 16.5 min como un compuesto puro.

Ejemplo 8
Caracterización Estructural

5 **[0394]** La estructura de los compuestos puede dilucidarse mediante diferentes métodos, incluyendo RMN, MS y UV. Las FIGS. 1-6 proveen datos espectrales de estos métodos. El UV para el compuesto de Formula II-2 en acetonitrilo/H₂O: λ_{max} 225 (sh) nm. La FIG. 1 ilustra el espectro de RMN del compuesto de Formula II-2 en DMSO-d₆. La FIG. 2 ilustra el
10 espectro de masa de baja resolución del compuesto de Formula II-2: m/z 316 (M+H), 338 (M+Na). UV para el compuesto de Formula II-3 en acetonitrilo/H₂O: λ_{max} 225 (sh) nm. La FIG. 3 ilustra el espectro de RMN del compuesto de Formula II-3 en DMSO-d₆. La FIG. 4 ilustra el espectro de masa de baja resolución del compuesto de Formula II-3: m/z 282 (M+H), 304 (M+Na). UV
15 para el compuesto de Formula II-4 en acetonitrilo/H₂O: λ_{max} 225 (sh) nm. La FIG. 5 ilustra el espectro de RMN del compuesto de Formula II-4 en DMSO-d₆. La FIG. 6 ilustra el espectro de masa de baja resolución del compuesto de Formula II-4: m/z 360 (M+H), 382 (M+Na).

20 **[0395]** Adicionalmente, los datos de espectrometría de masa se obtuvieron para los compuestos II-2, II-3 y II-4. Compuesto II-2: HRMS (ESI), m/z 316.1305 [M+H]⁺, Δ_{calc} = -3.5 ppm, C₁₅H₂₃NO₄Cl. Compuesto II-3: HRMS (ESI), m/z 282.1706 [M+H]⁺, Δ_{calc} = 0.3 ppm, C₁₅H₂₄NO₄. Compuesto II-4: HRMS (ESI), m/z 360.0798 [M+H]⁺, Δ_{calc} = -3.4 ppm, C₁₅H₂₃NO₄Br.

Ejemplo 9
Síntesis de los Compuestos de Formulas II-5A y II-5B

30 **[0396]** Los compuestos de la Formula II-5A y Formula II-5B pueden sintetizarse a partir del Compuesto de Partida II-16 por epoxidación con mCPBA.

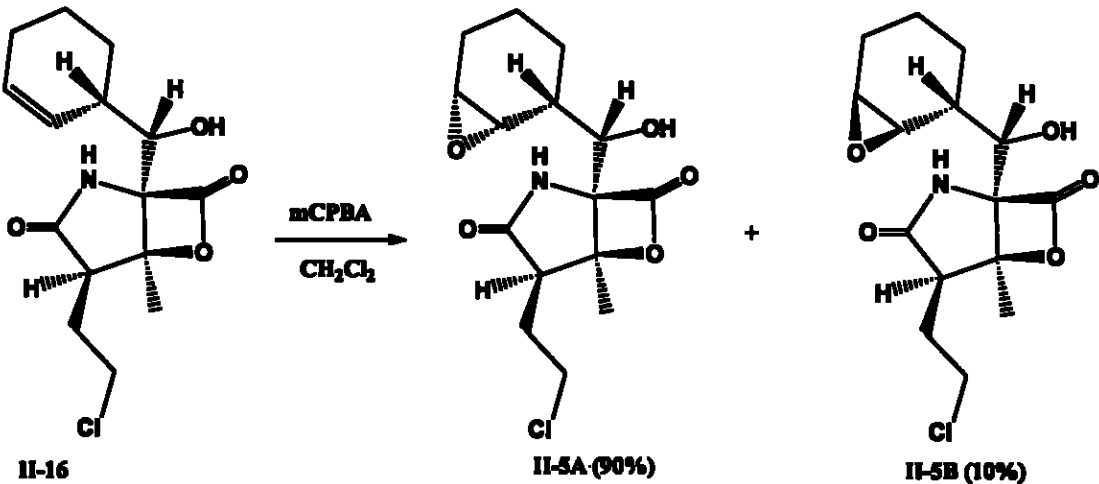
35 **[0397]** El Compuesto de Partida II-16 (101 mg, 0.32 mmol) se disolvió en cloruro de metileno (30 mL) en un frasco de fondo redondo de 100 ml al cual se le agregaron 79 mg (0.46 mmol) de ácido meta-cloroperbenzónico (mCPBA) y

una barra agitadora magnética. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por aproximadamente 18 horas. La mezcla de reacción se vertió en una columna de vaporización instantánea de sílice de 20 cc y eluyó con 120 ml de CH₂Cl₂, 75 ml de acetato de etilo/hexano 1:1 y finalmente con 40 ml de acetato de etilo al 100%. Las fracciones de acetato de etilo/hexano 1:1 produjeron una mezcla de diasterómeros de derivados epóxi, Formulas II-5A y II-5B, que se separaron por HPLC de fase normal utilizando las siguientes condiciones:

Columna	Phenomenex Luna 10u Sílice
Dimensiones	25 cm x 21.2 mm DI
Velocidad de Flujo	14.5 ml/min
Detección	ELSD
Solvente	25% a 80% de EtOAc/Hex durante 19 min, 80 a 100% de EtOAc en 1 min, después 5 min a 100% de EtOAc

[0398] El compuesto de la Formula II-5A (producto principal) y II-5B (producto menor) eluyen a 21.5 y 19 min, respectivamente, como compuestos puros. El compuesto II-5B se cromatografió adicionalmente en una columna de evaporación instantánea de sílice de 3cc para remover las trazas de reactivo de ácido clorobenzóico.

Estucturas Químicas



Caracterización Estructural

5 **[0399]** Formula II-5A: UV (Acetonitrilo/H₂O) $\lambda_{\max}$ 225 (sh) nm. Masa de Baja Resolución: m/z 330 (M+H), 352 (M+Na). HRMS (ESI) m/z 330.1099 [M+H]⁺, Δ_{calc} = -2.9 ppm, C₁₅H₂₁NO₅Cl. Las FIGS. 7 y 8, ilustran respectivamente el espectro de RMN ¹H de la Formula II-5A y el espectro de masas de la Formula II-5A.

10

[0400] Formula II-5A: UV (Acetonitrilo/H₂O) $\lambda_{\max}$ 225 (sh) nm. Masa de Baja Resolución: m/z 330 (M+H), 352 (M+Na). HRMS (ESI) m/z 330.1105 [M+H]⁺, Δ_{calc} = -0.9 ppm, C₁₅H₂₁NO₅Cl. Las FIGS. 9 y 10, ilustran respectivamente el espectro de RMN ¹H de la II-5B y el espectro de masas de la Formula II-5B.

15

20

Ejemplo 10

Síntesis de los Compuestos de las Formulas IV-1, IV-2, IV-3 y IV-4

25

Síntesis de derivados diol (Formula IV-2)

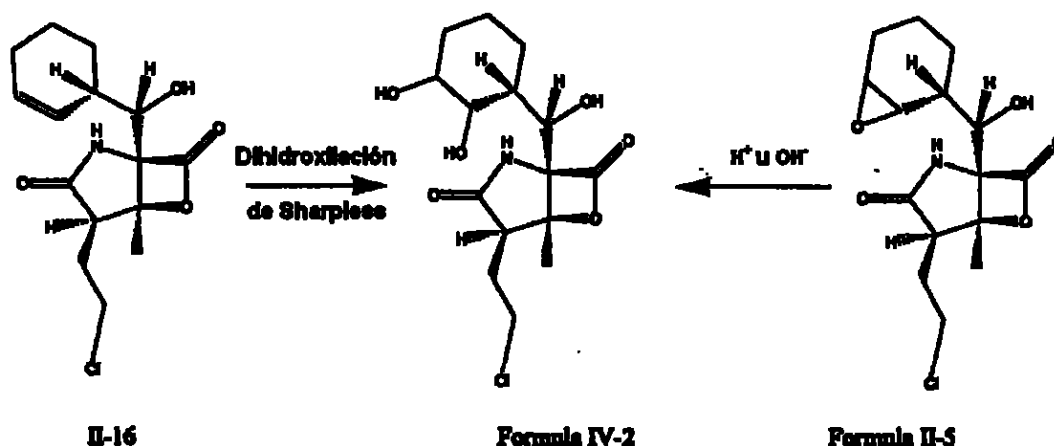
30

[0401] Los dioles pueden sintetizarse por dihidroxilación de Sharpless utilizando mezcla- α y β AD: mezcla- α AD es una premezcla de cuatro reactivos, K₂OsO₂(OH)₄; K₂CO₃; K₃Fe(CN)₆; (DHQ)₂-PHAL[1,4-bis(9-O-dihidroquinina)ftalazina] y mezcla- β AD es una premezcla de K₂OsO₂(OH)₄; K₂CO₃; K₃Fe(CN)₆; (DHQD)₂-PHAL[1,4-bis(9-O-dihidroquinidina)ftalazina] que está comercialmente disponible en Aldrich. El diol también puede sintetizarse por hidrolisis de ácido o base de compuestos epoxi (Formulas II-5A y II- 5B) que pueden ser diferentes a los productos obtenidos en la dihidroxilación de Sharpless en su estereoquímica en carbonos que portan grupos hidroxilo.

35

Dihidroxiación de Sharpless de los Compuestos de Partida II-16, II-17 y II-18

- 5 **[0402]** Los compuestos de partida se disuelven en t-butanol/agua en un frasco de fondo redondo al cual se le agrega la mezcla- α o β AD y una barra agitadora magnética. La reacción se monitorea por TLC de sílice así como por espectrómetro de masas. Los dioles puros se obtienen por procesamiento usual y purificación mediante cromatografía instantánea o
- 10 HPLC. Las estructuras se confirman por espectroscopia RMN y espectrometría de masas. En este método ambos grupos hidroxilo están en el mismo lado.

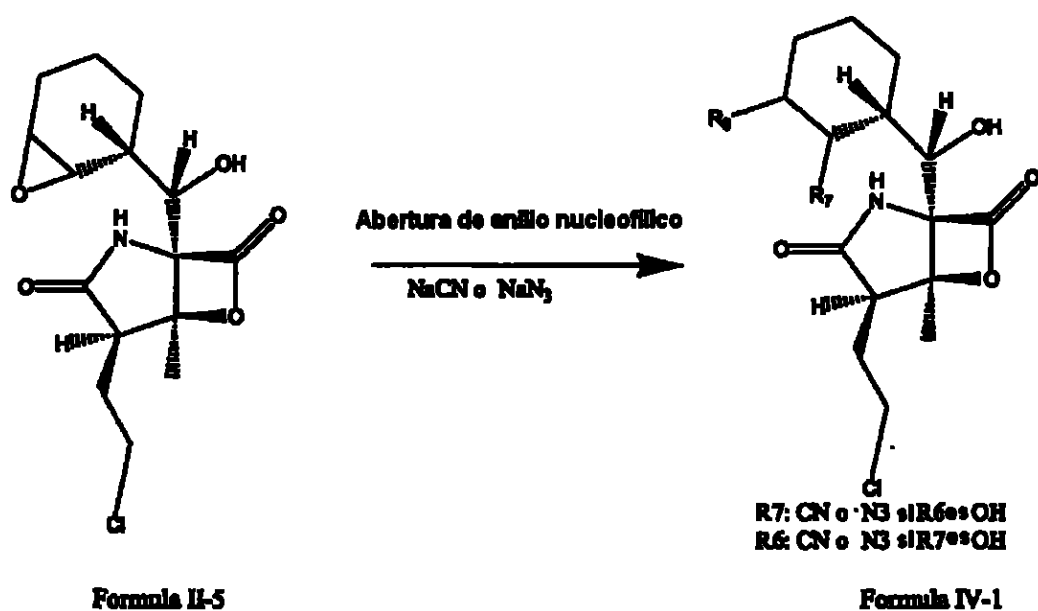


15

Abertura de anillo nucleofílico de compuestos epoxi (II-5):

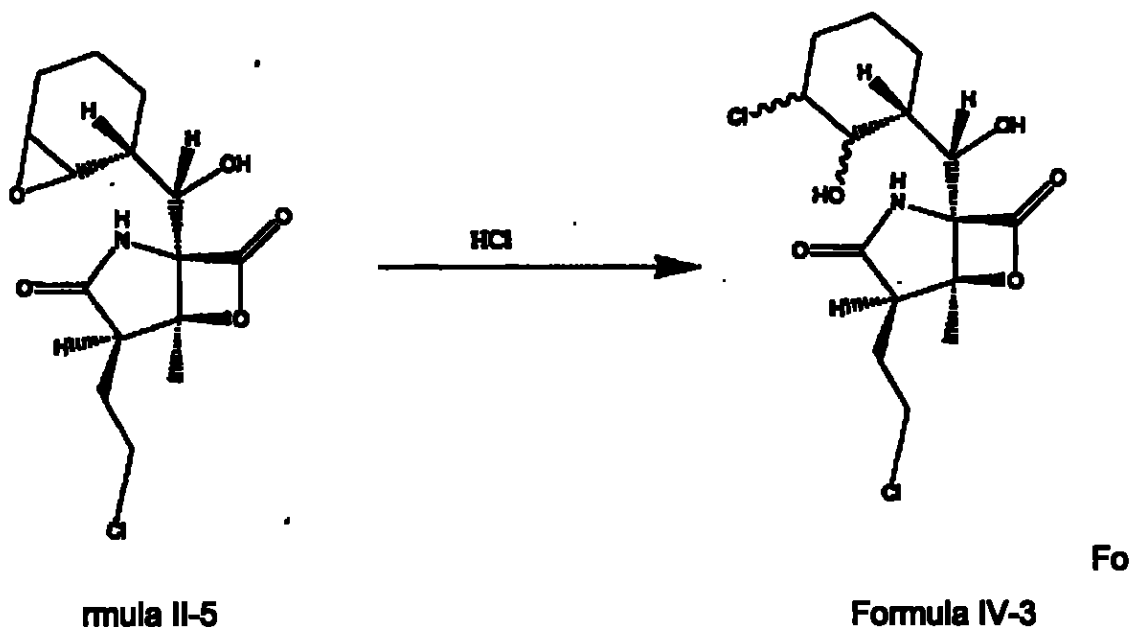
- 20 **[0403]** El anillo epoxi se abre con diversos nucleófilos como NaCN, NaN₃, NaOAc, HBr, etc., para substituir diversos grupos en el anillo ciclohexano con un lado de grupo hidroxilo.

Ejemplos:



[0404] El epoxi se abre con HCl para producir la Formula IV-3:

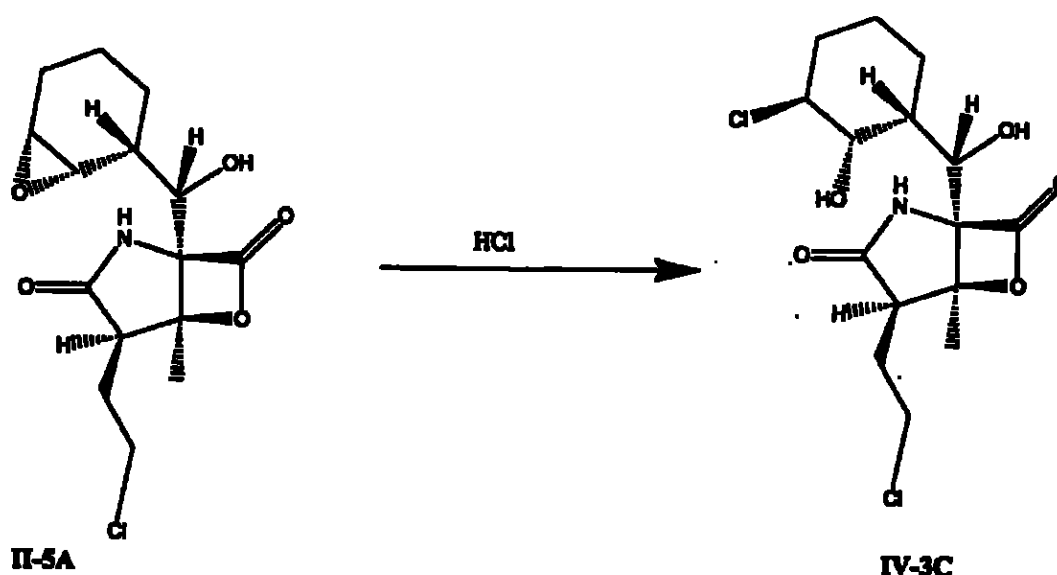
5



[0405] El compuesto de la Formula II-5A (3.3 mg) se disolvió en acetonitrilo (0.5 ml) en una vial de 1 dram al cual se le agregaron HCl al 5% (500 ul) y una barra agitadora magnética. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por aproximadamente una hora. La reacción se monitoreó por espectrometría de masa. La mezcla de reacción se inyectó directamente en HPLC de fase normal para obtener el compuesto de la Formula IV-3C como un compuesto puro sin ningún procesamiento. Las condiciones HPLC usadas para la purificación fueron como sigue: columna

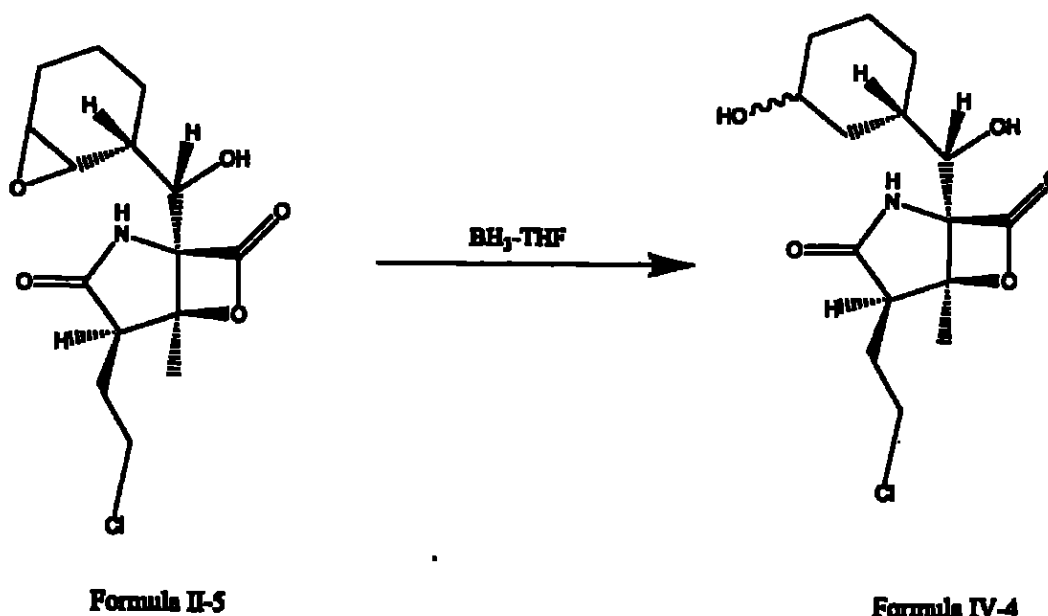
150

phenomenex Luna 10u Silice (25 cm x 21.2 mm DI) con un gradiente de solvente de 25% a 80% de EtOAc/Hex durante 19 minutos, 80 a 100% de EtOAc en 1 minuto, entonces 5 minutos a 100% de EtOAc a un velocidad de flujo de 14.5 ml/min. Se usó un ELSD se utiliza para monitorear el proceso de purificación. El compuesto de la Formula IV-3C eluyó a aproximadamente 18 minutos (2.2 mg). El compuesto de la Formula IV-3C: UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 225 (sh) nm; ESMS, m/z 366 (M+H), 388 (M+Na). HRMS (ESI), m/z 366.0875 [M+H]⁺, Δ_{calc} = 0.0 ppm; C₁₅H₂₂NO₅Cl₂; RMN ¹H en DMSO-d₆ (FIGURA 21). La estereoquímica del compuesto de la Formula IV-3C se determinó con base en las constantes de acoplamiento observadas en el anillo ciclohexano en C₆D₆/DMSO-d₆ 1:1 (FIGURA 22)



[0406] Abertura de anillo reductiva de epóxidos (II-5): El compuesto de la Formula se trata con hidruros de metal como el complejo BH₃-THF para producir el compuesto de la Formula IV-4.

151

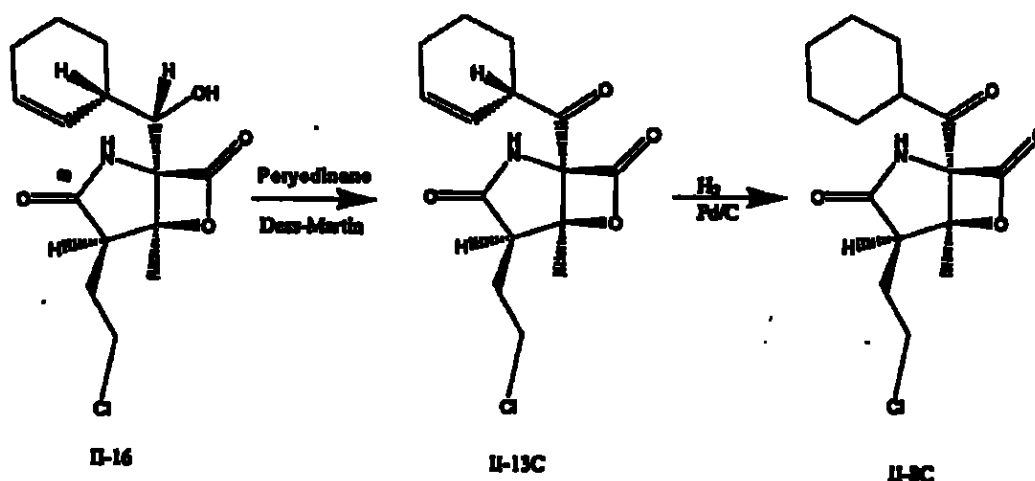


Ejemplo 11

Síntesis de los Compuestos de las Formulas II-13C y II-8C

[0407] El compuesto II-16 (30 mg) se disolvió en CH_2Cl_2 (6 ml) en un vial de cintilación (20 ml) al cual se le agregó Peryodinano Dess-Martin (122 mg) y una barra agitadora magnética. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por aproximadamente 2 horas. El avance de la reacción se monitoreó por TLC (Hex: EtOAc, 6:4) y HPLC analítica. De la mezcla de reacción, el volumen de solvente se redujo a un tercio, se absorbió en gel de sílice, se vertió en la parte superior de una columna de evaporación instantánea de sílice de 20 cc y eluyó en fracciones de 20 ml utilizando un gradiente de Hexano/EtOAc de 10 a 100%. La fracción eluida con 30% de EtOAc en Hexano contenía una mezcla de rotámeros de la Formula II-13C en una proporción de 1.5:8.5. La mezcla fue purificada adicionalmente por HPLC de fase normal utilizando la columna Phenomenex Luna 10 μ Sílice (25 cm x 21.2 mm de DI) con un gradiente de solvente de 25% a 80% de EtOAc/Hex durante 19 minutos, 80 a 100% de EtOAc durante 1 minuto, manteniendo a 100% de EtOAc por 5 minutos, a una velocidad de flujo de 14.5 ml/minuto. Se usó ELSD para monitorear el proceso de purificación. El compuesto de la Formula II-13C eluyó a 13.0 y 13.2 minutos con una mezcla de rotámeros en una proporción de 1.5:8.5 (7 mg). Formula II-13C: UV (Acetonitrilo/ H_2O) λ_{max} 226 (sh) & 300 (sh) nm; ESMS, m/z 312 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 334 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺; HRMS (ESI), m/z 312.1017 [$\text{M}+\text{H}$]⁺, Δ_{calc} = 4.5 ppm, $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_4\text{Cl}$; RMN ^1H en $\text{DMSO}-d_6$ (ver FIGURA 13).

[0408] La mezcla de rotámero de la Formula II-13C (4 mg) se disolvió en acetona (1 ml) en un vial de cintilación (20 ml) al cual se le agregó una cantidad catalítica (0.5 mg) de Pd/C al 10% (p/p) y una barra agitadora magnética. La mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de hidrogeno a temperatura ambiente por aproximadamente 15 horas. La mezcla de reacción fue filtrada a través de Gelman Acrodisc 0.2 μ m para remover el catalizador. El solvente fue evaporado del filtrado para dar el compuesto de la Formula II-8C como una goma incolora que fue purificada adicionalmente mediante HPLC de fase normal utilizando una columna Phenomenex Luna 10 μ Sílice (25 cm x 21.2 mm de DI) con un gradiente de solvente de 25% a 80% de EtOAc/Hex durante 19 minutos, 80 a 100% de EtOAc durante 1 minuto, manteniendo 100% de EtOAc por 5 minutos, y a una velocidad de flujo de 14.5 ml/minuto. Se usó un ELSD para monitorear el proceso de purificación. El compuesto de la Formula II-8C (1 mg) eluyó a 13.5 minutos como un compuesto puro. Formula II-8C: UV (Acetonitrilo/H₂O) $\lambda_{\max}$ 225 (sh) nm; ESMS, m/z 314 (M+H)⁺, 336 (M+Na)⁺; HRMS (ESI), m/z 314.1149 [M+H]⁺, Δ_{calc} = 3.3 ppm, C₁₅H₂₁NO₄Cl; RMN ¹H en DMSO-d₆ (Ver FIG. 12).

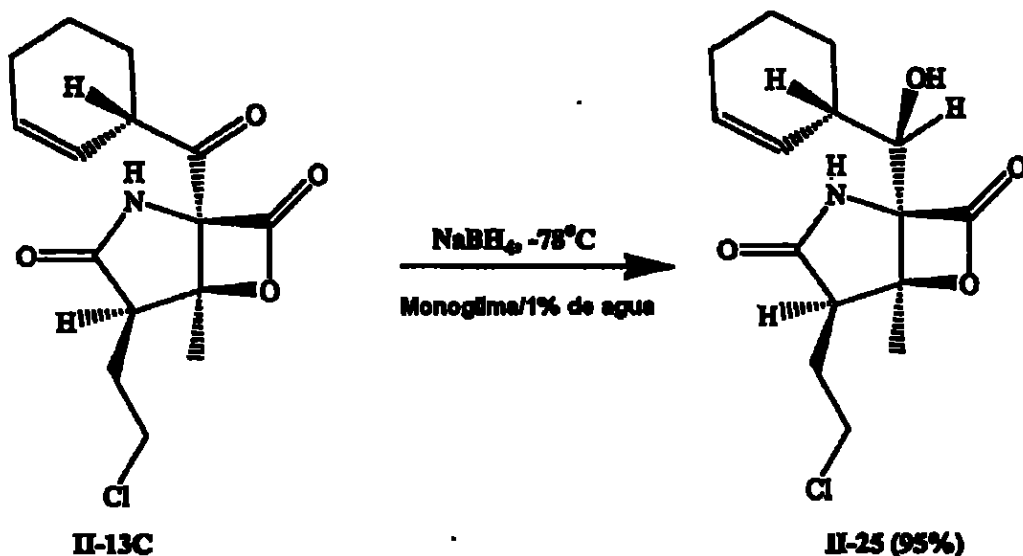


Ejemplo 12

Síntesis del compuesto de las Formulas II-25 de II-13C

[0409] La mezcla de rotámero de Formula II-13C (5 mg) se disolvió en dimetoxi etano (monoglisma; 1.5 ml) en un vial de cintilación (20 ml) al cual se le agregaron agua (15 μ l) (1% de la concentración de la solución

final)) y una barra agitadora magnética. La solución anterior fue enfriada hasta -78 °C en un baño de hielo seco-acetona, y se agregó por gotas una solución de borohidruro de sodio (3.7 mg de NaBH₄ en 0.5 ml de monoglisma (creada para considerar adición lenta)). La mezcla de reacción se agitó a -78 °C por aproximadamente 14 minutos. La mezcla de reacción fue acidificada utilizando 2 ml de solución de HCl al 4% en agua y se extrajo con CH₂Cl₂. La capa orgánica se evaporó para dar la mezcla del compuesto de las Formulas II-25 y II-16 en un proporción 9.5:0.5 como un sólido blanco que fue purificado adicionalmente mediante HPLC de fase normal utilizando una columna Phenomenex Luna 10 μ Sílice (25 cm x 21.2 mm de DI). La fase móvil fue 24% de EtOAc/76% de Hexano, que se mantuvo isocrática por 19 minutos, seguida por un gradiente lineal de 24% a 100% de EtOAc durante 1 minuto, y mantenido a 100% de EtOAc por 3 minutos; la velocidad de flujo fue de 25 ml/minuto. Se usó ELSD para monitorear el proceso de purificación. El Compuesto de la Formula II-25 (1.5 mg) eluyó a 11.64 minutos como un compuesto puro. El Compuesto de la Formula II-25: UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 225 (sh) nm; ESMS, m/z 314 (M+H)⁺, 336 (M+Na)⁺; HRMS (ESI), m/z 314.1154 [M+H]⁺, Δ_{calc} = 0.6 ppm, C₁₅H₂₁NO₄Cl; RMN ¹H en DMSO-d₆ (ver FIGURA 20).



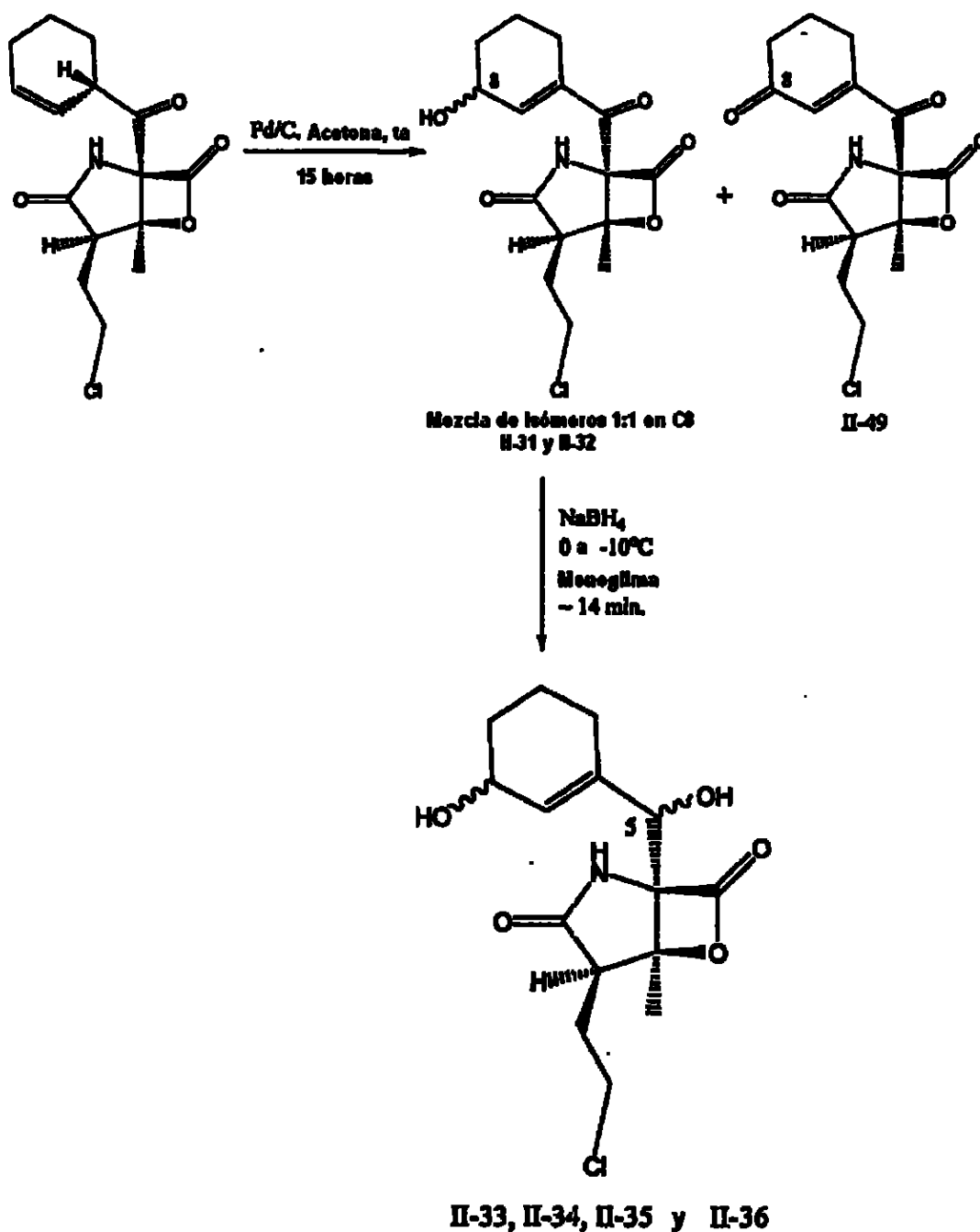
Ejemplo 13

Síntesis de los Compuestos de las Formulas II-31, II-32 y II-49 a partir de II-13;
y los Compuestos de las Formulas II-33, II-34, II-35 y II-36 a partir de II-31 y II-

[0410] Una mezcla de rotámero del Compuesto de Formula II-13C (20 mg) se disolvió en acetona (4 ml) en un vial de cintilación (20 ml) al cual se le agregó una cantidad catalítica (3 mg) de Pd/C al 10% (p/p) y una barra agitadora magnética. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por aproximadamente 15 horas. La mezcla de reacción fue filtrada a través de Gelman Acrodisc de 0.2 μ m para remover el catalizador. El solvente fue evaporado del filtrado para dar una mezcla de diastereómeros de derivados de hidroxí de Formulas II-31 y II-32 (1:1), y un compuesto menor II-49, que fueron separados mediante HPLC de fase inversa usando una columna Ace 5u C18 (150 mm x 22 mm de DI) con un gradiente de solvente de 90% a 30% de H₂O/Acetonitrilo durante 15 min, 70 a 100% de Acetonitrilo durante 5 min, manteniendo a 100% de Acetonitrilo por 4 min, a una velocidad de flujo de 14.5 ml/min. Se usó un arreglo de diodo para monitorear el proceso de purificación. El Compuesto II-31 (2 mg), II-32 (2 mg) y II-49 (0.2 mg) eluyó a 10.6, 10.8 y 11.54 min, respectivamente, como compuestos puros. II-31: UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 250 (sh) nm; ESMS, m/z 328.1 (M+H)⁺ & 350.0 (M+Na)⁺, II-32: UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 250 (sh) nm; ESMS, m/z 328.1 (M+H)⁺ & 350.0 (M+Na)⁺, II-49: UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 250 (sh) nm y 320 nm; ESMS, m/z 326.0 (M+H)⁺, 343.1 (M+H₂O)⁺ & 348.0 (M+Na)⁺.

[0411] En un método alternativo, los compuestos II-31, II-32 y II-49 fueron separados mediante HPLC de fase normal usando columna Phenomenex Luna 10 μ Sílice (25 cm x 21.2 mm de DI) con un gradiente de solvente de 10% a 100% de Hexano/EtOAc durante 24 minutos, manteniendo a 100% de EtOAc por 3 minutos, a una velocidad de flujo de 14.5 ml/minuto. Se usó ELSD para monitorear el proceso de purificación.

[0412] La cetona de los compuestos de formula II-31 y II-32 se pueden reducir usando borohidruro de sodio de 0 a 10 °C en solvente de monoglisma por aproximadamente 14 minutos. La mezcla de reacción puede ser acidificada usando solución de HCl al 4% en agua y extraída con CH₂Cl₂. La capa orgánica puede ser evaporada para dar las mezclas de los compuestos de Formulas II-33, II-34, II-35 y II-36 que se pueden separar mediante métodos cromatográficos.



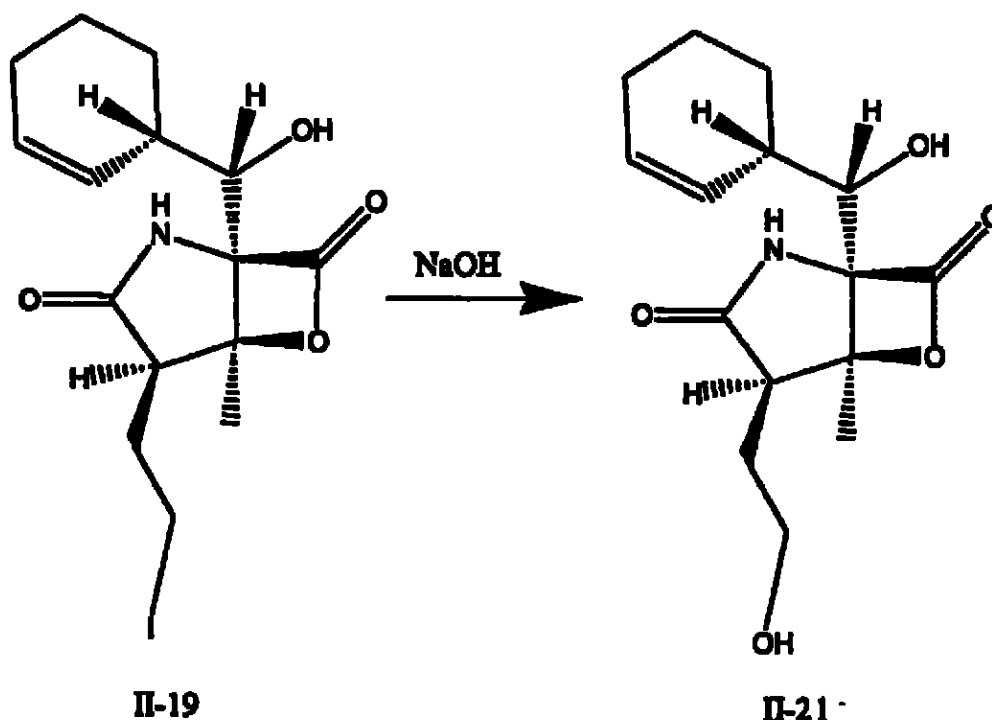
5

Ejemplo 14**Síntesis del Compuesto de la Formula II-21 a partir de II-19**

10

[0413] Se mezcló vigorosamente acetona (7.5 ml) con NaOH 5N (3 ml) y la mezcla resultante se evaporó a un volumen mínimo *in vacuo*. Una muestra de 100 μ l de esta solución se mezcló con el compuesto de la Formula II-19 (6.2 mg) en acetona (1 ml) y la mezcla bifásica resultante se vorticeó por 2 minutos. La solución de reacción se sometió inmediatamente a HPLC C18 preparativa. Las condiciones para la purificación involucraron un gradiente lineal de 10% de acetonitrilo/90% de agua a 90 % de acetonitrilo/10% de agua

durante 17 minutos utilizando una columna Ace 5 μ C18 HPLC con dimensiones 22 mm de DI por 150 mm de longitud. El Compuesto de la Formula II-21 eluyó a 9.1 minutos bajo estas condiciones para dar 0.55 mg del compuesto. El Compuesto de la Formula II-21: UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 225 (sh), ESMS, m/z 296.1 (M+H); RMN ¹H en DMSO-d₆ (ver FIG. 17).

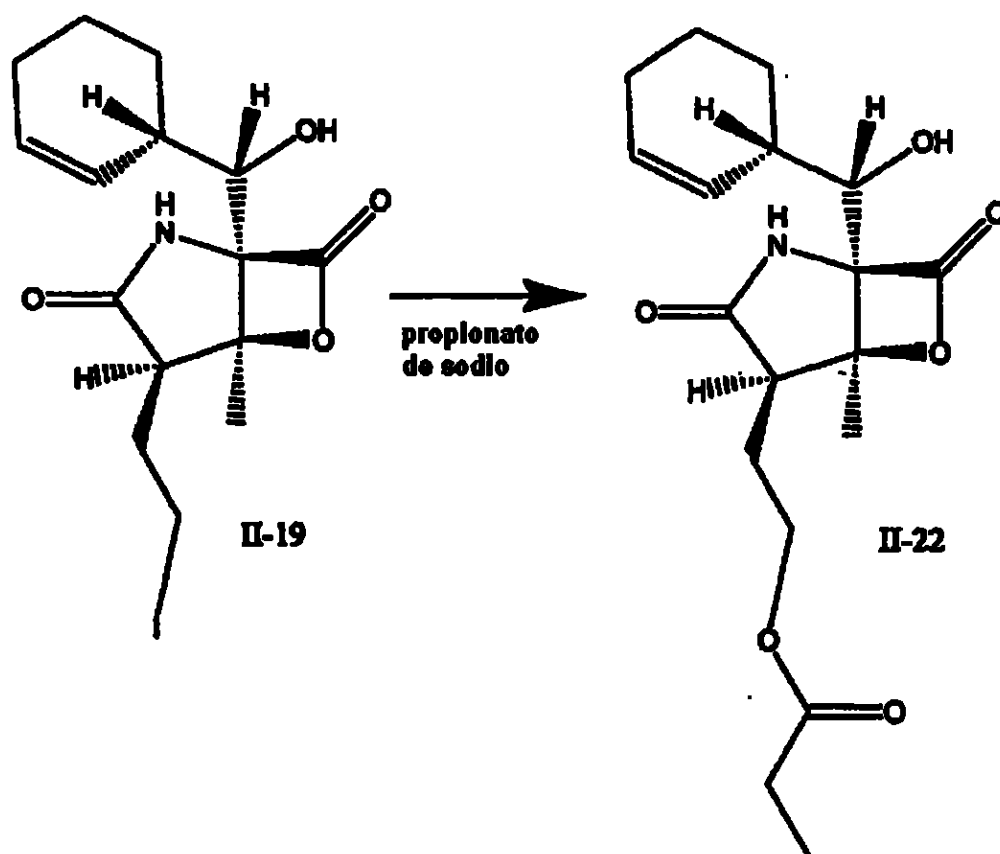


Ejemplo-15

Síntesis del compuesto de la Formulas II-22 a partir de II-19

[0414] Una muestra de 60 mg de propionato de sodio se agregó a una solución de compuesto de la Formula II-19 (5.3 mg) en DMSO (1 ml) y la mezcla fue sonicada por 5 minutos, aunque el propionato de sodio no se disolvió completamente. Después de 45 minutos, la solución fue filtrada a través de un filtro de jeringa de 0.45 μ y se purificó directamente utilizando HPLC. Las condiciones para la purificación involucraron un gradiente lineal de 10% de acetonitrilo/90% de agua a 90% de acetonitrilo/10% de agua durante 17 minutos utilizando una columna Ace 5 μ C18 HPLC con dimensiones 22 mm de di por 150 mm de longitud. Bajo estas condiciones, el compuesto de la Formula II-22 eluyó a 12.3 minutos para dar 0.7 mg del compuesto (rendimiento aislado 15%). UV (Acetonitrilo/H₂O) 225 (sh), ESMS, m/z 352.2 (M+H); HRMS (ESI), m/z

352.1762 $[M+H]^+$, $\Delta_{\text{calc}} = 0.6$ ppm, $C_{18}H_{26}NO_8$; RMN 1H en DMSO- d_6 (ver FIGURA 18).



5

Ejemplo 16

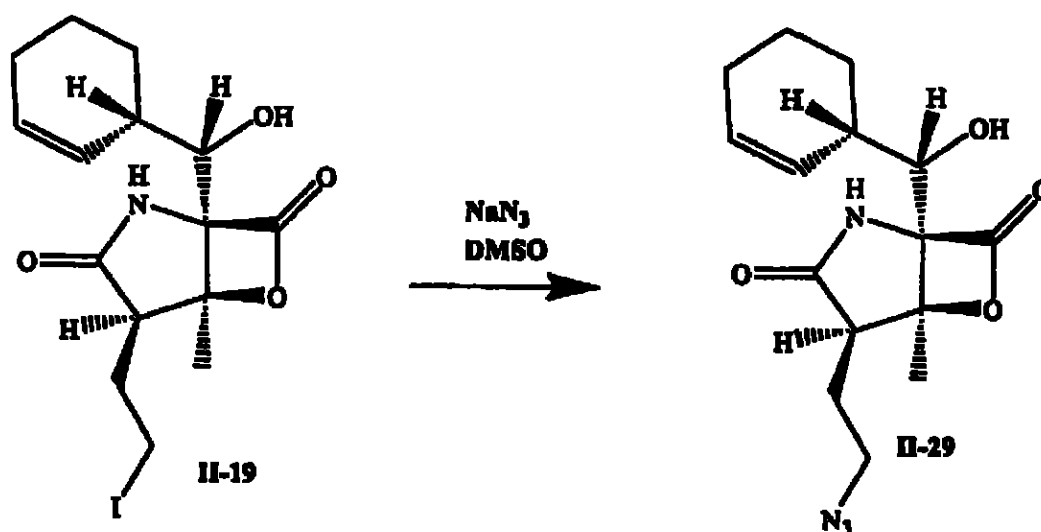
Síntesis del Compuesto de la Fórmula II-29 a partir II-19

[0415] Una muestra de NaN_3 (80 mg) se disolvió en DMSO (1 ml) y se transfirió a un vial que contiene el Compuesto II-19 (6.2 mg) que fue contaminado con aproximadamente 10% de contaminante del Compuesto II-16 a 12.5 minutos (4.2 mg, 85% de rendimiento). Una porción de 2.4 mg del compuesto II-29 fue purificada adicionalmente usando cromatografía HPLC C18 adicional (ACE 5 μ C18-HL, 150 mm X 21 mm DI) usando un gradiente de solvente isocrático que consiste de 35% de acetonitrilo / 65% de H_2O . Bajo estas condiciones el compuesto II-29 eluyó después de 20 minutos, mientras que el Compuesto II-29 se usó para caracterización en ensayos biológicos.

[0416] Compuesto II-29: UV (Acetonitrilo/ H_2O) 225 (sh), ESMS, m/z 321.1 ($M+H$); RMN 1H en DMSO- d_6 (ver FIG. 27).

20

157



Ejemplo 17

Síntesis de los Compuestos de Formulas II-37 y II-38 a partir de II-19

5

[0417] Los compuestos de Formulas II-37 y II-38 se pueden preparar a partir del compuesto de Formula II-19 mediante ciano-des-halogenación o tiocianato-des-halogenación, respectivamente. El Compuesto II-19 puede ser tratado con NaCN o KCN para obtener el Compuesto II-37. Alternativamente, el Compuesto II-19 puede ser tratado con NaSCN o KSCN para obtener el compuesto II-38.

10

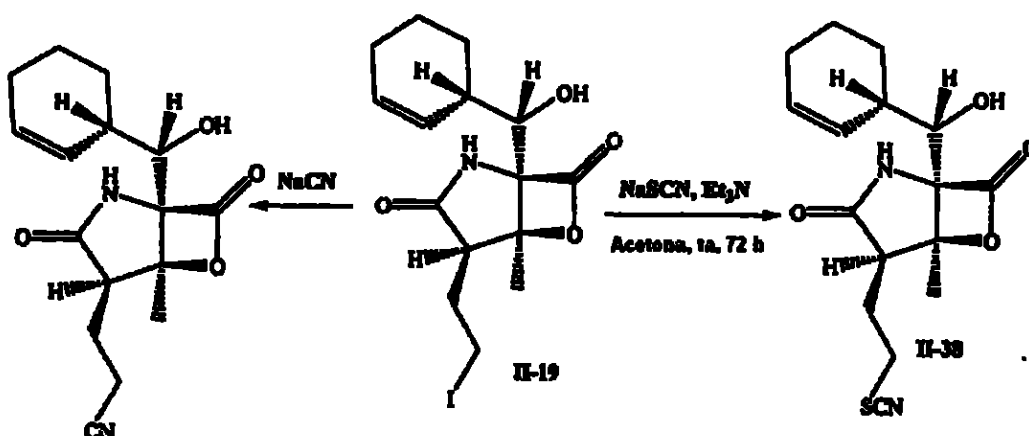
Síntesis del compuesto de Formula II-38 a partir de II-19:

15

[0418] El compuesto de formula II-19 (0.2616 mmol) se disolvió en 1.5 ml de acetona en un vial de cintilación (20 ml) al cual se le agregó tiocianato de sodio (10. mg, 0.1234 mmol), trietilamina (5 μ l, 0.3597 mmol) y una barra agitadora magnética. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 72 horas. La mezcla de reacción fue concentrada *in vacuo* para dar el compuesto II-38, que fue purificado mediante HPLC de fase normal usando una columna Phenomenex Luna 10 μ Sílice (25 cm x 21.2 mm de DI) con un gradiente de solvente de 0% a 95% de H₂O/Acetonitrilo durante 21 minutos, a una velocidad de flujo de 14.5 ml/minuto. Se usó un detector de arreglo de diodo para monitorear el proceso de purificación. El Compuesto II-38 (3.0 mg, 34% de rendimiento) eluyó a 18.0 min como un compuesto puro. UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 203 (sh) nm, ESMS, m/z 337.1 (M+H) & 359.1 (M+Na)⁺

20

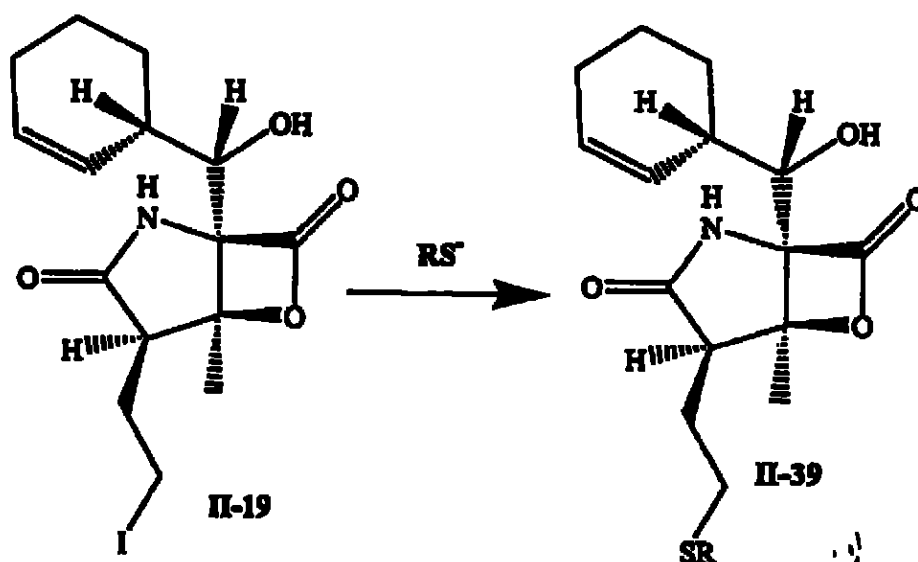
25



Ejemplo 18

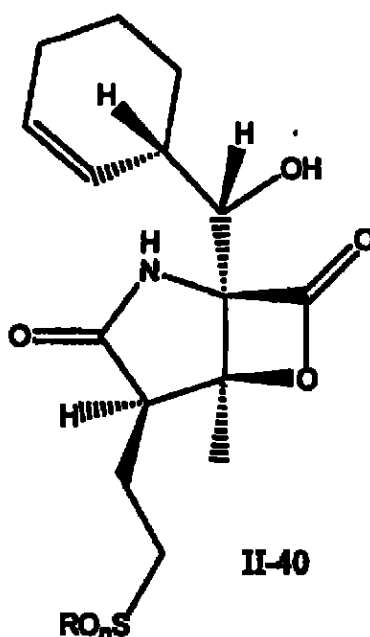
Síntesis del Compuesto de Fórmula II-39 a partir de II-19

[0419] Los tioles y tioéteres de la Fórmula II-39 se pueden formar mediante deshalogenación del compuesto de la Fórmula II-19. Los tioles (R=H) se pueden formar por el tratamiento del Compuesto II-19 con NaSH, por ejemplo, mientras que los tioéteres (R=alquilo) se pueden formar por el tratamiento del Compuesto II-19 con sales de tioles, o alternativamente, por el tratamiento con los mismos tioles corriendo la reacción en benceno en la presencia de DBU.



Ejemplo 19**Síntesis del Compuesto de la Formula II-40 a partir de II-39**

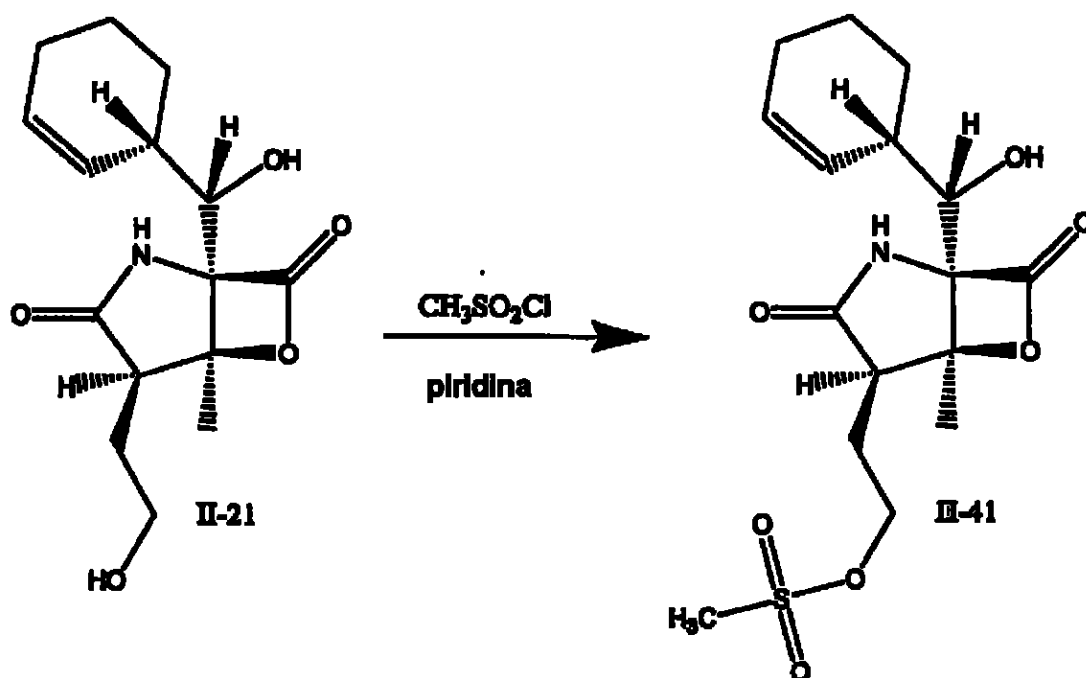
- 5 **[0420]** Los sulfóxidos ($n=1$) y sulfonas ($n=2$) de la Formula II-40 se pueden formar por oxidación de tioéteres de la Formula II-39, por ejemplo, con peróxido de hidrógeno u otros agentes oxidantes.



10

Ejemplo 20**Síntesis del Compuesto de Formula II-41 a partir de II-21**

- 15 **[0421]** El compuesto de la Formula II-41 se puede preparar mediante el tratamiento del compuesto de Formula II-21 (o un derivado protegido de II-21, en donde el alcohol C-5 o NH lactama están protegidos, por ejemplo) con metil sulfonil cloruro (cloruro de mesilo) en piridina, por ejemplo, o mediante el tratamiento con cloruro de mesilo en la presencia de trietilamina.
- 20 Otros ésteres de sulfonato se pueden preparar en forma similar.

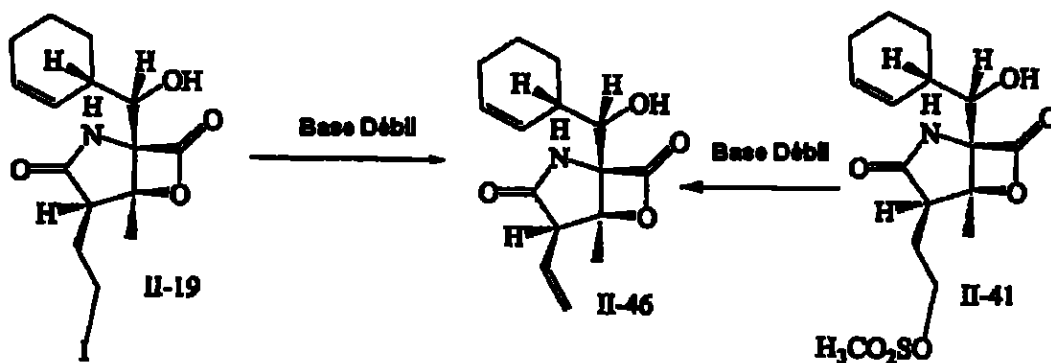


Ejemplo 21

5 Síntesis del Compuesto de la Formula II-46 a partir de II-19 o II-41

[0422] El alqueno de la Formula II-46 se puede preparar mediante deshidroyodinación del compuesto de Formula II-19, o mediante hidroximesiloxi eliminación del compuesto de Formula II-41, por ejemplo, mediante el

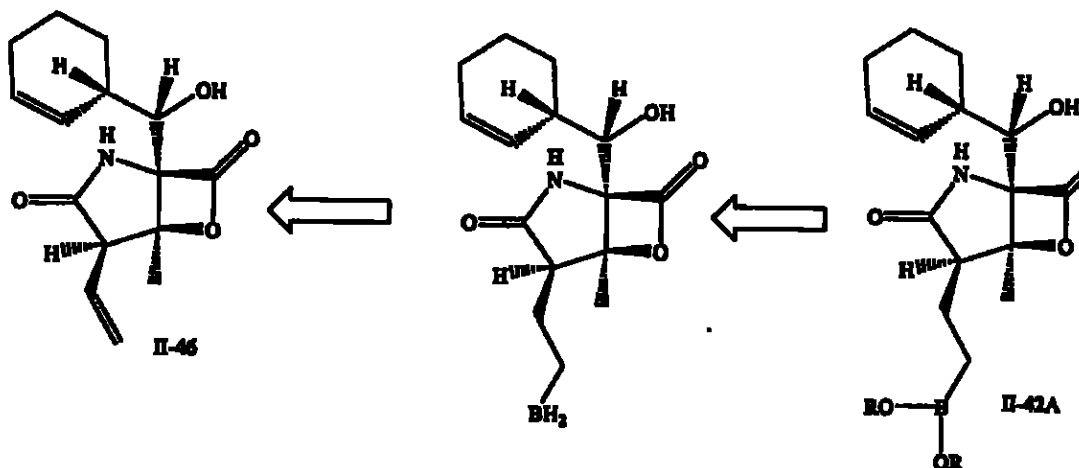
10 tratamiento con base.



Ejemplo 22

Síntesis del Compuesto de la Formula II-42A

5 [0423] La síntesis de los ácidos o ésteres borónicos, por ejemplo el compuesto de la Formula II-42A, se puede lograr como se indica en el esquema retrosintético siguiente. La hidroborcación del alqueno de Formula II-46 produce el alquil borano correspondiente, que puede ser convertido al ácido o éster borónico correspondiente, por ejemplo, el compuesto de la Formula II-42A.



10

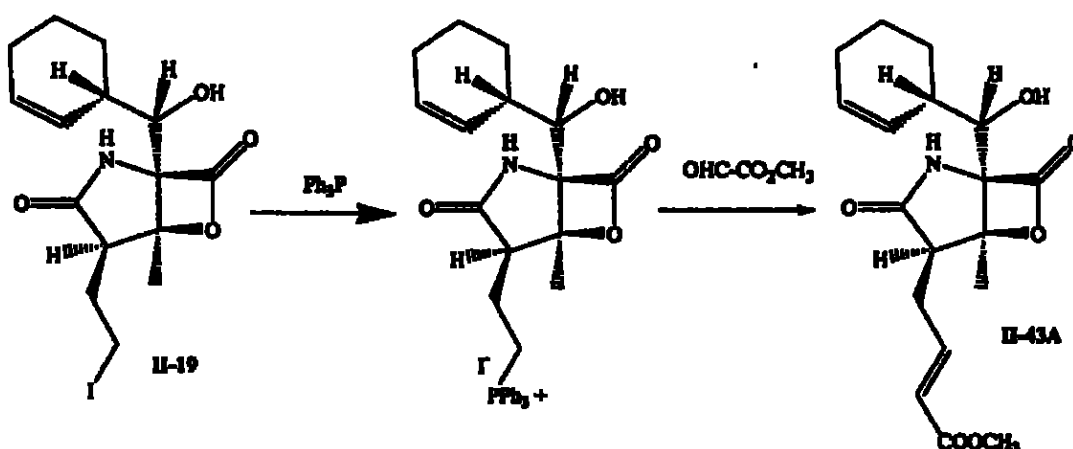
Ejemplo 23

Síntesis del Compuesto de Formula II-43A

15

[0424] El compuesto de la Formula II-43A se puede preparar mediante el tratamiento del compuesto de la Formula II-19 con trifenil fosfina para hacer un iluro de fósforo, que puede ser tratado con varios aldehídos, por ejemplo, metil éster de ácido glicólico, para hacer la Formula II-43A.

20



Ejemplo 24

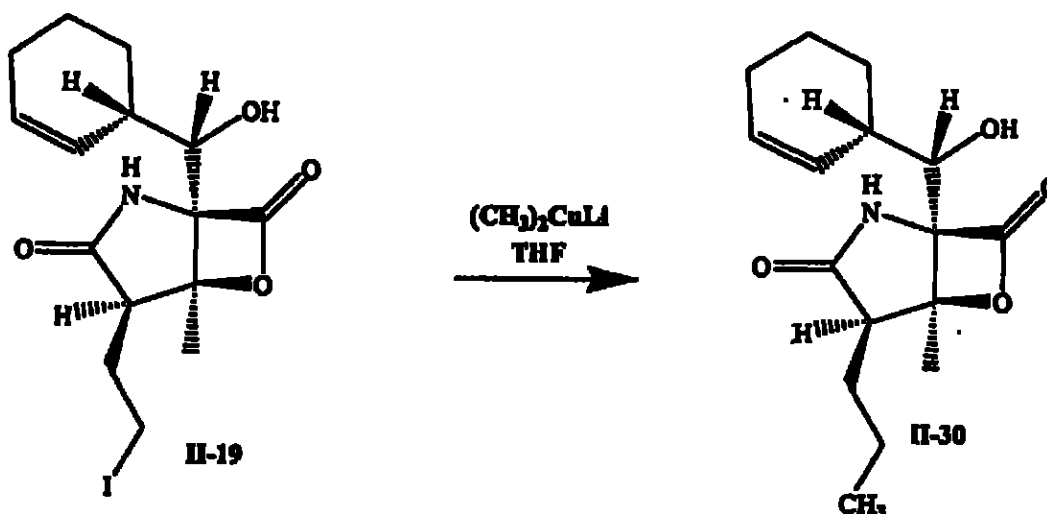
Síntesis del Compuesto de la Formula II-30 a partir de II-19

5

[0425] Una porción del Cul (100 mg) se colocó en un frasco de fondo redondo tipo pera de 25 ml y se limpió con gas Ar por 30 minutos, y el gas Ar se mantuvo a través del frasco durante el curso de la reacción. El recipiente fue enfriado hasta -78°C antes de la adición de THF seco (5 ml) seguido por la adición por gotas inmediata de una solución de metil litio en THF seco (5.0 ml, 1.6 M) con agitación vigorosa. Una solución del Compuesto II-19 en THF seco (12 mg del Compuesto II-19, 1 ml de THF) se agregó lentamente a la solución de dialquilcuprato clara, y la mezcla resultante se agitó a -78°C por 1 h. La reacción fue neutralizada lavando con solución de THF a través de un tapón de gel de sílice (1 cm de diámetro por 2 cm de longitud) junto con lavado adicional usando una solución de 50% de EtOAc / 50% de hexanos (50 ml). Los lavados del tapón de sílice combinadas fueron secados *in vacuo* y sometidos a purificación adicional de HPLC C18 en 2 inyecciones (ACE 5 μ C18-HL, 150 mm X 21 mm DI) usando un gradiente de solvente isocrático de 35% de ACN / 65% de H_2O . el Compuesto II-30 eluyó bbajo estas condiciones a 23.5 minutos y produjo 2.4 g de material (27% de rendimiento aislado) a 90.8% de pureza medido por HPLC analítica. Se puede utilizar un método de purificación de fase normal alternativa usando una columna de sílice Phenomenex Luna 10 μ (25 cm x 21.2 mm DI) con un gradiente de solvente que consiste de 100% de hexanos/acetato de etilo a 0% de hexanos durante 20 minutos. El compuesto II-30 eluyó bajo estas condiciones a 16.5 minutos y produjo 3.0 mg de material (41% de rendimiento aislado) a 97.1% de pureza medida por HPLC analítica.

[0426] Compuesto II-30: UV (Acetonitrilo/H₂O) 225 (sh), ESMS, m/z 294.1 (M+H); HRMS (ESI), m/z 294.1696 [M+H]⁺, $\Delta_{\text{calc}} = -3.2$ ppm, C₁₈H₂₄NO₄; RMN ¹H en DMSO-d₆ (ver FIGURA 28).

5



Ejemplo 25

10

Síntesis del Compuesto de las Formulas II-44 y VI-1A a partir de II-16

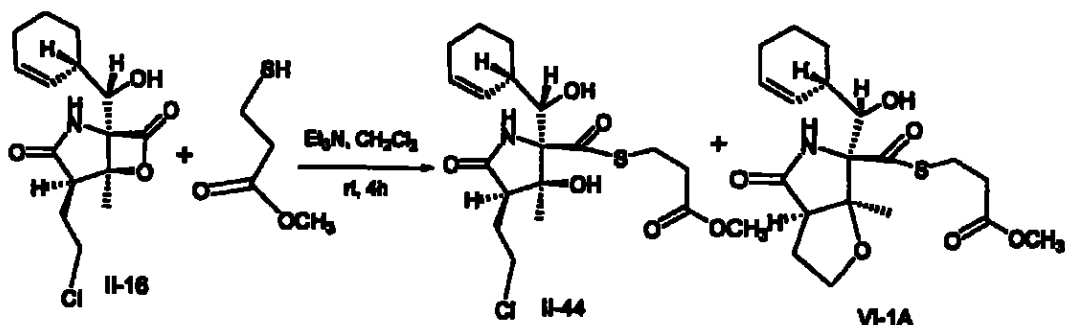
15

20

25

[0427] El compuesto de Formula II-16 (30 mg, 0.096 mmol) se disolvió en CH₂Cl₂ (9 ml) en un vial de cintilación (20 ml) al cual se le agregó trietilamina (40 μ l, 0.29 mmol), metil-3-mercapto propionato (tiol, 250 μ l) y una barra agitadora magnética. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por aproximadamente 4 horas. El solvente fue evaporado de la mezcla de reacción para dar una mezcla de los compuestos de Formulas II-44 y VI-1A (19:1), que fueron separados mediante HPLC de fase inversa usando columna ACE 5u C18 (150 mm X 22 mm DI) con un gradiente de solvente de 35% a 90% de H₂O / Acetonitrilo durante 17 min, 90 a 100% de acetonitrilo durante 1 min, manteniendo a 100% de acetonitrilo por 1 min, a una velocidad de flujo de 14.5 ml/min. Se usó un detector de arreglo de diodo para monitorear el proceso de purificación. Los Compuestos II-44 (20 mg) y VI-1A (1 mg) eluyeron a 11.68 y 10.88 min, respectivamente, como compuestos puros.

Compuesto II-44: UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 240 (sh) nm; ESMS, m/z 434.0 (M+H)⁺ & 456.0 (M+Na)⁺; Compuesto VI-1A: UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 220 (sh) nm; ESMS, m/z 398.0 (M+H)⁺ & 420.0 (M+Na)⁺.

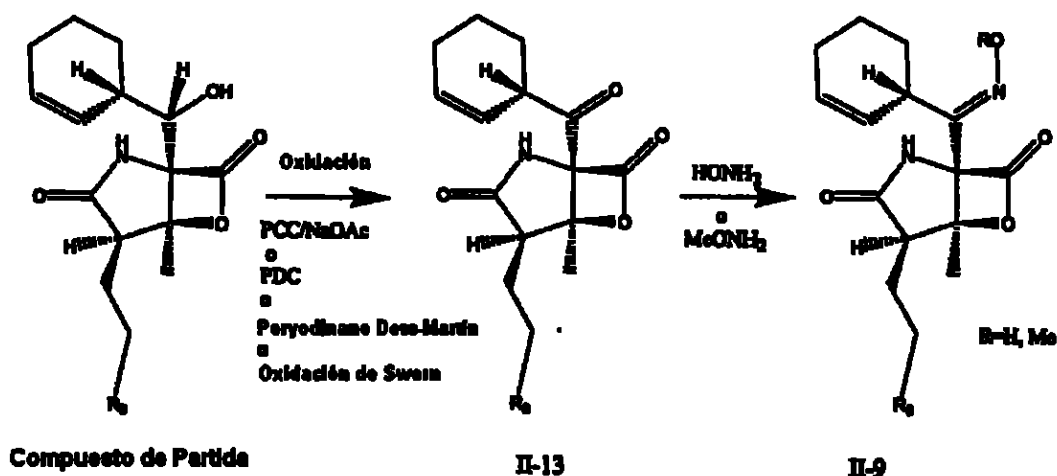


Ejemplo 26

5 Oxidación del grupo hidroxilo secundario en los Compuestos de Partida y
reacción con hidroxil o metoxi aminas:

10 [0248] El grupo hidroxilo secundario en los Compuesto de Partida se oxida utilizando cualquiera de los siguientes reactivos: dicromato de piridinio (PDC), clorocromato de piridinio (PCC), peryodinano Dess-Martin o cloruro de oxalilo (oxidación de Swern) (Ref: Organic Syntheses, volúmenes colectivos I-VII). De preferencia, se puede usar peryodinano Dess-Martin como un reactivo para esta reacción. (Ref: Fenteany G. *et al.* Science, 1995, 268, 726-73). El compuesto ceto resultante se trata con hidroxilamina o metoxi amina para to
 15 generar las oximas.

Ejemplos:



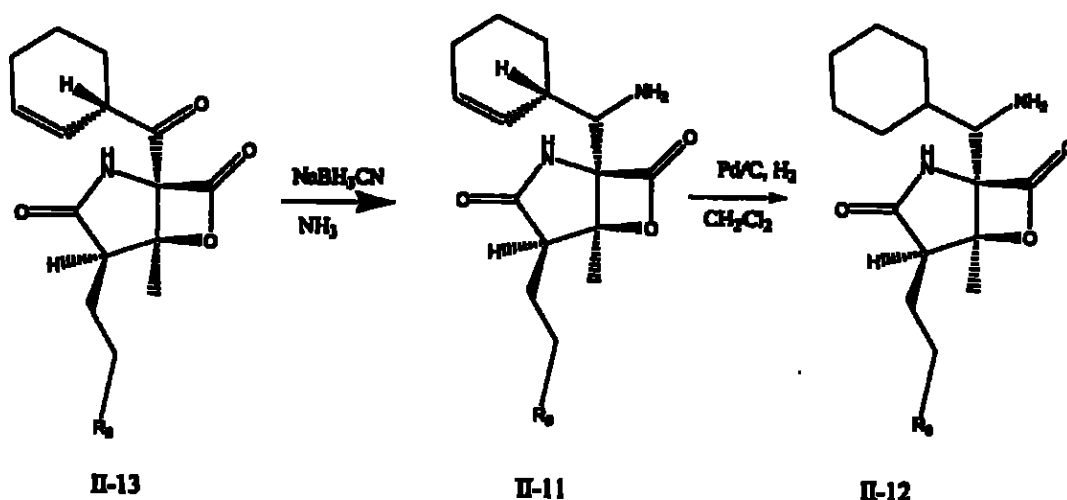
20

Ejemplo 27

Aminación reductiva de ceto-derivado de los Compuestos de Partida

[0249] Los derivados ceto se tratan con cianoborohidruro de sodio (NaBH_3CN) en la presencia de diversas bases para dar derivados amina de los Compuestos de Partida que posteriormente se hidrogenan con 10% de Pd/C, H_2 para reducir el doble enlace en el anillo ciclohexeno.

Ejemplo:



10

Ejemplo 28

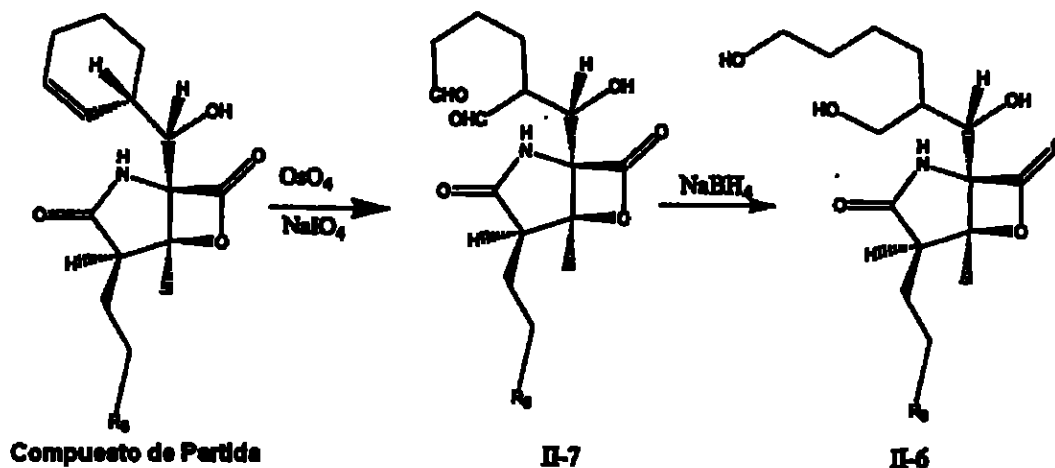
Abertura de anillo Ciclohexeno

[0430] Los Compuesto de Partida pueden estar protegidos, por ejemplo, en las posiciones del alcohol y/o en el nitrógeno de lactama, y se tratan con OsO_4 y NaIO_4 en solución de THF- H_2O para dar los derivados dial que se reducen a alcohol con NaBH_4 . Los grupos protectores pueden ser removidos en la etapa apropiada de la secuencia de reacción para producir II-7 o II-6.

20

25

Ejemplo:



5

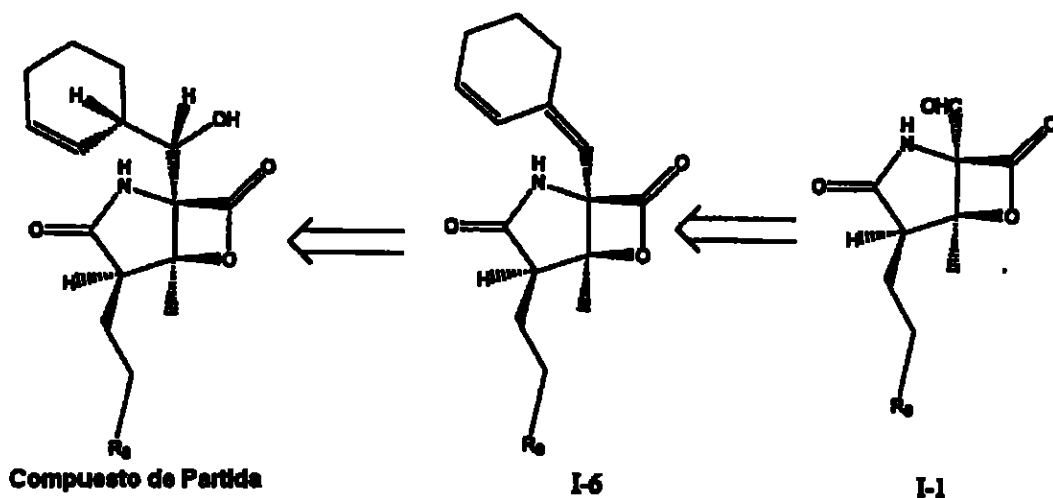
Ejemplo 29

Deshidratación de alcohol seguida por formación de aldehído en la unión de anillo lactona-lactama

10

[0431] Un Compuesto de Partida es deshidratado, por ejemplo, mediante el tratamiento con cloruro de metilo en la presencia de base, o por ejemplo, mediante el tratamiento con reactivo de Burgess u otros agentes deshidratantes. El compuesto deshidratado resultante se trata con OsO_4 , seguido por NaIO_4 , o alternativamente mediante ozonólisis, para dar un grupo aldehído en la unión de anillo lactona-lactama.

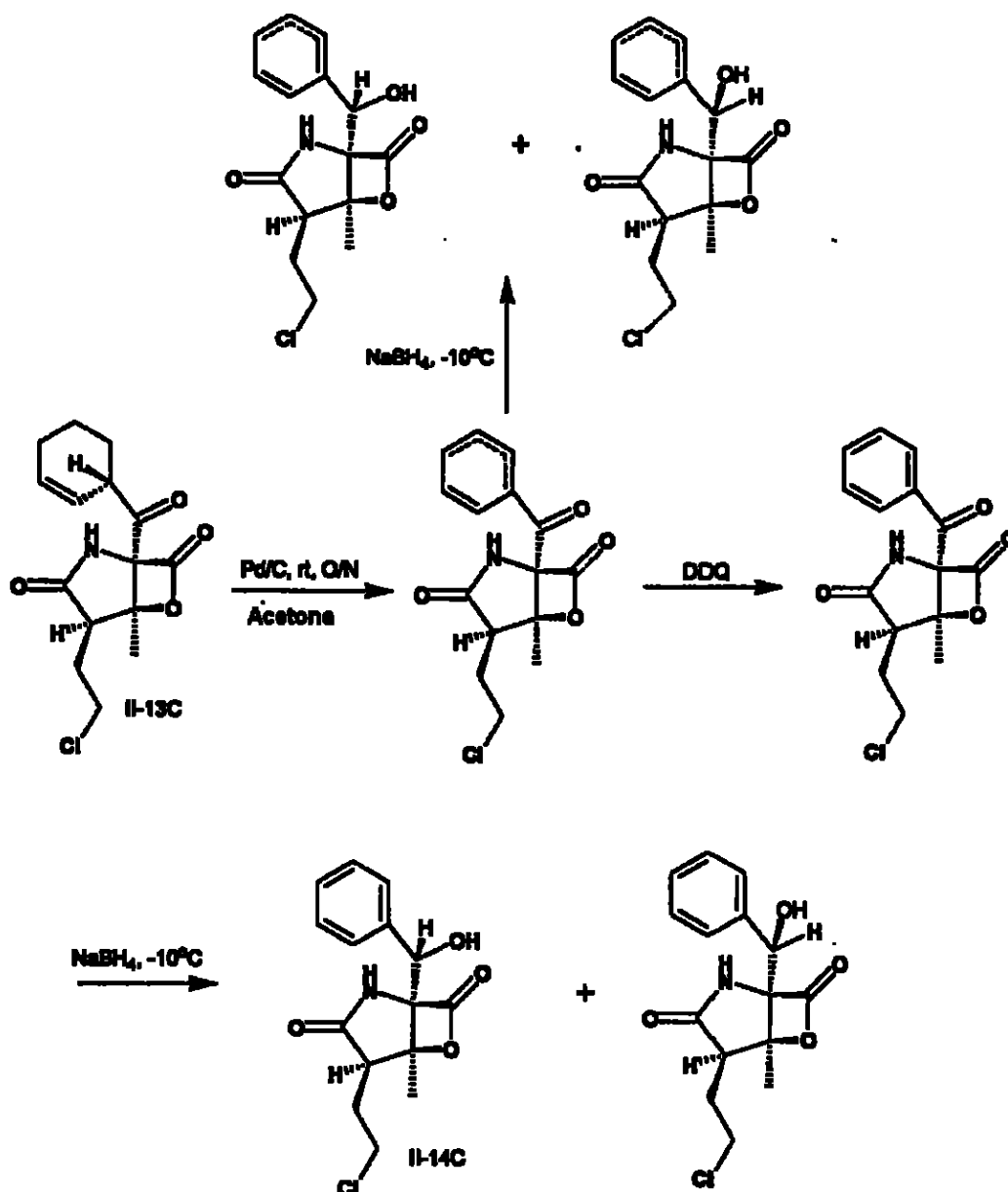
15



Ejemplo 30

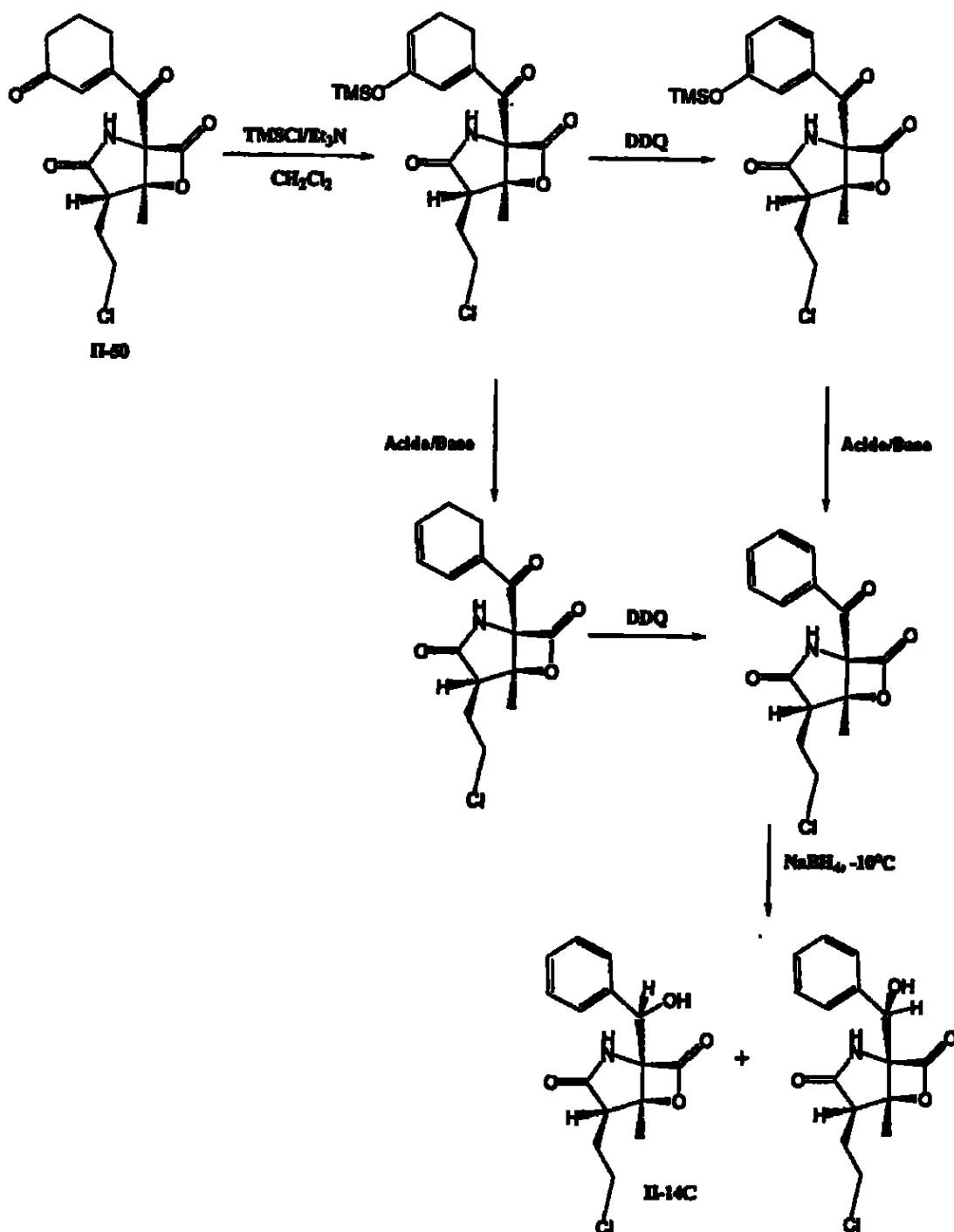
Oxidación del Anillo Ciclohexeno para producir Ciclohexadienos
o un Anillo Fenilo

[0432] Un Compuesto de Partida, tal como la cetona de la Formula II-13C, es tratado con Pd/C para producir un derivado de ciclohexadieno. El nuevo enlace doble puede estar en cualquier posición del anillo ciclohexeno. La cetona puede ser reducida, por ejemplo, con borohidruro de sodio, para obtener el(los) alcohol(es) secundario(s) correspondiente(s). Alternativamente, el derivado de ciclohexadieno puede ser tratado adicionalmente, por ejemplo, con borohidruro de sodio, para obtener el(los) alcohol(es) secundario(s) correspondiente(s).



[0433] Como un método alterno, el compuesto de partida, tal como el compuesto de la Formula II-49, puede ser tratado, por ejemplo con TMSCl para producir el derivado de ciclohexadieno. El derivado de ciclohexadieno puede ser tratado adicionalmente, por ejemplo con DDQ, para aromatizar el anillo a un grupo fenilo. El OTMS en el grupo fenilo puede ser removido, por ejemplo, con ácido o base. Igualmente, la cetona puede ser reducida, por ejemplo, con borohidruro de sodio, para obtener el(los) alcohol(es) secundario(s) correspondiente(s).

10

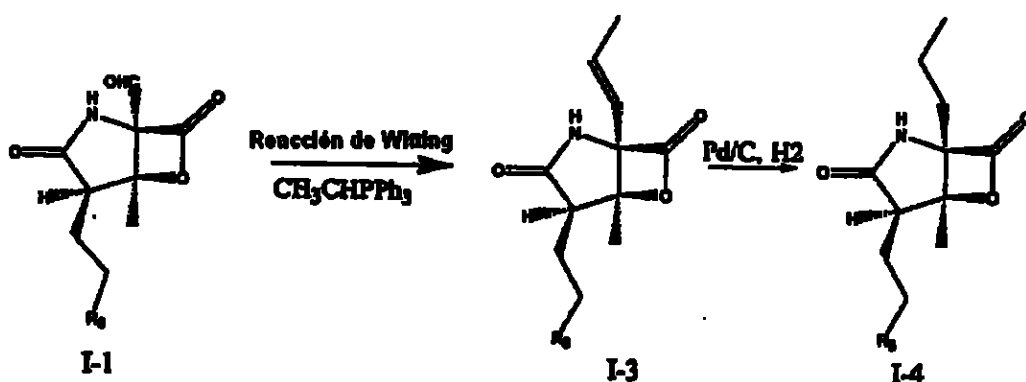


171

Ejemplo 31**Diversas reacciones en derivados aldehído**

[0434] Se realizan reacciones de Witting en el grupo aldehído de I-1 utilizando diversos iluros de fósforo [por ejemplo (trifenilfosforanilidien)etano] para dar una olefina. El doble enlace en la cadena lateral se reduce por hidrogenación catalítica.

Ejemplo:

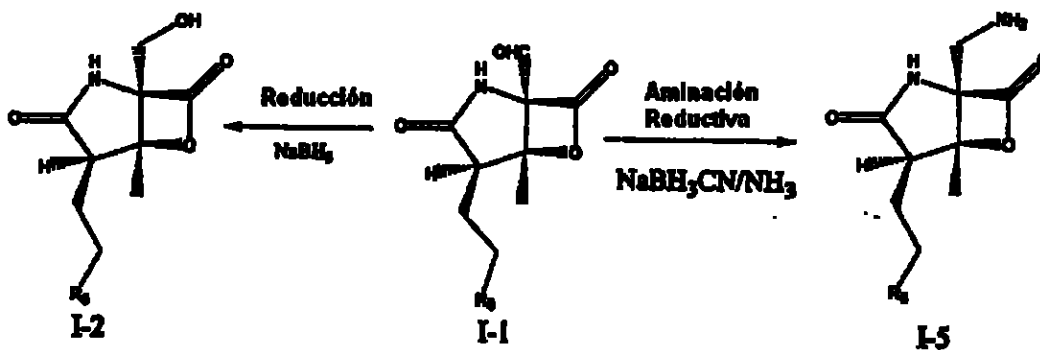


10

[0435] La aminación reductiva se realiza en el grupo aldehído utilizando diversas bases (por ejemplo NH_3) y cianoborohidruro de sodio para dar los derivados amina. En forma alterna, el aldehído se reduce con NaBH_4 para formar alcoholes en la cadena lateral.

15

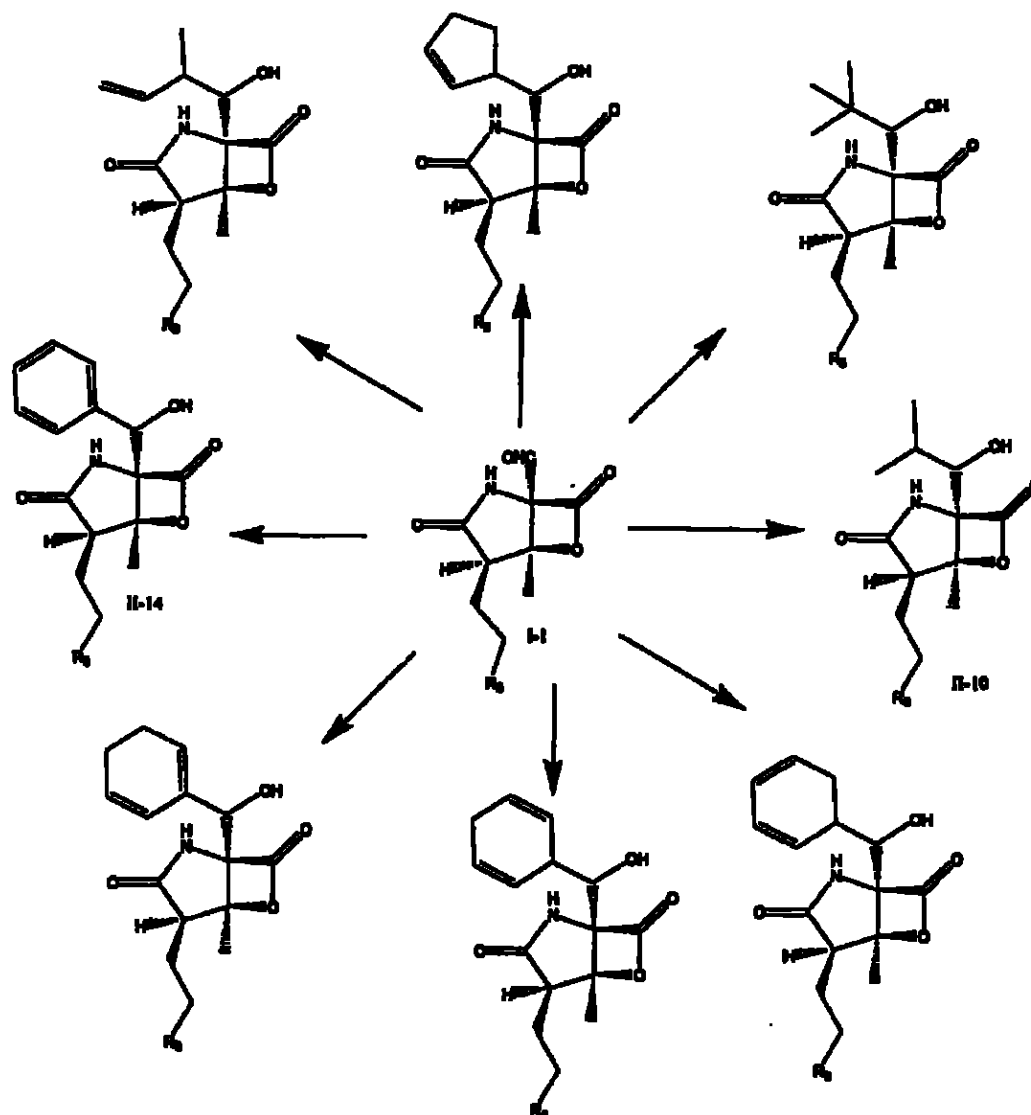
Ejemplo:



20

[0436] Las reacciones de adición organometálica al aldehído carbonilo, pueden realizarse para dar diversos alcoholes secundarios sustituidos.

Ejemplo:



5

Ejemplo 32

Síntesis de los Compuestos de Formula II-47 a partir de II-17

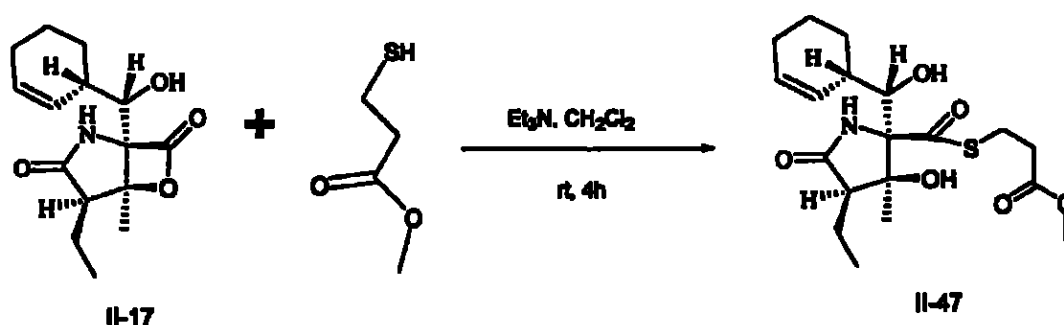
[0437] El compuesto de Formula II-17 (25 mg, 0.0896 mmol) se
 disolvió en CH_2Cl_2 (9 ml) en un vial de cintilación (20 ml) al cual se le agregó
 trietilamina (38 μl , 0.27 mmol), metil-3-mercapto propionato (tiol, 250 μl) y una
 barra agitadora magnética. La mezcla de reacción se agitó a temperatura
 ambiente por aproximadamente 4 horas. El solvente fue evaporado de la
 mezcla de reacción para dar el compuesto de Formula II-47, que fue purificado
 adicionalmente mediante HPLC de fase normal usando columna de Sílice
 Phenomenex Luna 10u C18 (25 cm X 21.2 mm DI) con un gradiente de solvente
 de 10% a 100% de Hexano / Acetonitrilo durante 24 min, manteniendo a 100%
 de EtOAc por 3 min, a una velocidad de flujo de 14.5 ml/min. Se usó ELSD

10

15

121

para monitorear el proceso de purificación. El Compuesto II-47 (15 mg) eluyó a 10.98 min, como compuesto puro. Compuesto II-47: UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 240 (sh) nm; ESMS, m/z 400.1 (M+H)⁺ & 422.0 (M+Na)⁺.



5

Ejemplo 33

Síntesis del Compuesto de Formulas II-48 y VI-1B a partir de II-16

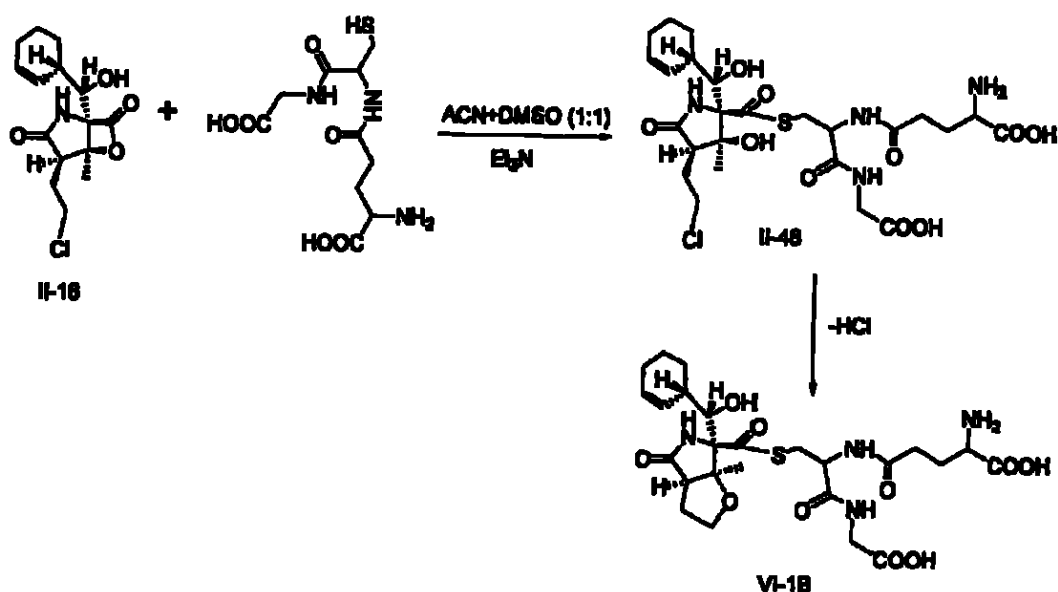
10

[0438] El compuesto de Formula II-16 (15 mg, 0.048 mmol) se disolvió en una proporción 1:1 de ACN/DMSO (8 ml) en un vial de cintilación (20 ml) al cual se le agregó trietilamina (40 μ l, 0.29 mmol), Glutathiona (44.2 mg, 0.144 mmol) y una barra agitadora magnética. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por aproximadamente 3 horas. El solvente fue evaporado de la mezcla de reacción para dar el compuesto de Formula II-48, que fue purificado mediante HPLC de fase inversa usando columna Ace 5u C18 (150 mm X 22 mm DI) con un gradiente de solvente de 10% a 70% de H₂O / Acetonitrilo durante 15 min, 70 a 100% de Acetonitrilo durante 5 min, manteniendo a 100% de EtOAc por 4 min, a una velocidad de flujo de 14.5 ml/min. Se usó detector de arreglo de diodo para monitorear el proceso de purificación. El Compuesto II-48 (10 mg) eluyó como un compuesto puro a 8.255 min. Compuesto II-48: UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 235 (sh) nm; ESMS, m/z 621.1 (M+H)⁺. El Compuesto II-48 era inestable en solución y se convirtió al Compuesto VI-1B que parecía como una mezcla de II-48 y VI-1B en la proporción 7:3. Compuesto VI-1B: UV (Acetonitrilo/H₂O) λ_{max} 235 (sh) nm; ESMS, m/z 585.2 (M+H)⁺.

15

20

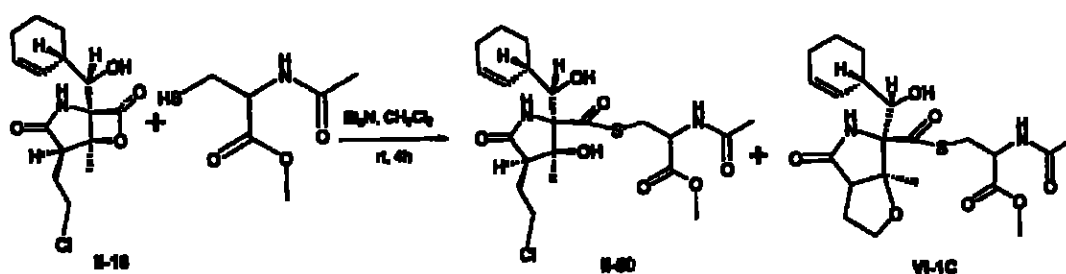
25



Ejemplo 34

Síntesis del Compuesto de la Formula II-50 y VI-C a partir de II-16

[0439] El compuesto de Formula II-16 (10 mg, 0.032 mmol) se disolvió en CH_2Cl_2 (9 ml) en un vial de cintilación (20 ml) al cual se le agregó trietilamina (26.5 μl , 0.192 mmol), metil éster de N-Acetil-L-Cisteína (17 mg, 0.096 mmol) y una barra agitadora magnética. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por aproximadamente 4 horas. El solvente fue evaporado de la mezcla de reacción para dar la mezcla de compuestos de Formulas II-50 y VI-1C, que fueron purificados mediante HPLC de fase inversa usando columna de sílice Phenomenex Luna 10u (25 cm X 21.2 mm DI) con un gradiente de solvente de 10% a 100% de Hexano / EtOAc durante 24 min, manteniendo a 100% de EtOAc por 3 min, a una velocidad de flujo de 14.5 ml/min. Se usó ELSD para monitorear el proceso de purificación. Los Compuestos II-50 (2 mg) y VI-1C (0.2 mg) eluyeron a 10.39 y 10.57 min, respectivamente, como compuestos puros. Compuesto II-50: UV (Acetonitrilo/ H_2O) λ_{max} 230 (sh) nm; ESMS, m/z 491.1 ($\text{M}+\text{H}$)⁺ & 513.0 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺. Compuesto VI-1C: UV (Acetonitrilo/ H_2O) λ_{max} 215 (sh) nm; ESMS, m/z 455.1 ($\text{M}+\text{H}$)⁺ & 577.0 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺.



Ejemplo 35

5 Inhibición del Crecimiento de Colon, próstata, Seno, Pulmón, Ovario, Mieloma Múltiple y Melanoma

[0440] Células de carcinoma de colon humano (HT-29; HTB-38),
adenocarcinoma de próstata (PC-3; CRL-1435), adenocarcinoma de seno
10 (MDA-MB-231; HTB-26), carcinoma pulmonar de célula no pequeña (NCI-
H9292; CRL-1848), adenocarcinoma de ovario (OVCAR-3; HTB-161), mieloma
múltiple (RPMI 8226; CCL-155), mieloma múltiple (U266; TIB-196) y melanoma
de ratón (B16-F10; CRL-6475) fueron compradas todas en ATCC y se
mantuvieron en el medio de cultivo apropiado. Las células fueron cultivadas en
15 un incubador a 37 °C en CO₂ al 5% y aire humidificado al 95%.

[0441] Para los ensayos de crecimiento celular, las células HT-29,
PC-3, MDA-MB-231, NCI-H292, OVCAR-3 y B16-F10 fueron sembradas a 5 x
10³, 5 x 10³, 1 x 10³, 4 x 10³, 1 x 10³ y 1.25 x 10³ células por agujero
20 respectivamente en 90 µl de medio completo en placas de cultivo de tejido de
fondo claro y pared negra de 96 agujeros (Corning; 3904) y las placas fueron
incubadas durante la noche para permitir que las células se establecieran y
entraran en crecimiento en fase log. Las células RPMI y U266 fueron
sembradas a 2 x 10⁴ y 2.5 x 10⁴ células/agujero respectivamente en 90 µl de
25 medio completo en placas de 96 agujeros en el día del ensayo. Soluciones
patrón, 20 mM de los compuestos se prepararon en 100% de DMSO, y se
almacenaron a -80 °C. Los compuestos se diluyeron seialmente y se agregaron
en triplicado a los agujeros de prueba. Las concentraciones que varían de 6.32
µM a 632 pM fueron probadas para II-2 y II-4. II-3 fue probado a
30 concentraciones que varían de 2 µM a 200 pM. La Formula II-5A y formula II-
5B se probaron a concentraciones finales que varían de 2 µM a 632 pM y 20 µM

175

a 6.32 nM, respectivamente. Las placas fueron devueltas al incubador por 48 horas. La concentración final de DMSO fue 0.25% en todas las muestras.

[0442] Siguiendo 48 horas de exposición a fármaco, 10 μ l de 0.2 mg/ml de resazurin (obtenido de Sigma-Aldrich Chemical Co.) en solución salina amortiguada con fosfato libre de Mg^{2+} , Ca^{2+} se agregaron a cada agujero y las placas se devolvieron al incubador por 3-6 horas. Ya que las células vivas metabolizan Resazurin, la fluorescencia del producto de reducción de Resazurin se midió utilizando un fluorómetro de microplaca de fusión (Packard Bioscience) con filtros de $\lambda_{ex} = 535$ nm y $\lambda_{em} = 590$ nm. El colorante Resazurin en medio sin células se utilizó para determinar el fondo, que se sustrajo de los datos para todos los agujeros experimentales. Los datos fueron normalizados a la fluorescencia promedio de las células tratadas con medio + 0.25% de DMSO (100% de crecimiento celular) y se determinaron los valores EC_{50} (la concentración de fármaco en la cual se establece el 50% de la inhibición de crecimiento máxima observada) utilizando un algoritmo para ajuste de curva de respuesta a dosis sigmoidal estándar (generado por XLfit 3.0, ID Business Solutions Ltd). Cuando la inhibición máxima de crecimiento celular era de menos de 50%, no se determinó un valor de EC_{50} .

[0443] Los datos en la Tabla 1 resumen los efectos inhibidores de crecimiento de la Formulas II-2, II-3, II-4, II-5A, II-5B, II-18 y II-19 contra las líneas celulares de carcinoma colorectal humano, HT-29, carcinoma de próstata humano, NCI-H292, carcinoma de ovario humano, OVCAR-3, mielomas múltiples, RPMI-8226 y U266 y melanoma de murina B16-F10.

Tabla 1
Valores EC_{50} de las Formulas II-2, II-3, II-4, II-5A, II-5B, II-18 y II-19 contra
diversas líneas celulares de tumor

177

Linea Celular	EC ₅₀ (nM) *						
	II-2	II-3	II-4	II-5A	II-5B	II-18	II-19
HT-29	129±21	>20000	132±36	67±17	1070 1210	18±7.8	11±1.6
PC-3	284±110	>20000	204±49	109±15	1330 1790	35±5.6	29±4.0
MDA-MB-231	121±23	>20000	114±4	61±4.6	1040 957	16±2.8	14±3.2
NCI-H292	322	>20000	192	102±19	992	29	27±3.8
	395	>20000	213		1250	41	
OVCAR-3	188	>20000	>6320	80	1320	>2000	24
	251		>6320	64		>2000	20
RPMI 8226	49	>20000	57	36	326	6.3	5.9
	45	>20000	51	29	328	6.3	7.1
U266	39	>20000	39	10	118	4.2	3.2
	32	>20000	34	9	111	4.2	3.4
B16-F10	194	>20000	163	78±11	1270	19	13±1.9
	180	>20000	175		1140	36	

* En donde n ≥ 3, media ± desviación estándar se presenta

5 [0444] Los valores EC₅₀ indican que las Formulas II-2, II-4, II-5A, II-5B, II-8C, II-19, fueron citotóxicas contra líneas celulares células de tumor HT-29, PC-3, MDA-MB-231, NCI-H292, RPMI-8226, U266 y B16- F10. II-2, II-5A, II-5B y II-19 también fueron citotóxicas contra las células de tumor OVCAR- 3.

10

Ejemplo 36

Inhibición del crecimiento de mieloma múltiple por las Formulas I-7, II-2, II-3, II-4, II-5A, II-5B, II-8C, II-13C, II-18, II-19, II-20, II-21, II-22, II-24C, II-25, II-28, II-29, II-30, II-31, II-32, II-38, IV-3C, II-44, VI-1A, II-47 y II-50;
15 células RPMI 8226 y U266

[0445] Las líneas celulares de mieloma múltiple humano, RPMI 8226 (ATCC; CCL-155) y U266 (ATCC; TIB-196) se mantuvieron en medio de

cultivo apropiado. Las células fueron cultivadas en un incubador a 37 °C en CO₂ al 5% y aire humidificado al 95%.

[0446] Para los ensayos de crecimiento celular, las células RPMI 8226 y U266 fueron sembradas a 2×10^4 y 2.5×10^4 células por agujero respectivamente en 90 μ l de medio completo en placas de cultivo de tejido de fondo claro y pared negra de 96 agujeros Corning 3904. Soluciones patrón 20 mM de los compuestos se prepararon en 100% de DMSO, se alicuotaron y almacenaron a -80 °C. Los compuestos se diluyeron seialmente y se agregaron en triplicado a los agujeros de prueba. El rango de concentraciones finales de la Formula I-7, II-3, II-8C, II-5B, II-13C, II-20, II-21, II-22, II-24C, II-25, II-28, II-29, II-30, II-31, II-32, II-38, IV-3C, VI-1A, II-47 fue de 20 μ M a 632 nM. La concentración final de la Formula II-18, II-19, II-44, y II-50 varió de 632 nM a 200 pM. La concentración final de DMSO fue 0.25% en todas las muestras.

[0477] Siguiendo 48 horas de exposición a fármaco, 10 μ l de 0.2 mg/ml de resazurin (obtenido de Sigma-Aldrich Chemical Co.) en solución salina amortiguada con fosfato libre de Mg²⁺, Ca²⁺ se agregaron a cada agujero y las placas se devolvieron al incubador por 3-6 horas. Ya que las células vivas metabolizan Resazurin, la fluorescencia del producto de reducción de Resazurin se midió utilizando un fluorómetro de microplaca de fusión (Packard Bioscience) con filtros de $\lambda_{ex} = 535$ nm y $\lambda_{em} = 590$ nm. El colorante Resazurin en medio sin células se utilizó para determinar el fondo, que se substrajo de los datos para todos los agujeros experimentales. Los datos fueron normalizados a la fluorescencia promedio de las células tratadas con medio + 0.25% de DMSO (100% de crecimiento celular) y se determinaron los valores EC₅₀ (la concentración de fármaco en la cual se establece el 50% de la inhibición de crecimiento máxima observada) utilizando un algoritmo para ajuste de curva de respuesta a dosis sigmoidal estándar (generado por XLfit 3.0, ID Business Solutions Ltd).

[0448] Los datos en la Tabla 2 resumen los efectos inhibidores de crecimiento de la Formulas I-7, II-2, II-3, II-4, II-5A, II-5B, II-8C, II-13C, II-18, II-19, II-20, II-21, II-22, II-24C, II-25, II-26, II-28, II-29, II-30, II-31, II-32, II-38, IV-3C, II-44, VI-1A, II-47 y II-50 contra las líneas celulares de carcinoma múltiple, RPMI 8226 y U266.

125

5

Tabla 2
Valores EC₅₀ de las Formulas I-7, II-2, II-3, II-4, II-5A, II-5B, II-8C, II-13C, II-18, II-19, II-20, II-21, II-22, II-24C, II-25, II-28, II-29, II-30, II-31, II-32, II-38, IV-3C, II-44, VI-1A, II-47 y II-50 contra células RPMI 8226 y U266

Compuesto	RPMI 8226	U266
	EC ₅₀ (nM)	EC ₅₀ (nM)
Formula I-7	250	ND
	240	
Formula II-2	49	39
	45	32
Formula II-3	>20000	>20000
	>20000	>20000
Formula II-4	57	39
	51	34
Formula II-5A	36	10
	29	9
Formula II-5B	326	118
	328	111
Formula II-8C	>20000	>20000
	>20000	>20000
Formula II-13C	>20000	>20000
	>20000	>20000
Formula II-18	6.3	4.2
	6.3	4.2
Formula II-19	5.9	3.2
	7.1	3.4
Formula II-20	8510 ± 3260	310
		442
Formula II-21	>20000	6090
	>20000	9670
Formula II-22	9720	2860
	11200	903
Formula II-24C	2320	1150
	1640	825

125

Formula II-25	>20000 >20000	>20000 >20000
Formula II-26	2230 1610	1300 829
Formula II-28	>20000 >20000	>20000 >20000
Formula II-29	4280 6940	624 1420
Formula II-30	4900 4160	889 1240
Formula II-31	>20000 >20000	ND
Formula II-32	>20000 >20000	ND
Formula II-38	2600 1800	ND
Formula IV-3C	>20000*	7760 8290
Formula II-44	12 8.8	ND
Formula VI-1A	8400 7800	ND
Formula II-47	8000 ± 3400	ND
Formula II-50	10	ND

* En donde n ≥ 3, valor EC₅₀ medio ± desviación estándar se presenta; * n = 3, desviación estándar no aplicable; ND = no determinada.

[0444] Los valores EC₅₀ indican que las Formulas II-2, II-4, II-5A, II-5B, II-8C, II-19, II-20, II-22, II-24C, II-29 y II-30 fueron citotóxicas contra células RPMI-8226 y U266. Las Formulas I-7, II-38, II-44 VI-1A, II-47 y II-50 fueron citotóxicas contra las células RPMI 8226. La Formula II-21 y IV-3C fueron citotóxicas contra las células U266.

Ejemplo 37**Inhibición del Crecimiento de Líneas celulares de tumor MES-SA, MES-SA/Dx5, HL-60 y HL-60/MX**

5 **[0450]** Células de sarcoma uterino humano (MES-SA; CRL-1976), sus derivados resistentes a múltiples fármacos (MES-SA/Dx5; CRL-1977), células de leucemia promioclítica aguda humana (HL-60; CCL-240) y sus derivados resistentes a fármacos múltiples (HL-60/MX2; CRL-2257) se compraron en ATCC y se mantuvieron en el cultivo adecuado. Las células
10 fueron cultivadas en un incubador a 37 °C en CO₂ al 5% y aire humidificado al 95%.

[0451] Para los ensayos de crecimiento celular, las células MES-SA y MES-SA/Dx5 fueron ambas sembradas a 3×10^3 células por agujero en 90
15 μ l de medio completo en placas de cultivo de tejido de fondo claro y pared negra de 96 agujeros (Corning 3904) y las placas fueron cultivadas durante la noche para permitir que las células se establecieran y entraran a crecimiento de fase log. Las células HL-60 y HL-60/MX2 fueron ambas sembradas a 5×10^4
20 células por agujero en 90 μ l de medio completo en placas de 96 agujeros en el día de la adición de compuesto. Soluciones patrón 20 mM de los compuestos se prepararon en 100% de DMSO y se almacenaron a -80 °C. Los compuestos se diluyeron serialmente y se agregaron en triplicado a los agujeros de prueba. Las concentraciones que varían de 6.32 μ M a 2 nM fueron probadas para II-2 y II-4. II-3 fue probado a concentraciones que varían de 20 μ M a 632 nM. El
25 Compuesto II-18 fue probado a concentraciones que varían de 2 μ M a 632 pM. Las placas fueron devueltas al incubador por 48 horas. La concentración final de DMSO fue 0.25% en todas las muestras.

[0452] Siguiendo 48 horas de exposición a fármaco, 10 μ l de 0.2
30 mg/ml de resazurin (obtenido de Sigma-Aldrich Chemical Co.) en solución salina amortiguada con fosfato libre de Mg²⁺, Ca²⁺ se agregaron a cada agujero y las placas se devolvieron al incubador por 3-6 horas. Ya que las células vivas metabolizan Resazurin, la fluorescencia del producto de reducción de Resazurin se midió utilizando un fluorómetro de microplaca de fusión (Packard Bioscience)
35 con filtros de $\lambda_{ex} = 535$ nm y $\lambda_{em} = 590$ nm. El colorante Resazurin en medio sin células se utilizó para determinar el fondo, que se substrajo de los datos

2

para todos los agujeros experimentales. Los datos fueron normalizados a la fluorescencia promedio de las células tratadas con medio + 0.25% de DMSO (100% de crecimiento celular) y se determinaron los valores EC₅₀ (la concentración de fármaco en la cual se establece el 50% de la inhibición de crecimiento máxima observada) utilizando un algoritmo para ajuste de curva de respuesta a dosis sigmoidal estándar (generado por XLfit 3.0, ID Business Solutions Ltd). Cuando la inhibición máxima del crecimiento celular era menor del 50%, no se determinó un valor EC₅₀.

[0453] La línea celular de tumor MES-SA/Dx5 resistente a múltiples fármacos se derivó de la línea celular de tumor MES-SA de sarcoma uterino humano y expresa P-glicoproteína elevada (P-gp), una bomba de reflujo dependiente de ATP. Los datos de la Tabla 3 resumen los efectos inhibidores de crecimiento de la Formulas II-2, II-3, II-4 y II-18 contra MES-SA y su derivado resistente a múltiples fármacos MES-SA/Dx5. Se incluyó Placitaxel, un sustrato conocido de la bomba P-gp como un control.

20

25

Tabla 3
Valores EC₅₀ de las Formulas II-2, II-3, II-4 y II-18 contra líneas celulares MES-SA y MES-SA/Dx5

Compuesto	EC ₅₀ (nM)		Veces de cambio*
	MES-SA	MES-SA/Dx5	
II-2	193	220	1.0
	155	138	
II-3	>20000	>20000	NA
	>20000	>20000	
II-4	163	178	0.9
	140	93	

II-18	22	32	1.2
	17	14	
Paclitaxel	5.6	2930	798
	4.6	5210	

* Veces de cambio = la proporción de valores EC₅₀ (MES-SA/Dx5 : MES-SA)

[0454] Los valores de EC₅₀ indican que II-2, II-4 y II-18 tienen actividad citotóxica contra las líneas celulares de tumor MES-SA y MES-SA/Dx5. El fenotipo resistente a múltiples fármacos fue confirmado mediante la observación que el Paclitaxel fue ~800 veces menos activo contra las células MES-SA/Dx5 resistentes.

[0455] HL-60/MX2 es una línea celular de tumor resistente a múltiples fármacos derivada de la línea celular de leucemia promieloblástica, HL-60 y expresa actividad reducida de topoisomerasa II. Los datos presentados en la Tabla 4 resumen los efectos inhibidores de crecimiento de las Formulas II-2, II-3, II-4 y II-18 contra HL-60 y su derivado resistente a múltiples fármacos HL-60/MX2. Se incluyó Mitoxantrona, el agente marcador de la topoisomerasa II como un control.

20

Tabla 4
Valores EC₅₀ de las Formulas II-2, II-3, II-4 y II-18 contra líneas celulares HL-60 y HL-60/MX2

Compuesto	EC ₅₀ (nM)		Veces de cambio*
	HL-60	HL-60/MX2	
II-2	237	142	0.7
	176	133	
II-3	>20000	>20000	NA
	>20000	>20000	
II-4	143	103	NA
	111	97	

183

II-18	27	19	0.7
	23	18	
Mitoxantrona	42	1340	30.6
	40	1170	

* Veces de cambio = la proporción de valores EC₅₀ (HL-60/MX2 : HL-60)

[0456] Los valores de EC₅₀ indican que II-2, II-4 y II-18 retuvieron la actividad citotóxica contra ambas líneas celulares de tumor HL-60 y HL-60/MX2. El fenotipo resistente a múltiples fármacos fue confirmado mediante la observación que la Mitoxantrona fue ~30 veces menos activa contra las células HL-60/MX2 resistentes.

[0457] Los compuestos revelados aquí tienen actividad contra líneas celulares de mieloma múltiples resistentes a fármaco. Por ejemplo, los compuestos son activos contra líneas celulares MM.1R y Dox-40 resistente a Doxorubicina. Adicionalmente, los compuestos son activos contra líneas celulares obtenidas de pacientes de mieloma múltiple humano que han recaído después de múltiples terapias previas con Dexametasona, Bortezomib, y talidomida. Así, los compuestos son activos contra mieloma múltiple resistente a fármaco incluyendo mieloma múltiple que muestra resistencia a la doxorubicina, dexametasona, bortezomib y talidomida.

20

Ejemplo 38

Inhibición de actividad de luciferasa mediada por NF- κ B por las Formulas II-2, II-3, II-4, II-5A, II-5B, II-8C, II-13C, II-18, II-19, II-20, II-21, II-22, II-24C, II-25, II-26, II-27, II-28, II-29, II-30, II-44, VI-1A y IV-3C; Línea celular reportera HEK293NF- κ B/luciferasa

25

[0458] La línea celular reportera HEK293NF- κ /luciferasa es un derivado de la línea celular de riñón embrionario humano (ATCC; CRL-1573) y porta un gen reportero luciferasa bajo la regulación de sitios de enlace 5X NF- κ B. La línea celular reportera se mantuvo rutinariamente en medio DMEM completo (DMEM más suero bovino fetal al 10% (v/v), L-glutamina 2mM, HEPES 10 mM y Penicilina/Estreptomicina a 100 IU/ml y 100 pg/ml, respectivamente) suplementada con 250 g/ml de G418. Cuando se realizó el

30

465

ensayo de luciferasa, el medio basal de DMEM fue reemplazado con medio basal DMEM libre de rojo fenol y el G418 fue omitido. Las células se cultivaron en un incubador a 37 °C en CO₂ al 5% y aire humidificado al 95%.

5 **[0459]** Para ensayos de luciferasa mediados por NF- κ B, las células HEK293 NF- κ B/luciferasa se sembraron a 1.5×10^4 células/agujero en 90 μ l de medio completo DMEM libre de rojo fenol en placas de cultivo de tejido de fondo opaco, blancas Corning 3917. Para la Formula II-2, Formula II-4, Formula II-5A, y Formula II-18, una dilución de partida de 400 μ M se elaboró en DMSO al 100% y esta dilución se usó para generar una serie de dilución semi log de 8 puntos. Esta serie de dilución fue diluida además 40X en medio de cultivo apropiado y se agregaron alícuotas de diez μ l a los agujeros de prueba en triplicado produciendo concentraciones de prueba finales que varían de 1 μ M a 320 pM. Para las Formulas II-3, II-5B, II-8C, II-13C, II-20, II-21, II-22, II-24C, II-25, II-26, II-27, II-28, II-29, II-30, VI-1A y IV-3C, una dilución de partida 8 mM se elaboró en DMSO al 100% y se siguió mismo procedimiento que se describió anteriormente produciendo concentraciones de prueba finales que varían de 20, μ M a 6.3 nM. Para la Formula II-19, y II-44, se elaboró una dilución de partida 127 μ M en DMSO al 100% y las concentraciones de prueba finales variaron de 0.1 nM a 317 nM. Para la Formula II-20, se elaboró una solución de partida 2.5 mM u 8 mM en DMSO al 100% y las concentraciones de prueba finales variaron de 6.3 μ M a 2.0 nM o 20 μ M a 6.3 nM, respectivamente. Las placas fueron devueltas al incubador por 1 hora. Después de 1 hora de pre-tratamiento, se agregaron 10 μ l de una solución de 50 ng/ml de TNF- α 50 preparada en el medio DMEM libre de rojo fenol, y las placas se incubaron por 6 horas adicionales. La concentración final de DMSO fue de 0.25% en todas las muestras.

30 **[0460]** Al final de la estimulación TNF- α , se agregaron 100 μ l de reactivo luciferasa Steady Lite HTS (Packard Bioscience) a cada agujero y las placas se dejan sin perturbar por 10 minutos a temperatura ambiente antes de medir la actividad de luciferasa. Las unidades de luciferasa relativas (RLU) se midieron usando un fluorómetro de microplaca de fusión (Packard Bioscience). Se calcularon los valores EC₅₀ (la concentración de fármaco a la cual el 50% de la actividad de luciferasa relativa máxima se inhibe) en Prism (GraphPad

Software) utilizando un modelo de pendiente variable de respuesta a la dosis sigmoidal.

[0461] NF- κ B regula la expresión de una gran cantidad de genes importantes en la Inflamación, apoptosis, tumorigenesis, y enfermedades autoinmunes. En su forma inactiva, NF- κ B se compleja con I κ B en el citosol y a la estimulación, I κ B se fosforila, ubiquitina y posteriormente es degradado por la proteasoma. La degradación de I κ B conduce a la activación de NF- κ B y su translocación al núcleo. Los efectos de las Formulas II-2, II-3, II-4, II-5A, II-5B, II-8C, II-13C, II-18, II-19, II-20, II-21, II-22, II-24C, II-25, II-26, II-27, II-28, II-29, II-30, II-44, VI-1A y IV-3C sobre la activación de NF- κ B se evaluaron al estimar la actividad de luciferasa mediada por NF- κ B en células HEK293 NF- κ B/Luc ante la estimulación con TNF- α .

[0462] El oretratamiento de células NF- κ B/Luc 293 con las Formulas II-2, II-4, II-5A, II-5B, II-18, II-19, II-20, II-21, II-22, II-24C, II-26, II-29, II-30 y II-44 produce una disminución de la actividad de luciferasa dependiente de dosis al estímulo con TNF- α . Los valores promedio EC₅₀ para inhibir la actividad de luciferasa mediada por NF- κ B se muestran en la Tabla 5 y demuestra que los Compuestos de la Formulas II-2, II-4, II-5A, II-5B, II-18, II-19, II-20, II-21, II-22, II-24C, II-26, II-29, II-30 y II-44 inhibieron la actividad NF- κ B en este ensayo basado en células.

Tabla 5
Valores EC₅₀ de las Formulas II-2, II-3, II-4, II-5A, II-5B, II-8C, II-13C, II-18, II-19, II-20, II-21, II-22, II-24C, II-25, II-26, II-27, II-28, II-29, II-30, II-44 VI-1A y IV-3C del Ensayo de gen reportero luciferasa mediado por NF- κ B

Compuesto	EC ₅₀ *
Formula II-2	71 ± 20 nM
Formula II-3	>20 μM >20 μM
Formula II-4	67 nM 88 nM
Formula II-5A	33 nM 30 nM

Formula II-5B	279 nM 261 nM
Formula II-8C	>20 μ M >20 μ M
Formula II-13C	>20.000
Formula II-18	9 nM 11 nM
Formula II-19	7 nM 10 nM
Formula II-20	849 $\pm$ 225 nM**
Formula II-21	3.2 μ M 2.7 μ M
Formula II-22	1 μ M 728 nM
Formula II-24C	5.3 μ M 3.2 μ M
Formula II-25	>20 μ M >20 μ M
Formula II-26	4.3 μ M 4.1 μ M
Formula II-27	>20 μ M >20 μ M
Formula II-28	>20 μ M >20 μ M
Formula II-29	1.2 μ M 1.4 μ M
Formula II-30	2.2 μ M 2.2 μ M
Formula II-44	17 $\pm$ 4 nM
Formula VI-1A	>20 μ M >20 μ M
Formula IV-3C	>20 μ M >20 μ M

* Se muestran los valores EC₅₀ de dos experimentos independientes. Cuando n $\geq$ 3, se presenta el valor EC₅₀ medio $\pm$ desviación estándar. ** El ensayo

también se realizó con el Compuesto II-20, y produjo un valor EC_{50} de 154 nM, cuyo valor no se incluyó en el cálculo del valor medio de EC_{50} .

5

Ejemplo 39

Inhibición *In vitro* de la actividad de Proteasoma por las Formulas I-7, II-2, II-3, II-4, II-5A, II-5B, II-8C, II-13C, II-18, II-19, II-20, II-21, II-22, II-24C, II-25, II-26, II-27, II-28, II-29, II-30, II-31, II-32, II-38, IV-3C, II-44 VI-1A y II-47.

10

[0463] Todos los compuestos se prepararon como solucies patrón

20 mM en DMSO y se almacenaron en pequeñas alícuotas a -80 °C.

Proteasoma 20S de músculo de conejo purificado se obtuvo de CalBiochem o Boston Biochem Para mejorar la actividad tipo quimiotripsina de la proteasoma, el amortiguador de prueba (HEPES 20 mM, EDTA 0.5 mM, pH 7.3, y Triton

15

X100 al 0.05%) se suplementó con SDS que produjo una concentración SDS final de 0.035%. El sustrato empleado fue suc-LLVY-AMC, un sustrato de péptido fluorogénico clivado específicamente por la actividad tipo quimiotripsina

de la proteasoma. Los ensayos se realizaron a una concentración de proteasoma de 1 μ g/ml en un volumen final de 200 μ l en placas

20

microtituladoras Costar de 96 agujeros. Se probaron las Formulas II-2, II-4, II-18, II-19, II-21 II-22 y II-44 como curvas de respuesta a dosis de ocho puntos con concentraciones finales en el intervalo de 500 nM a 158 pM. Las Formulas II-5A, II-5B, II-20, II-29, II-30 y II-38 se probaron a concentraciones en el intervalo de 1 μ M a 0.32 nM. Las Formulas II-3 y VI-1A se probaron como una

25

curva de respuesta a ocho dosis con concentraciones finales en el intervalo de 10 μ M a 3.2nM. La Formula II-47 se probó a concentraciones en el intervalo de 5 μ M a 1.6 nM, mientras que las Formulas II-8C, II-13C, II-24C, II-25, II-26, II-28, II-31, II-32 y IV-3C se probaron con concentraciones finales en el intervalo de 20 μ M a 6.3 nM. Las muestras se incubaron a 37 °C por cinco minutos en

30

un lector de microplaca tituladora de 96 agujeros de temperatura controlada Fluoroskan Ascent (Termo Electrón, Waltham, MA). Durante la etapa de pre-incubación, el sustrato se diluyó 25 veces en amortiguador de prueba que contiene SDS. Después del periodo de pre-incubación, las reacciones se

35

iniciaron mediante la adición de 10 μ l del sustrato diluido y las placas se devolvieron al lector de placa. La concentración final del sustrato en las reacciones fue 20 μ M. La Fluorescencia del sustrato de péptido clivado se

midió a $\lambda_{ex} = 390$ nm y $\lambda_{em} = 460$ nm. Todos los datos se recolectaron cada 5 minutos por más de 1.5 horas y se graficaron como la media de puntos de datos en triplicado. Se calcularon los valores EC_{50} (la concentración de fármaco a la cual el 50% de la fluorescencia relativa máxima es inhibida) por Prism (GraphPad Software) utilizando un modelo de pendiente variable, de respuesta a dosis sigmoidal. Para evaluar la actividad de los compuestos contra la actividad tipo caspasa de las proteasomas 20S, se realizaron reacciones como se describió anteriormente excepto porque se usó Z-LLE-AMC como el sustrato péptido. Las Formulas II-3, II-4, II-5A, II-5B, II-8C, II-13C, II-18, II-20, II-21, II-22, II-24C, II-25, II-26, II-27, II-28, II-29, II-30, IV-3C, II-44 y VI-1A se probaron a concentraciones en el intervalo de 20 μ M a 6.3 nM. La Formula II-2 se probó a concentraciones en el intervalo de 10 μ M a 3.2 nM, mientras que la Formula II-19 se probó a concentraciones en el intervalo de 5 μ M a 1.58 nM. Para la evaluación de compuestos contra la actividad tipo tripsina de la proteasoma, el SDS se omitió del amortiguador de prueba y se utilizó Boc-LRR-AMC como sustrato de péptido. La Formula II-20 se probó a concentraciones en el intervalo de 1.6 nM a 5 μ M. Las Formulas II-3, II-8C, II-13C, II-21, II-22, II-24C, II-25, II-26, II-27, II-28, II-29, II-30, IV-3C y VI-1A se probaron a concentraciones en el intervalo de 20 μ M a 6.3nM. Para las Formulas II-2, y II-5B las concentraciones probadas variaron de 10 μ M a 3.2 nM, mientras que las Formulas II-4, II-5A, II-18 y II-19 se probaron a concentraciones en el intervalo de 1 μ M a 0.32nM. La Formula II-44 se probó a concentraciones que varían de 2 μ M a 632 pM.

[0464] Los resultados (valores EC_{50}) se muestran en la Tabla 6 y muestran que entre los compuestos probados, las Formulas II-5A, II-18, II-19, II-20, II-21, II-22, II-29, II-38 y II-44 son los inhibidores más potentes de la actividad tipo quimiotripsina de la proteasoma 20S con valores EC_{50} en el intervalo de 2 nM a 11 nM. Las Formulas I-7, II-2, II-4, II-5B, II-30 y II-47 inhiben la actividad tipo quimiotripsina proteasomal con valores EC_{50} en el intervalo de 13 nM a 88 nM, mientras que los valores EC_{50} de la Formulas II-3, II-26 y VI-1A variaron de 207 nM a 964 nM. La Formula II-13C, II-24C, II-27, II-28 y VI-3C inhibieron la actividad tipo quimiotripsina con valores EC_{50} que varían de 1.4 μ M a 10.6 μ M. Los valores EC_{50} para las Formulas II-8C, II-25, II-31 y II-32 fueron mayores a 20 μ M. Bajo las condiciones probadas, las Formulas II-2, II-3, II-4, II-5A, II-5B, II-13C, II-18, II-19, II-20, II-21, II-22, II-24C,

II-26, II-29, II-30, II-44 y IIVI-1A fueron capaces de inhibir la actividad tipo tripsina de la proteasoma 20S. Las Formulas II-4, II-5A, II-18, II-19 y II-29 inhibieron la actividad tipo caspasa con valores EC₅₀ en el intervalo de 213 nM a 850 nM, mientras que las Formulas II-2, II-5B, II-20, II-21, II-22, II-30, II-44 y VI-1A tuvieron valores EC₅₀ en el intervalo de 956 nM a 8.7 μM.

Tabla 6
Efectos de Formulas I-7, II-2, II-3, II-4, II-5A, II-5B, II-8C, II-13C, II-18, II-19, II-20, II-21, II-22, II-24C, II-25, II-26, II-27, II-28, II-29, II-30, II-31, II-32, II-38, IV-3C, II-44, VI-1A y II-47 sobre las diversas actividades enzimáticas de proteasomas 20S de conejo purificada

Análogo	Valores EC ₅₀ *		
	Tipo Quimiotripsina	Tipo Tripsina	Tipo Caspasa
Formula I-7	52 ± 2 nM	ND	ND
Formula II-2	18 nM	230 nM	1.3 μM
	19nM	230 nM	1.7 μM
Formula II-3	964 nM	5.5 μM	>20 μM
	890 nM	7.7 μM	>20 μM
Formula II-4	13 nM	107 nM	>20 μM
	15 nM	110 nM	>20 μM
Formula II-5A	6 nM	87 nM	535 nM
	7 nM	90 nM	438 nM
Formula II-5B	88 nM	762 nM	3.8 μM
	85 nM	716 nM	2.9 μM
Formula II-8C	> 20 μM	> 20 μM	>20 μM
	>20 μM	>20 μM	>20 μM
Formula II-13C	7.6 μM	8.6 μM	>20 μM
	8.8 μM	12.8 μM	>20 μM
Formula II-18	2.3 nM	14 nM	286 nM
	2 nM	14 nM	213 nM
Formula II-19	3 nM	13 nM	573 nM
	3 nM	15 nM	739 nM
Formula II-20	7.7 ± 3.0 nM	318 nM	1.4 μM
		321 nM	

			1.4 μ M
Formula II-21	7 nM	720 nM	2.6 μ M
	8 nM	879 nM	2.3 μ M
Formula II-22	7 nM	308 nM	1.3 μ M
	3 nM	289 nM	1.4 μ M
Formula II-24C	2.2 μ M	3.3 μ M	> 20 μ M
	2.0 μ M	3.1 μ M	>20 μ M
Formula II-25	> 20 μ M	> 20 μ M	> 20 μ M
	>20 μ M	>20 μ M	>20 μ M
Formula II-26	349 nM	2.0 μ M	>20 μ M
	319 nM	3.0 μ M	>20 μ M
Formula II-27	1.4 μ M	>20 μ M	>20 μ M
Formula II-28	3.2 μ M	>20 μ M	>20 μ M
	3.3 μ M	>20 μ M	>20 μ M
Formula II-29	6 nM	175 nM	535 nM
	8 nM	254 nM	520 nM
Formula II-30	21 nM	905 nM	956 nM
	21 nM	1.2 μ M	1.3 μ M
Formula II-31	>20 μ M**	ND	ND
Formula II-32	>20 μ M**	ND	ND
Formula II-38	4.9 μ M	>20 μ M	>20 μ M
	10.6 μ M	>20 μ M	>20 μ M
Formula IV-3C	4.9 μ M	> 20 μ M	> 20 μ M
	10.6 μ M	>20 μ M	>20 μ M
Formula II-44	11 nM	55 nM	1.4 μ M
	8.7 nM	54 nM	1.4 μ M
Formula VI-1A	274 nM	3.1 μ M	7.9 μ M
	207 nM	3.0 μ M	8.7 μ M
Formula II-47	50 $\pm$ 10 nM	ND	ND

* Se muestran los valores EC₅₀ de uno o dos experimentos independientes. Cuando n $\geq$ 3, se presenta el valor EC₅₀ medio $\pm$ desviación estándar. ** n = 3, desviación estándar no es aplicable.
ND = No determinado

Ejemplo 40

Los efectos de la Formula II-16, Formula II-17, Formula II-20 y Omuralida
5 sobre la actividad tipo quimiotripsina de proteasomas 20S en células RPMI
8226

[0465] RPMI 8226 (ATCC, CCL-155), la línea celular de mieloma múltiple humano, se cultivó en medio RPMI 1640 suplementado con L-glutamina 2 mM, 100 unidades/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomicina, pivurato de sodio 1 mM y 10% de suero bovino fetal inactivado al calor a 37 °C, CO₂ al 5% y aire humidificado al 95%. Para evaluar los efectos inhibidores en la actividad del tipo quimiotripsina de la proteasoma 20S, los compuestos de prueba preparados en DMSO fueron apropiadamente diluidos en medio de cultivo y se agregaron 2.5 x 10⁵ células RPMI 8226/ ml. Para la Formula II-16, las concentraciones de prueba finales variaron de 1 nM a 100 nM. Para la Formula II-17, Formula II-20 y Omuralida (Calbiochem, San Diego, CA), las concentraciones de prueba finales variaron de 1 nM a 10 µM. Se usó DMSO como el control de vehículo a una concentración final del 0.1%. Seguida 1 hr de incubación de las células RPMI 8226 con los compuestos, las células fueron peletizadas mediante centrifugación a 2,000 rpm por 10 seg a temperatura ambiente y se lavaron 3X con Solución salina amortiguada con Fosfato de Dulbecco 1X enfriada con hielo (DPBS, Mediatech, Rendón, VA). Las células lavadas con DPBS fueron lisadas sobre hielo por 15 min en amortiguador de lisis (HEPES 20 mM, EDTA 0.5 mM, 0.05% de Triton X-100, pH 7.3) suplementado con cocktail inhibidor de la proteasa (Roche Diagnostics, Indianápolis, IN). Los desechos de células fueron sedimentados mediante centrifugación a 14,000 rpm por 10 min, 4 °C, y los sobrenadantes (= lisados de célula) fueron transferidos a un tubo nuevo. La concentración de proteína se determinó mediante el kit de ensayo de proteína BCA (Pierce Biotechnology, Rockford, IL). La actividad tipo quimiotripsina de la proteasoma 20S se midió usando el sustrato de péptido fluorogénico Suc-LLVY-AMC (Boston Biochem, Cambridge, MA) en el amortiguador de prueba de proteasoma (HEPES 20 mM, EDTA 0.5 mM, pH 8.0) que contiene una concentración final de 0.035% de SDS. Las reacciones fueron iniciadas mediante la adición de 10 µL de Suc-LLVY-AMC 0.04 mM (preparado diluyendo una solución 10 mM del péptido en DMSO

1:25 con amortiguador de prueba) a 190 µL de los lisatos de célula, y se incubaron en el lector de placa Thermo Lab Systems Fluoroskan a 37 °C. La cumarina liberada (AMC) se midió fluorométricamente usando λ_{ex} = 390 nm y λ_{em} = 460 nm. El ensayo se realizó en una placa microtituladora (Corning 3904) y siguió cinéticamente con medidas cada cinco minutos por 2 horas. La cantidad total de proteína usada para cada ensayo fue de 20 µg. La concentración final de Suc-LLVY-AMC y DMSO fue de 20 µM y 0.2% respectivamente. Los resultados se presentan como la inhibición porcentual de la actividad tipo quimi tripsina de proteasoma 20S con relación al control de DMSO.

[0486] Los resultados de la Tabla 7 muestran que la exposición de las células RPMI a la Formla II-16, Formula II-17, Formula II-20 y Omuralida produjeron inhibición de la actividad tipo quimi tripsina de las proteasomas 20S. Entre ellas, la Formula II-16 inhibe 85 ± 7% de la actividad tipo quimi tripsina de la proteasoma 20S a 5 nM. A 100 nM, la Formula II-16 es capaz de inhibir completamente la actividad tipo quimi tripsina de la proteasoma 20S. A 100 nM, la Formula II-17, Formula II-20 y Omuralida son capaces solamente de inhibir la actividad tipo quimi tripsina a 30 ± 4%, 66 ± 3% y 32 ± 8%, respectivamente.

Tabla 7
Determinación de la actividad tipo quimi tripsina de las proteasomas 20S
derivadas de células RPMI 8226 tratadas con la Formula II-16, Formula II-17,
Formula II-20 y Omuralida

Compuesto	% de Inhibición de la actividad tipo quimi tripsina de las proteasomas 20S en lisatos de células RPMI 8226 (media ± DE, n = 3)							
	10,000 nM	1,000 nM	500 nM	100 nM	50 nM	10 nM	5 nM	1 nM
II-16	ND	ND	ND	98 ± 1	97 ± 0	84 ± 3	85 ± 7	30 ± 7
II-17	85 ± 5	48 ± 4	39 ± 3	30 ± 4	28 ± 5	8 ± 8	10 ± 5	8 ± 8
II-20	87 ± 4	73 ± 2	71 ± 2	68 ± 3	64 ± 3	37 ± 3	31 ± 9	3 ± 10
Omuralida	83 ± 1	80 ± 8	68 ± 11	32 ± 8	17 ± 11	4 ± 9	8 ± 9	5 ± 9

[0487] ND: No determinado

Ejemplo 41**Los efectos de la Formula II-16, Formula II-17, Formula II-20 y Omuralida
5 sobre la actividad tipo quimiotripsina de
proteasomas 20S en células PC-3**

[0468] PC-3 (ATCC, CRL-1435), la línea celular de cáncer de
próstata, se cultivó en medio F12K suplementado con L-glutamina 2 mM, 100
10 unidades/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomicina y 10% de suero bovino
fetal inactivado al calor a 37 °C, CO₂ al 5% y aire humidificado al 95%. Para
evaluar los efectos inhibidores en la actividad del tipo quimiotripsina de la
proteasoma 20S, los compuestos de prueba preparados en DMSO fueron
apropiadamente diluidos en medio de cultivo y se agregaron 1.25 x 10⁵ células
15 PC-3 / ml. Para la Formula II-16, las concentraciones de prueba finales variaron
de 1 nM a 50 nM. Para la Formula II-17, Formula II-20 y Omuralida
(Calbiochem, San Diego, CA), las concentraciones de prueba finales variaron
de 1 nM a 10 µM. Se usó DMSO como el control de vehículo a una
concentración final del 0.1%. Seguida 1 hr de incubación de las células PC-3
20 con los compuestos, las células fueron lavadas 3X con Solución salina
amortiguada con Fosfato de Dulbecco 1X enfriada con hielo (DPBS, Mediatech,
Rendón, VA). Las células lavadas con DPBS fueron lisadas sobre hielo por 15
min en amortiguador de lisis (HEPES 20 mM, EDTA 0.5 mM, 0.05% de Triton X-
100, pH 7.3) suplementado con cocktail inhibidor de la proteasa (Roche
25 Diagnostics, Indianápolis, IN). Los desechos de células fueron sedimentados
mediante centrifugación a 14,000 rpm por 10 min, 4 °C, y los sobrenadantes (=
lisados de célula) fueron transferidos a un nuevo tubo nuevo. La concentración
de proteína se determinó mediante el kit de ensayo de proteína BCA (Pierce
Biotechnology, Rockford, IL). La actividad tipo quimiotripsina de la proteasoma
30 20S se midió usando el substrato de péptido fluorogénico Suc-LLVY-AMC
(Boston Biochem, Cambridge, MA) en el amortiguador de prueba de
proteasoma (HEPES 20 mM, EDTA 0.5 nM, pH 8.0) que contiene una
concentración final de 0.035% de SDS. Las reacciones fueron iniciadas
mediante la adición de 10 µL de Suc-LLVY-AMC 0.04 mM (preparado diluyendo
35 una solución 10 mM del péptido en DMSO 1:25 con amortiguador de prueba) a
190 µL de los lisatos de célula, y se incubaron en el lector de placa Thermo Lab

Systems Fluoroskan a 37 °C. La cumarina liberada (AMC) se midió fluorométricamente usando λ_{exc} = 390 nm y λ_{em} = 460 nm. El ensayo se realizó en una placa microtituladora (Coming 3904) y siguió cinéticamente con medidas cada cinco minutos por 2 horas. La cantidad total de proteína usada para cada ensayo fue de 20 µg. La concentración final de Suc-LLVY-AMC y DMSO fue de 20 µM y 0.2% respectivamente. Los resultados se presentan como la inhibición porcentual de la actividad tipo quimiotripsina de proteasoma 20S con relación al control de DMSO.

[0469] Los resultados de la Tabla 8 muestran que la exposición de las células PC-3 a la Formula II-16, Formula II-17, Formula II-20 y Omuralida produjeron inhibición de la actividad tipo quimiotripsina de las proteasomas 20S similares a los resultados obtenidos de los experimentos basados en células RPMI 8226. La Formula II-16 inhibe 69% de la actividad tipo quimiotripsina de la proteasoma 20S a 5 nM. A 50 nM, la Formula II-16 es capaz de inhibir completamente la actividad tipo quimiotripsina de la proteasoma 20S. A 100 nM, la Formula II-17, Formula II-20 y Omuralida inhiben la actividad tipo quimiotripsina a 26%, 57% y 36%, respectivamente.

Tabla 8

Determinación de la actividad tipo quimiotripsina de las proteasomas 20S derivadas de células PC-3 tratadas con la Formula II-16, Formula II-17, Formula II-20 y Omuralida

Compuesto	% de inhibición de la actividad tipo quimiotripsina de las proteasomas 20S en células PC-3						
	10,000 nM	1,000 nM,	100 nM	50 nM	10 nM	5 nM	1 nM
II-16	ND	ND	ND	98	ND	69	19
II-17	79	49	26	ND	16	ND	ND
II-20	90	71	57	ND	38	ND	ND
Omuralida	90	80	36	ND	18	ND	ND

[0470] ND: No determinado.

Ejemplo 42

95

Inhibición del Crecimiento de células de mieloma múltiple humano, RPMI 8226, adenocarcinoma de colon humano, HT-29 y melanoma de murina, B16-F10 en medio de contiene 1% o 10% de suero

5 **[0471]** Se determinó la actividad inhibidora de las Formulas II-16, II-17 y Formula II-18 contra células de mieloma múltiple humano, RPMI 8226, adenocarcinoma de colon humano, HT-29 y melanoma de murina, B16-F10 en la presencia de suero fetal bovino al 1% o 10%.

10 **[472]** Las células RPMI 8226 (CCL-155), HT-29 (HTB-38) y B16-F10 (CRL-6475) fueron compradas en ATCC. Las células RPMI 8226 se mantuvieron en medio RPMI 1640 suplementado con FBS al 10% (v/v), L-glutamina 2 mM, pivurato de sodio 1 mM y penicilina/estreptomicina a 100 IU/ml y 100 µg/ml, respectivamente. Las células HT-29 se mantuvieron en MocCoys
15 5A suplementado con FBS al 10% (v/v), L-glutamina 2 mM, pivurato de sodio 1 mM y amino ácidos no esenciales al 1% (v/v), HEPES 10 mM y penicilina/estreptomicina a 100 IU/ml y 100 µg/ml, respectivamente. Las células B16-F10 se mantuvieron en DMEM suplementado con FBS al 10% (v/v), L-glutamina 2 mM, HEPES 10 mM y penicilina/estreptomicina a 100 IU/ml y 100
20 µg/ml, respectivamente. Las células se cultivaron en un incubador a 37 °C en CO₂ al 5% y aire humidificado al 95%.

[0473] Para los ensayos de crecimiento celular, las células HT-29 y B16-F10 fueron sembradas a 5×10^3 , y 1.25×10^3 células/ agujero
25 respectivamente en 90 µl de medio que contiene FBS al 10% (v/v) o FBS al 1% (v/v) en placas de cultivo de tejido de fondo claro y pared negra de 96 agujeros (Corning; 3904). Las placas fueron incubadas durante la noche para permitir que las células se establecieran y entraran en crecimiento en fase log. Las células RPMI 8226 fueron sembradas a 2×10^4 células/agujero respectivamente
30 en 90 µl de medio RPMI que contiene FBS al 10% (v/v) o FBS al 1% (v/v) en placas de cultivo de tejido de fondo claro, pared negra de 96 agujeros. Soluciones patrón 20 mM de los las Formulas II-16, II-17 y Formula II-18 se prepararon en 100% de DMSO, y se alicuotaron y almacenaron a -80 °C. Las Formulas II-16, II-17 y Formula II-18 se diluyeron seialmente en medio que
35 contiene 1% o 10% de FBRS y se agregaron en triplicado a los agujeros de prueba. La concentración final de la Formula II-16 varió de 2 µM a 200 pM. El

10x

196

rango de concentración final de la Formula II-17 fue de 20 μ M a 6.30 nM. La concentración final de la Formula II-18 varió de 2 μ M a 630 pM. Las placas fueron devueltas al incubador por 48 horas. La concentración final de DMSO fue 0.25% en todas las muestras.

5

[0474] Siguiendo 48 horas de exposición a fármaco, 10 μ l de 0.2 mg/ml de resazurin (obtenido de Sigma-Aldrich Chemical Co.) en solución salina amortiguada con fosfato libre de Mg^{2+} , Ca^{2+} se agregaron a cada agujero y las placas se devolvieron al incubador por 3-6 horas. Ya que las células vivas metabolizan Resazurin, la fluorescencia del producto de reducción de Resazurin se midió utilizando un fluorómetro de microplaca de fusión (Packard Bioscience) con filtros de λ_{ex} = 535 nm y λ_{em} = 590 nm. El colorante Resazurin en medio sin células se utilizó para determinar el fondo, que se substrajo de los datos para todos los agujeros experimentales. Los datos fueron normalizados a la fluorescencia promedio de las células tratadas con medio + 0.25% de DMSO (100% de crecimiento celular) y se determinaron los valores EC_{50} (la concentración de fármaco en la cual se establece el 50% de la inhibición de crecimiento máxima observada) utilizando un algoritmo para ajuste de curva de respuesta a dosis sigmoidal estándar (generado por XLfit 3.0, ID Business Solutions Ltd).

10

15

20

[0475] Los datos en la Tabla 9 resumen los efectos inhibidores de crecimiento de la Formulas II-16, II-17 y Formula II-18 contra la línea celulares de mieloma múltiple humano, RPMI 8226 en medio de contiene 1% o 10% de FBS.

25

Tabla 9

Valores EC_{50} de las Formulas II-16, II-17 y Formula II-18 contra células RPMI 8226 en medio que contiene 1% o 10% de FBS

30

Compuesto	1% de FBS, EC_{50} (nM)	10% de FBS, EC_{50} (nM)
II-16	6.2	12
	6.8	9.6
Media	6.5	11
II-17	1100	3000
	1300	2300

48

Media	1200	2700
II-18	15	20
	13	20
Media	14	20

[0476] Los valores EC₅₀ indican que las Fórmulas II-16, II-17 y la Formula II-18 fueron citotóxicas contra las células RPMI 8226 en medio que contiene 1% de FBS o 10% de FBS. Hubo una disminución de menos de tres veces en la media de EC₅₀ de las Formulas II-16, II-17 y la Formula II-18 cuando se probaron con medio que contiene 10% de FBS, con relación al medio que contiene 1% de FBS.

[0477] Los datos de la Tabla 10 resumen los efectos inhibidores de crecimiento de la Formula II-16 contra líneas celulares de adenocarcinoma de colon humano, HT-29 y de melanoma de murina, B16-10 en medio que contiene 1% o 10% de FBS.

Tabla 10
Valores EC₅₀ Medios de la Formula II-16 contra células HT-29 y B16-F10 en medio que contiene 1% o 10% de FBS

Compuesto	HT-29, media EC ₅₀ (nM) ±		B16-F10, media EC ₅₀ (nM) ±	
	DE		DE	
	1% de FBS	10% de FBS	1% de FBS	10% de FBS
II-16	16 ± 5	23 ± 10	18 ± 9	13 ± 1

[0478] Los valores EC₅₀ medios indican que la Formula II-16 fue citotóxica contra las células HT-29 y B16-F10 en medio que contiene 1% o 10% de FBS. Hubo una disminución de menos de dos veces en la media de EC₅₀ de la Formula II-16 cuando se probó con medio que contiene 10% de FBS, con relación al medio que contiene 1% de FBS. Tomados juntos, estos datos muestran que con respecto a la actividad citotóxica *in Vitro* contra las líneas celulares de tumor, las Formulas II-16, II-17 y la Formula II-18 mantienen actividad biológica similar en la presencia de 1% o 10% de FBS.

Ejemplo 43

[0479] La toxina ántrax es responsable de los síntomas asociados con ántrax. En esta enfermedad, las esporas *B. anthracis* se inhalan y alojan en los pulmones en donde son ingeridas por los macrófagos. Dentro del macrófago, las esporas germinan, se replican, produciendo el exterminio de las células. Antes de que ocurra el exterminio, sin embargo, los macrófagos infectados migran a los nodos linfáticos en donde al morir, liberan sus contenidos, permitiendo que el organismo entre a la corriente sanguínea, se replique más y secrete toxinas letales.

[0480] Dos proteínas denominadas antígeno protector (PA 83 kDa) y factor letal (LF, 90 kDa), juegan un papel clave en la patogénesis del ántrax. Estas proteínas se conocen colectivamente como toxina letal (LeTx). Cuando se combinan, PA y LF provocan muerte cuando se inyectan intravenosamente en animales. La toxina letal también es activa en unas cuantas líneas de cultivo celular de macrófagos provocando muerte celular dentro de unas pocas horas. LeTx puede inducir tanto a necrosis como a apoptosis en células RAW264.7 tipo macrófago de ratón ante el tratamiento *in vitro*.

Ensayo Basado en Células *in Vitro* para inhibidores de Citotoxicidad Mediada por Toxina Letal.

[0481] Células RAW264.7 (obtenidas del American Type Culture Collection) se adaptaron y mantuvieron en medio RPMI-1640 suplementado con suero bovino fetal al 10%, L-glutamina 2mM y Penicilina/estreptomicina al 1% (medio completo) a 37 °C en un incubador de CO₂ al 5% humidificado. Para el ensayo, las células fueron colocadas en placa durante la noche en medio completo a una concentración de 50,000 célula/agujero en una placa de 96-agujeros. El medio fue removido al día siguiente y reemplazado con medio completo libre de suero con o sin concentraciones variables de las Formulas II-2, II-3, II-4, II-5A, II-5B, II-13C, II-18 y IV-3C partiendo de 330 nM y diluyendo a intervalos ½ log para una respuesta a dosis de 8 puntos. Después de una pre-incubación de 45 minutos, se agregaron 1 µg/ml de LF y 1 µg/ml de PA solo o en combinación (LF:PA, también denominado toxina letal (LeTx)) también a las células. LF y PA recombinante se obtuvieron de List Biological Laboratories. Placas adicionales sin LeTx agregado se incluyeron como control. Las células fueron entonces incubadas por seis horas seguido por la adición de 0.02 mg/ml

de colorante resazurin (Molecular Probes, Eugene, OR) preparado en PBS libre de Mg++, Ca++ (Mediatech, Herndon, VA). Después las placas fueron incubadas 1.5 horas adicionales antes de la evaluación de viabilidad celular. Ya que resazurin se metaboliza en células vivas, la fototoxicidad o viabilidad celular pueden ser evaluadas midiendo la fluorescencia utilizando filtros de excitación de 530 y emisión 590. Los datos se expresan como viabilidad porcentual comparada con un control de DMSO solo (alto) y control de LeTx solo (bajo) utilizando la siguiente ecuación: viabilidad por ciento = 100*((OD medido – control bajo)/(control alto – control bajo)).

10

Inhibición de Citotoxicidad Mediada por Toxina Letal de Ántrax en Células RAW 264.7

[0482] Los datos de la FIG. 11 resumen los efectos de la Formula II-2, Formula II-3 y Formula II-4 contra la toxicidad mediada por LeTx de la línea celular tipo macrófago murino RAW 264.7. El tratamiento de células RAW 264.7 con la Formula II-2 y Formula II-4 produjo un aumento en la viabilidad de células tratadas con LeTx con valores EC₅₀ de 14nM (FIG. 11). Los valores EC₅₀ para la Formula II-3 para la protección LeTx no se determinaron a las concentraciones probadas (EC₅₀>330nM, la concentración máxima evaluada). Los datos de la Tabla 11 muestran los efectos de las Formulas II-5A, II-5B, II-13C, II-18 y IV-3C contra citotoxicidad mediada por LeTx de la línea celular tipo macrófago murino RAW 264.7. El tratamiento de las células RAW 264.7 con la Formula II-5A y II-18 muestran un incremento en la viabilidad de células RAW 264.7 tratadas con LeTx, con valores EC₅₀ de 3nM y 4nM respectivamente. El tratamiento con la Formula II-5B produjo un aumento en la viabilidad de células tratadas con LeTx, con un valor EC₅₀ de 45nM. Los valores EC₅₀ para las Formulas II-13C y IV-3C para protección de LeTx no pudieron determinarse a las concentraciones probadas (EC₅₀>330nM, la concentración máxima evaluada).

30

Tabla 11: valores EC₅₀ para inhibición de citotoxicidad celular RAW 264.7
medidada por toxina letal de ántrax

Compuesto	EC ₅₀ (nM)
Formula II-18	4

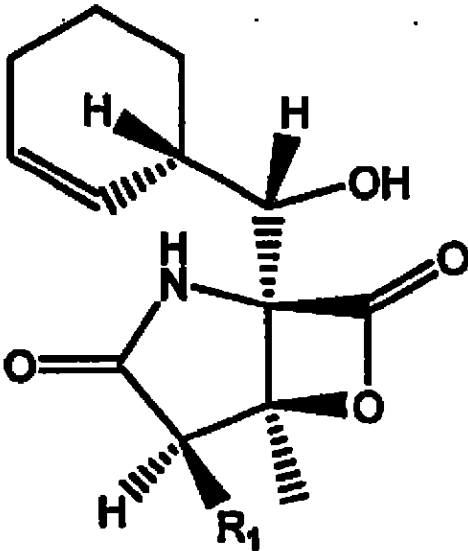
Compuesto	EC ₅₀ (nM)
Formula II-5A	3
Formula II-5B	45
Formula II-13C	>330Nm
Formula IV-3C	>330nM

5

Ejemplo 44
Relación Estructura-Actividad de la Cadena Lateral R₁

10

[0483] Se infirió una relación estructura-actividad para la cadena lateral R₁ de los compuestos revelados, y específicamente los compuestos de las Formulas (I), (II), (III), (IV) y (V) analizando la actividad relativa de varis compuestos que tienen la formula:



15

[0484] Estos compuestos fueron analizados para citotoxicidad de las células RPMI y para la inhibición de NF-κB y las actividades tipo quimiotripsina, tripsina y caspasa de la proteasoma 20S. Los resultandos de 6 compuestos representativos se presentan en la Tabla 12.

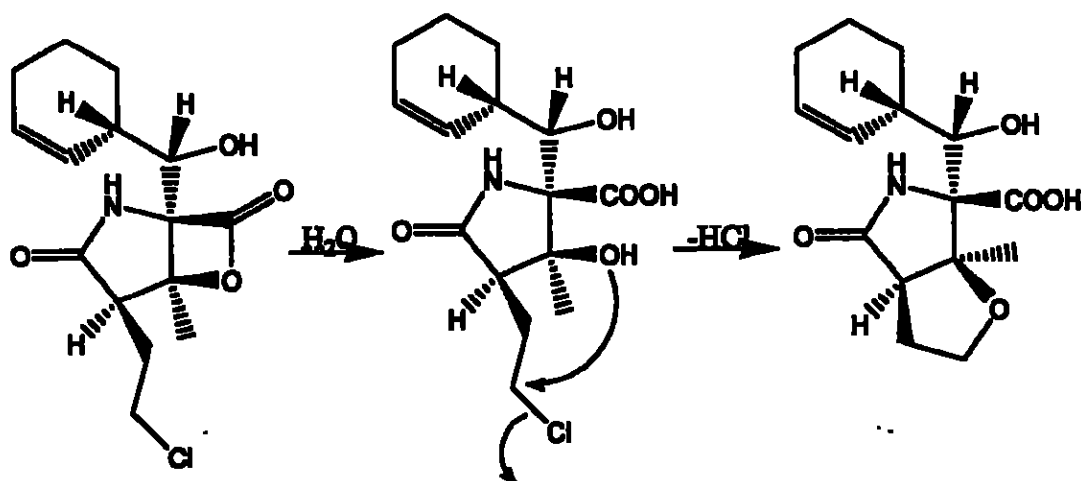
20

Tabla 12: Valores EC50 para las compuestos que tienen diferentes grupos R₁

Compuesto	R ₁	Citotoxicidad de RPMI EC ₅₀ (nM)	NF-κB EC ₅₀ (nM)	Proteasoma tipo quimi tripsina EC ₅₀ (nM)	Proteasoma tipo tripsina EC ₅₀ (nM)	Proteasoma tipo caspasa EC ₅₀ (nM)
II-16	CH ₂ CH ₂ Cl	7 ± 0.4	11 ± 3	2.6 ± 0.2	21 ± 2.6	401 ± 93
II-18	CH ₂ CH ₂ Br	6.3, 6.3	11,9	2.3, 2	14, 14	286, 213
II-19	CH ₂ CH ₂ I	6, 7	10, 7	3, 3	13, 15	573, 739
II-17	CH ₂ CH ₃	8150, 3460	960 ± 210	26 ± 6.7	573, 602	1247, 1206
II-20	CH ₃	8510 ± 3260	849 ± 225	7.7 ± 3.0	318, 321	1425, 1420
II-21	CH ₂ CH ₂ OH	> 20000, > 20000	3172, 2707	7, 8	720, 879	2585, 2328

5 **[0485]** Los resultados de los ensayos anteriores se pueden interpretar para sugerir que los compuestos que tienen grupos R₁ de cloroetilo, bromoetilo, o yodoetilo son inhibidores potentes de la proteasoma y exhiben citotoxicidad muy potente. En contraste, los compuestos que tienen grupos R₁ de metilo, etilo o hidroxietilo mostraron citotoxicidad relativamente baja
10 (disminución de 3-log de potencia), inhibición de NF-κB inferior (disminución de 3-log de potencia), y una inhibición de proteasoma del tipo caspasa (2 a 10 veces menos potente) y del tipo tripsina (20 a 50 veces menos potente) menores.

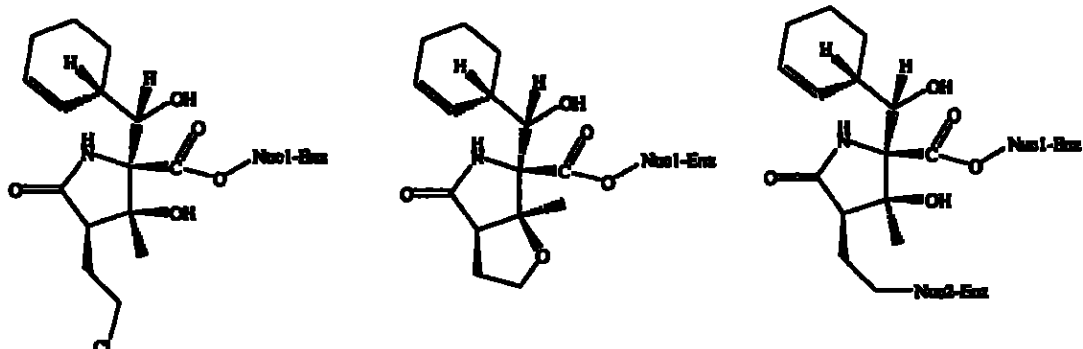
15 **[0486]** Sin estar ligado a ninguna teoría particular, los Solicitantes notan que los resultados anteriores soportan la hipótesis que la actividad aumentada de los compuestos que contienen Cl, Br, o I en el grupo R₁ se puede deber a la propiedad del halógeno de ser un buen grupo saliente. Esta hipótesis está soportada por el hecho que se observa la apertura del anillo
20 de lactona del compuesto II-16 para formar un éter cíclico a través de una sustitución nucleofílica en donde el cloro es desplazado de acuerdo con la siguiente reacción:



[0487] Es plantea como hipótesis que en los compuestos que tienen un buen grupo saliente en la cadena lateral R_1 , tales como los compuestos II-16, II-18 y II-19, la adición nucleofílica de la proteasoma al anillo β -lactona forma un éter cíclico de una forma similar a la reacción anterior. Se plantea como hipótesis que el éter cíclico, o la formación del mismo, interactúa favorablemente con la proteasoma.

[0488] Sin estar ligado a ninguna teoría particular, los Solicitantes notan que los resultados anteriores también soportan la hipótesis alternativa que un segundo nucleófilo de la proteasoma desplaza el grupo saliente, formando así un aducto covalente de dos puntos entre el compuesto y la enzima. En cualquier caso, la funcionalidad del grupo saliente en la cadena lateral R_1 promueve la interacción aumentada entre el compuesto y la enzima y promueve así la actividad incrementada. Por lo tanto, se puede esperar que los compuestos que tienen otros grupos salientes en la cadena lateral R_1 muestren actividad alta.

[0489] Sin estar ligado a ninguna teoría particular, los Solicitantes notan que los resultados anteriores también soportan la hipótesis de un grupo saliente de punto simple. Como un ejemplo, la presencia de un halógeno u otro grupo saliente en la cadena lateral R_1 promueve la entrega del compuesto a su objetivo, tal como un objetivo intracelular u otro biológico, mejorando así su efecto terapéutico. Un ejemplo de un grupo saliente de punto simple se ilustra en el diagrama mostrado a continuación.



Aducto fármaco-enzima
Covalente de punto simple

Aducto fármaco-enzima
Covalente de punto simple con
Desplazamiento de Cl Intramolecular

Aducto fármaco-enzima
covalente de 2 puntos

5

[0490] "Grupos salientes" como se usa aquí, se refiere a cualquier átomo o mitad que es capaz de ser desplazada por otro átomo o mitad en una reacción química. Más específicamente, en algunas realizaciones, "grupo saliente" se refiere al átomo o mitad que es desplazado en una reacción de sustitución nucleofílica. En algunas realizaciones, "grupos salientes" son cualquier átomo o mitad que son bases conjugadas de un ácido fuerte. Características y ejemplos no limitantes de grupos salientes se pueden encontrar, por ejemplo, en *Organic Chemistry*, 2ª ed., Francis Carye (1992), páginas 328-331; *Introduction to Organic Chemistry*, 2ª ed., Andrew Streitweiser and Clayton Heathcock (1981), páginas 169-171; y *Organic Chemistry*, 5ª ed., John MCMurry (2000), páginas 398 y 408; todas las cuales están incorporadas aquí para referencia en su totalidad.

10

15

20

Ejemplo 45

Relaciones Estructura Actividad

[0491] Los datos establecidos en las Tablas listadas anteriormente ilustran un número de realizaciones preferidas. Con respecto a la Formula II, los compuestos que tienen un sustituyente halogenado en R₁ son preferidos, y tales compuestos son generalmente equipolentes a lo largo de los ensayos descritos anteriormente. Los más preferidos con etil n-halogenado en R₁.

25

[0492] Adicionalmente, los compuestos más preferidos con un grupo hidroxí en E₅ y los carbonos unidos, están en una configuración S (los compuestos que tienen la estereoquímica del Compuesto II-18, por ejemplo). La oxidación desde un grupo hidroxí a una cetona es menos preferida.

30

[0493] En una realización preferida, el sustituyente preferido en R_1 es ciclohexeno. En otra realización preferida, el ciclohexeno es oxidado a un epóxido. Los compuestos con hidrogenación del enlace doble del sustituyente ciclohexeno son menos preferidos.

5

[0494] Adicionalmente, en algunas realizaciones, R_3 es preferiblemente metilo, siendo etilo el menos preferido.

10

Ejemplo 46

Inhibición de Angiogénesis

15

[0495] La angiogénesis es un proceso fisiológico importante, sin el cual el desarrollo embrionario y sanación de heridas no ocurriría. Sin embargo, la angiogénesis excesiva o inapropiada está asociada con un número de enfermedades, condiciones, y resultados de tratamientos adversos. Ejemplos de tipos de enfermedades y condiciones asociadas con angiogénesis excesiva incluyen trastornos inflamatorios, tales como inflamación inmune y no inmune, artritis reumatoide, reumatismo articular crónico y soriasis; trastornos asociados con invasión inapropiada o inoportuna de vasos tales como retinopatía diabética, glaucoma neovascular, retinopatía de premadurez, degeneración macular, rechazo de injerto córneo, fibroplasia retrolental, rubeosis, proliferación capilar en placas ateroscleróticas y osteoporosis; y trastornos asociados con cáncer, incluyendo por ejemplo, tumores sólidos, metástasis de tumor, tumores que se portan en la sangre tales como leucemias, angiofibromas, sarcoma de Kaposi, tumores benignos tales como hemangiomas, neuromas acústicos, neurofibromas, traquomas, y granulomas poligénicos, así como otros cánceres que requieren neurovascularización para soportar el crecimiento de tumor. Ejemplos adicionales de enfermedades dependientes de la angiogénesis incluyen, por ejemplo, Síndrome de Osler-Webber; angiogénesis miocárdica; neovascularización de placa; tenosinovitis, articulaciones hemofílicas y granulación de heridas. Adicionalmente, la angiogénesis excesiva también está asociada con problemas clínicos como parte de los implantes biológicos y mecánicos (implantes de

20

25

30

35

tejido/órgano, stents, etc.). Las composiciones presentes se pueden usar para inhibir la angiogénesis, y así en el tratamiento de tales condiciones. Otras enfermedades en las cuales la angiogénesis juega un papel, y para las cuales los compuestos y composiciones presentes se pueden usar, son conocidas por los expertos en la técnica.

[0496] Una discusión particular de la angiogénesis en un número de condiciones patofisiológicas tales como cáncer, artritis reumatoide, retinopatía diabética, degeneración macular relacionada con la edad, endometriosis y obesidad se encuentra en Folkman J. (1985) Tumor angiogenesis. *Adv Cancer Rec.* 1985; 43: 175-203; Folkman, J. (2001). Enfermedades dependientes de la angiogénesis. *Semin Oncol*, 28, 536-42; Grosios, K., Word, J., Esser, R., Raychaudhuri, A. & Dawson, J. (2004). La inhibición de la angiogénesis por el inhibidor novedoso de tirosina cinasa del receptor VEGF, PTK787/ZK222584, produce efectos anti-ártríticos significativos en modelos de artritis reumatoide. *Inflamm Res*, 53, 133-42; Hull, M.L., Charnock-Jones, D.S., Chan, C.L., Bruner-Tran, K.L., Osteen, K.G., Tom, B.D., Fan, T.P. & Smith, S.K. (2003). Los agentes angiogénicos, son inhibidores efectivos de la endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 88, 2889-99; Liu, L. & Meydani, M. (2003). Los inhibidores de la angiogénesis pueden regular la adiposidad. *Nutr Rev*, 61, 384-7; Mousa, S.A. & Mousa, A.S. (2004). Inhibidores de la angiogénesis: direcciones actuales & futuras. *Curr Pharm Des*, 10, 1-9. Cada una de las referencias descritas anteriormente está incorporada aquí para referencia en su totalidad.

[0497] Los compuestos revelados aquí inhiben la angiogénesis. Los otros compuestos revelados aquí son probados en un ensayo de migración transagujero e inhiben la migración. Los compuestos bloquean la migración inducida por el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) de células de mieloma múltiple en un ensayo de migración transagujero.

[0498] Los compuestos revelados aquí muestran actividad inhibidora de angiogénesis en cualquiera de las varias pruebas y ensayos de angiogénesis diferentes, incluyendo uno o más de los siguientes.

[0499] Los compuestos revelados aquí muestran actividad anti-angiogénica en varios ensayos *in Vitro* e *in vivo* diferentes. Algunos ejemplos

incluyen: ensayos *in vitro* para la evaluación de los compuestos anti-angiogénesis, incluyen, 1) el ensayo de cámara Boyden modificada que evalúa la migración de células endoteliales en respuesta a factores pro-angiogénicos (Alessandri G, Raju K, Gullino PM. (1983) Mobilization of capillary endothelium *in vitro* induced by effectors of angiogenesis *in vivo*" Cancer Re. 43(4): 1790-7),

2) Ensayos de diferenciación tales como el ensayo Matrigel en el cual se analiza la unión, migración y diferenciación de células endoteliales en tubulos (Lawley TJ, Kubota Y. (1989). Inducción de diferenciación morfológica de células endoteliales en cultivo. J. Invest Dermatol. Aug; 93 (2 supl); 59S-61S, y

3) ensayos de cultivo de órganos en los cuales el brote de endoteliales (y otras células) es monitoreado (Nicosia RF, Ottinetti A (1990). El crecimiento microvasos en cultivo de matriz libre de suero de aorta de rata. Un ensayo cuantitativo de angiogénesis *in vitro*. Lab Invest. Jul; 63(1):115-22.). Algunos ensayos *in vivo* para la evaluación de inhibidores de angiogénesis son 1)

ensayos de implantación de esponja, durante los cuales esponjas que contienen células y/o factores angiogénicos y la sustancia de prueba son implantadas subcutáneamente en animales para el estudio de la angiogénesis *in vivo*. (Plunkett ML, Hailey Ja. (1990). Un modelo de angiogénesis cuantitativo *in vivo* que usa células de tumor atrapadas en alginato. Lab Invest. 1990. Abril; 62(4); 510-7), 2) el ensayo de membrana corioalantónica de polluelo en la cual los compuestos de prueba son insertados a través de una ventana, cortados en cáscara de huevo. La falta de un sistema madre inmune en el día 7'8 de edad de embiones de polluelo permite el estudio de angiogénesis inducida por tumor (Folkman J. (1985). Tumor Angiogenesis. Adv Cancer Res. 1985; 43: 175-203), y 3) varios modelos de tumor en los cuales se pueden usar diferente análisis histológicos específicos para examinar el efecto en los vasos sanguíneos, tales como densidad vascular (teñido CD31/CD34), flujo sanguíneo y necrosis/apóptosis de tumor concomitante (teñido TUNEL). Ejemplos de ensayos *in vitro* incluyen ensayos de proliferación de células (HUVEC célula endotelial de vena umbilical humana), aórticas, capilares); ensayos de proliferación de células endoteliales; ensayos de síntesis del ADN celular endotelial; ensayos de brote celular endotelial (anillo aórtico); ensayos de migración celular endotelial (mencionado anteriormente; quimiocinesis (oro coloidal), quimiotaxis (cámara de Boyden)); ensayos de formación de tubo celular endotelial; ensayos de apoptosis endotelial; ensayos de viabilidad celular endotelial (azul de tripano); líneas celulares endoteliales transfectadas por el factor de angiogénesis; y microperlas magnetizadas en células endoteliales.

Cada una de las referencias de este párrafo están incorporadas aquí para referencia en su totalidad.

[0500] Ejemplos de ensayos *in vivo* incluyen pruebas de cámara transparentes (e.g., oreja de conejo, mejilla de hámster, ventana craneal, y piel dorsal); implantes de matriz (e.g., inyección subcutánea usando alginato de sodio, disco subcutáneo (implante de espuma de polivinilo), saco de aire dorsal de rata, implante de esponja); ensayos de microbolsa de cornea, por ejemplo, en conejos y otros roedores; ensayos de implante de cámara de ojo anterior/iris; ensayos de ratones y eliminación; constricción aórtica (corazón) en cerdo y perro; pruebas de isquemia de extremidad trasera de conejo; vascularización en tejido (inoculación intradérmica, cavidad peritoneal/epiplón con implante; implantes de tumor, por ejemplo en conejos, ratones o ratas.

[0501] También se realizan ensayos *ex vivo* usando los compuestos revelados. Ejemplos incluyen CAM (ensayo de membrana corioalantóica de polluelo) y CAM ventral con gel de polímero. Inmunoensayos tales como ensayos de suero, ensayos de orina, ensayos del fluido cerebroespinal y ensayos inmunohistoquímicos de tejido.

[0502] Algunos de los ensayos anteriores se describen en los siguientes documentos, cada uno de los cuales está incorporado aquí para referencia en su totalidad. Grant et al., *In vitro Cell Dev. Biol.* 27A:327-336 (1991); Min et al., *Cancer Res.* 56: 2428-2433 (1996); Schnaper et al., *J. Cell. Physiol.* 165:107-118 (1995); Schnaper et al., *J. Cell. Physiol.* 165: 107-118 (1995); Oikawa et al., *Cancer Lett.* 59:57-66 (1991).

[0503] Las realizaciones se refieren a métodos para usar los compuestos y composiciones descritas aquí, solas o en combinación con otros agentes, para inhibir la angiogénesis y para tratar o aliviar enfermedades y condiciones asociadas con la angiogénesis excesiva o inapropiada. Preferiblemente, la inhibición ocurre en conexión con vascularización relacionada con una enfermedad asociada con la angiogénesis, tal como cáncer o cualquier otra enfermedad descrita anteriormente, y aquellas conocidas por los expertos en la técnica. Los compuestos y composiciones pueden ser entregados en una cantidad inhibidora apropiada. La cantidad inhibidora significa una cantidad de un compuesto o composición requerida para

efectuar una dismunición en la magnitud, cantidad o velocidad de la neurovascularización cuando es administrada a un tejido; animal o individuo. La dosis de compuesto o composición requerida para ser terapéuticamente efectiva dependerá, por ejemplo, de la enfermedad dependiente de angiogénesis a ser tratada, la ruta y forma de administración, la potencia y vida media de la molécula que es administrada, el peso y condición del tejido, animal o individuo, y las terapias previas o concurrentes. La aplicación de cantidad apropiada del método puede ser determinada por los expertos en la técnica, usando la guía provista aquí. Por ejemplo, la cantidad puede ser extrapolada de los ensayos de angiogénesis *in vitro* o *in vivo* descritos anteriormente. El experto en la técnica reconocerá que la condición del paciente necesita ser monitoreada a través del curso de la terapia y que la cantidad de la composición administrada pueda ser ajustada consecuentemente.

[0504] Los presentes compuestos y composiciones pueden ser y usarse también en conjunción con otros inhibidores de la angiogénesis. Los inhibidores angiogénicos son conocidos en la técnica y se pueden preparar mediante métodos conocidos. Por ejemplo, los inhibidores angiogénicos incluyen compuestos inhibidores de integrina tales como anticuerpos inhibidores de integrina α -V-beta-3 (α V β 3), proteínas de adhesión celular o fragmentos funcionales de las mismas que contienen una secuencia de enlace de adhesión celular. Inhibidores angiogénicos adicionales incluyen, por ejemplo, angiostatina, fragmentos funcionales de angiostatina, endostatina, inhibidores del factor de crecimiento de fibroblasto (FGF), inhibidores del receptor FGF, inhibidores VEGF, inhibidores del receptor VEGF, inhibidores del factor de permeabilidad vascular (VPF), inhibidores del receptor VPF, trombospondina, factor de plaqueta 4, interferona alfa, interferona gama, proteína 10 inducible de interferona, interleucina 12, gro-beta, y el fragmento de terminal N de 16 kDa de prolactina, talidomida, y otros mecanismos para la inhibición de angiogénesis.

[0505] Así, los métodos pueden incluir el paso de administrar un compuesto o composición a un animal que sufre de una condición asociada con angiogénesis excesiva. Los métodos pueden además incluir administrar el compuesto o composición presente junto con otro fármaco anti-angiogénesis o junto con otras terapias para la condición a ser tratada (e.g., con un quimioterapéutico o inmunoterapéutico para tratar el cáncer).

209

[0506] Los compuestos o composiciones pueden ser entregadas en cualquier enfermedad y/o manera apropiada para el paciente. Ejemplos incluyen intravenosa, oral, intramuscular, intraocular, intranasal, intraperitoneal, y similares.

5

[0507] Las siguientes referencias proveen enseñanzas adicionales con respecto a métodos para usar, administrar y ensayar la inhibición de angiogénesis: Protocolos de Angiogénesis (Methods in Molecular Medicine) de J. Clifford Murray, Humana Press (Marzo 15, 2001) ISBN: 0896036987; Tumour Angiogenesis, de R.J. Bicknell, Claire E. Lewis, Napoleone Fe, Oxford University Press (Septiembre 1, 1997) ISBN: 0198549377; y Angiogenesis in Health and Disease: Basic Mechanisms and Clinical Applications, de Gabor M. Rubanyi, Marcel Decker (Noviembre 1 de 1999) ISBN: 0824781023. Cada libro está incorporado aquí para referencia en su totalidad. En particular, los protocolos y métodos están incorporados aquí.

10

15

Ejemplo 47

Formulación para administrar oralmente o similares

[0508] Una mezcla obtenida por batido completo de 1 g de un compuesto obtenido y purificado por el método de la realización, 98 g de lactosa y 1 g de hidroxipropil celulosa, se formó en gránulos por cualquier método convencional. Los gránulos se secan completamente y tamizan para obtener una preparación granular que es adecuada para empacar en botellas o mediante sellado térmico. Las preparaciones de gránulos resultantes se administran oralmente entre aproximadamente 100 ml/día a aproximadamente 1000 ml/día, dependiendo de los síntomas, como lo consideren apropiado los de conocimiento ordinario en la técnica para tratar tumores cancerosos en humanos.

20

25

30

[0509] Los ejemplos anteriormente descritos se establecen solamente para ayudar en la comprensión de las realizaciones. De esta manera, los expertos en la técnica apreciarán que los métodos pueden proporcionar derivados de compuestos.

35

[0510] El experto en la técnica apreciará fácilmente que la presente invención está bien adaptada para llevar a cabo los objetivos y obtener

1/1

los fines y ventajas mencionados, así como aquellos allí inherentes. Los métodos y procedimientos aquí descritos son actualmente representativos de realizaciones preferidas y son ejemplares y no pretenden ser limitaciones del alcance de la invención. Los cambios a estos y a otros usos se le ocurrirán a los expertos en la técnica que están abarcados dentro del espíritu de la invención.

[0511] Será fácilmente obvio para el experto en la técnica que sustituciones y modificaciones diferentes pueden realizarse a las realizaciones aquí descritas sin apartarse del alcance y espíritu de la invención.

[0512] Todas las patentes y publicaciones mencionadas en la descripción son indicativas de los niveles de los expertos en la técnica a la cual se refiere la invención. Todas las patentes y publicaciones están incorporadas aquí para referencia en la misma extensión como si cada publicación individual estuviera específicamente e individualmente indicada como incorporada para referencia.

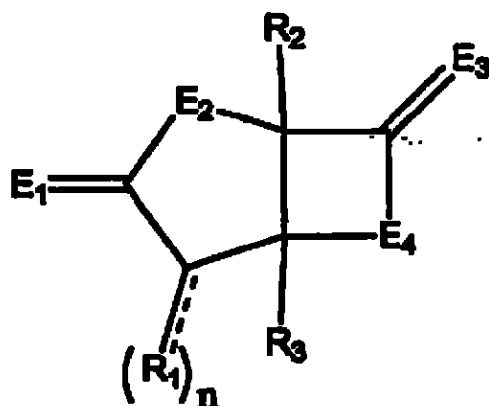
[0513] La invención descrita en forma ilustrativa aquí, puede practicarse convenientemente en la ausencia de cualesquiera elemento o elementos, limitación o limitaciones que no se revelen específicamente aquí. Los términos y expresiones que se han empleado se utilizan como términos de descripción y no de limitación, y no hay intención de que en el uso de estos términos y expresiones se indique la exclusión de equivalentes de las características mostradas o descritas o porciones de los mismos. Se reconoce que diversas modificaciones son posibles dentro del alcance de la invención. De esta manera, deberá entenderse que aunque la presente invención ha sido descrita específicamente por realizaciones preferidas y características, los expertos en la técnica pueden recurrir a modificaciones y variaciones opcionales de los conceptos revelados aquí, y dichas modificaciones y variaciones se consideran que caen dentro del alcance de las realizaciones de la invención.

12

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la estructura de la Formula I y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármaco de los mismos:

5



TAXOL

Formula I

en donde las líneas punteadas indican que el enlace designado es un enlace simple o un enlace doble, y en donde R_1 puede ser seleccionado por separado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, arilocarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado, en donde n es igual a 1 o 2, y si n es igual a 2, entonces R_1 puede ser igual o diferente;

en donde R_2 , se selecciona del grupo que consiste de hidrógeno, halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, arilocarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboniloxi, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado;

22

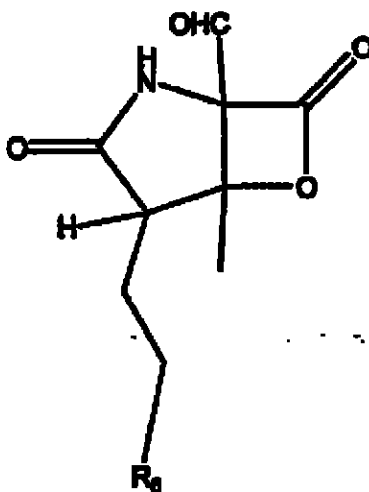
en donde R_3 puede seleccionarse del grupo que consiste de halógeno, variantes mono-substituidas, poli-substituidas o no substituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilloxicarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado;

en donde cada uno de E_1 , E_2 , E_3 y E_4 es un heteroátomo substituido o no substituido; y

con la condición que la Fórmula I no es el Compuesto II-16 o Compuesto II-17.

2. El compuesto de la Relvindicación 1, en donde R_2 es un formilo.

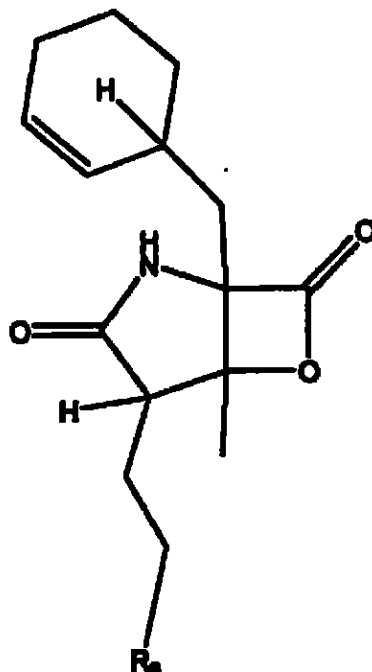
3. El compuesto de la Relvindicación 2, en donde el compuesto:



22

en donde R_6 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

4. El compuesto de la Reivindicación 1, en donde el compuesto es:

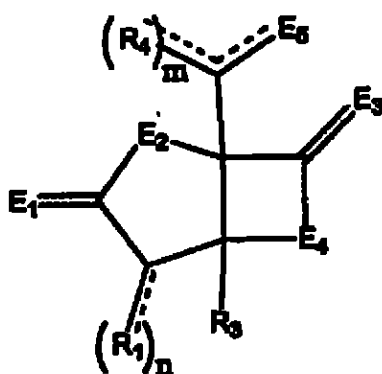


5

en donde R_6 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

5. Un compuesto que tiene la estructura de la Formula II, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos:

10



Formula II

en donde las líneas punteadas indican que el enlace designado es un enlace simple o un enlace doble, y en donde R_1 puede ser seleccionado por separado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes:

15

alquilo C_1-C_{24} saturado, alqueno C_2-C_{24} o alquino C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalqueno, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado, en donde n es igual a 1 o 2, y si n es igual a 2, entonces R_1 puede ser igual o diferente;

en donde R_3 puede seleccionarse del grupo que consiste de un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alqueno C_2-C_{24} o alquino C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalqueno, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado;

en donde R_4 puede seleccionarse por separado del grupo que consiste de un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alqueno C_2-C_{24} o alquino C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalqueno, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado, y m es igual a 1 o 2, y si m es igual a 2, entonces R^4 puede ser igual o diferente;

en donde cada uno de E_1 , E_2 , E_3 , E_4 y E_5 puede ser un heteroátomo sustituido o no sustituido; y

con la condición que la Formula II no es el Compuesto II-16 o el Compuesto II-17.

6. El compuesto de la Reivindicación 5, en donde E_5 se selecciona del grupo que consiste de OH, O, S, N, NH, NH_2 , NOH, NHOH, OR_{10} , SR_{11} , NR_{12} Y $NHOR_{13}$, en donde R_{10} , R_{11} , R_{12} y R_{13} se seleccionan cada uno por separado

del grupo que consiste de hidrógeno, y un alquilo, acilo, arilo y heteroarilo sustituido o no sustituido.

5 7. El compuesto de la Reivindicación 5, en donde n es igual a 1 o 2, y en donde n es igual a 2, al menos un R_1 es CH_2CH_2X , en donde X se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, BR, e I.

8. El Compuesto de la Reivindicación 5, en donde R_3 es metilo.

10 9. El Compuesto de la Reivindicación 5, en donde E_5 es OH.

10. El Compuesto de la Reivindicación 5, en donde cada uno de E_1 , E_3 y E_4 es O y E_2 es NH.

15 11. El Compuesto de la Reivindicación 5, en donde al menos un R_4 es un cicloalcano.

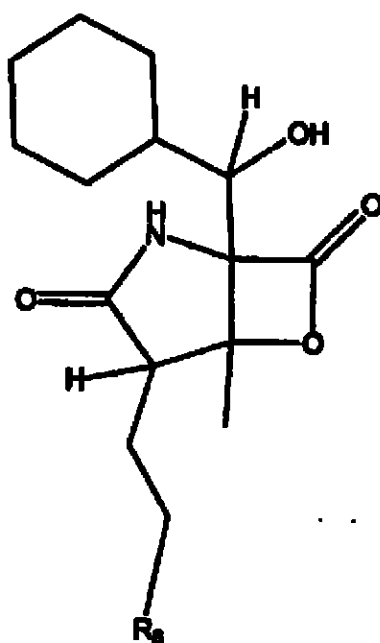
20 12. El compuesto de la Reivindicación 11, en donde n es igual a 2 y al menos uno de los sustituyentes R_1 es hidrógeno y el otro sustituyente R_1 es CH_2CH_2X , en donde X se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I; en donde al menos un R_4 es ciclohexano; en donde E_5 es OH; en donde R_3 es metilo; y en donde cada uno de E_1 , E_3 y E_4 es O, y E_2 es NH.

13. El compuesto de la Reivindicación 12, en donde la estructura es:

25

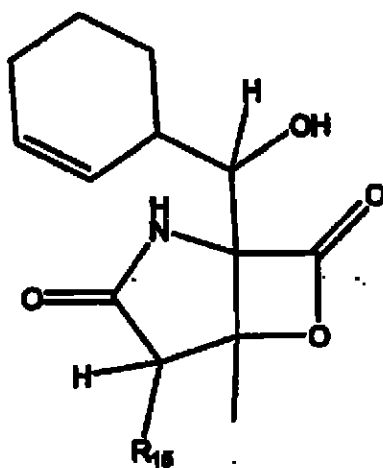
7/12

2/6



en donde R_8 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

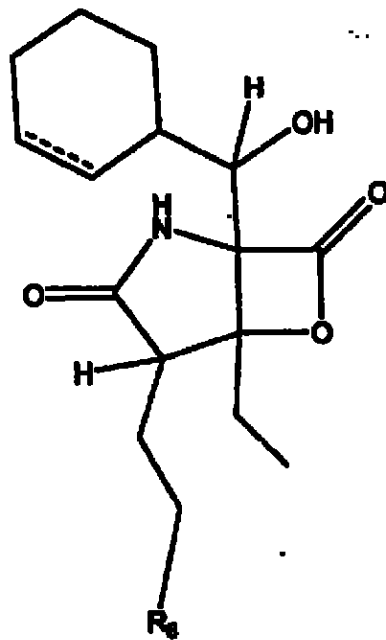
- 5 14. El compuesto de la Reivindicación 5, en donde la estructura es:



10 en donde R_{15} se selecciona del grupo que consiste de metilo, propilo, fluoroetilo, bromoetilo, yodoetilo, hidroxietilo, azidoetilo y tiocianoetilo.

15. El compuesto de la Reivindicación 5, en donde el compuesto es

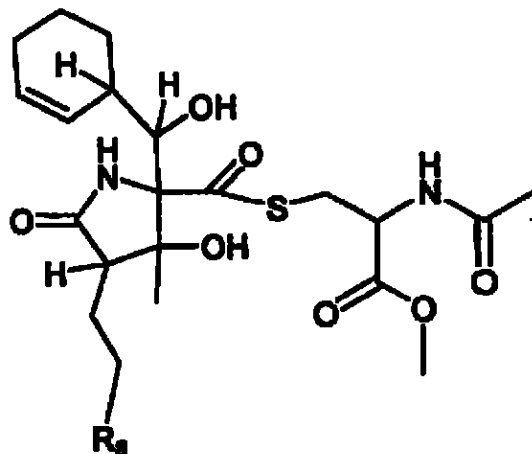
2/6



en donde R_4 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

17. El compuesto de la Reivindicación 5, en donde el compuesto es

5



en donde R_4 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

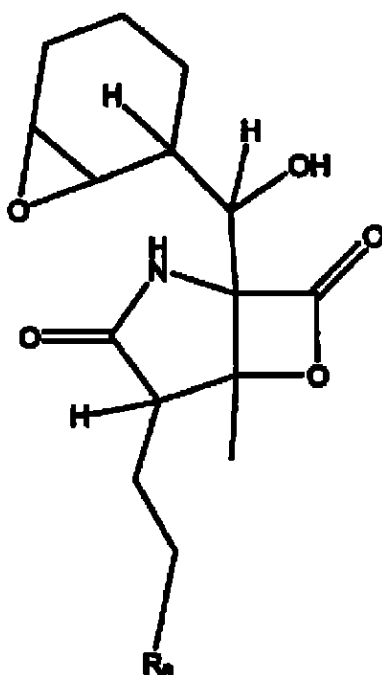
18. El compuesto de la Reivindicación 5, en donde al menos un R_4 es un ciclohexano di-sustituido.

10

19. El compuesto de la Reivindicación 5, en donde al menos un R_4 es un 7-oxa-biciclo[4.1.0]hept-2-ilo.

20. El compuesto de la Reivindicación 19, en donde el compuesto es

15



en donde R_6 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

5 21. El compuesto de la Reivindicación 5, en donde al menos un R_4 es un alquilo ramificado sustituido o no sustituido.

22. El compuesto de la Reivindicación 5, en donde al menos un R_4 es un cicloalquilo y E_5 es un oxígeno.

10

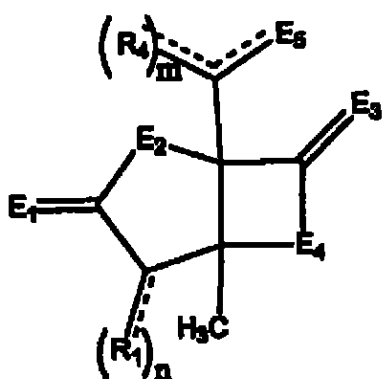
23. El compuesto de la Reivindicación 5, en donde R_1 es un alquilo C_1 a C_5 sustituido o no sustituido.

15

24. El compuesto de la Reivindicación 23, en donde el alquilo se selecciona del grupo que consiste de metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, ter-butilo y pentilo.

25. Un compuesto que tiene la estructura de la Formula III, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármaco de los mismos:

20



Formula III

en donde las líneas punteadas indican que el enlace designado es un enlace simple o un enlace doble, y en donde R_1 puede ser seleccionado por separado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, arilocarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado, en donde n es igual a 1 o 2, y si n es igual a 2, entonces R_1 puede ser igual o diferente;

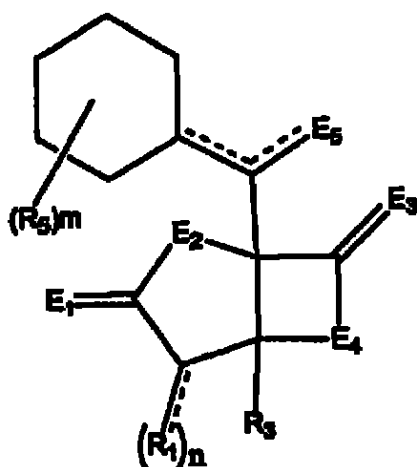
en donde R_4 , puede seleccionarse por separado del grupo que consiste de hidrógeno, un halógeno, variantes mono-substituidas, poli-substituidas o no substituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, arilocarboniloxi, cicloalquilo cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboniloxi, nitro, azido, fenilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado, y m es igual a 1 o 2, y si m es igual a 2, entonces R_4 pueden ser iguales o diferentes; y

en donde cada uno de E_1 , E_2 , E_3 , E_4 y E_5 es un heteroátomo substituido o no substituido; y con la condición que la Formula III no es el Compuesto II-16 o el Compuesto II-17.

26. El compuesto de la Reivindicación 25, en donde R_1 es un alquilo C_1 a C_5 sustituido o no sustituido.

27. El compuesto de la Reivindicación 26, en donde el alquilo se selecciona del grupo que consiste de metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, terbutilo y pentilo.

28. Un compuesto que tiene la estructura de la Formula IV, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos:



Formula IV

en donde las líneas punteadas indican que el enlace designado es un enlace simple o un enlace doble, y en donde R_1 puede ser seleccionado por separado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C_1 - C_{24} saturado, alquenilo C_2 - C_{24} o alquinilo C_2 - C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilloxicarboniloxi, ariloxycarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitró, azido, fenilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado, y n es igual a 1 o 2, y si n es igual a 2, entonces R_1 puede ser igual o diferente;

en donde R_3 puede seleccionarse del grupo que consiste de un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1 - C_{24} saturado, alquenilo C_2 - C_{24} o alquinilo C_2 - C_{24}

22

insaturados, acilo, acloxi, alquiloxicarbonilo, arloxicarbonilo, cicloalquilo, cicloalqueno, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboloxi, nitro, azido, fenilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado;

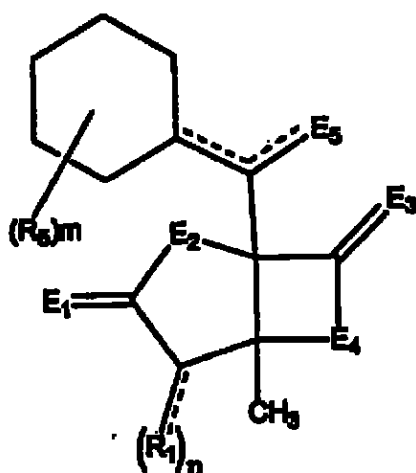
en donde R_5 puede seleccionarse por separado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alqueno C_2-C_{24} o alquino C_2-C_{24} insaturados, acilo, acloxi, alquiloxicarbonilo, arloxicarbonilo, cicloalquilo, cicloalqueno, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboloxi, nitro, azido, fenilo, oxi, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado, en donde m es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 y si m es más de 1, entonces R_5 puede ser igual o diferente; y en donde los sustituyentes R_5 pueden formar un anillo; y

en donde cada uno de E_1 , E_2 , E_3 , E_4 y E_5 es un heteroátomo sustituido o no sustituido.

29. El compuesto de la Reivindicación 28, en donde R_1 es un alquilo C_1 a C_5 sustituido o no sustituido.

30. El compuesto de la Reivindicación 29, en donde el alquilo se selecciona del grupo que consiste de metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, terbutilo y pentilo.

31. Un compuesto que tiene la estructura de la Formula V, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos:



Formula V

en donde las líneas punteadas indican que el enlace designado es un enlace simple o un enlace doble, y en donde R_1 puede ser seleccionado por separado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, arilocarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado, y n es igual a 1 o 2, y si n es igual a 2, entonces R_1 puede ser igual o diferente;

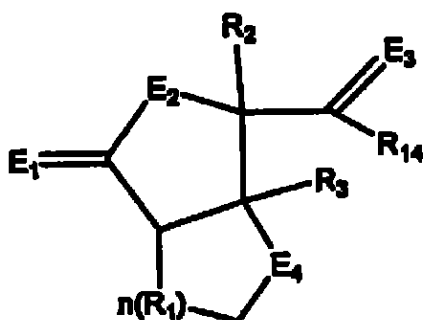
en donde R_5 puede seleccionarse por separado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los siguientes residuos: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquinilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilocarboniloxi, arilocarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, oxi, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado, en donde m es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 y si m es más de 1, entonces R_5 puede ser igual o diferente; y en donde los sustituyentes R_5 pueden formar un anillo; y

en donde cada uno de E_1 , E_2 , E_3 , E_4 y E_5 es un heteroátomo sustituido o no sustituido.

32. El compuesto de la Reivindicación 31, en donde R_1 es un alquilo C_1 a C_5 sustituido o no sustituido.

5 33. El compuesto de la Reivindicación 32, en donde el alquilo se selecciona del grupo que consiste de metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, terbutilo y pentilo.

10 34. Un compuesto que tiene la estructura de la Formula VI, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos:



Formula VI

15 en donde R_1 puede ser seleccionado por separado del grupo que consiste de variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C_1 - C_{24} saturado, alquenilo C_2 - C_{24} o alquinilo C_2 - C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, fenilo, cicloalquilacilo, 20 hidroxi, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de ácido borónico, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado,

en donde n es igual a 1 o 2, y si n es igual a 2, entonces R_1 puede ser igual o diferente;

25

en donde R_2 , puede ser seleccionado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C_1 - C_{24} saturado, alquenilo C_2 - C_{24}

224

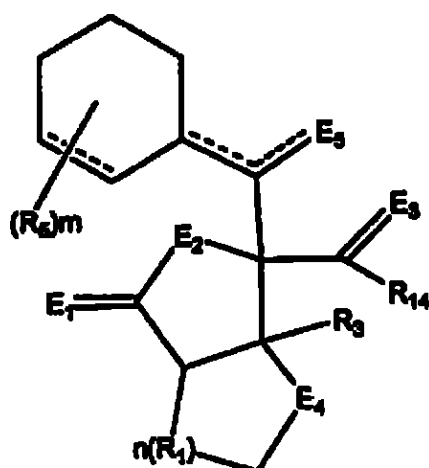
o alquínilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo (incluyendo, por ejemplo, ciclohexilcarbinol), cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboloxi, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxí, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado;

en donde R_3 puede ser seleccionado del grupo que consiste de un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquínilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboloxi, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxí, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado; en donde cada uno de E_1 , E_2 , E_3 y E_4 pueden ser un heteroátomo sustituido o no sustituido; y

en donde en donde R_{14} puede ser seleccionado del grupo que consiste de un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C_1-C_{24} saturado, alquenilo C_2-C_{24} o alquínilo C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquiloxicarboniloxi, ariloxicarboniloxi, cicloalquilo, cicloalquenilo, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboloxi, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxí, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, tioésteres, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado.

35. El compuesto de la Reivindicación 34, en donde el compuesto es:

228



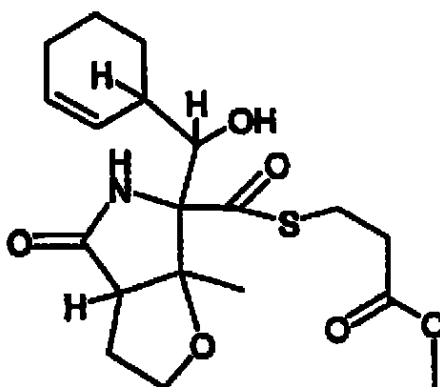
en donde R_1 puede ser seleccionado por separado del grupo que consiste de variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C_1-C_{24} saturado, alqueno C_2-C_{24} o alquino C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilo oxycarbonilo, arilo oxycarbonilo, cicloalquilo, cicloalqueno, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, fenilo, cicloalquilacilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ésteres de ácido borónico y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado; n es igual a 1 o 2, y si n es igual a 2, entonces R_1 puede ser el mismo o diferente.

en donde R_3 puede ser seleccionado del grupo que consiste de un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C_1-C_{24} saturado, alqueno C_2-C_{24} o alquino C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilo oxycarbonilo, arilo oxycarbonilo, cicloalquilo, cicloalqueno, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino, aminocarbonilo, aminocarboiloxi, nitro, azido, fenilo, cicloalquilacilo, hidroxilo, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos, y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado; en donde cada uno de E_1 , E_2 , E_3 y E_4 pueden ser un heteroátomo sustituido o no sustituido.

en donde R_5 puede ser seleccionado por separado del grupo que consiste de un hidrógeno, un halógeno, variantes mono-sustituidas, poli-sustituidas o no sustituidas de los residuos siguientes: alquilo C_1-C_{24} saturado, alqueno C_2-C_{24} o alquino C_2-C_{24} insaturados, acilo, aciloxi, alquilo oxycarbonilo, arilo oxycarbonilo, cicloalquilo, cicloalqueno, alcoxi, cicloalcoxi, arilo, heteroarilo, arilalcoxi carbonilo, alcoxi carbonilacilo, amino,

aminocarbonilo, aminocarboilo, nitro, azido, fenilo, oxi, hidroxi, alquiltio, ariltio, oxisulfonilo, carboxi, ciano, tio, sulfóxido, sulfona, ésteres de sulfonato, tiociano, ácidos y ésteres borónicos y alquilo halogenado incluyendo alquilo polihalogenado; en donde m es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, u 11, y si m es más de 1, entonces R₅ puede ser el mismo o diferente, y en donde los substituyentes R₅ pueden formar un anillo; y en donde cada uno de E₁, E₂, E₃, E₄ y E₅ es un heteroátomo substituido o no substituido.

36. El compuesto de la Reivindicación 49, en donde el compuesto es:



37. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de las Reivindicaciones 1, 5, 25, 28, 46 y 49.

38. La composición farmacéutica de la Reivindicación 37, que comprende además un agente anti-microbiano.

39. Un método para tratar el cáncer, que comprende administrar un compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1, 5, 25, 28, 46 o 49, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármaco de los mismos.

40. El método de la Reivindicación 39, que comprende además los pasos de:

Identificar un sujeto que se beneficiaría de la administración de un agente anticáncer;

Realizar el método en el sujeto.

41. El método de la Reivindicación 39, en donde el cáncer es un mieloma múltiple, un carcinoma colorrectal, un carcinoma de próstata, un

27

adenocarcinoma de seno, un carcinoma pulmonar de células no pequeñas, un carcinoma de ovario o un melanoma.

5 42. El método de la Reivindicación 39, en donde el cáncer es un cáncer resistente a fármaco.

10 43. El método de la Reivindicación 42, en donde el cáncer resistente a fármaco muestra al menos uno de los siguientes: niveles elevados de la bomba de eflujo de P-glicoproteína, expresión aumentada de la proteína asociada a resistencia a múltiples fármacos 1 codificada por *MRP1*, absorción de fármaco reducida, alteración del objetivo del fármaco o aumento en la reparación del daño de ADN inducido por fármaco, alteración de la ruta apoptótica y la activación de las enzimas citocromo P450.

15 44. Un método para inhibir el crecimiento de una célula de cáncer, que comprende contactar una célula de cáncer con un compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1, 5, 25, 28, 46 y 49, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos.

20 45. El método de la Reivindicación 44, en donde la célula de cáncer es un mieloma múltiple, un carcinoma colorectal, un carcinoma de próstata, un adenocarcinoma de seno, un carcinoma pulmonar de célula no pequeña, un carcinoma de ovario o un melanoma.

25 46. Un método para inhibir la actividad de proteasoma que comprende el paso de contactar una célula con un compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1, 5, 25, 28, 46 o 49, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos.

30 47. Un método para inhibir la activación de NF- κ B que comprende el paso de contactar una célula con un compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1, 5, 25, 28, 46 o 49, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos.

35

48. Un método para tratar una condición inflamatoria que comprende administrar una cantidad efectiva de un compuesto de cualquiera de las

28

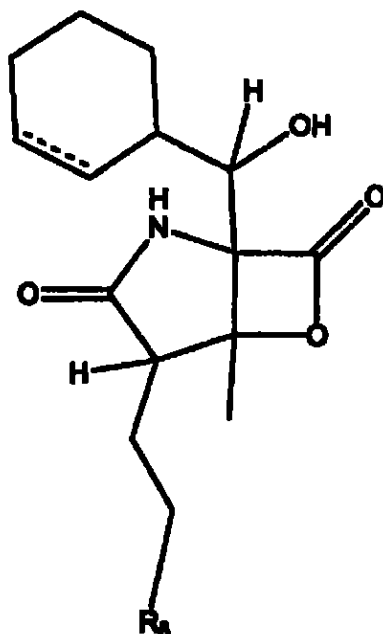
Reivindicaciones 1, 5, 25, 28, 46 o 49, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos, a un paciente en necesidad del mismo.

5 49. El método de la Reivindicación 48, en donde la condición inflamatoria se selecciona del grupo que consiste de artritis reumatoide, asma, esclerosis múltiple, soriasis, apoplejía, e infarto al miocardio.

10 50. Un método para tratar una enfermedad microbiana que comprende administrar una cantidad efectiva de un compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1, 5, 25, 28, 46 o 49, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos, a un paciente en necesidad del mismo

15 51. El método de la Reivindicación 50, en donde la enfermedad microbiana es causada por un microbio seleccionado del grupo que consiste de *B. anthracis*, *Plasmodium*, *Leishmania*, y *Trypanosoma*.

52. El compuesto de la Reivindicación 16, en donde la estructura es:



20 en donde R_8 se selecciona del grupo que consiste de H, F, Cl, Br e I.

25 53. El uso de uno o más compuestos de las Formulas I, II, III, IV, V o VI, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos en el tratamiento de un cáncer, una condición inflamatoria o una infección microbiana.

54. El uso de la Reivindicación 53, en donde el uno o más compuestos en uno o más de un compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1, 5, 25, 28, 31 y 34, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos.

5

55. El uso de la Reivindicación 53 o Reivindicación 54, en donde el cáncer es un mieloma múltiple, un carcinoma colorrectal, o carcinoma de próstata, un adenocarcinoma de seno, un carcinoma pulmonar de célula no pequeña, un carcinoma de ovario o un melanoma.

10

56. El uso de la Reivindicación 53 o Reivindicación 54, en donde el cáncer es un cáncer resistente a fármaco.

15

57. El uso de la Reivindicación 53 o Reivindicación 54, en donde el cáncer resistente a fármaco muestra al menos uno de los siguientes: niveles elevados de la bomba de eflujo de P-glicoproteína, expresión aumentada de la proteína asociada a resistencia a múltiples fármacos 1 codificada por *MRP1*, absorción de fármaco reducida, alteración del objetivo del fármaco o aumento en la reparación del daño de ADN inducido por fármaco, alteración de la ruta apoptótica y la activación de las enzimas citocromo P450.

20

58. El uso de la Reivindicación 53 o Reivindicación 54, en donde la condición inflamatoria es artritis reumatoide, asma, esclerosis múltiple, apoplejía, o infarto al miocardio.

25

59. El uso de la Reivindicación 53 o Reivindicación 54, en donde la infección microbiana es causada por *B. anthracis*, *Plasmodium*, *Leishmania*, y *Trypanosoma*.

30

60. El uso de uno o más compuestos de las Formulas I, II, III, IV, V o VI, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos, para la inhibición de una actividad de proteasoma, o inhibición de la activación de NF- κ B.

35

61. El uso de la Reivindicación 60, en donde el uno o más compuestos es uno o más de un compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1, 5, 25, 28,

236

31 y 34, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos.

5 62. El uso de un compuesto de Formula II, II, III, IV, V o VI, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos, en la preparación de medicamento para el tratamiento de un cáncer, una condición inflamatoria, o una infección bacteriana o para la inhibición de la angiogénesis, una actividad de proteasoma, o activación de NF- κ B.

10 63. El uso de la Reivindicación 62, en donde el uno o más compuestos es uno o más de un compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1, 5, 25, 28, 31 y 34, y sales farmacéuticamente aceptables y ésteres profármacos de los mismos.

15 64. El uso de cualquiera de las Reivindicaciones 53-64, que comprende además el uso de un agente quimioterapéutico, un agente anti-angiogénico, un agente anti-inflamatorio o un inhibidor de proteasoma.

20

362

23\

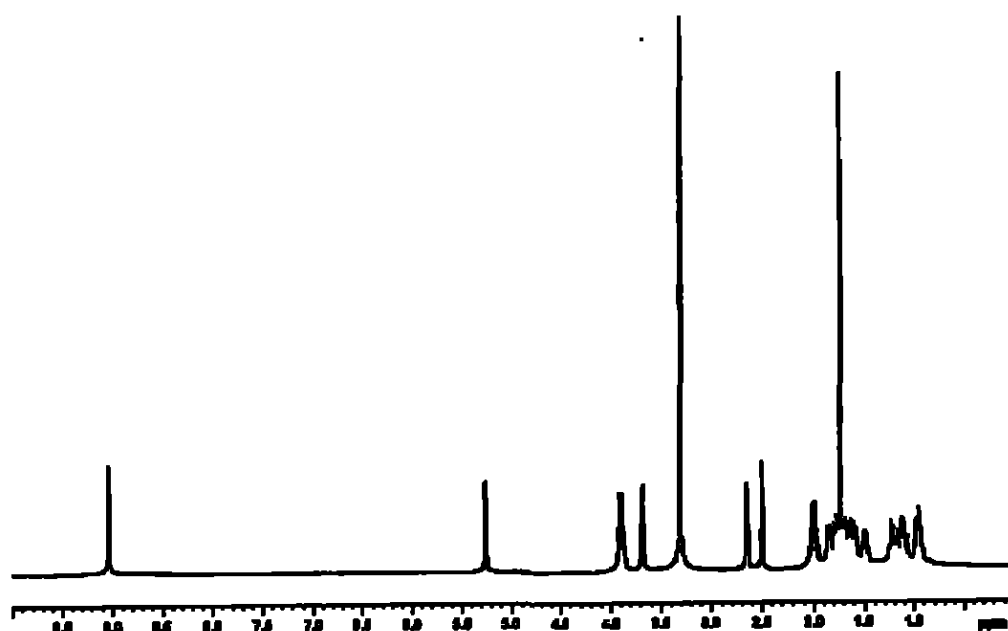


FIG. 1. Espectro de RMN 1H del compuesto de Formula II-2

1

✓

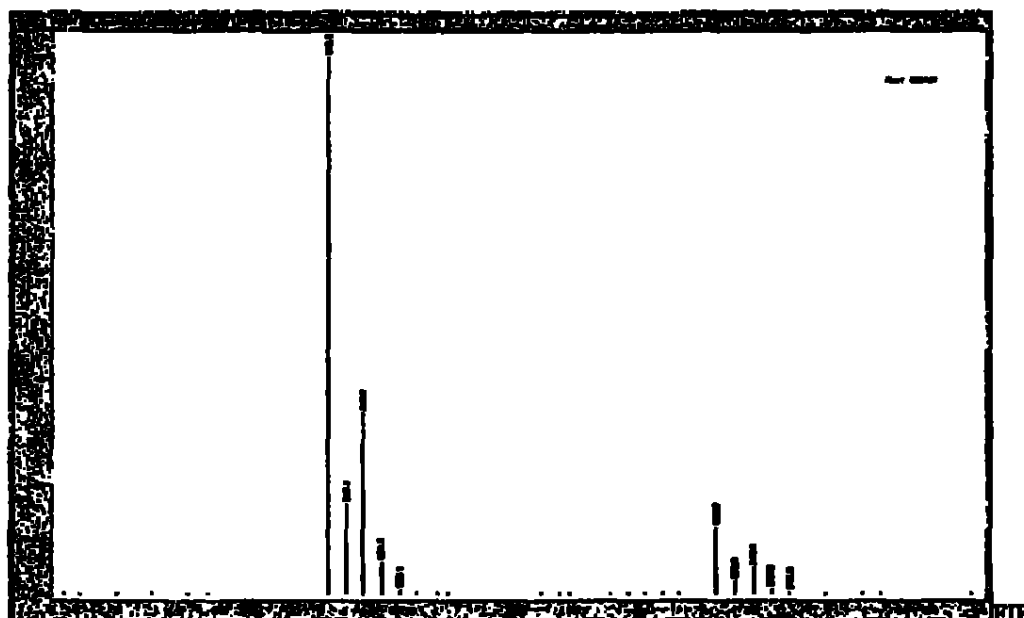


FIG. 2

5

10

15

20

25

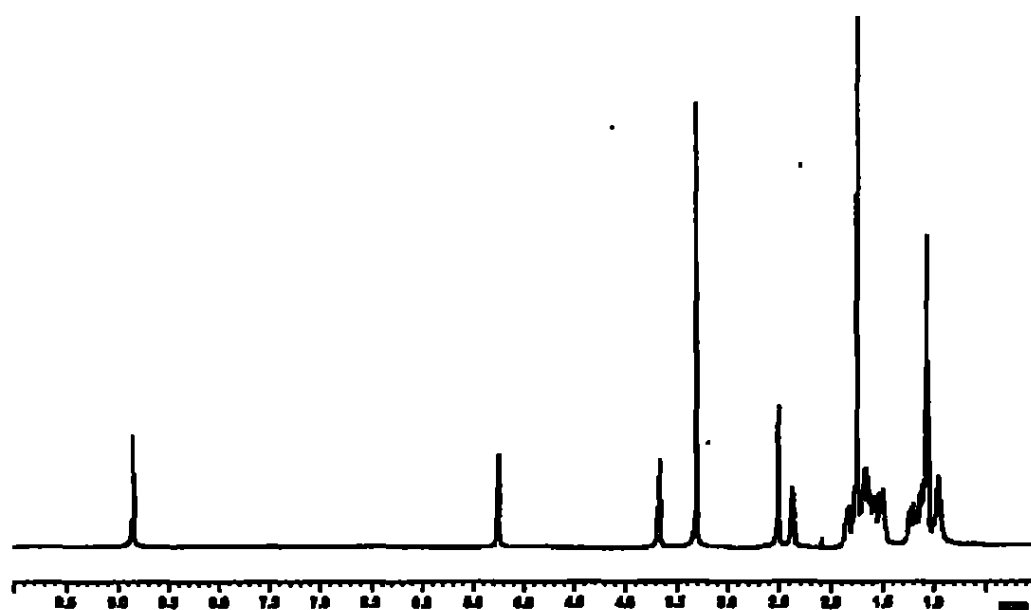


FIG. 3. Espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-3

5

10

15

20

3/33

45

5

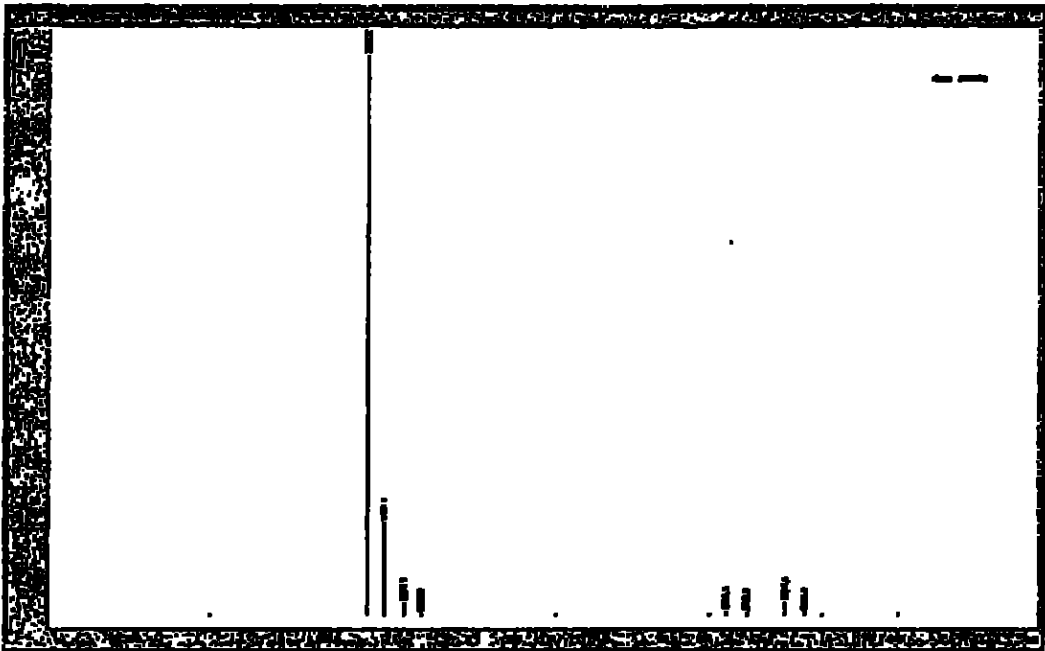


FIG. 4

10

15

20

235

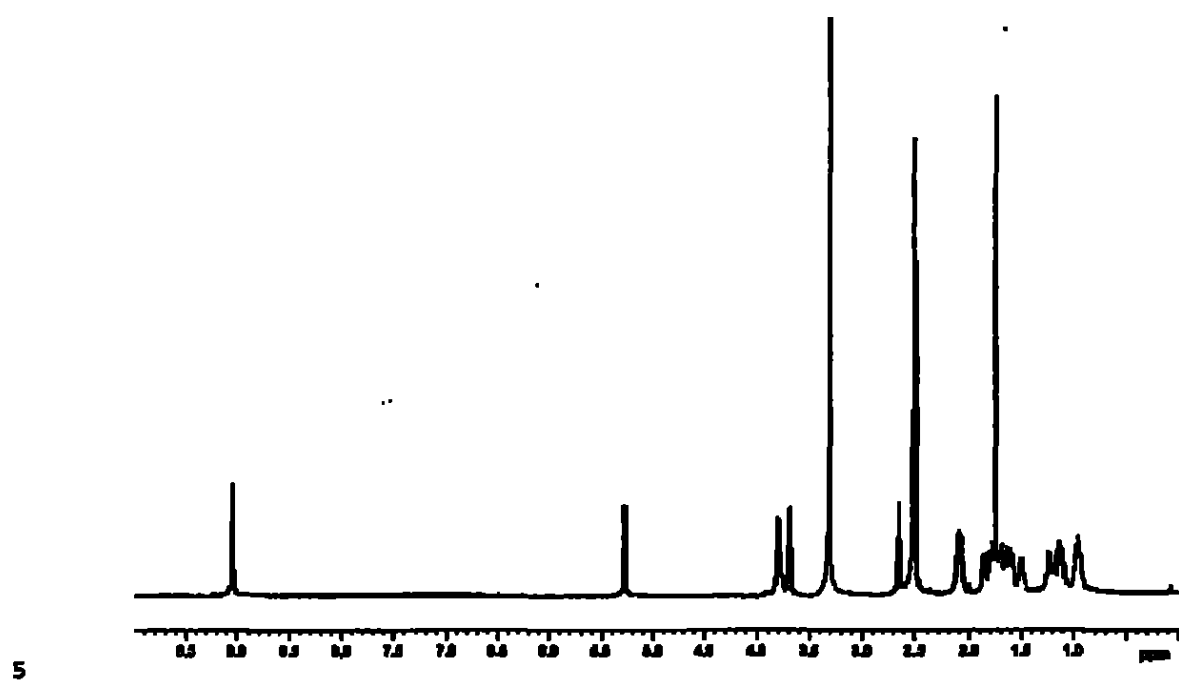


FIG. 5. Espectro de RMN 1H del compuesto de Formula II-4

236

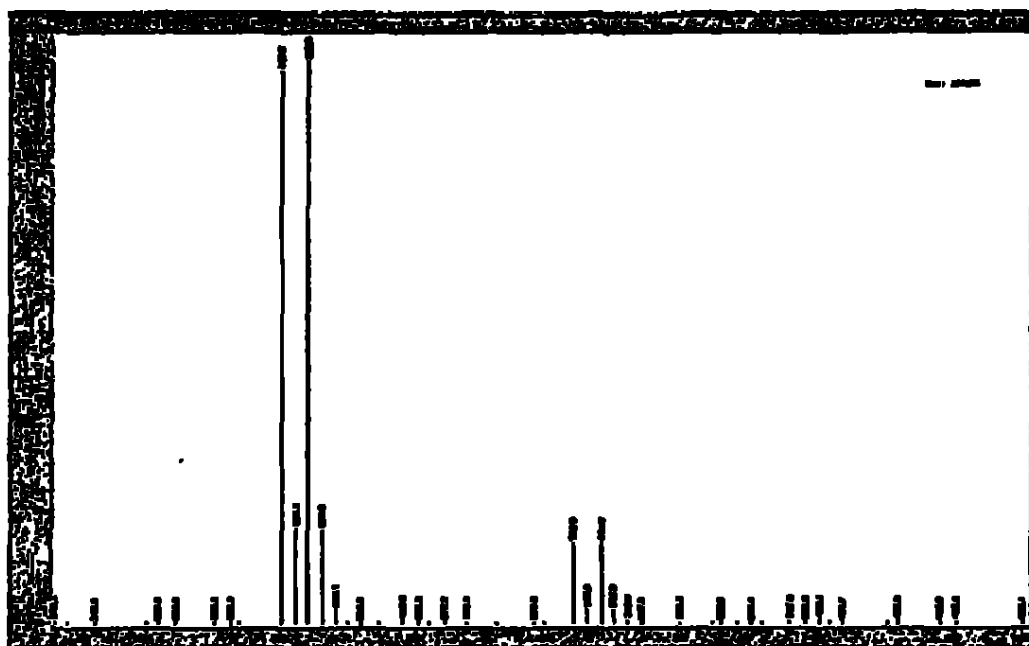


FIG. 6

5

10

15

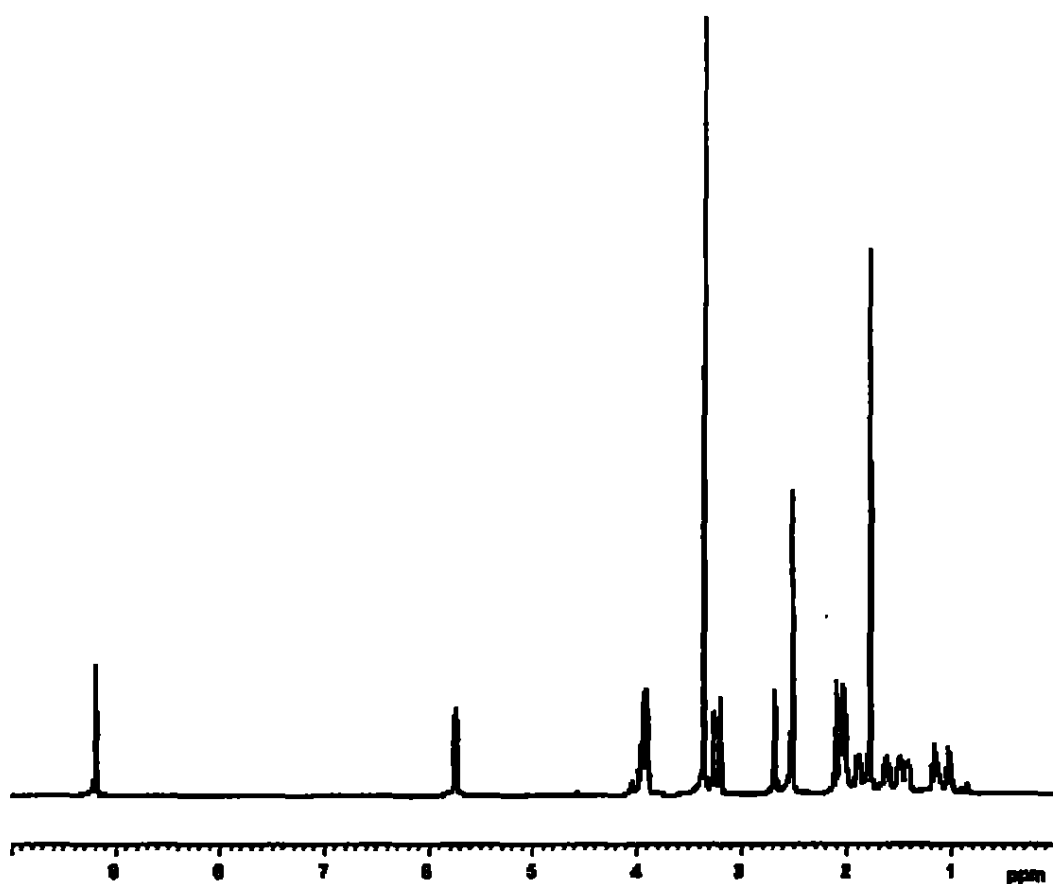
20

6/33

236

237

5 **FIG. 7.** **Espectro de RMN 1H del compuesto de Formula II-5A**

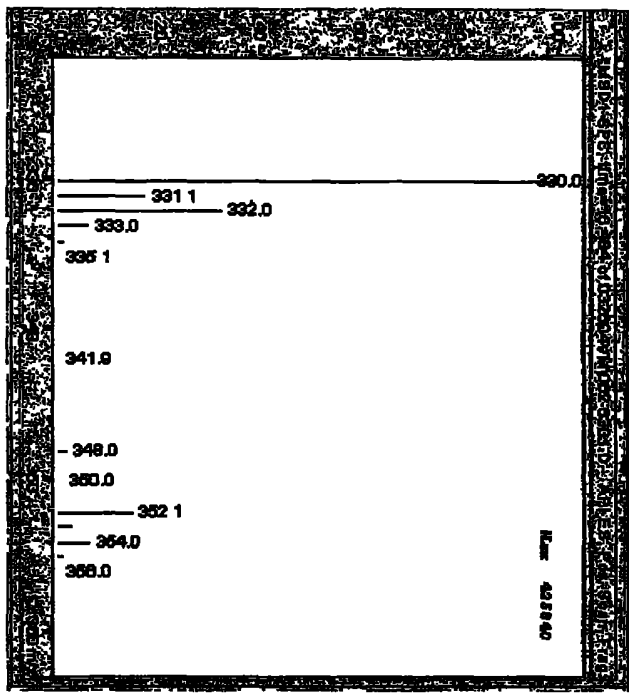


10

15

249

FIG. 8



1.5

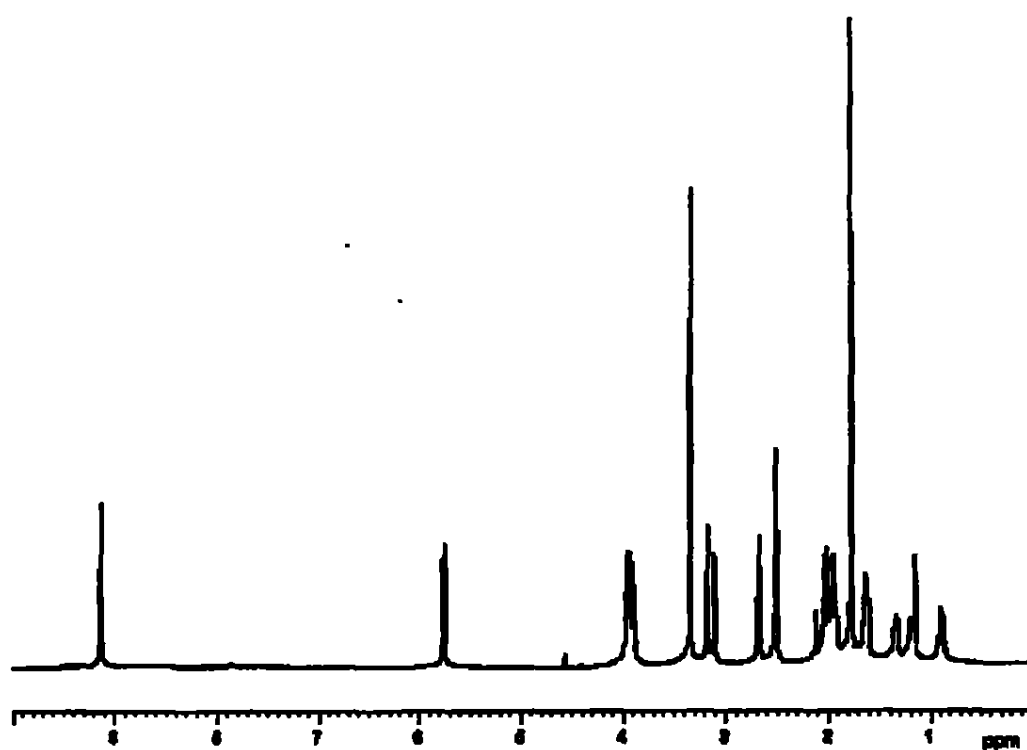
1.0

5

8/33

245

5 **FIG. 9. Espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-5B**



10

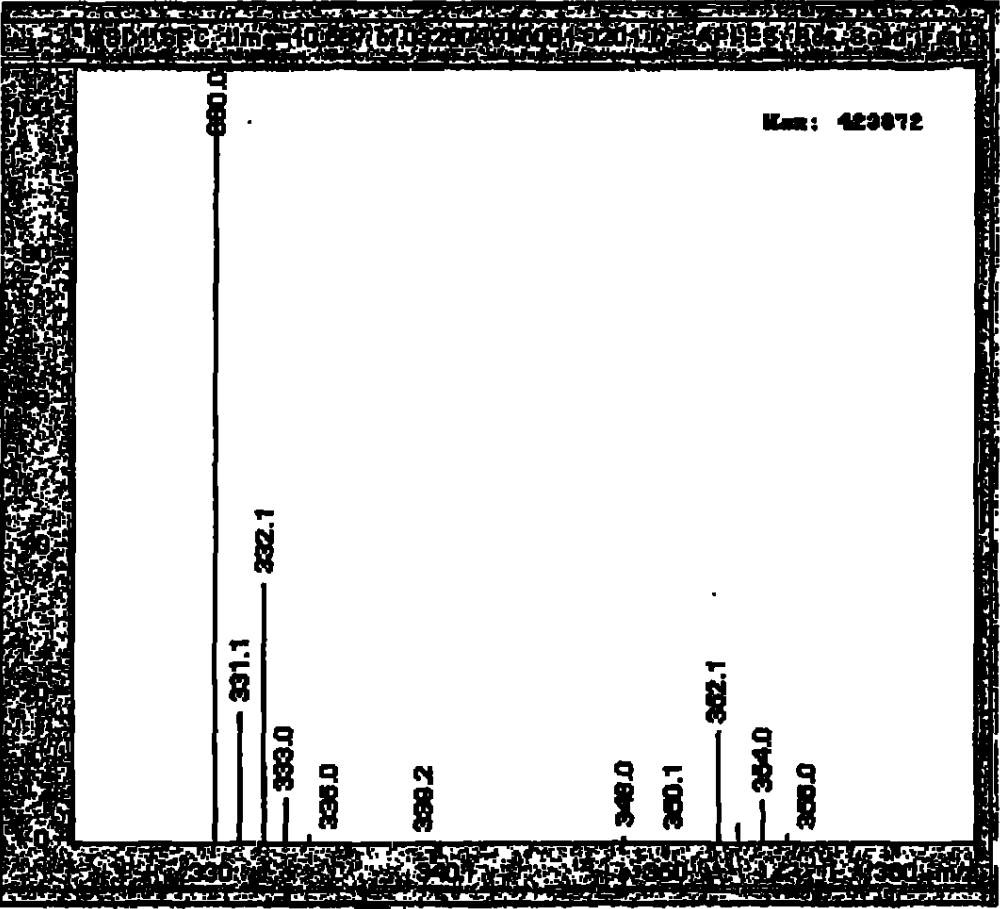
15

20

9/33

200

FIG. 10



5

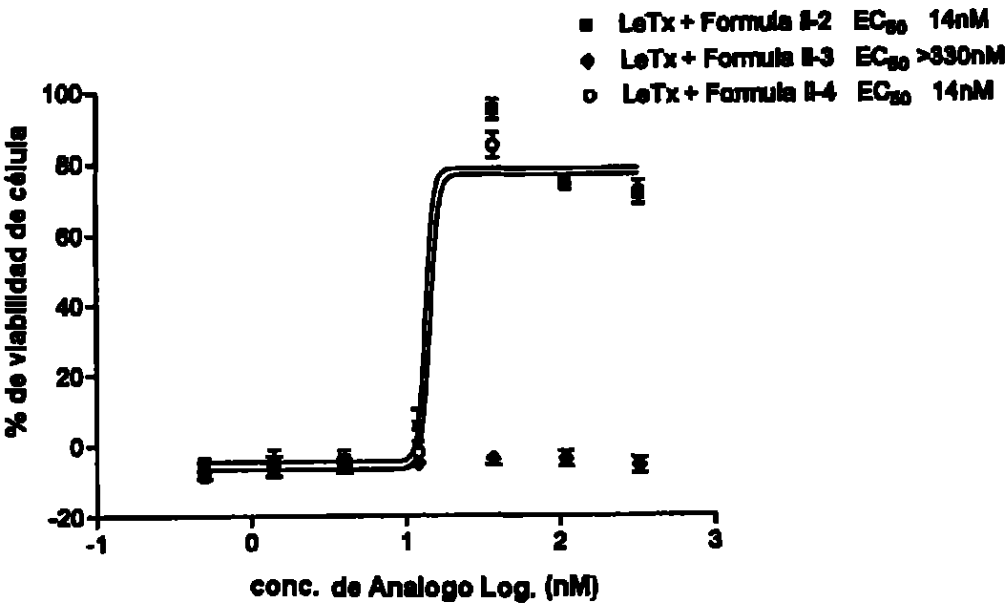
10

15

2/2

FIG. 11:

Figura 11: Inhibición de la citotoxicidad Mediada por LeTx



5

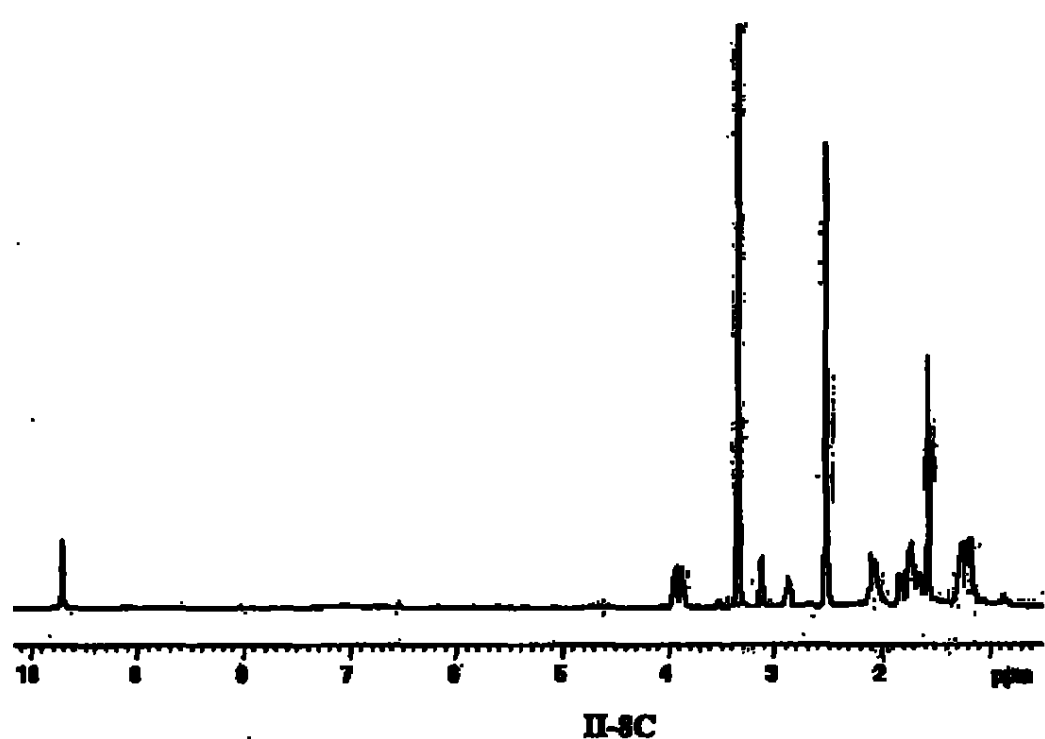
10

15

20

262

5 **Figura12. Espectro de RMN ¹H del compuesto de Formula II-8C**



10

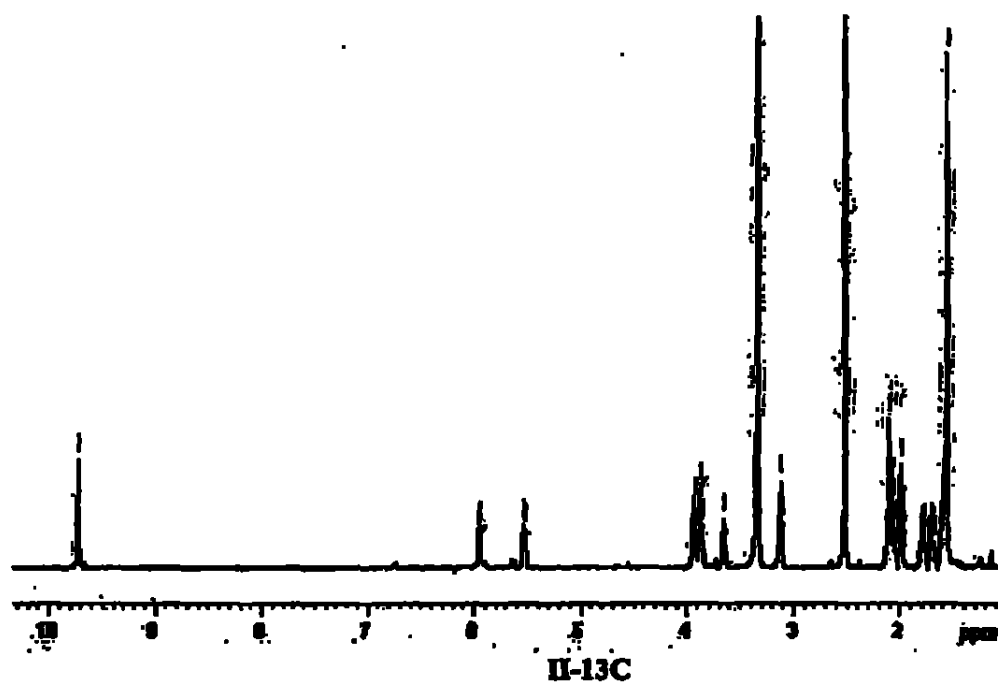
15

20

44
242

243

5 **Figura 13. Espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-13C**



10

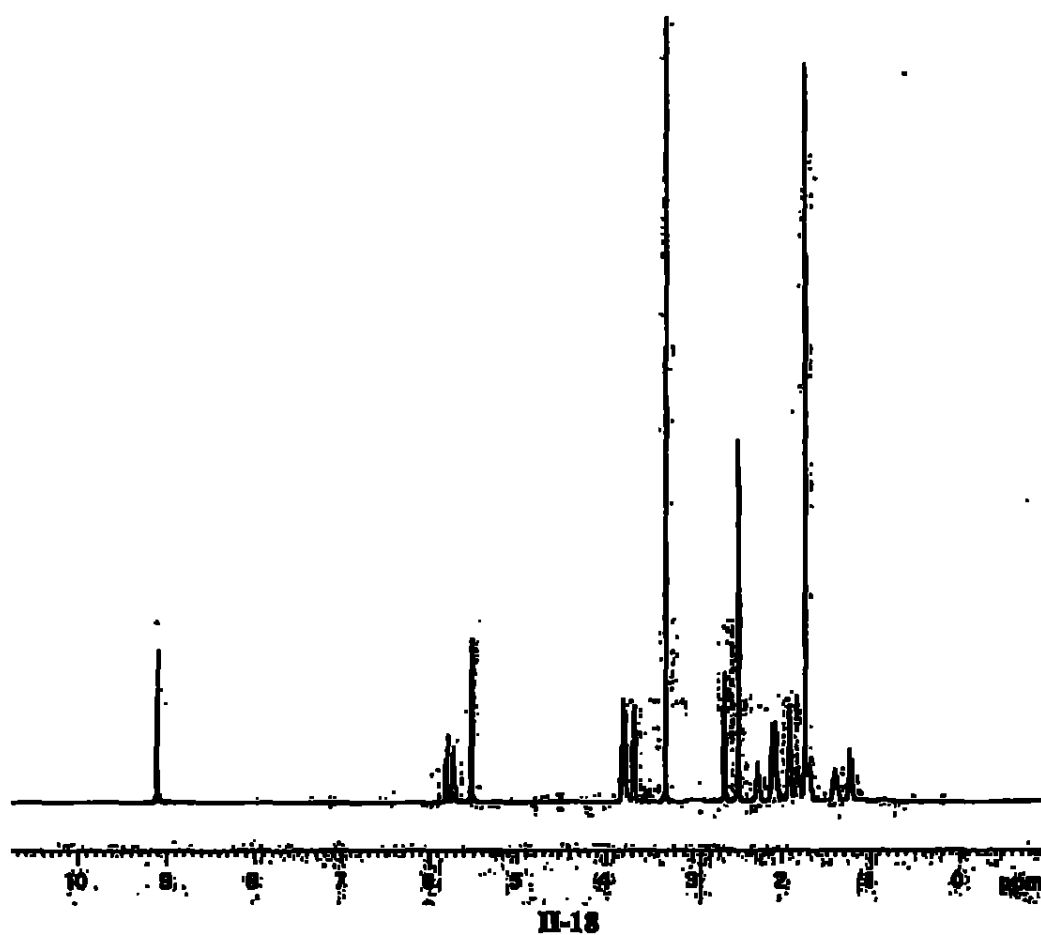
15

20

13/33

243

5 **Figura 14. Espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-18**

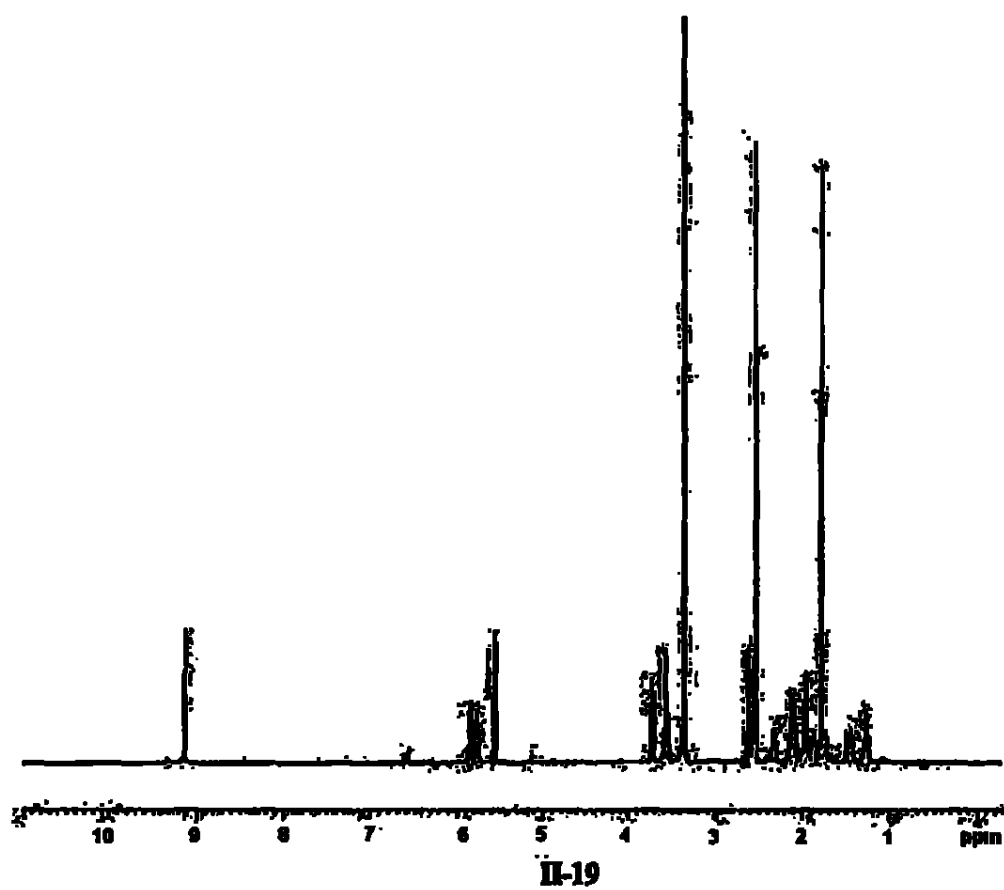


10

15

14/33

5 **Figura 15. Espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-19**

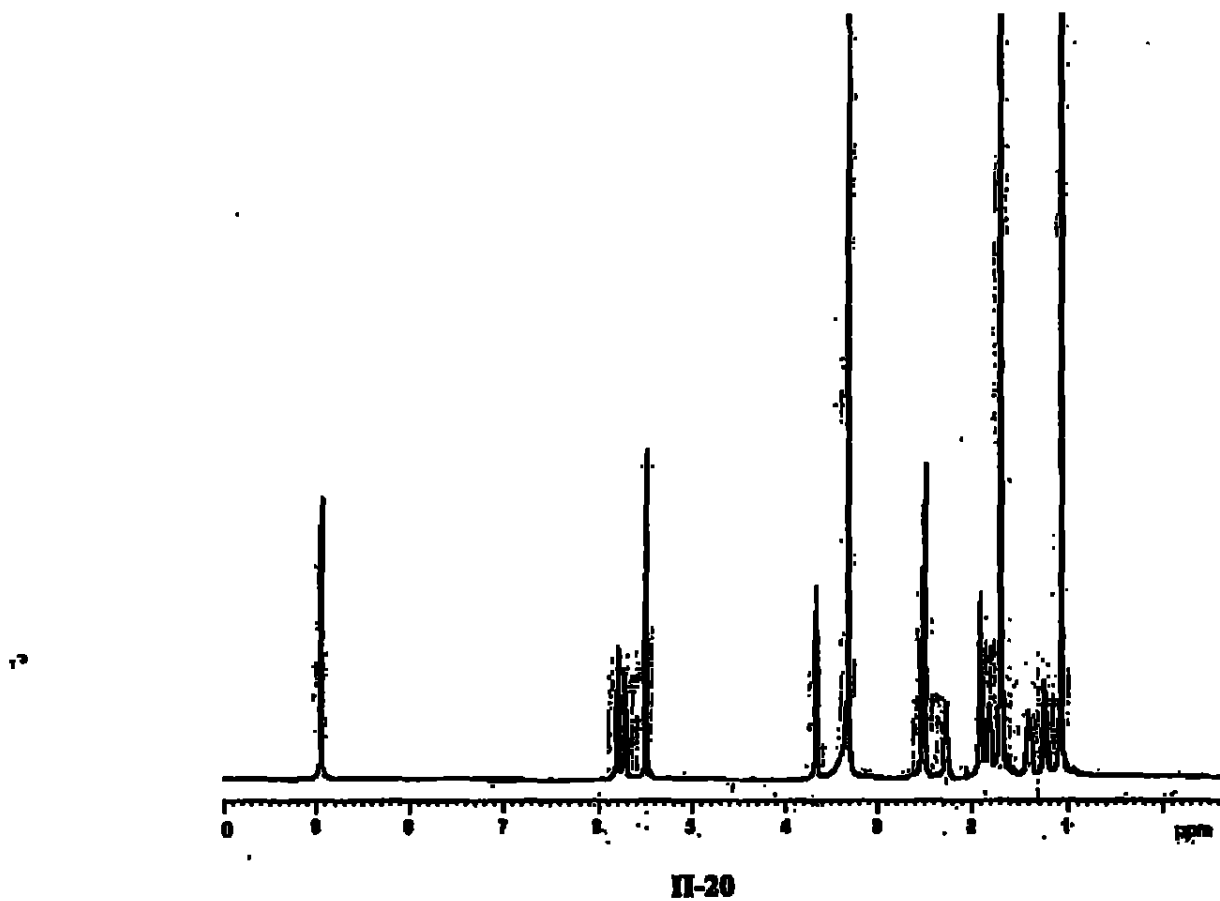


10

15

15/33

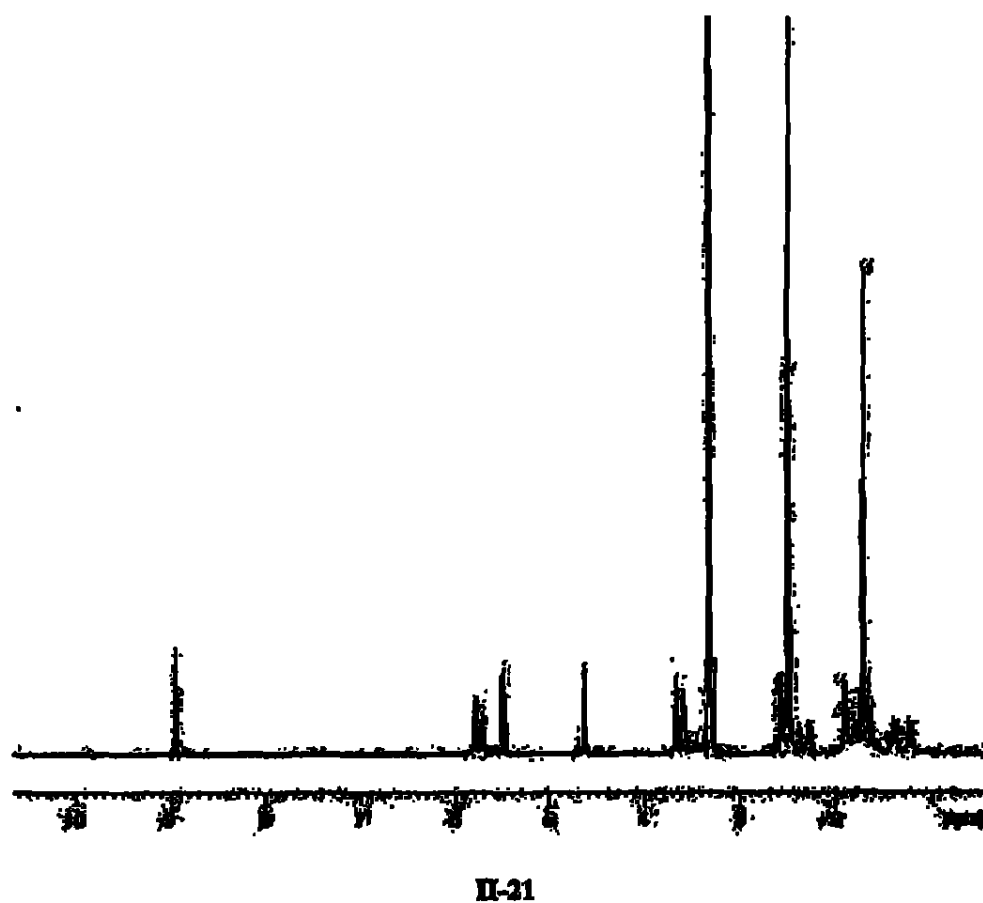
5 **Figura 16. Espectro de RMN ¹H del compuesto de Formula II-20**



10

15

5 **Figura 17. Espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-21**

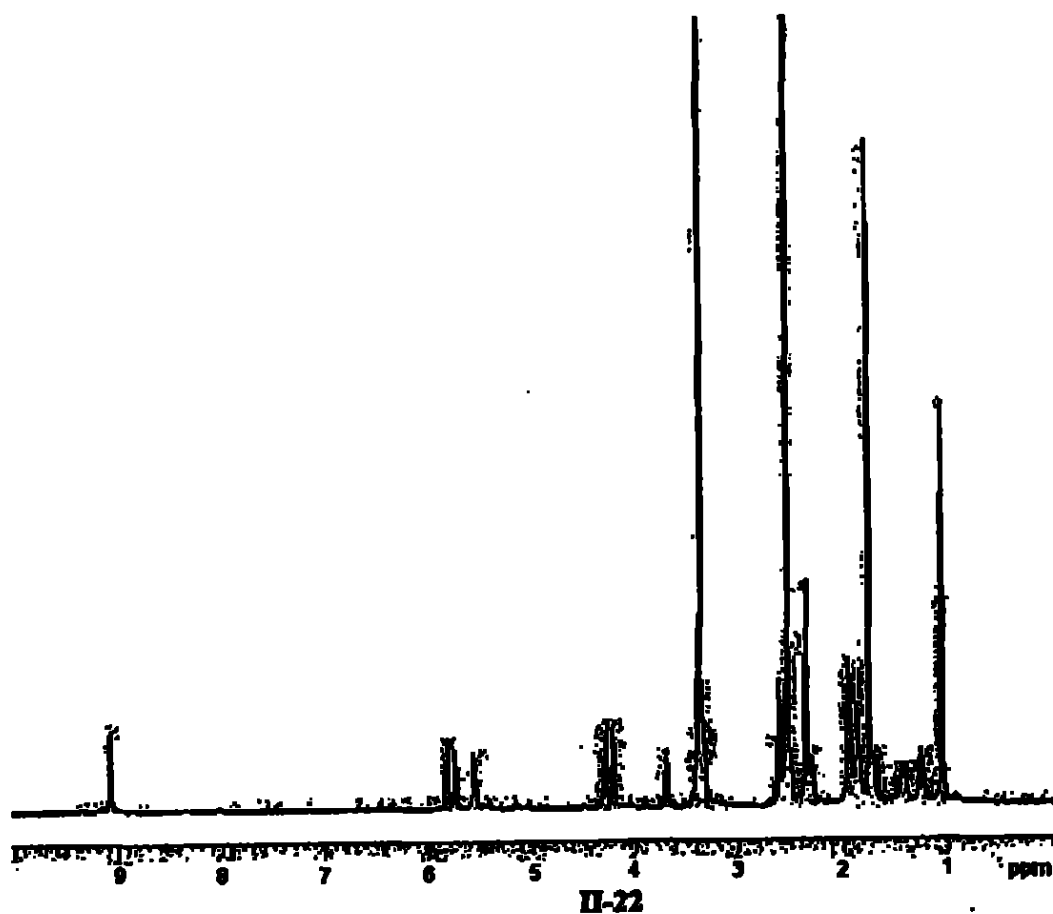


10

15

17/33

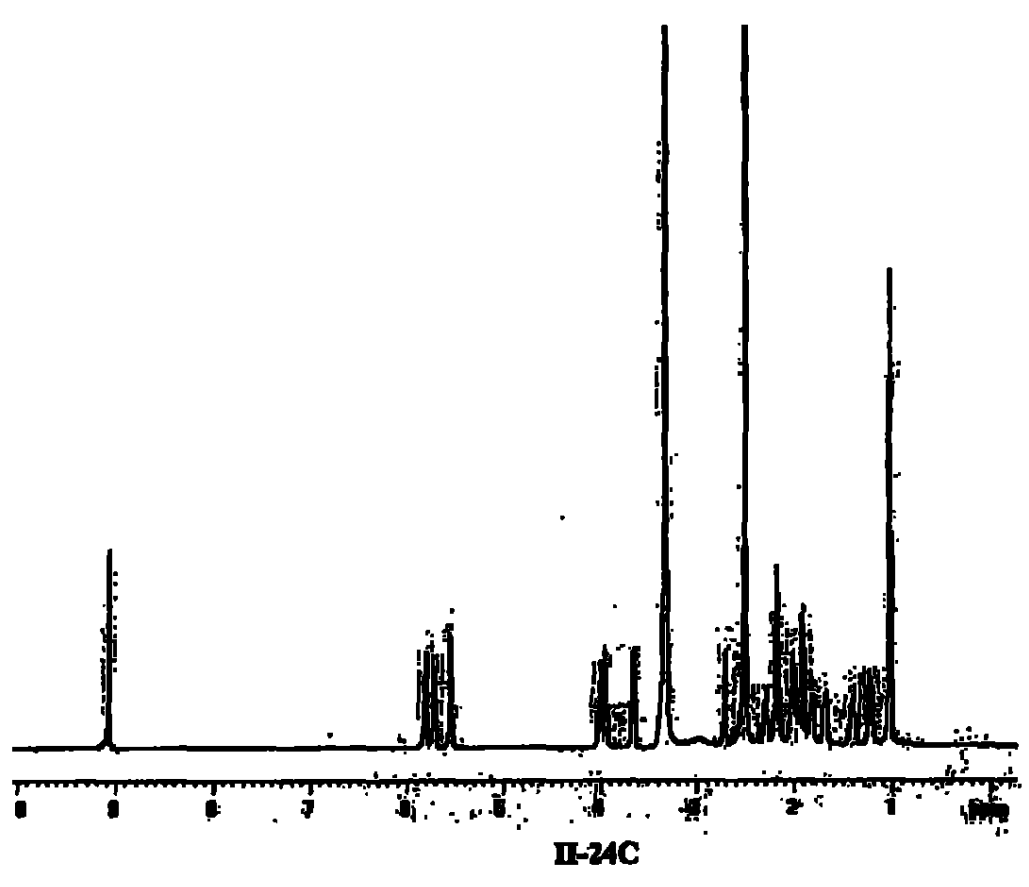
5 **Figura 18. Espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-22**



10

15

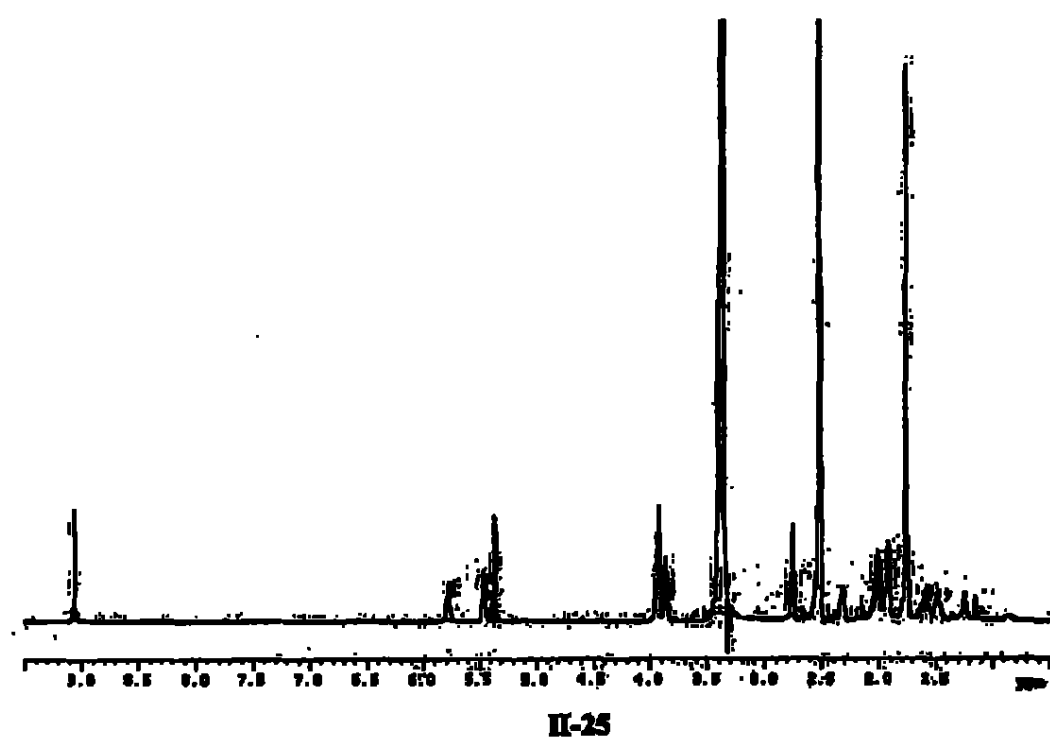
5 **Figura 19. Espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-24C**



10

15

5 **Figura 20. Espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula II-25**



10

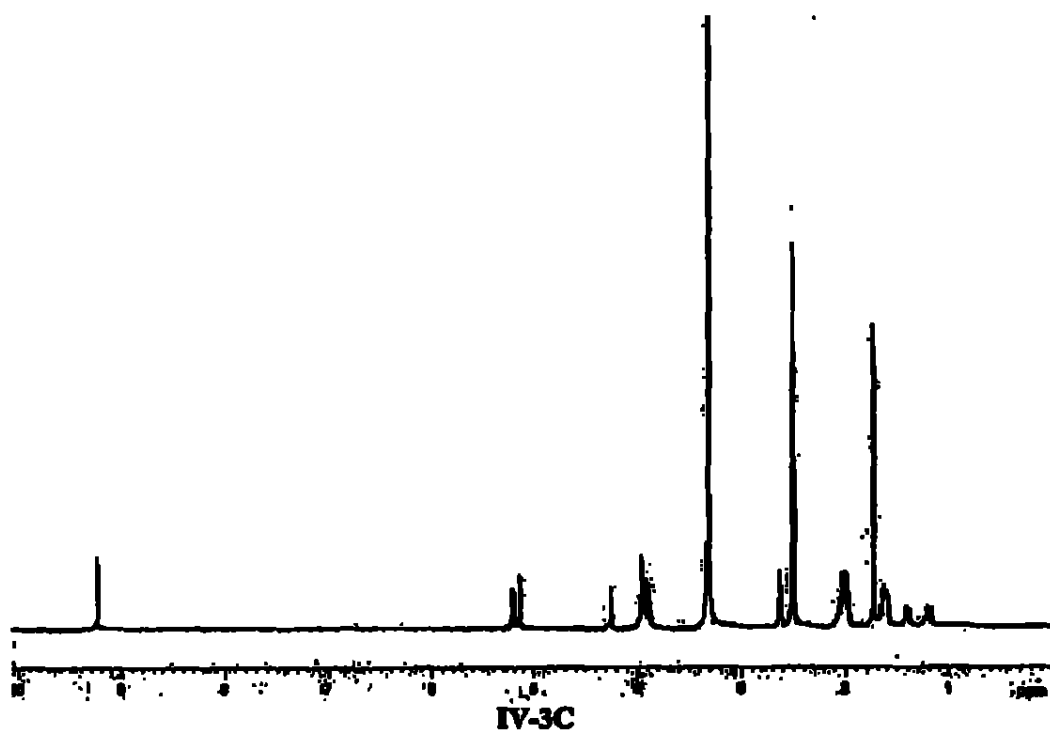
15

20

20/33

A

5 **Figura 21. Espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula IV-3C en DMSO- d_6 .**



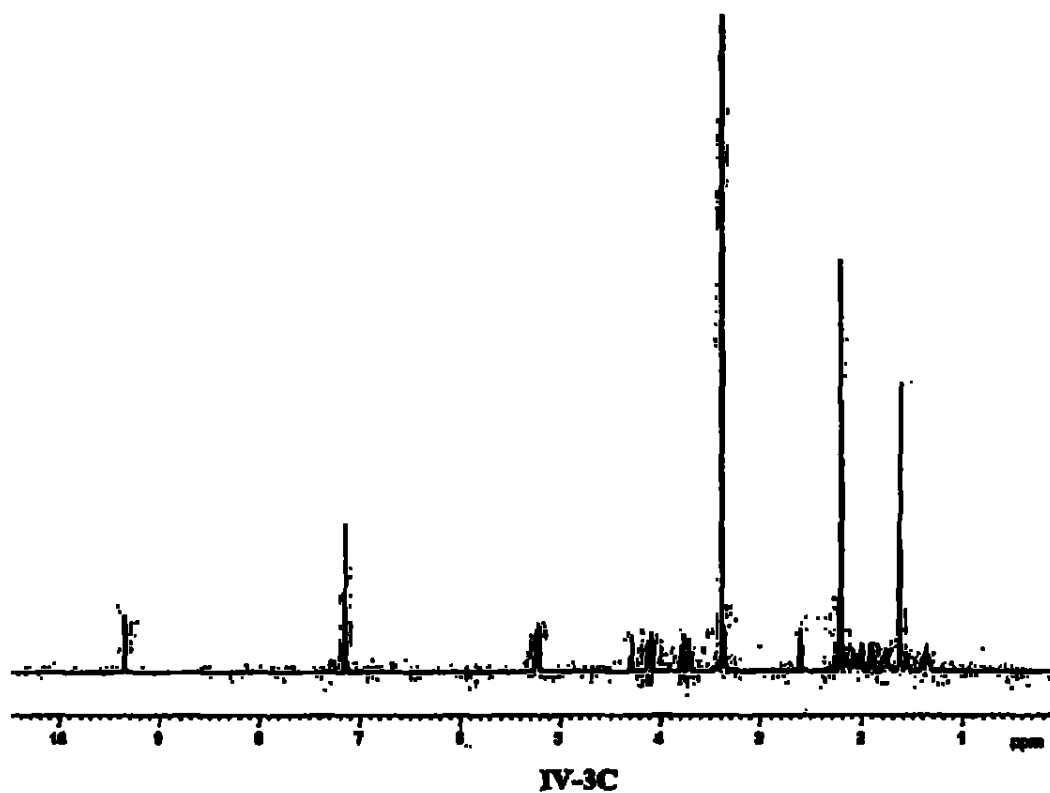
10

15

20

21/33

5 **Figura 22. Espectro de RMN ^1H del compuesto de Formula IV-3C en $\text{C}_6\text{D}_6/\text{DMSO}-d_6$.**



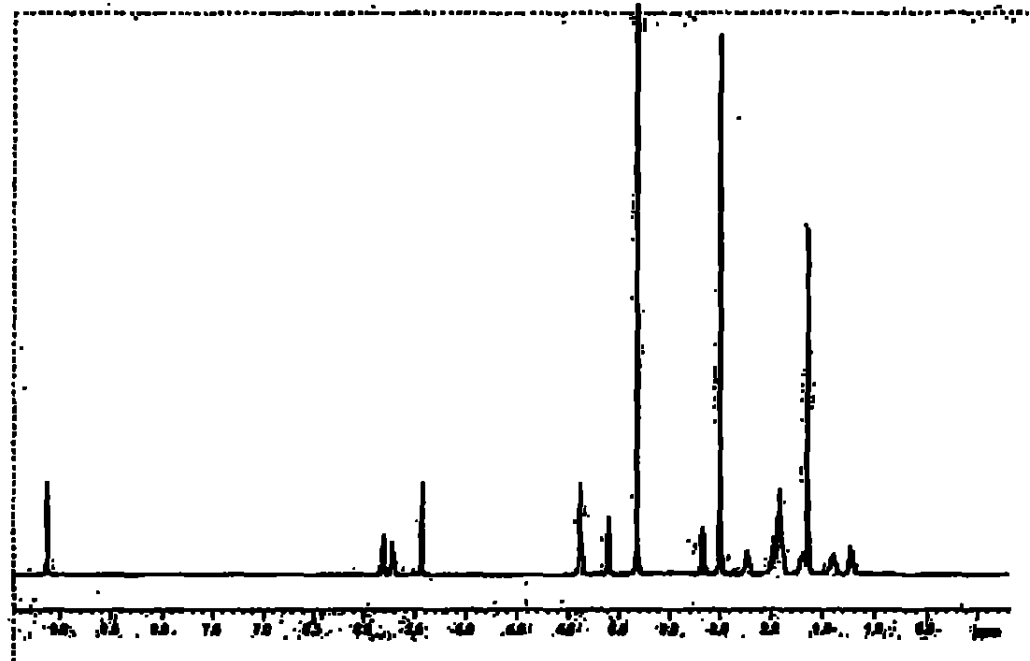
10

15

20

22/33

FIG. 23.



5

II-26

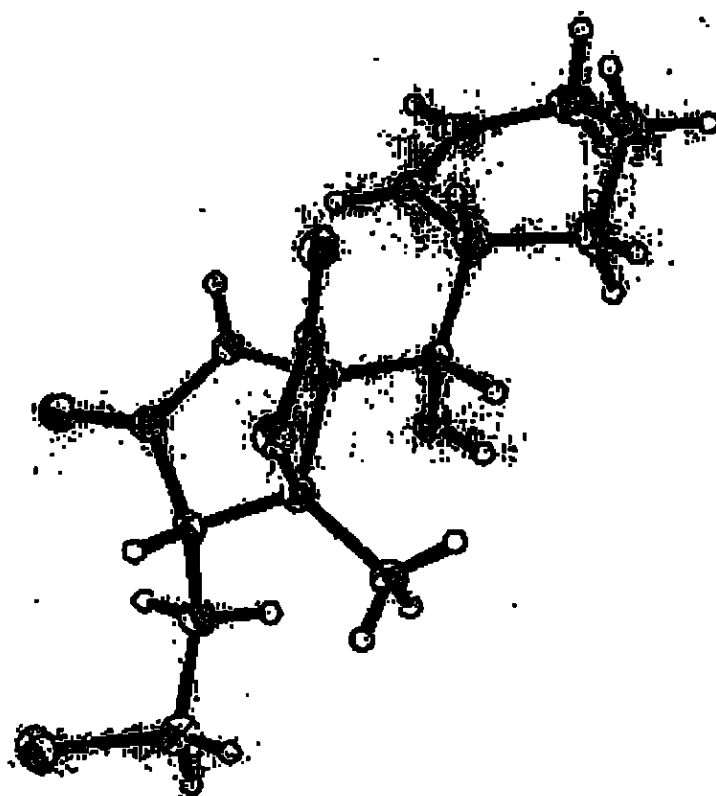
10

15

23/33

25

FIG. 24.



5

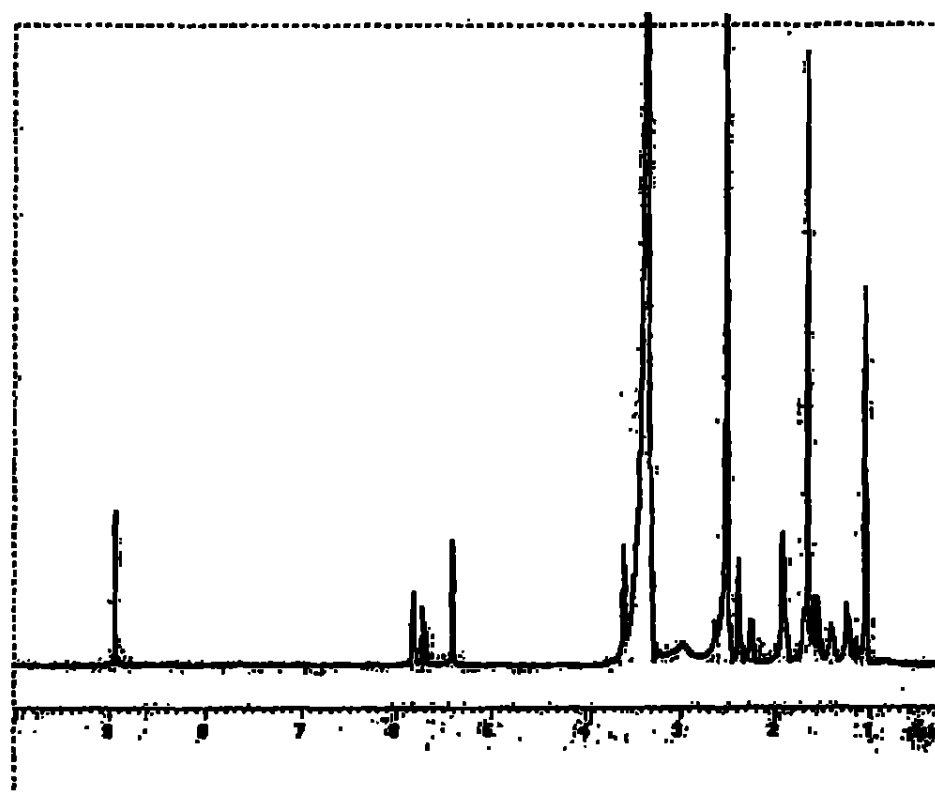
10

15

24/33

18

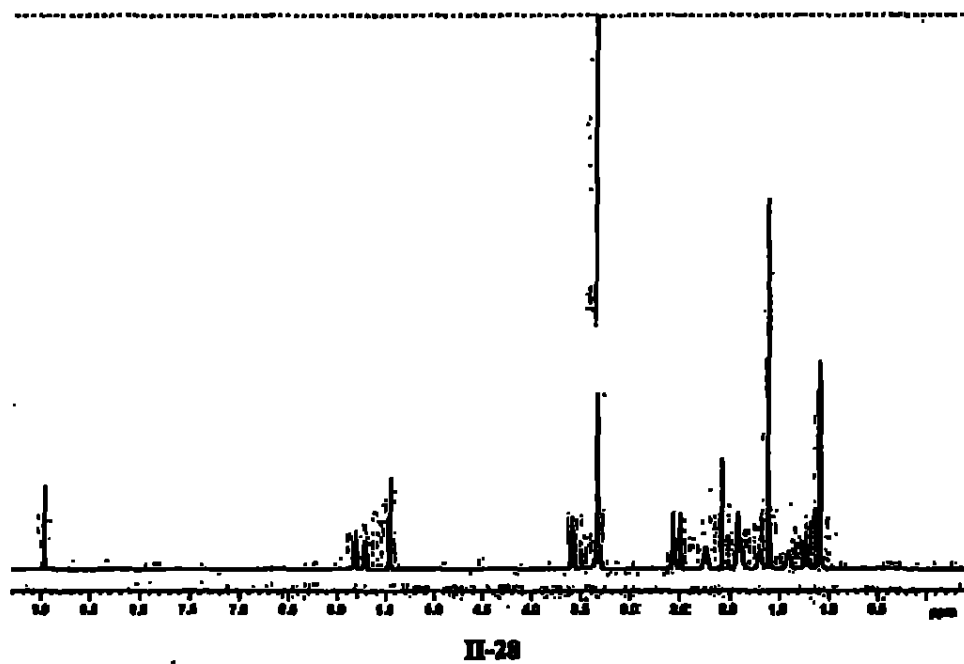
FIG. 25:



II-27

25/33

FIG. 26



5

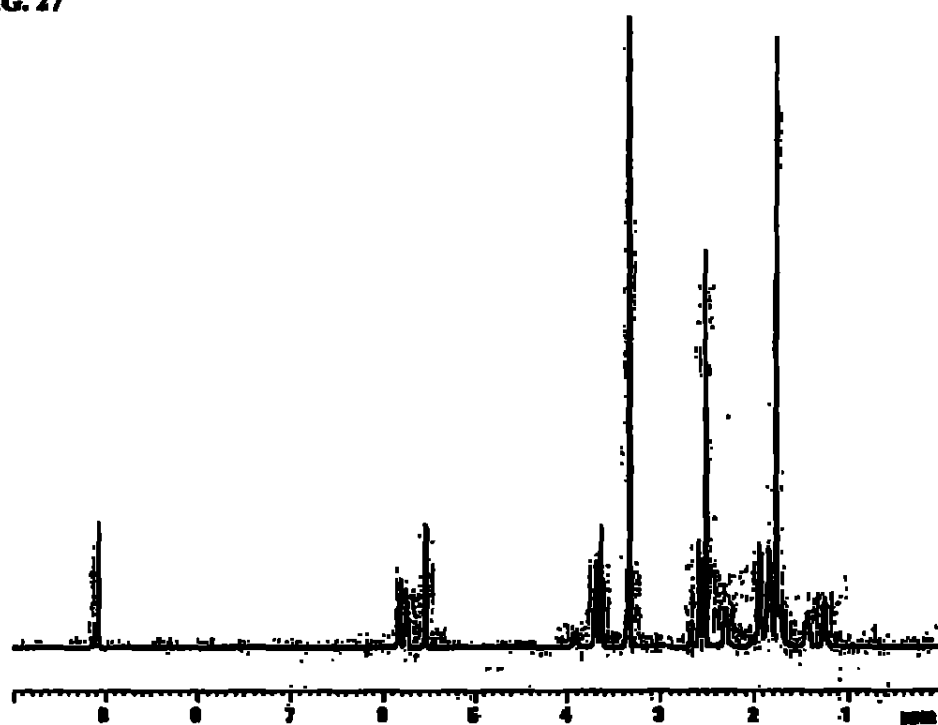
10

15

20

26/33

FIG. 27



5

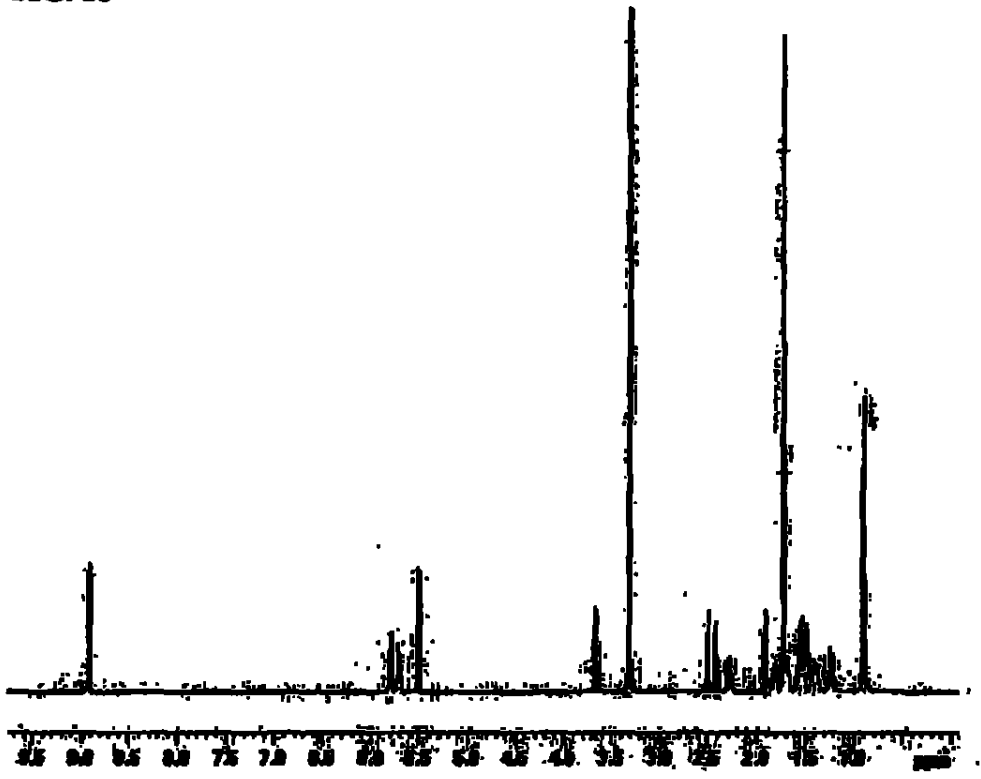
II-29

10

15

27/33

FIG. 28



5

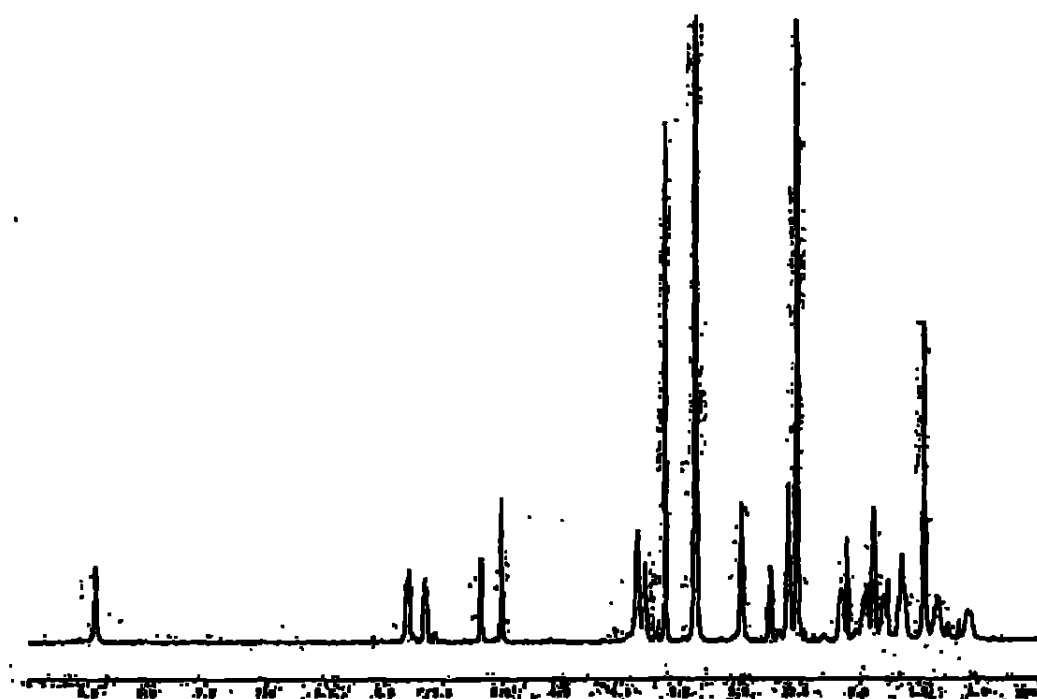
II-30

10

15

28/33

5



RMN ¹H de II-44

FIG. 29

10

15

29/33

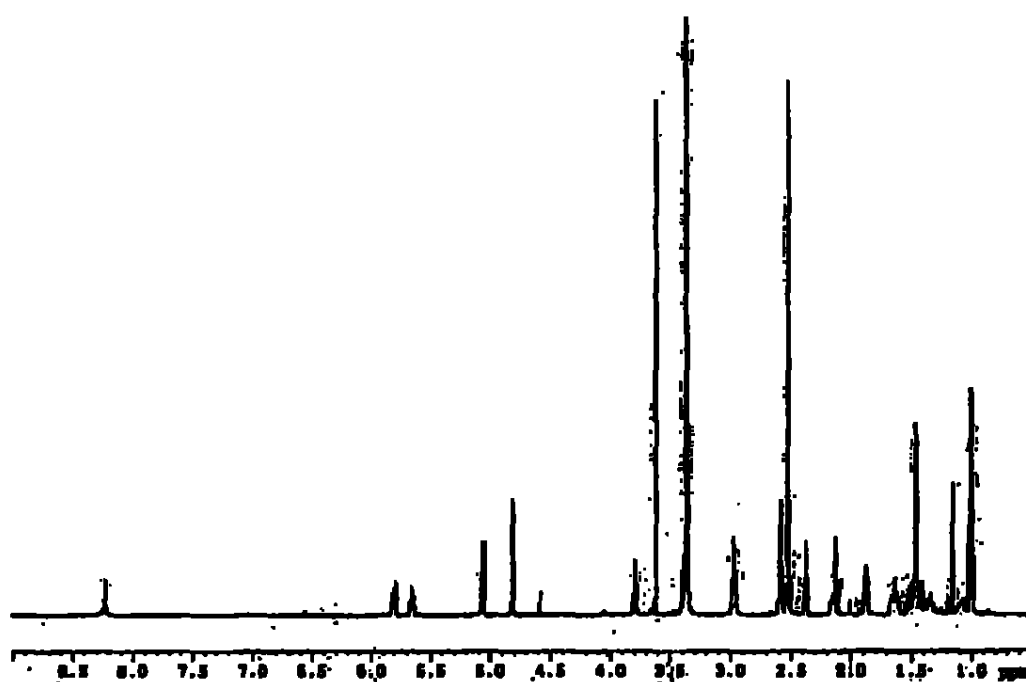


Fig. 31: RMN ^1H del compuesto de la Formula II-47

5

10

15

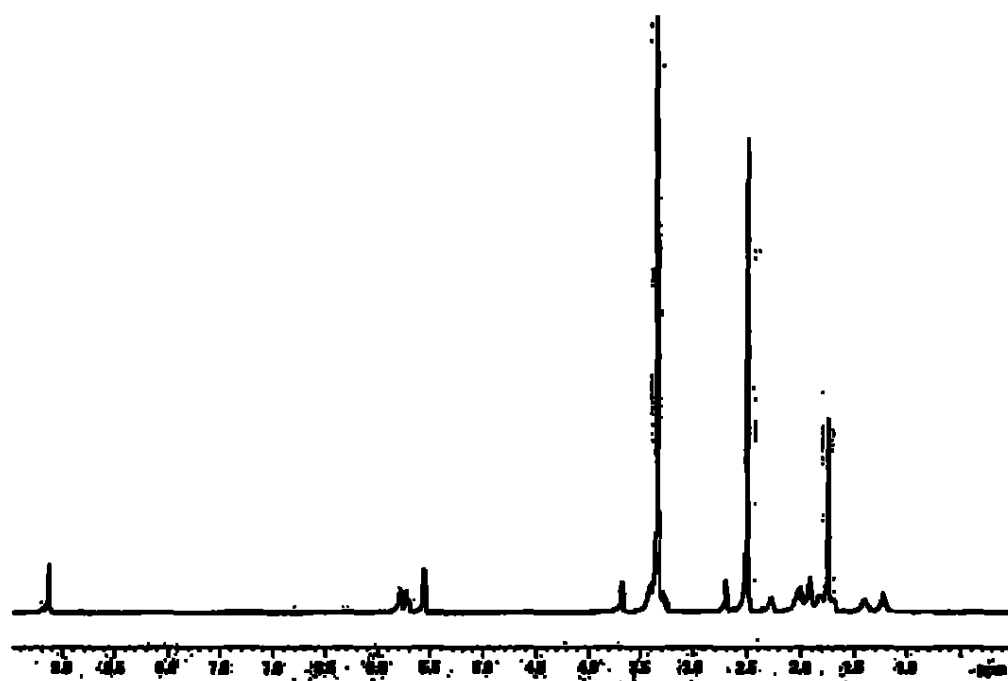


Fig. 32: RMN ^1H del compuesto de Formula II-38

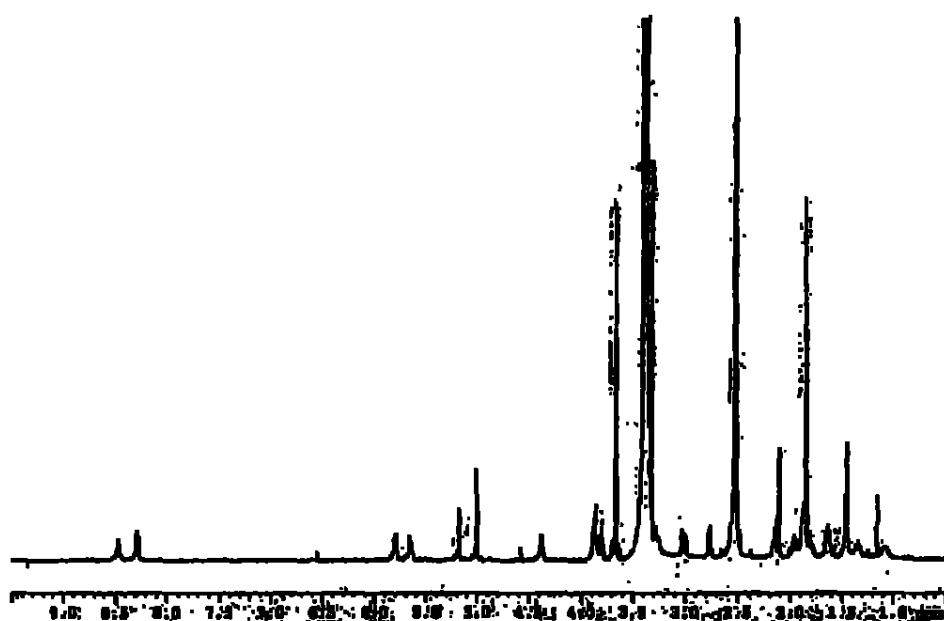


Fig. 33: RMN ^1H del compuesto de la Formula II-51

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT

PATENTE DE INVENCION [x] MODELO DE UTILIDAD []

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente [X]1
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [X]1
- ◆ Descripción de la invención [X]22
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes [X]233
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas [X]2

COMPLETA [X] INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de 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 []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA [] INCOMPLETA []


Firma Responsable

Fecha 23 de Nov 2006
Conmutador: 3 82 08 40

Camera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10

Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

267
265

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)

LLOREDA RICAURTE ALICIA

Apoderado(a) y/o Representante de
NEREUS PHARMACEUTICALS INC

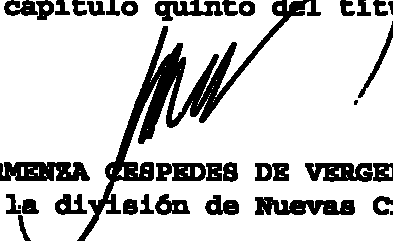
REFERENCIA	Radicación No.	6 118730
	Solicitud internacional	PCT/US2005/014846
	Fecha inicio fase nacional	30/11/2006
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	14714

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. Si fuere el caso, el solicitante debe adjuntar la traducción de los anexos del reporte de examen preliminar internacional (Art. 36.2.b) del tratado PCT.
2. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486.
3. Debe aclarar el número de reivindicaciones ya que presenta inconsistencias en la numeración, refiérase a las páginas 218 y 219 de la solicitud.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.


ALIX CARMENZA CRESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 22 DIC. 2006 aslvarado