



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD PATENTE DE INVENCION

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-041777- -00000-0000

Fecha: 2014-02-27 13:53:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 6

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO MODULADORES DEL TRANSPORTE NUCLEAR
QUE CONTIENEN HIDRAZIDA Y SUS USOS

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL _____

71. SOLICITANTE KARYOPHARM THERAPEUTICS, INC.

DOMICILIO Natick, Massachusetts, Estados Unidos de América

74. APODERADO HUMBERTO RUBIO CAMACHO
COD. 4134

22. BOGOTÁ, D.C., 27 DE FEBRERO DE 2014



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-041777- -00000-0000

Fecha: 2014-02-27 13:53:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYH Eve. 378. FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Fdlos: 6

ivo de radicación

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL -PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/US2012/048319	Fecha 26/07/2012
Publicación Internacional No.		WO/2013/019548	Fecha 07/02/2013
3	TÍTULO DE LA INVENCION (200 caracteres o espacios máximos)		
MODULADORES DEL TRANSPORTE NUCLEAR QUE CONTIENEN HIDRAZIDA Y SUS USOS			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP)		
5	SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN TIPO
KARYOPHARM THERAPEUTICS, INC.			
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN		No. TELÉFONO	
CIUDAD		CORREO ELECTRÓNICO	
DEPARTAMENTO/ESTADO		NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN	
PAÍS DE RESIDENCIA		Estados Unidos de América	
2 Mercer Road, Natick Massachusetts 01760			
7	INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
1. SANDANAYAKA		Vincent P.	Estados Unidos de América
2. SHACHAM		Sharon	Israel
3. MCCAULEY		Dilara	Estados Unidos de América
4. SHECHTER		Sharon	Israel
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
PAÍS RESIDENCIA		DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD DIRECCIÓN
1. Estados Unidos de América		Massachusetts 01532	Northboro 10 Laurel Avenue
2. Estados Unidos de América		Massachusetts 02459	Newton 15 Bontempo Road
3. Estados Unidos de América		Massachusetts 02141	Cambridge 85 Gore Street
4. Estados Unidos de América		Massachusetts 01810	Andover 18 Ivy Lane
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			
9	☐ REPRESENTANTE LEGAL ☒ APODERADO		
APELLIDOS		NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
RUBIO CAMACHO		HUMBERTO	C.C. 17'192.062 T.P. 50.007
DIRECCIÓN		No. TELÉFONO	
Carrera 7 # 74-64 Oficina 506		3132408	
CIUDAD		CORREO ELECTRÓNICO	
Bogotá, D.C.		mail@rubiolawyers.com	
PAÍS		No. RADICACIÓN DE PROTOCOLO DE PODER GENERAL	
Colombia			
10	DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO		
(33) PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO (32) FECHA (AAAA/MM/DD)
Estados Unidos de América		US	61/513,428 29/07/2011
Estados Unidos de América		US	61/513,432 29/07/2011
Estados Unidos de América		US	61/610,178 13/03/2012
Estados Unidos de América		US	61/653,588 31/05/2012
Estados Unidos de América		US	61/654,651 01/06/2012

11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS		
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.</i>			
☐ SI ☐ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.			
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES		
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.</i>			
☐ SI ☐ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.			
13	REDUCCIÓN DE TASAS		
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i>			
☐ SI ☐ NO			
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.			
Micro, pequeñas y medianas empresas ☐			
Universidades públicas o privadas ☐			
Entidades sin ánimo de lucro ☐			
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos			
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☒ SI ☐ NO		
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.			
15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N° 14-0022542 14-0022544	Fecha 27/02/2014 27/02/2014
16	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)		
		HUMBERTO RUBIO CAMACHO	
FIRMA		NOMBRE DEL FIRMANTE	
17'192.062		50.007 C.S.J.	
DOCUMENTACIÓN DE IDENTIFICACIÓN		TARJETA PROFESIONAL	
17	ANEXOS		
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano		Documentación Jurídica	
1. ☒ Descripción N° de folios: 108		9. ☐ Poderes, si fuera el caso.	
2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 23		10. ☐ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.	
3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios: 6		11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
4. ☒ Resumen.		12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.		13. Reducción de tasas	
6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.		Micro, pequeñas o medianas empresas	
7. ☒ Arte final 12 x 12.		☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.	
8. ☒ Anexo formato digital.		☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.	
		Universidades públicas o privadas	
		☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación	
		Entidades sin ánimo de lucro	
		☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.	
		☐ Hoja de información complementaria.	
		☐ Otros, especificar	
		14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.	
		15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.	
		16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.	
		17. ☒ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.	

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 0022542

Bogotá D.C., Febrero 27 de 2014 - 11:22:29

RECIBIDO DE : HUMBERTO RUBIO & CIA ABOGADOS LTDA

NI 830.000.228

***** Soporte del Pago *****

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	650546956	27/02/2014	6.293.000.00

***** Conceptos Pagados *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	515.000.00	515.000.00
				\$515.000.00

SON: **QUINIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-041777- -00000-0000

Fecha: 2014-02-27 13:53:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTE/III Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 6

PATENTE

PCT/US2012/048319

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

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

Febrero 27 de 2014 - 11:22:31

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 0022544

Bogotá D.C., Febrero 27 de 2014 - 11:22:29

RECIBIDO DE : HUMBERTO RUBIO & CIA ABOGADOS LTDA

NI 830.000.228

***** Soporte del Pago *****

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	650546956	27/02/2014	6.293.000.00

***** Conceptos Pagados *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
13 50005-01-01	SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	31.000.00	403.000.00
				\$403.000.00

SON: **CUATROCIENTOS TRES MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-041777- -00000-0000

Fecha: 2014-02-27 13:53:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 6

EXCEDENTE DE REIVINDICACION

PCT/US2012/048319

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

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

, Febrero 27 de 2014 - 11:22:31

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

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

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

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

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

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

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

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

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-041777- -00000-0000

Fecha: 2014-02-27 13:53:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 6

MODULADORES DEL TRANSPORTE NUCLEAR QUE CONTIENEN HIDRAZIDA Y SUS USOS

SOLICITUDES RELACIONADAS

5 La presente solicitud reivindica la prioridad de la solicitud provisional estadounidense n.º 61/513.428, presentada el 29 de julio de 2011, la solicitud provisional estadounidense n.º 61/513.432, presentada el 29 de julio de 2011, la solicitud provisional estadounidense n.º 61/610.178, presentada el 13 de marzo de 2012, la solicitud provisional estadounidense n.º 61/654.651, presentada el 1 de 10 junio de 2012 y la solicitud provisional estadounidense n.º 61/653.588, presentada el 31 de mayo de 2012. El contenido de las anteriores solicitudes se incorpora en su totalidad en la presente memoria por referencia.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 Las células de la mayoría de los tumores malignos sólidos y hematológicos humanos presentan una ubicación celular anómala de una variedad de proteínas oncogénicas, proteínas de supresión tumoral y reguladores del ciclo celular (Cronshaw *et al.* 2004, Falini *et al.* 2006). Por ejemplo, ciertas mutaciones de p53 conducen a su ubicación en el citoplasma en lugar del núcleo. A pesar de que la función de supresión tumoral permanece intacta, Esto provoca la pérdida de la 20 regulación normal del crecimiento. En otros tumores, p53 de tipo natural queda secuestrada en el citoplasma o se degrada rápidamente, conduciendo de nuevo a la pérdida de su función inhibidora. El restablecimiento de una ubicación nuclear apropiada de la proteína p53 funcional puede normalizar algunas propiedades de las células neoplásicas (Cai *et al.* 2008; Hoshino *et al.* 2008; Lain *et al.* 1999a; 25 Lain *et al.* 1999b; Smart *et al.* 1999), puede restablecer la sensibilidad de las células cancerosas hacia los agentes que dañan el ADN (Cai *et al.* 2008) y pueden conducir a la regresión de tumores establecidos (Sharpless y DePinho 2007, Xue *et al.* 2007). Se han obtenido datos similares para otras proteínas de supresión tumoral tales como Forkhead (Turner y Sullivan 2008) y c-Abl (Vignari y Wang 30 2001). Además, la ubicación anómala de varias proteínas de supresión tumoral y reguladoras del crecimiento puede estar implicada en la patogénesis de enfermedades autoinmunes (Davis 2007, Nakahara 2009). La inhibición de CRM1 puede proporcionar una utilidad particularmente interesante en los síndromes de cánceres familiares (por ejemplo, el Síndrome de Li-Fraumeni debido a la pérdida de un alelo de p53, BRCA1 ó síndromes de 2 cánceres), en los que hay proteínas de supresión tumoral (PST) específicas eliminadas o disfuncionales, y en los que 35 el aumento de los niveles de PST mediante la administración sistémica (o local) de inhibidores de CRM1 podría ayudar a restablecer la función de supresión tumoral normal.

40 Las proteínas específicas y los ARN son transportados hacia dentro y fuera

del núcleo por moléculas especializadas en el transporte que se clasifican en importinas, si transportan moléculas hacia el interior del núcleo, y exportinas, si transportan moléculas hacia el exterior del núcleo. (Terry *et al.* 2007; Sorokin *et al.* 2007). Las proteínas que son transportadas hacia el interior o el exterior del núcleo contienen secuencias de importación/localización nuclear (SLN) o de exportación nuclear (SEN) que les permiten interactuar con los transportadores pertinentes. La crm1 o CRM1 (Mantenimiento de la Región Cromosómica 1), también denominada exportina-1 o Xpo1, es la exportina principal.

Se ha publicado información sobre la sobre-expresión de Crm1 en varios tumores, entre los que se incluyen el cáncer de ovario humano (Noske *et al.* 2008), cáncer de cuello uterino (van der Watt *et al.* 2009), cáncer pancreático (Huang *et al.* 2009), carcinoma hepatocelular (Pascale *et al.* 2005) y osteosarcoma (Yao *et al.* 2009), y se correlaciona independientemente con escasos resultados clínicos en estos tipos de tumores.

La inhibición de Crm1 bloquea el éxodo de las proteínas de supresión tumoral y/o los reguladores del crecimiento tales como p53, c-Abl, p21, p27, pRB, BRCA1, IκB, ICp27, E2F4, KLF5, YAP1, ZAP, KLF5, HDAC4, HDAC5 o proteínas forkhead (por ejemplo, FOXO3a) desde el núcleo que están asociadas con la expresión génica, la proliferación celular, la angiogénesis y la epigenética. Se ha observado que los inhibidores de Crm1 provocan la apoptosis de células cancerosas, incluso en presencia de señales oncogénicas activadores o señales de estimulación del crecimiento, evitando las células normales (no transformadas). La mayoría de los estudios de inhibición de Crm1 ha utilizado el producto natural inhibidor de Crm1 Leptomicina B (LMB). La LMB es muy tóxica para las células neoplásicas, pero se tolera mal, pues provoca una notable toxicidad gastrointestinal en animales (Roberts *et al.* 1986) y seres humanos (Newlands *et al.* 1996). La derivación de la LMB para mejorar las propiedades de tipo farmacológico conduce a compuestos que conservan la actividad antitumoral y son mejor tolerados en modelos de tumores animales (Yang *et al.* 2007, Yang *et al.* 2008, Mutka *et al.* 2009). Por lo tanto, los inhibidores de la exportación nuclear podrían tener efectos beneficiosos en los trastornos neoplásicos y otros trastornos proliferativos.

Además de las proteínas de supresión tumoral, Crm1 también exporta varias proteínas clave que están implicadas en muchos procesos inflamatorios. Estas incluyen IκB, NF-κB, Cox-2, RXRα, Commd1, HIF1, HMGB1, FOXO, FOXP y otras. La familia de activadores de la transcripción del factor nuclear kappa B (NF-κB/rel), nombrado por el descubrimiento de que conduce a la expresión de genes kappa de inmunoglobulina, regula la expresión del ARNm de una variedad de genes implicados en la inflamación, la proliferación, la inmunidad y la supervivencia celular. En condiciones basales, un inhibidor proteico de NF-κB,

denominado I κ B, se une a NF- κ B en el núcleo, y el complejo I κ B-NF- κ B desactiva la función transcripcional de NF- κ B. Como respuesta a los estímulos inflamatorios, I κ B se disocia del complejo I κ B-NF- κ B, que libera NF- κ B y desenmascara su potente actividad transcripcional. Muchas señales que activan a NF- κ B lo hacen dirigiendo a I κ B a la proteólisis (la fosforilación de I κ B lo convierte en "marcado" para la ubiquitinación y posterior proteólisis). El complejo nuclear I κ Ba-NF- κ B puede ser exportado hacia el citoplasma por Crm1, en el que se disocia, pudiéndose reactivar NF- κ B. La I κ B ubiquinada también se puede disociar del complejo NF- κ B, restableciendo la actividad transcripcional de NF- κ B. La inhibición de la exportación inducida por Crm1 en neutrófilos y células macrófagas de ser humano (U937) por parte de la LMB no sólo provoca la acumulación del complejo nuclear I κ Ba-NF- κ B transcripcionalmente inactivo, sino que también evita la activación inicial de NF- κ B incluso tras la estimulación celular (Ghosh 2008, Huang 2000). En un estudio diferente, el tratamiento con LMB inhibió la unión de ADN de NF- κ B inducida por IL-1 β (la primera etapa de la activación transcripcional de NF- κ B), la expresión de IL-8 y la expresión de moléculas de adhesión intercelular en células endoteliales microvasculares pulmonares (Walsh 2008). COMMD1 es otro inhibidor nuclear de la actividad transcripcional tanto de NF- κ B como del factor 1 inducible por hipoxia (HIF1). El bloqueo de la exportación nuclear de COMMD1 mediante la inhibición de Crm1 provoca un aumento de la inhibición de la actividad transcripcional de NF- κ B y HIF1 (Muller 2009).

Crm1 también media el transporte del receptor α del retinoide X (RXR α). El RXR α se expresa a un nivel elevado en el hígado y desempeña un papel fundamental en la regulación del metabolismo y la homeostasis de ácido biliar, colesterol, ácidos grasos, esteroides y xenobióticos. Durante la inflamación del hígado, se reducen significativamente los niveles de RXR α nuclear, principalmente, debido a la exportación nuclear de RXR α mediada por la inflamación por parte de Crm1. La LMB puede prevenir el aumento citoplasmático inducido por IL-1 β en los niveles de RXR α en células procedentes de hígado humano (Zimmerman 2006).

El papel de la exportación nuclear mediada por Crm1 en la señalización de NF- κ B, HIF-1 y RXR α sugiere que el bloqueo de la exportación nuclear puede ser potencialmente beneficioso en muchos procesos inflamatorios en múltiples tejidos y órganos entre los que se incluyen la vasculatura (vasculitis, arteritis, polimialgia reumática, aterosclerosis), dermatológicos (véase más adelante), reumatológicos (artritis reumatoide y artritis relacionada, artritis psoriática, espondiloartropatías, artropatías de cristal, lupus eritematoso sistémico, enfermedad del tejido conjuntivo mixto, síndromes de miositis, dermatomiositis, miositis de cuerpos de inclusión, enfermedad del tejido conjuntivo no diferenciado, síndrome de Sjogren, esclerodermia y síndromes de solapamiento, etc.).

La inhibición de CRM1 afecta a la expresión génica mediante la inhibición/activación de una serie de factores de transcripción como ICp27, E2F4, KLF5, YAP1 y ZAP.

La inhibición de Crm1 tiene posibles efectos terapéuticos en muchos
 5 síndromes dermatológicos, entre los que se incluyen dermatosis inflamatorias (atopia, dermatitis alérgica, dermatitis química, psoriasis), daños provocados por el sol (daño ultravioleta (UV)) e infecciones. La inhibición de CRM1, mejor estudiada con la LMB, demostró efectos mínimos en los queratinocitos normales y ejerció una actividad antiinflamatoria sobre queratinocitos sometidos a UV, TNF α u otros
 10 estímulos inflamatorios (Kobayashi y Shinkai 2005, Kannan y Jaiswal 2006). La inhibición de Crm1 también sobrerregula la actividad de NRF2 (factor relacionado con el factor nuclear eritroide 2), que protege a los queratinocitos (Schafer *et al.* 2010, Kannan y Jaiswal 2006) y otros tipos de células (Wang *et al.* 2009) del daño oxidativo. La LMB provoca la apoptosis en queratinocitos infectados con cepas
 15 oncogénicas del Virus del Papiloma Humano (HPV) tales como HPV16, pero no en queratinocitos sin infectar (Jolly *et al.* 2009).

Crm1 también media el transporte de proteínas neuroprotectoras clave que pueden ser útiles en enfermedades neurodegenerativas, entre las que se incluyen la enfermedad de Parkinson (EP), la enfermedad de Alzheimer y la esclerosis
 20 lateral amiotrófica (ELA). Por ejemplo, (1) forzando la retención nuclear de reguladores neuroprotectores clave tales como NRF2 (Wang 2009), FOXA2 (Kittappa *et al.* 2007), aparcándolos en células neuronales y/o (2) inhibiendo la actividad de transcripción de NF κ B mediante el secuestro de I κ B hacia el núcleo en células gliales, la inhibición de Crm1 podría ralentizar o prevenir la muerte de
 25 células neuronales propia de estos trastornos. También hay pruebas que asocian la proliferación anómala de células gliales con anomalías en los niveles de CRM1 o la función de CRM1 (Shen 2008).

La exportación nuclear intacta, fundamentalmente mediada por CRM1, también es necesaria para mantener intacta la maduración de muchos virus. Los
 30 virus en los que la exportación nuclear y/o la propia CRM1 ha estado implicada en su ciclo de vida incluyen el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), adenovirus, retrovirus de simio de tipo 1, virus de la enfermedad de Borna, gripe (cepas comunes, así como las cepas H1N1 y H5N1 aviar), virus de la hepatitis B (VHB) y C (VHC), papilomavirus humano (HPV), virus respiratorio sincitial (VRS),
 35 Dungee, coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo Grave, virus de la fiebre amarilla, Virus del Oeste del Nilo, virus del herpes simple (VHS), citomegalovirus (CMV) y poliomavirus de células de Merkel (VCM). (Bhuvanakantham 2010, Cohen 2010, Whittaker 1998). Como es natural, en el futuro, se descubrirán otras infecciones virales dependientes de la exportación nuclear.

40 La proteína Rev del VIH-1, que circula por nucleolos y lanzaderas de entre

el núcleo y el citoplasma, facilita la exportación de transcriptos de VIH sin cortar ni empalmar o cortados y empalmados individualmente que contienen ARN de elementos de respuesta a Rev (ERR) por la ruta de exportación de CRM1. La inhibición del transporte del ARN mediado por Rev con el uso de inhibidores de CRM1 tales como LMB o PKF050-638 puede detener el proceso de transcripción del HIV-1, inhibir la producción de nuevos viriones de HIV-1, reduciendo así los niveles de HIV-1 (Pollard 1998, Daelemans 2002).

El virus del Dengue (DENV) es el agente causante de la enfermedad viral transmitida por artrópodos común, la fiebre del Dengue (FD) y su fiebre más grave y potencialmente mortal, la fiebre hemorrágica del Dengue (FHD). La FHD parece ser el resultado de una respuesta inflamatoria exagerada hacia el DENV. La NS5 es la proteína de mayor tamaño y más conservada del DENV. CRM1 regula el transporte de NS5 desde el núcleo al citoplasma, en el que se media la mayor parte de las funciones de NS5. La inhibición de la exportación de NS5 mediada por CRM1 provoca una alteración de la cinética de la producción del virus y reduce la inducción de la quimiocina inflamatoria interleucina-8 (IL-8), presentando una nueva vía para el tratamiento de enfermedades causadas por el DENV y otros flavivirus de importancia médica que incluyen el virus de la hepatitis C (Rawlinson 2009).

Otras proteínas de unión al ARN codificadas por virus que usan CRM1 para salir del núcleo incluyen la proteína del tegumento del VHS de tipo 1 (VP13/14 o hUL47), proteína del CMV humano pp65, proteína del ORF 3b del Coronavirus SARS y la proteína de la matriz (M) del RSV (Williams 2008, Sanchez 2007, Freundt 2009, Ghildyal 2009).

Lo interesante es que muchos de estos virus están asociados con tipos específicos de cáncer humano, incluyendo el carcinoma hepatocelular (CHC) debido a la infección por VHB o VHC crónica, cáncer de cuello uterino debido al HPV y carcinoma de células de Merkel asociado con el VCM. Por tanto, los inhibidores del CRM1 podrían tener efectos beneficiosos tanto en el proceso infeccioso viral como en el proceso de transformación neoplásica debida a estos virus.

La CRM1 controla la ubicación nuclear y, por tanto, la actividad de múltiples enzimas metabolizadores del ADN, entre las que se incluyen las histona desacetilasas (HDAC), histona acetiltransferasas (HAT) e histona metiltransferasas (HMT). Se ha demostrado la inhibición de la hipertrofia cardiomiocítica con inhibidores irreversibles de CRM1, y se cree que está relacionada con la retención nuclear (y la activación) de HDAC 5, una enzima conocida por inhibir un programa genético hipertrófico (Monovich *et al.* 2009). Por lo tanto, la inhibición de CRM1 puede tener efectos beneficiosos en síndromes hipertróficos, incluyendo ciertas formas de insuficiencia cardíaca congestiva y

cardiomiopatías hipertróficas.

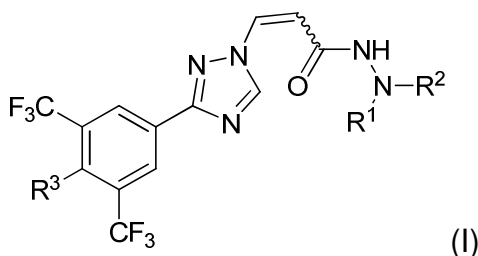
La CRM1 también se ha relacionado con otros trastornos. El trastorno de Leber, un trastorno hereditario caracterizado por la degeneración de las células del ganglio retinal y la pérdida de visión, está asociado con una inactividad del intercambio de CRM1 (Gupta N 2008). También hay pruebas que vinculan los trastornos neurodegenerativos con las anomalías en el transporte nuclear.

Sin embargo, hasta la fecha, el uso *in vitro* e *in vivo* de inhibidores de Crm1 de tipo farmacológico de bajo peso molecular es poco común.

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a compuestos, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, útiles como moduladores del transporte nuclear. La invención también proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden los compuestos de la presente invención y procedimientos de uso de dichos compuestos y composiciones en el tratamiento de diversos trastornos tales como aquéllos asociados con respuestas celulares anómalas provocadas por un transporte nuclear inadecuado.

En una realización de la invención, los compuestos se representan por la fórmula I:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que los valores y los valores alternativos de cada variable son como se definen y se describen en la presente memoria.

Otra realización de la invención es una composición que comprende un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Otra realización más de la invención es un procedimiento para tratar un trastorno asociado con la actividad de CRM1, procedimiento que comprende administrar a un sujeto en necesidad de la misma una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o una composición que comprende un compuesto de la invención o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Otra realización de la invención es el uso de un compuesto de la invención para tratar un trastorno asociado con la actividad de CRM1 en un sujeto.

Otra realización de la invención es el uso de un compuesto de la invención para la preparación de un medicamento para tratar un trastorno asociado con la actividad de CRM1 en un sujeto.

Los moduladores del transporte nuclear de la presente invención, así como sus sales farmacéuticamente aceptables y/o composiciones, proporcionan una excelente exposición *in vivo* medida mediante la ABC en ratones, ratas, perros y monos, presentando a la vez niveles bajos de penetración en el cerebro. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención, y sus sales farmacéuticamente aceptables y/o composiciones, son útiles para tratar una variedad de enfermedades, trastornos o afecciones asociados con respuestas celulares anómalas provocadas por un transporte nuclear inadecuado, tales como las enfermedades, los trastornos o las afecciones descritos en la presente memoria.

Los compuestos proporcionados por la presente invención también son útiles para el estudio de la modulación del transporte nuclear en fenómenos biológicos y patológicos; el estudio de rutas de transducción de señales intracelulares mediadas por quinasas; y la evaluación comparativa de moduladores del transporte nuclear.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La FIG. 1 es una gráfica del volumen tumoral en función del tiempo, y muestra el efecto del Compuesto I-3 en el volumen tumoral en un modelo de xenoinjerto murino del cáncer de mama triple negativo (CMTN).

La FIG. 2A es una imagen de transferencia Western que muestra el efecto de las concentraciones crecientes del Compuesto I-3 sobre CRM1 y las proteínas indicadoras de la apoptosis en células CMTN MDA-MB-468.

La FIG. 2B es una imagen de transferencia Western que muestra el efecto de las concentraciones crecientes del Compuesto I-3 sobre CRM1 y las proteínas indicadoras de la apoptosis en células BC luminales DU4475.

La FIG. 2C es una imagen de transferencia Western que muestra el efecto de las concentraciones crecientes del Compuesto I-3 sobre CRM1 y las proteínas indicadoras de la apoptosis en células CMTN HS578T.

La FIG. 3 es una imagen de transferencia Western que muestra el efecto de las concentraciones crecientes del Compuesto I-3 sobre proteínas contra la apoptosis y del ciclo celular en líneas celulares MDA-MB-468 y CMTN HS578T.

La FIG. 4 es una gráfica del peso corporal medio frente al tiempo durante los días 0 a 12 en ratones artríticos BALB/c macho inducidos con anticuerpos sometidos al tratamiento indicado.

La FIG. 5 es una gráfica de las puntuaciones clínicas totales medias de artrosis en la pata frente al tiempo durante los días 0 a 12 en ratones artríticos BALB/c macho inducidos con anticuerpos sometidos al tratamiento indicado.

La FIG. 6 es un gráfico de barras de la puntuación del engrosamiento, de la descamación y del plegamiento medios de la oreja determinados del día 0 al 7 en ratones psoriáticos BALB/c macho inducidos mediante PMA sometidos al tratamiento indicado.

La FIG. 7 es un conjunto de gráficas que muestra la preferencia por objetos de ratas tratadas según lo indicado en el modelo reconocimiento de nuevos objetos.

La FIG. 8A es un conjunto de gráficas que muestran la ingesta de alimento acumulativa y media frente al tiempo en ratas Zucker obesas y delgadas tratadas como se indica.

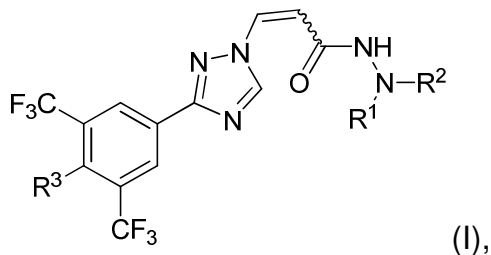
La FIG. 8B es un conjunto de gráficas que muestra el porcentaje y la media de peso corporal frente al tiempo en ratas Zucker obesas y flacas tratadas como se indica.

10 DESCRIPCIÓN DETALLADA

Las nuevas características de la presente invención serán evidentes para el experto en la técnica tras examinar la siguiente descripción detallada de la invención. Sin embargo, se ha de entender que la descripción detallada de la invención y los ejemplos específicos presentados, aunque indican ciertas realizaciones de la presente invención, se proporcionan únicamente a efectos ilustrativos, pues como será evidente para los expertos en la técnica, es posible realizar diversos cambios y modificaciones dentro del espíritu y del alcance de la invención a partir de la descripción detallada de la invención y las reivindicaciones que figuran a continuación.

20 *Compuestos de la invención*

Una realización de la invención consiste en los compuestos representados por la fórmula I:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que:

25 R^1 se selecciona entre hidrógeno y metilo;

R^2 se selecciona entre piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, pirazin-2-ilo, y quinoxalin-2-ilo, pirimidin-4-ilo, 1,1-dioxotetrahidrotiofen-3-ilo y ciclopropilo, en la que R^2 está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes independientes seleccionados entre metilo y halógeno; o

30 R^1 y R^2 se toman junto con sus átomos intermedios para formar 4-hidroxipiperidin-1-ilo, pirrolidin-1-ilo, azepan-1-ilo, 4-bencilpiperazin-1-ilo, 4-etilpiperazin-1-ilo, 3-hidroxiacetidin-1-ilo o morfolin-4-ilo;

R^3 se selecciona entre hidrógeno y halo; y

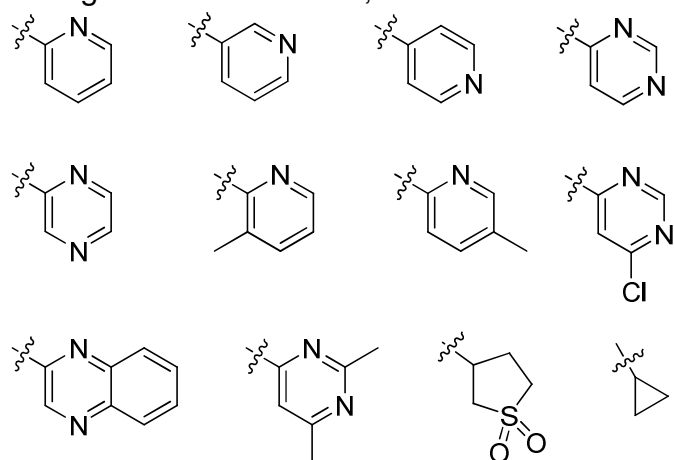
35 $\sim$ representa un enlace sencillo, en el que un doble enlace carbono-carbono unido al mismo está en una configuración (*E*) o (*Z*).

Como se describe en términos generales anteriormente, R^1 se selecciona

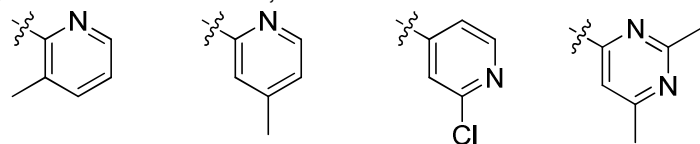
entre hidrógeno y metilo. En algunas realizaciones, R^1 es hidrógeno. En algunas realizaciones, R^1 es metilo.

Como se describe anteriormente en términos generales, R^2 se selecciona entre piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, pirazin-2-ilo, quinoxalin-2-ilo, pirimidin-4-ilo, 1,1-dioxotetrahidrotiofen-3-ilo y ciclopropilo, estando R^2 opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes independientes seleccionados entre metilo y halógeno. En algunas realizaciones de fórmula I, R^2 es piridin-2-ilo. En algunas realizaciones de fórmula I, R^2 es piridin-3-ilo. En algunas realizaciones de fórmula I, R^2 es piridin-4-ilo. En algunas realizaciones de fórmula I, R^2 es pirazin-2-ilo. En algunas realizaciones de fórmula I, R^2 es pirimidin-4-ilo. En algunas realizaciones de fórmula I, R^2 es quinoxalin-2-ilo. En algunas realizaciones de fórmula I, R^2 se selecciona entre piridin-2-ilo, piridin-3-ilo y piridin-4-ilo. En algunas realizaciones de fórmula I, R^2 se selecciona entre piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, pirazin-2-ilo y pirimidin-4-ilo. En algunas realizaciones de fórmula I, R^2 se selecciona entre piridin-2-ilo, piridin-4-ilo, pirazin-2-ilo y pirimidin-4-ilo.

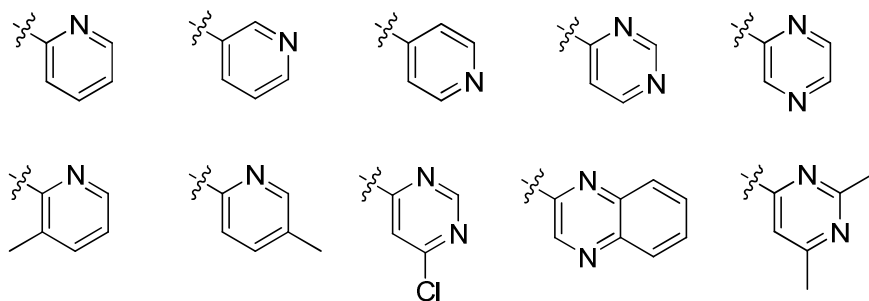
En algunas realizaciones, R^2 se selecciona entre:



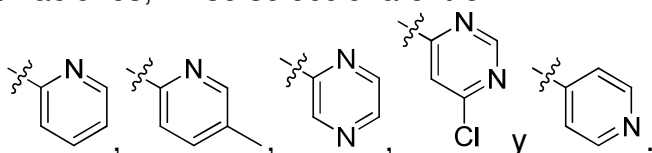
En algunas realizaciones de fórmula I, R^2 está opcionalmente sustituido con un solo sustituyente seleccionado entre metil y cloro. En algunas realizaciones de fórmula I, R^2 está opcionalmente sustituido con un grupo metilo. En algunas realizaciones de fórmula I, R^2 está opcionalmente sustituido con un grupo cloro. En algunas realizaciones, R^2 se selecciona entre:



En algunas realizaciones, R^2 se selecciona entre:



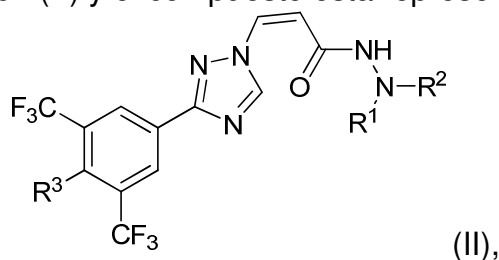
En algunas realizaciones, R^2 se selecciona entre:



En algunas realizaciones de fórmula I, R^1 y R^2 se toman junto con sus
 5 átomos intermedios para formar 4-hidroxipiperidin-1-ilo, pirrolidin-1-ilo, azepan-1-ilo, 4-bencilpiperazin-1-ilo, 4-etilpiperazin-1-ilo, 3-hidroxiazetidín-1-ilo o morfolín-4-ilo. En algunas realizaciones de fórmula I, R^1 y R^2 se toman junto con sus átomos intermedios para formar 4-hidroxipiperidin-1-ilo.

Como se describe anteriormente en términos generales, R^3 se selecciona
 10 entre hidrógeno y halógeno. En algunas realizaciones, R^3 es hidrógeno. En algunas realizaciones, R^3 es halógeno (por ejemplo, cloro, bromo, yodo o fluoro). En algunas de dichas realizaciones, R^3 es cloro.

Como se describe anteriormente en términos generales, el doble enlace carbono-carbono situado entre el resto triazol y el resto carbonilo está en una
 15 configuración (*E*) o una configuración (*Z*). En algunas realizaciones, ese doble enlace está en una configuración (*E*). En algunas realizaciones, ese doble enlace está en una configuración (*Z*) y el compuesto está representado por la fórmula II:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que R^1 , R^2 y R^3 son como
 20 se han definido anteriormente y se describen en la presente memoria.

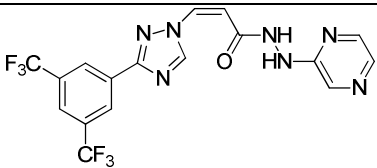
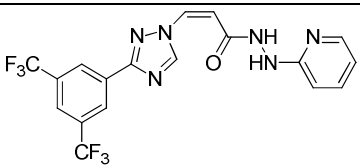
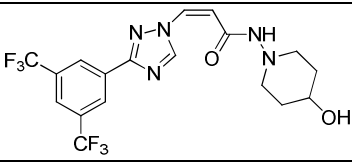
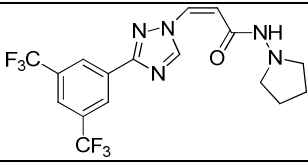
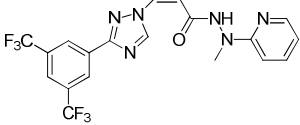
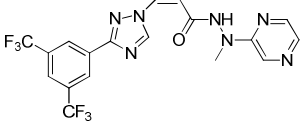
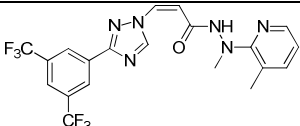
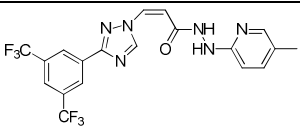
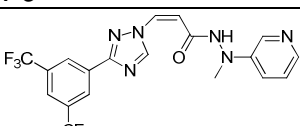
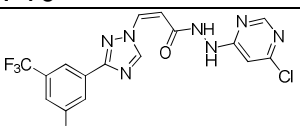
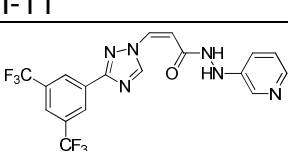
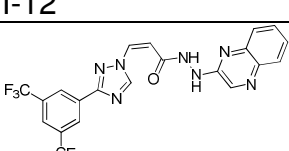
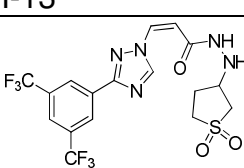
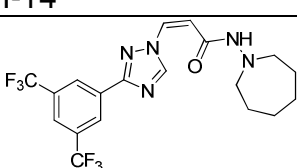
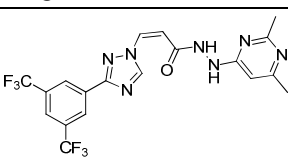
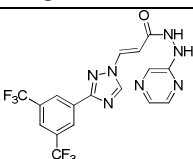
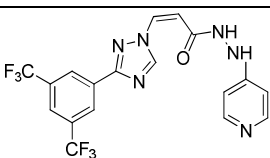
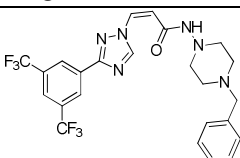
Una realización adicional de la invención es un compuesto representado por la fórmula II, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que los valores y valores alternativos para las variables son como se han definido anteriormente para un compuesto de fórmula I.

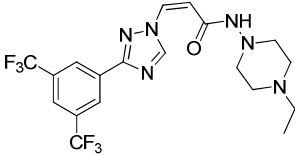
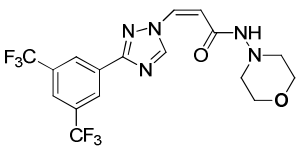
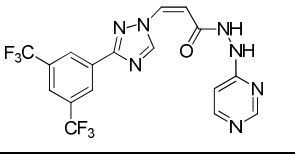
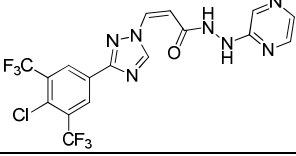
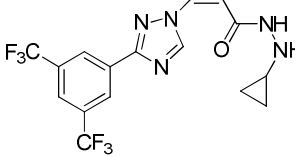
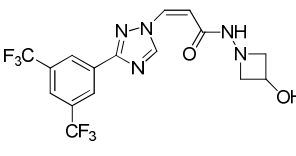
En un primer aspecto de esta otra realización, R^1 es como se ha definido
 25 anteriormente; y R^2 se selecciona entre piridin-2-ilo, piridin-4-ilo, pirazin-2-ilo y pirimidin-4-ilo, estando R^2 opcionalmente sustituido con un solo sustituyente seleccionado entre metilo y cloro; o R^1 y R^2 se toman junto con sus átomos intermedios para formar 4-hidroxipiperidin-1-ilo.

En un aspecto específico del primer aspecto, R^3 es hidrógeno. Los valores y valores alternativos para el resto de las variables son como se ha descrito anteriormente para un compuesto de fórmula I, o en la otra realización o primer aspecto de la misma.

5 En la Tabla 1, se presentan los compuestos ejemplares de fórmula I.

Tabla 1. Compuestos ejemplares de fórmula I.

	
I-3	I-4
	
I-5	I-6
	
I-7	I-8
	
I-9	I-10
	
I-11	I-12
	
I-13	I-14
	
I-15	I-16
	
I-17	I-18
	
I-19	I-20

	
I-21	I-22
	
I-23	I-24
	
I-25	I-26

En algunas realizaciones, el compuesto de la invención se selecciona entre uno cualquiera de los compuestos I-3 a I-26. En un aspecto de las presentes realizaciones, el compuesto se selecciona entre los compuestos I-3, I-4, I-5, I-7, I-8, I-10, I-12, I-18, I-19 y I-24. En un aspecto más específico, el compuesto de la invención se selecciona entre I-3 y I-4.

La farmacocinética (FC) desempeña un papel creciente en el descubrimiento y desarrollo de fármacos. La farmacocinética es el estudio cuantitativo de cómo transcurre en el tiempo la absorción, la distribución, el metabolismo y/o la eliminación de los fármacos. Cuando se administra un fármaco, éste se distribuye rápidamente desde su punto de administración por el sistema circulatorio sanguíneo. Una medida del grado de distribución de un agente terapéutico es el área bajo la curva (ABC) de concentración plasmática-tiempo calculada hasta la última concentración media (ABC_t) y extrapolada hasta el infinito (ABC_{inf}). La ABC es, por tanto, una métrica útil para cuantificar la exposición de un fármaco.

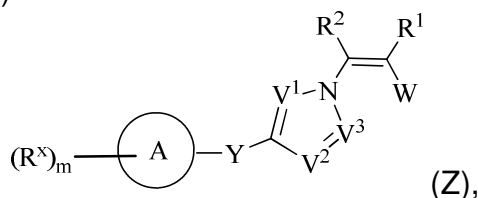
En general, cuanto mayor es la exposición de un agente terapéutico, mayores son los efectos del agente. Sin embargo, una alta exposición de un agente terapéutico puede tener efectos perjudiciales en ciertos tejidos tales como el cerebro. Aunque la barrera hematoencefálica (BHE), una red protectora que consiste en fuertes uniones entre las células endoteliales, restringe la difusión de moléculas hidrófilas y/o de gran tamaño, los fármacos con una elevada ABC siguen siendo capaces de penetrar por la BHE y/o el fluido cerebroespinal. A menudo, dicha penetración es indeseable y puede conducir a efectos secundarios no deseados. Los esfuerzos actuales por descubrir fármacos están enfocados, en parte, a conseguir un equilibrio entre la maximización de la exposición del fármaco (por ejemplo, ABC) y la minimización de la penetración en el cerebro.

La relación entre el cerebro y el plasma (C:P) es un procedimiento para cuantificar la distribución relativa de un agente terapéutico en el tejido cerebral con respecto al que se encuentra en circulación, y como tal, proporciona un índice de la penetración cerebral de un agente terapéutico dado. Se prefiere una alta
 5 relación entre cerebro y plasma en el tratamiento de enfermedades ubicadas en el sistema nervioso central (SNC), incluyendo el cerebro y el fluido cerebroespinal. Sin embargo, generalmente, se prefiere una baja relación entre cerebro y plasma para agentes terapéuticos no destinados al SNC con el fin de minimizar la penetración en el cerebro y evitar posibles efectos secundarios provocados por
 10 una acumulación no deseada de los agentes terapéuticos en el cerebro y en el tejido del SNC.

Como se expone más detalladamente en el apartado de ejemplificación, los compuestos de la presente invención presentan una mayor ABC y/o una menor C:P en comparación con otros inhibidores del transporte nuclear, tales como los
 15 revelados en la solicitud de patente estadounidense en copropiedad n.º 13/041.377, presentada el 5 de marzo de 2011 y publicada como US 2009/0275607 el 10 de noviembre de 2011. En algunas realizaciones de la presente invención, el compuesto de fórmula I tiene una actividad de exportación nuclear de menos del aproximadamente 1 μ M, una ABC_{Inf} de más de aproximadamente 3.300 (por ejemplo, de más de aproximadamente 3.500), y una
 20 relación C:P de menos de aproximadamente 2,5 cuando se administra a un ratón a 10 mg/kg por vía oral.

Procedimientos sintéticos de la invención

Según la presente invención, se proporciona un procedimiento para
 25 preparar derivados de (Z)-olefina de un compuesto de fórmula Z útiles en la preparación del compuesto de la invención (por ejemplo, precursores de los compuestos de la invención):



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que:
 30 el anillo A es un anillo opcionalmente sustituido seleccionado entre fenilo, un anillo arilo bicíclico de 8-10 miembros, un anillo heteroarilo monocíclico de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, y un anillo heteroarilo bicíclico de 8-10 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno,
 35 oxígeno y azufre;

Y es enlace covalente o $-L-$;

L es un radical de hidrocarburo C_{1-8} , lineal o ramificado, saturado o

insaturado bivalente, en la que una o dos unidades metileno de L están opcionalmente reemplazadas por $-\text{NR}-$, $-\text{N(R)C(O)}-$, $-\text{C(O)N(R)}-$, $-\text{O}-$, $-\text{C(O)}-$, $-\text{OC(O)}-$, $-\text{C(O)O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{SO}-$, $-\text{SO}_2-$, $-\text{C(S)}-$, $-\text{C(NOR)}-$ o $-\text{C(NR)}-$;

5 cada R es independientemente hidrógeno o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado entre alifático C_{1-6} , fenilo, un anillo carbocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros, un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, un anillo heteroarilo monocíclico de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos
10 seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, un anillo arilo bicíclico de 8-10 miembros y un anillo heteroarilo bicíclico de 8-10 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre; o

dos grupos R del mismo nitrógeno se toman junto con el átomo de
15 nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre;

20 cada uno de V^1 , V^2 y V^3 es independientemente $\text{C(R}^y)$ o N;

cada R^x y R^y se selecciona independientemente entre $-\text{R}$, halógeno, $-\text{OR}$, $-\text{SR}$, $-\text{N(R)}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{N}_3$, $-\text{SOR}$, $-\text{SO}_2\text{R}$, $-\text{SO}_2\text{NR}$, $-\text{C(O)R}$, $-\text{CO}_2\text{R}$, $-\text{C(O)OR}$, $-\text{C(O)N(R)}_2$, $-\text{NRC(O)R}$, $-\text{OC(O)R}$, $-\text{OC(O)N(R)}_2$, $-\text{NRC(O)OR}$, $-\text{NRC(O)NR}_2$ y $-\text{NRSO}_2\text{R}$;

25 cada R^1 y R^2 es independientemente hidrógeno, deuterio, tritio o halógeno;

W es $-\text{CN}$, haloalquilo, $-\text{NO}_2$ o $-\text{C(=Z)R}^3$;

Z es O, S o NR;

R^3 se selecciona entre hidrógeno, $-\text{R}$, O, $-\text{SR}$ y $-\text{N(R}^4)_2$;

cada R^4 es independientemente $-\text{R}$; o

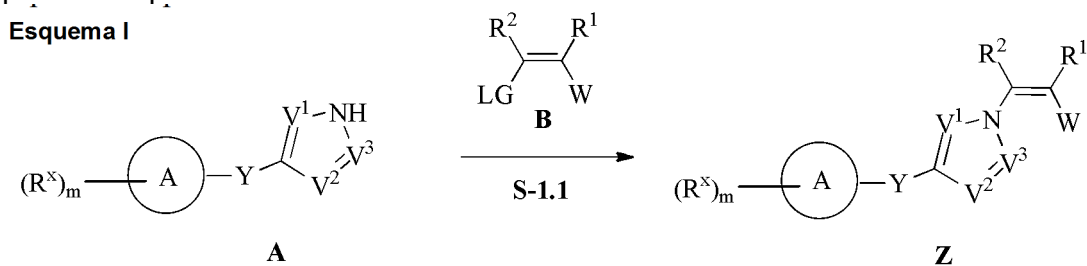
30 dos R^4 del mismo nitrógeno se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre
35 nitrógeno, oxígeno y azufre, estando el anillo así formado opcionalmente sustituido con $-(\text{R}^5)_n$;

40 cada R^5 se selecciona independientemente entre $-\text{R}$, halógeno, $-\text{OR}$, $-\text{SR}$, $-\text{N(R)}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{N}_3$, $-\text{SOR}$, $-\text{SO}_2\text{R}$, $-\text{SO}_2\text{NR}$, $-\text{C(O)R}$, $-\text{CO}_2\text{R}$, $-\text{C(O)OR}$, $-\text{C(O)N(R)}_2$, $-\text{NRC(O)R}$, $-\text{OC(O)R}$, $-\text{OC(O)N(R)}_2$, $-\text{NRC(O)OR}$, $-\text{NRC(O)NR}_2$ y $-\text{NRSO}_2\text{R}$; y

cada m y n es independientemente un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3 y 4.

Los compuestos de fórmula Z se han descrito, por ejemplo, en el documento US 13/041.377, presentado el 5 de marzo de 2011 y en las solicitudes provisionales estadounidenses n.º 61/513.428, presentada el 29 de julio de 2011 y 61/653.588, presentada el 1 de junio de 2012. Los compuestos de fórmula Z se sintetizan generalmente como una mezcla de los isómeros de (*E*)- y (*Z*)-olefina, que se debe separar. La separación de los isómeros de (*E*)- y (*Z*)-olefina requiere una amplia cromatografía y provoca una pérdida del 50% del compuesto intermedio avanzado A, pues el isómero no deseado, comúnmente, no se puede convertir en el isómero deseado. Un rendimiento del 50% es ineficaz y costoso en cualquier etapa de una síntesis, pero dichos rendimientos inaceptables son incluso más problemáticos al final de una síntesis de múltiples etapas. Ahora se ha descubierto que, sorprendentemente, el uso de bases impedidas estéricamente en una adición 1,4-nucleófila puede efectuar una selectividad por (*Z*) de la reacción, proporcionando así el isómero de *cis*-olefina como producto principal o exclusivo. Por consiguiente, la presente invención proporciona una síntesis selectiva de (*Z*) de los compuestos de fórmula Z y procedimientos para preparar compuestos intermedios sintéticos útiles para la preparación de los compuestos de fórmula Z. En el Esquema I, se representa una etapa clave en la síntesis de compuestos de fórmula Z.

En ciertas realizaciones, los compuestos de fórmula Z se preparan según el Esquema I expuesto a continuación:

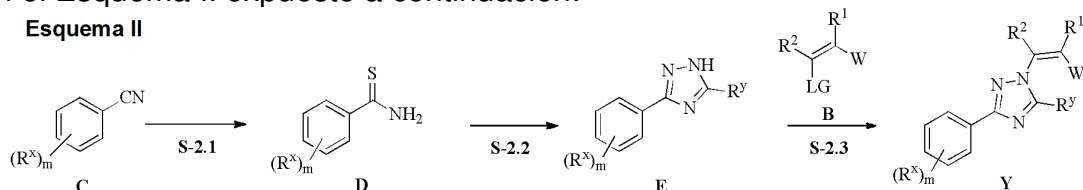


en el que LG es un grupo saliente y cada uno de anillo A, Y, V^1 , V^2 , V^3 , R^x , R^1 , R^2 , W y m es como se ha definido anteriormente con respecto a un compuesto de fórmula Z y se describe en las realizaciones en la presente memoria.

En algunas realizaciones de la etapa S-1.1, el compuesto intermedio A se acopla con el compuesto intermedio B mediante una reacción de adición/eliminación 1,4-nucleófila. En algunas realizaciones de la etapa S-1.1, LG es un grupo saliente adecuado. En algunas de dichas realizaciones de la etapa S-1.1, LG es a halógeno. En algunas realizaciones, LG es yodo. En algunas realizaciones de la etapa S-1.1, LG es bromo. En algunas realizaciones de la etapa S-1.1, LG es un sulfonato. En algunas de dichas realizaciones, LG es metanosulfonato (mesilato).

En algunas realizaciones de la etapa S-1.1, el compuesto intermedio A se acopla con el compuesto intermedio B en presencia de una base nucleófila impedida estéricamente. Cualquier experto en la técnica podrá seleccionar una base impedida estéricamente adecuada. Las bases nucleófilas impedidas estéricamente adecuadas para su uso en la presente invención incluyen 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN), 1,4-diazabicyclo(2.2.2)octano (DABCO), *N,N*-diciclohexilmetilamina, 2,6-di-*tert*-butil-4-metilpiridina, quinuclidina, 1,2,2,6,6-pentametilpiperidina (PMP), 7-metil-1,5,7-triazabicyclo(4.4.0)dec-5-eno (MTBD), trifenilfosfina, tri-*tert*-butilfosfina y triciclohexilfosfina.

En ciertas realizaciones, los compuestos de fórmula Y se preparan según con el Esquema II expuesto a continuación:



en el que LG es un grupo saliente y cada uno de R^x , R^y , R^1 , R^2 , W y m es como se ha definido anteriormente con respecto a un compuesto de fórmula Z y se describe en las realizaciones en la presente memoria.

En algunas realizaciones de la etapa S-2.1, el compuesto intermedio C se hace reaccionar con una sal tiolato, proporcionándose el compuesto intermedio D. En algunas realizaciones de la etapa S-2.1, la sal tiolato es tiolato de sodio. En algunas realizaciones de la etapa S-2.1, la sal tiolato es tiolato de potasio.

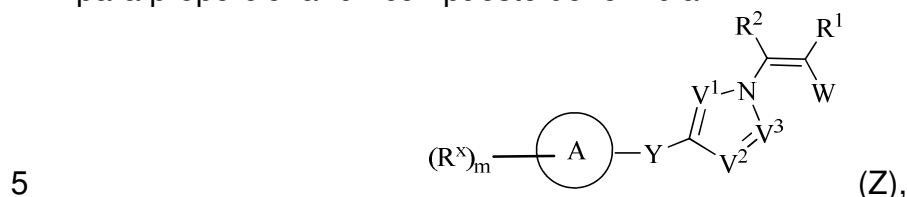
En la etapa S-2.2, se hace reaccionar el compuesto intermedio D con una hidrazina equivalente, proporcionándose el compuesto intermedio E.

En la etapa S-2.3, el compuesto intermedio E se acopla con el compuesto intermedio B, proporcionándose un compuesto de fórmula Y. En algunas realizaciones de la etapa S-2.3, LG es un grupo saliente adecuado. En algunas de dichas realizaciones de la etapa S-2.3, LG es un halógeno. En algunas realizaciones, LG es yodo. En algunas realizaciones de la etapa S-2.3, LG es bromo. En algunas realizaciones de la etapa S-2.3, LG es un sulfonato. En algunas de dichas realizaciones, LG es metanosulfonato (mesilato).

En algunas realizaciones de la etapa S-2.3, el compuesto intermedio E se acopla con el compuesto intermedio B en presencia de una base nucleófila impedida estéricamente. Cualquier experto en la técnica podrá seleccionar una base impedida estéricamente adecuada. Las base nucleófilas impedidas estéricamente adecuadas para su uso en la presente invención incluyen 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN), 1,4-diazabicyclo(2.2.2)octano (DABCO), *N,N*-diciclohexilmetilamina, 2,6-di-*tert*-butil-4-metilpiridina, quinuclidina, 1,2,2,6,6-pentametilpiperidina (PMP), 7-metil-1,5,7-

triazabicyclo(4.4.0)dec-5-eno (MTBD), trifenilfosfina, tri-*tert*-butilfosfina y triciclohexilfosfina.

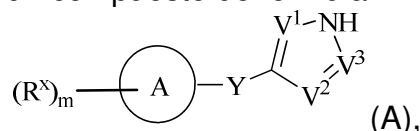
Según un aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para proporcionar un compuesto de fórmula Z:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que cada uno de anillo A, Y, V¹, V², V³, R^x, R, R¹, R², W y m es como se ha definido anteriormente con respecto a un compuesto de fórmula Z,

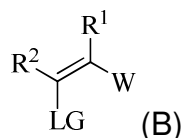
que comprende las etapas de:

- 10 (a) proporcionar un compuesto de fórmula A:



en la que cada uno de anillo A, R^x, Y, V¹, V², V³ y m es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula Z; y

- 15 (b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula A con una olefina de fórmula B:



en la que:

LG es halógeno, -OSO₂R o -OSO₂CF₃; y

- 20 cada uno de R, W, R¹ y R² es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula Z;

en presencia de una base nucleófila impedida estéricamente, formándose un compuesto de fórmula Z.

- 25 Como se describe anteriormente, un compuesto de fórmula A se acopla con un compuesto intermedio B mediante una reacción de adición/eliminación 1,4-nucleófila. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula A se acopla con un compuesto intermedio B en presencia de una base nucleófila impedida estéricamente. Las bases impedidas estéricamente adecuadas incluyen bases de amina terciaria. En algunas realizaciones, una base impedida estéricamente adecuada incluye bases de amina secundaria impedidas estéricamente. En
- 30 algunas realizaciones, la base nucleófila impedida estéricamente se selecciona entre 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN), 1,4-diazabicyclo(2.2.2)octano (DABCO), N,N-diciclohexilmetilamina, 2,6-di-*tert*-butil-4-metilpiridina, quinuclidina, 1,2,2,6,6-pentametilpiperidina (PMP), 7-metil-1,5,7-triazabicyclo(4.4.0)dec-5-eno (MTBD), trifenilfosfina, tri-*tert*-butilfosfina

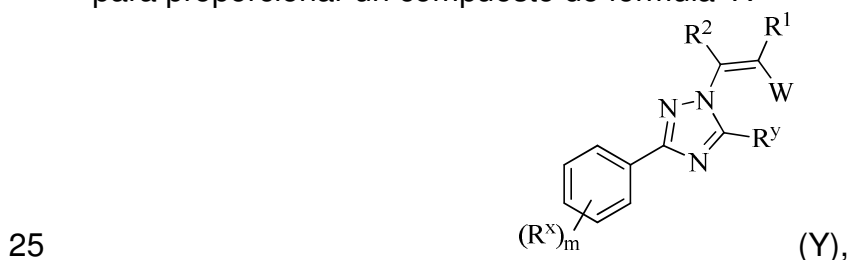
y triciclohexilfosfina. En algunas realizaciones, la base nucleófila impedida estéricamente es 1,4-diazabicyclo(2.2.2)octano (DABCO). En algunas realizaciones, la base nucleófila impedida estéricamente es 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU).

5 En algunas realizaciones, la base nucleófila impedida estéricamente es una fosfina. En algunas de dichas realizaciones, la base nucleófila impedida estéricamente es trifenilfosfina.

En algunas realizaciones, la etapa (b) anterior se realiza a un intervalo de temperaturas de aproximadamente 0°C a aproximadamente 100°C. En algunas
10 realizaciones, la etapa (b) se realiza a una temperatura de aproximadamente 0°C. En algunas realizaciones, la etapa (b) se realiza a una temperatura de aproximadamente 25°C. En algunas realizaciones, la etapa (b) se realiza a una temperatura de aproximadamente 50°C. En algunas realizaciones, la etapa (b) se realiza a una temperatura de aproximadamente 100°C.

15 Cualquier experto habitual en la técnica reconocerá que la reacción de adición/eliminación 1,4-nucleófila de un compuesto de fórmula A y un compuesto intermedio B requiere el uso de un disolvente orgánico aprótico polar. Los disolventes orgánicos apróticos polares adecuados incluyen éteres tales como dioxano, tetrahidrofurano y metil-*tert*-butiléter (MTBE), y amidas tales como
20 dimetilformamida (DMF) y dimetilacetamida (DMA). Cualquier experto habitual en la técnica puede seleccionar el disolvente apropiado para la temperatura de reacción deseada.

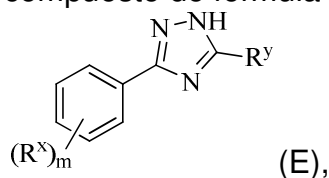
Según otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para proporcionar un compuesto de fórmula Y:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que cada uno de R, R^x, R^y, R¹, R², W y m es como se ha definido anteriormente con respecto a un compuesto de fórmula Z,

que comprende las etapas de:

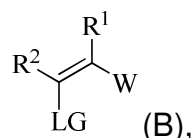
30 (a) proporcionar un compuesto de fórmula E:



en la que cada uno de R^x, R^y y m es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula Y; y

(b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula E con una olefina de

fórmula B:



en la que:

LG es halógeno, -OSO₂R o -OSO₂CF₃; y

5 cada uno de R, W, R¹ y R² es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula Y,

en presencia de una base nucleófila impedida estéricamente, formándose un compuesto de fórmula Y.

Como se describe anteriormente, un compuesto de fórmula E se acopla con
10 un compuesto intermedio B mediante una reacción de adición/eliminación 1,4-nucleófila. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula E se acopla con un compuesto intermedio B en presencia de una base nucleófila impedida estéricamente. Las bases impedidas estéricamente adecuadas incluyen bases de amina terciaria. En algunas realizaciones, una base impedida estéricamente
15 adecuada incluye bases de amina secundaria impedidas estéricamente. En algunas realizaciones, la base nucleófila impedida estéricamente se selecciona entre 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN), 1,4-diazabicyclo(2.2.2)octano (DABCO), *N,N*-díciclohexilmetilamina, 2,6-di-*tert*-butil-4-metilpiridina, quinuclidina, 1,2,2,6,6-pentametilpiperidina (PMP), 7-
20 metil-1,5,7-triazabicyclo(4.4.0)dec-5-eno (MTBD), trifenilfosfina, tri-*tert*-butilfosfina y triciclohexilfosfina. En algunas realizaciones, la base nucleófila impedida estéricamente es 1,4-diazabicyclo(2.2.2)octano (DABCO). En algunas realizaciones, la base nucleófila impedida estéricamente es 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU).

25 En algunas realizaciones, la base nucleófila impedida estéricamente es una fosfina. En algunas de dichas realizaciones, la base nucleófila impedida estéricamente es trifenilfosfina.

En algunas realizaciones, la etapa (b) anterior se realiza a un intervalo de temperaturas de aproximadamente 0°C a aproximadamente 100°C. En algunas
30 realizaciones, la etapa (b) se realiza a una temperatura de aproximadamente 0°C. En algunas realizaciones, la etapa (b) se realiza a una temperatura de aproximadamente 25°C. En algunas realizaciones, la etapa (b) se realiza a una temperatura de aproximadamente 50°C. En algunas realizaciones, la etapa (b) se realiza a una temperatura de aproximadamente 100°C.

35 Cualquier experto habitual en la técnica reconocerá que la reacción de adición/eliminación 1,4-nucleófila de un compuesto de fórmula E y un compuesto intermedio B requiere el uso de un disolvente orgánico aprótico polar. Los disolventes orgánicos apróticos polares adecuados incluyen éteres tales como dioxano, tetrahidrofurano y metil-*tert*-butiléter (MTBE), y amidas tales como

dimetilformamida (DMF) y dimetilacetamida (DMA). Cualquier experto habitual en la técnica puede seleccionar el disolvente apropiado para la temperatura de reacción deseada.

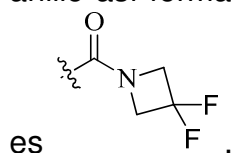
En algunas realizaciones de un compuesto de fórmula Y, W es $-\text{CN}$. En algunas realizaciones, W es haloalquilo. En algunas de dichas realizaciones, W es $-\text{CF}_3$. En algunas realizaciones, W es $-\text{NO}_2$.

En algunas realizaciones, W es $-\text{C}(=\text{Z})\text{R}^3$. En algunas de dichas realizaciones, Z es O. En algunas realizaciones, W es $-\text{C}(\text{O})\text{R}^3$, en la que R^3 se selecciona entre $-\text{OR}$, $-\text{SR}$ o $-\text{N}(\text{R}^4)_2$. En algunas realizaciones, W es $-\text{C}(\text{O})\text{OR}$. En algunas realizaciones, W es $-\text{C}(\text{O})\text{OR}$, en la que R se selecciona entre metilo, etilo, isopropilo, butilo, *terc*-butilo y *sec*-butilo. En algunas realizaciones, W es $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$. En algunas realizaciones, W es $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_3$. En algunas realizaciones, W es $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$.

En algunas realizaciones, W es $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^4)_2$. En algunas realizaciones, W es $-(\text{O})\text{NH}(\text{R}^4)$. En algunas realizaciones, W es $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$. En algunas realizaciones, W es $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^4)_2$, en la que ambos grupos R^4 se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado de 4-7 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, estando el anillo así formado opcionalmente sustituido con $-(\text{R}^5)_n$. En algunas realizaciones, W es $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^4)_2$, en la que ambos grupos R^4 se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado de 4-7 miembros que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, estando el anillo así formado opcionalmente sustituido con $-(\text{R}^5)_n$. En algunas realizaciones, W es $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^4)_2$, en la que ambos grupos R^4 se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado de 4-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre, estando el anillo así formado opcionalmente sustituido con $-(\text{R}^5)_n$. En algunas realizaciones, W es $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^4)_2$, en la que ambos grupos R^4 se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado de 4-7 miembros que tiene 1 átomo de nitrógeno, estando el anillo así formado opcionalmente sustituido con $-(\text{R}^5)_n$.

En algunas realizaciones, W es $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^4)_2$, en la que ambos grupos R^4 se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado de 4-6 miembros que tiene 1 átomo de nitrógeno, estando el anillo así formado opcionalmente sustituido con $-(\text{R}^5)_n$. En algunas realizaciones, W es $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^4)_2$, en la que ambos grupos R^4 se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado de 4-5 miembros que tiene 1 átomo de nitrógeno, estando el anillo así

formado opcionalmente sustituido con $-(R^5)_n$. En algunas realizaciones, W es $-C(O)N(R^4)_2$, en la que ambos grupos R^4 se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado de 4 miembros que tiene 1 átomo de nitrógeno, estando el anillo así formado opcionalmente sustituido con $-(R^5)_n$. En algunas realizaciones, W es $-C(O)N(R^4)_2$, en la que ambos grupos R^4 se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado de 4 miembros que tiene 1 átomo de nitrógeno, estando el anillo así formado sustituido con al menos un flúor. En algunas realizaciones, W es $-C(O)N(R^4)_2$, en la que ambos grupos R^4 se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado de 4 miembros que tiene 1 átomo de nitrógeno, estando el anillo así formado sustituido con al menos dos flúor. En algunas realizaciones, W

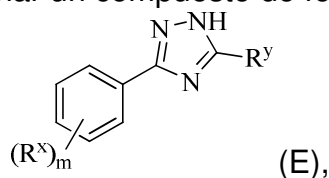


En algunas realizaciones, R^1 es hidrógeno. En algunas realizaciones, R^1 es deuterio. En algunas realizaciones, R^2 es hidrógeno. En algunas realizaciones, R^2 es deuterio. En algunas realizaciones, R^1 y R^2 son cada uno hidrógeno.

En algunas realizaciones, m es 1. En algunas realizaciones, m es 2. En algunas de dichas realizaciones, R^x es haloalquilo. En algunas realizaciones, R^x es $-CF_3$.

En algunas realizaciones, R^y es hidrógeno.

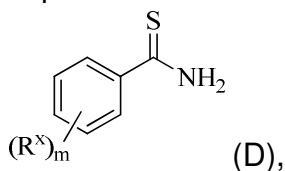
En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un procedimiento para proporcionar un compuesto de fórmula E:



en la que R^x , R^y y m son como se describen para un compuesto de fórmula Z,

que comprende las etapas de:

(a) proporcionar un compuesto de fórmula D:



en la que cada uno de R^x y m es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula E; y

(b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula D, formándose un compuesto de fórmula E.

En algunas realizaciones, las condiciones eficaces para formar un

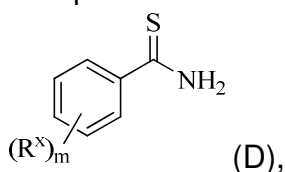
compuesto de fórmula D incluyen un equivalente de hidrazina. Por lo tanto, en algunas realizaciones, la etapa (b) del procedimiento para proporcionar un compuesto de fórmula E incluye la reacción de dicho compuesto de fórmula D con un equivalente de hidrazina, formándose el compuesto de fórmula E. En algunas

5 realizaciones, se hace reaccionar el compuesto intermedio D con hidrato de hidrazina, proporcionándose un compuesto de fórmula E. En algunas realizaciones, se hace reaccionar el compuesto intermedio D con una forma protegida de hidrazina, tal como hidrazin-carboxilato de *terc*-butilo y, posteriormente, se desprotege, proporcionándose el compuesto intermedio D.

10 Cualquier experto habitual en la técnica reconocerá que la adición de hidrazina al compuesto intermedio D requiere un disolvente orgánico aprótico polar. Los disolventes orgánicos apróticos polares adecuados incluyen éteres tales como dioxano, tetrahidrofurano y metil-*terc*-butiléter (MTBE), alcoholes tales como alcohol isopropílico, y amidas tales como dimetilformamida (DMF) y

15 dimetilacetamida (DMA). Cualquier experto habitual en la técnica puede seleccionar el disolvente apropiado para la temperatura de la reacción deseada.

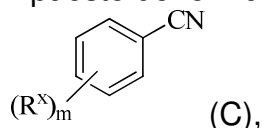
En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula D:



20 en la que R^x y m son como se han definido anteriormente para un compuesto de fórmula Z,

que comprende las etapas de:

(a) proporcionar un compuesto de fórmula C:



25 en la que cada uno de R^x y m es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula D; y

(b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula C, formándose un compuesto de fórmula D.

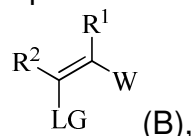
Como se describe anteriormente, en algunas realizaciones, se trata el

30 compuesto intermedio C con una sal tiolato, proporcionándose el compuesto intermedio D. En algunas realizaciones, la sal tiolato es tiolato de sodio. Cualquier experto habitual en la técnica reconocerá que la reacción del compuesto intermedio C con una sal tiolato requiere el uso de un disolvente aprótico polar. Los disolventes apróticos polares adecuados incluyen éteres tales como dioxano,

35 tetrahidrofurano y metil-*terc*-butiléter (MTBE).

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un

procedimiento para preparar un compuesto de fórmula B:



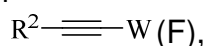
en la que:

LG es halógeno, $-\text{OSO}_2\text{R}$ o $-\text{OSO}_2\text{CF}_3$; y

5 cada uno de R, R^1 , R^2 y W son como se han definido anteriormente para un compuesto de fórmula Z,

que comprende las etapas de:

(a) proporcionar un compuesto de fórmula F:



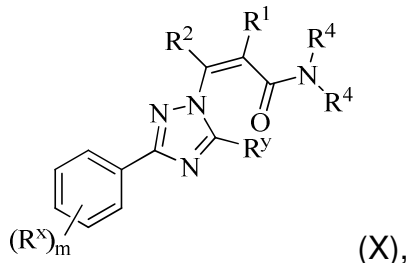
10 en la que cada uno de R^2 y W es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula B; y

(b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula F, formándose un compuesto de fórmula B.

Como se describe anteriormente, en algunas realizaciones del compuesto
15 intermedio B, LG es un halógeno. En algunas de dichas realizaciones, se trata un compuesto de fórmula F con una sal haluro. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula F se trata con un haluro de sodio. En algunas de dichas realizaciones, se trata un compuesto de fórmula F con yoduro de sodio. En algunas realizaciones, el compuesto intermedio F se trata con una sal haluro en
20 presencia de un ácido. Los ácidos adecuados incluyen tanto ácidos minerales como ácidos orgánicos. En algunas realizaciones, el compuesto intermedio F se trata con una sal haluro y un ácido orgánico tal como ácido acético. En algunas realizaciones, el compuesto intermedio F se trata con yoduro de sodio en presencia de ácido acético, proporcionándose un compuesto de fórmula B.

25 Cualquier experto habitual en la técnica reconocerá que la adición de una sal haluro al compuesto intermedio F requiere un disolvente orgánico aprótico polar. Los disolventes orgánicos apróticos polares adecuados incluyen éteres tales como dioxano, tetrahidrofurano y metil-*tert*-butiléter (MTBE).

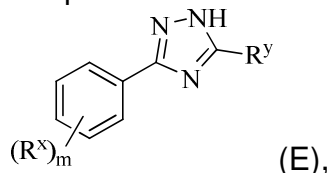
Según otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento
30 para proporcionar un compuesto de fórmula X:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que cada uno de R, R^x , R^y , R^1 , R^2 , R^4 y m es como se ha definido anteriormente con respecto a un compuesto de fórmula Z,

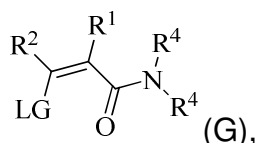
que comprende las etapas de:

(a) proporcionar un compuesto de fórmula E:



5 en la que cada uno de R^x , R^y y m es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula X; y

(b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula E con una olefina de fórmula G:



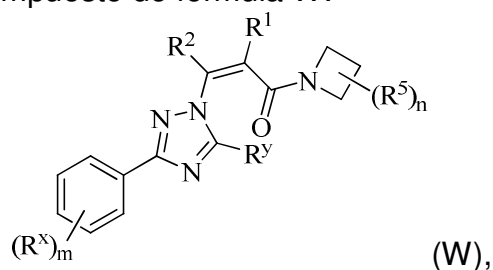
en la que:

10 LG es halógeno, $-\text{OSO}_2\text{R}$ o $-\text{OSO}_2\text{CF}_3$; y

cada uno de R , R^1 , R^2 y R^4 es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula X,

en presencia de una base nucleófila impedida estéricamente, formándose un compuesto de fórmula X.

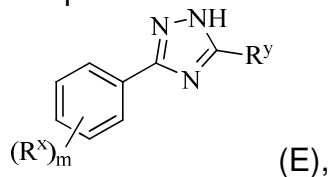
15 Según otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para proporcionar un compuesto de fórmula W:



20 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que cada uno de R , R^x , R^y , R^1 , R^2 , R^5 , m y n es como se ha definido anteriormente con respecto a un compuesto de fórmula Z,

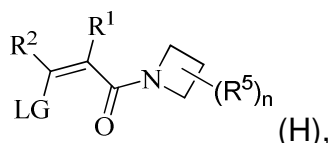
que comprende las etapas de:

(a) proporcionar un compuesto de fórmula E:



25 en la que cada uno de R^x , R^y y m es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula W; y

(b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula E con una olefina de fórmula H:



en la que:

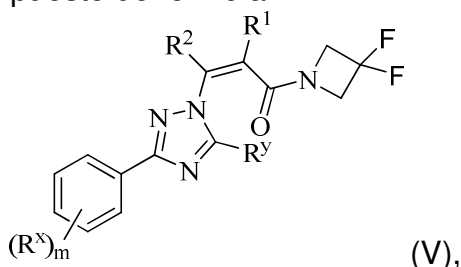
LG es halógeno, $-\text{OSO}_2\text{R}$ o $-\text{OSO}_2\text{CF}_3$; y

cada uno de R, R^1 , R^2 , R^5 y n es como se ha definido anteriormente para un

5 compuesto de fórmula W,

en presencia de una base nucleófila impedida estéricamente, formándose un compuesto de fórmula W.

Según otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para proporcionar un compuesto de fórmula V:



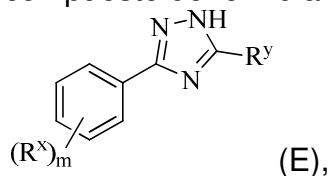
10

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que cada uno de R, R^x , R^y , R^1 , R^2 , y m es como se ha definido anteriormente con respecto a un compuesto de fórmula Z,

que comprende las etapas de:

15

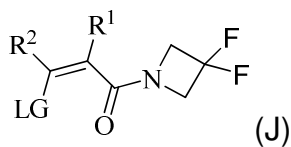
(a) proporcionar un compuesto de fórmula E:



en la que cada uno de R^x , R^y y m es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula V; y

(b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula E con una olefina de

20 fórmula J:



en la que:

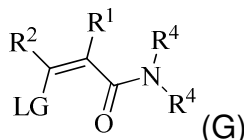
LG es halógeno, $-\text{OSO}_2\text{R}$ o $-\text{OSO}_2\text{CF}_3$; y

cada uno de R, R^1 y R^2 es como se ha definido anteriormente para un

25 compuesto de fórmula V,

en presencia de una base nucleófila impedida estéricamente, formándose un compuesto de fórmula V.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula G:



en la que:

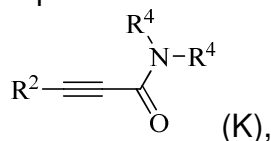
LG es halógeno, $-\text{OSO}_2\text{R}$ o $-\text{OSO}_2\text{CF}_3$; y

cada uno de R, R^1 , R^2 y R^4 es como se describe en la presente memoria

5 con respecto a un compuesto de fórmula Z,

que comprende las etapas de:

(a) proporcionar un compuesto de fórmula K:

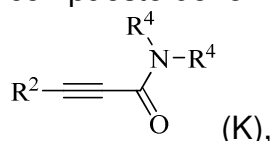


10 en la que cada uno de R^2 y R^4 es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula G; y

(b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula K, formándose un compuesto de fórmula G.

Como se describe anteriormente, en algunas realizaciones del compuesto intermedio G, LG es un halógeno. En algunas de dichas realizaciones, un compuesto de fórmula K se trata con una sal haluro. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula K se trata con un haluro de sodio. En algunas de dichas realizaciones, un compuesto de fórmula K se trata con yoduro de sodio. En algunas realizaciones, el compuesto intermedio K se trata con una sal haluro en presencia de un ácido. Los ácidos adecuados incluyen tanto ácidos minerales como ácidos orgánicos. En algunas realizaciones, el compuesto intermedio K se trata con una sal haluro y un ácido orgánico tal como ácido acético. En algunas realizaciones, el compuesto intermedio K se trata con yoduro de sodio en presencia de ácido acético, proporcionándose un compuesto de fórmula G.

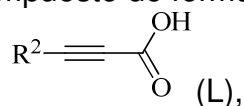
25 En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula K:



en la que cada uno de R^2 y R^4 es como se ha definido anteriormente con respecto a un compuesto de fórmula Z,

que comprende las etapas de:

30 (a) proporcionar un compuesto de fórmula L:



en la que R^2 es hidrógeno, deuterio, tritio o halógeno; y

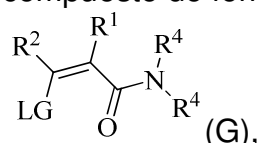
(b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula L con $\text{HN}(\text{R}^4)_2$, en la que cada R^4 es como se ha definido anteriormente con respecto a un compuesto

de fórmula K, formándose un compuesto de fórmula K.

En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula L se trata con un agente de acoplamiento de amida en presencia de $\text{HN}(\text{R}^4)_2$, formándose un compuesto de fórmula K. Los agentes de acoplamiento de amida adecuados incluyen HOBt, HOAt, HAMDU, HAMTU, PyBOP, PyBrOP, TBTU, HATU y T3P. Cualquier experto habitual en la técnica reconocerá que el uso de dichos agentes de acoplamiento de tipo amida requiere el uso de una base. Las bases adecuadas incluyen bases orgánicas tales como trietilamina, diisopropiletilamina, piridina, 4-dimetilpiridina (DMAP) y similares.

En algunas realizaciones, se hace reaccionar un compuesto de fórmula L con un agente de cloración tal como cloruro de tionilo, formándose un cloruro de acilo, que luego se hace reaccionar con $\text{HN}(\text{R}^4)_2$, formándose un compuesto de fórmula K.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula G:

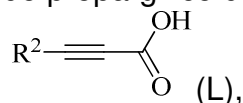


en la que:

LG es halógeno, $-\text{OSO}_2\text{R}$ o $-\text{OSO}_2\text{CF}_3$; y

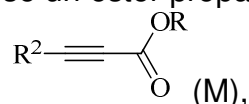
cada uno de R, R^1 , R^2 y R^4 es como se ha definido anteriormente con respecto a un compuesto de fórmula Z, que comprende las etapas de:

(a) proporcionar un ácido propargílico de fórmula L:



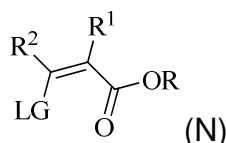
en la que R^2 es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula G;

(b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula L con un alcohol que tiene la fórmula HO-R , formándose un éster propargílico de fórmula M:



en la que cada uno de R y R^2 es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula G;

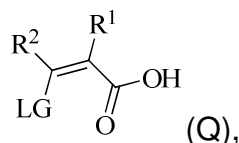
(c) hacer reaccionar dicho éster propargílico de fórmula M, formándose un compuesto de fórmula N:



en la que cada uno de R, R^1 , R^2 y LG es como se ha definido anteriormente

para un compuesto de fórmula G;

(d) hidrolizar dicho compuesto de fórmula N, formándose un compuesto de fórmula Q:



5 en la que cada uno de R, R¹, R² y LG es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula G; y

(e) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula Q con HN(R⁴)₂, en la que cada R⁴ es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula G, formándose un compuesto de fórmula G.

10 En algunas realizaciones, se trata un ácido propargílico de fórmula L con un alcohol, formándose un éster propargílico de fórmula M. Los alcoholes adecuados incluyen metanol, etanol e isopropanol. Cualquier experto habitual en la técnica reconocerá que es posible efectuar la esterificación de un ácido propargílico de fórmula L con un ácido catalítico. Por lo tanto, en algunas realizaciones, se trata
15 un ácido propargílico de fórmula L con metanol o etanol en presencia de ácido sulfúrico catalítico, proporcionándose un éster propargílico de fórmula M.

Cualquier experto habitual en la técnica reconocerá que dicha esterificación se puede realizar a temperaturas de aproximadamente 25°C a aproximadamente 100°C, o hasta el punto de ebullición del alcohol. En algunas realizaciones, la
20 esterificación de un ácido propargílico de fórmula L se calienta a reflujo (el punto de ebullición del alcohol).

Como se describe anteriormente, en algunas realizaciones de un compuesto de fórmula N, LG es un halógeno. En algunas de dichas realizaciones, un compuesto de fórmula M se trata con una sal haluro. En algunas realizaciones,
25 un compuesto de fórmula M se trata con un haluro de sodio. En algunas de dichas realizaciones, un compuesto de fórmula M se trata con yoduro de sodio. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula M se trata con una sal haluro en presencia de un ácido. Los ácidos adecuados incluyen tanto ácidos minerales como ácidos orgánicos. En algunas realizaciones, se trata un compuesto de
30 fórmula M con una sal haluro y un ácido orgánico tal como ácido acético. En algunas realizaciones, se trata un compuesto de fórmula M con yoduro de sodio en presencia de ácido acético, proporcionándose un compuesto de fórmula N.

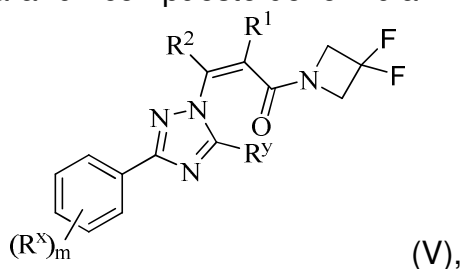
En algunas realizaciones, se hidroliza el éster de un compuesto de fórmula N, obteniéndose el ácido acrílico. Los expertos en la técnica conocen las
35 condiciones adecuadas para la hidrólisis, e incluyen hidróxido tal como hidróxido de litio, hidróxido sódico, hidróxido potásico e hidróxido de cesio en presencia de agua. Cualquier experto habitual en la técnica reconocerá que dicha hidrólisis se puede realizar a temperaturas de aproximadamente 25°C a aproximadamente 100°C. En algunas realizaciones, la hidrólisis de un acrilato de fórmula N se

calienta a reflujo.

En algunas realizaciones, se hace reaccionar un ácido acrílico de fórmula Q con $\text{HN}(\text{R}^4)_2$, formándose un compuesto de fórmula G. En algunas realizaciones, se trata un ácido acrílico de fórmula Q con un agente de acoplamiento de tipo amida en presencia de $\text{HN}(\text{R}^4)_2$, formándose un compuesto de fórmula G. Los agentes de acoplamiento de amida adecuados incluyen HOBt, HOAt, HAMDU, HAMTU, PyBOP, PyBrOP, TBTU, HATU y T3P. Cualquier experto habitual en la técnica reconocerá que el uso de dichos agentes de acoplamiento de tipo amida requiere el uso de una base. Las bases adecuadas incluyen bases orgánicas tales como trietilamina, diisopropiletilamina, piridina, 4-dimetilpiridina (DMAP) y similares.

En algunas realizaciones, se hace reaccionar un compuesto de fórmula Q con un agente de cloración tal como cloruro de tionilo, formándose un cloruro de acilo, que luego se hace reaccionar con $\text{HN}(\text{R}^4)_2$, formándose un compuesto de fórmula G.

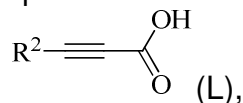
En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula V:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que cada uno de R, R^x , R^y , R^1 , R^2 y m es como se ha definido anteriormente con respecto a un compuesto de fórmula Z,

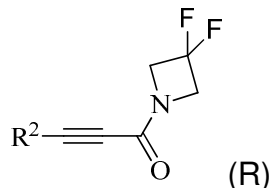
que comprende las etapas de:

(a) proporcionar un compuesto de fórmula L:



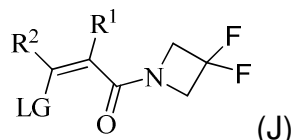
en la que R^2 es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula V;

(b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula L con , formándose un compuesto de fórmula R:



en la que R_2 es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula V;

(c) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula R, proporcionándose un compuesto de fórmula J:



en la que:

- 5 LG es halógeno, -OSO₂R o -OSO₂CF₃; y
cada uno de R, R¹ y R² es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula V; y

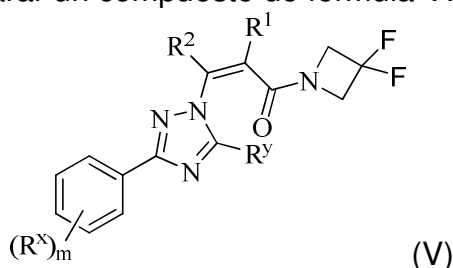
(d) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula J con un compuesto de fórmula E:



en la que cada uno de R^x, R^y y m es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula V,

en presencia de una base nucleófila impedida estéricamente, proporcionándose un compuesto de fórmula V.

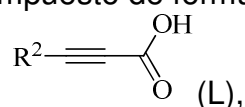
- 15 En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula V:



- 20 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que cada uno de R, R^x, R^y, R¹, R² y m es como se ha definido anteriormente con respecto a un compuesto de fórmula Z,

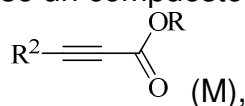
que comprende las etapas de:

- (a) proporcionar un compuesto de fórmula L:



- 25 en la que R² es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula V;

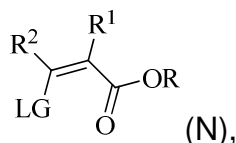
(b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula L con un alcohol que tiene la fórmula HO-R, formándose un compuesto de fórmula M:



en la que cada uno de R y R² es como se ha definido anteriormente para un

compuesto de fórmula V,

(c) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula M, proporcionándose un compuesto de fórmula N:

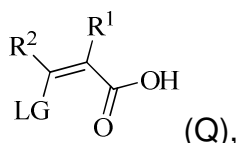


5 en la que:

LG es halógeno, -OSO₂R o -OSO₂CF₃; y

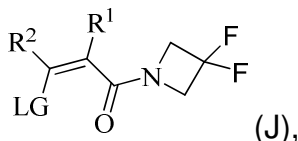
cada uno de R, R¹ y R² es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula V;

10 (d) hidrolizar dicho compuesto de fórmula N, formándose un compuesto de fórmula Q:



en la que cada uno de R¹, R² y LG es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula V;

15 (e) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula Q con , formándose un compuesto de fórmula J:

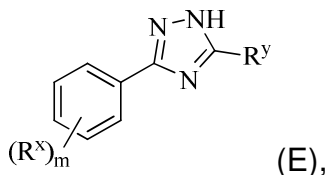


en la que:

LG es halógeno, -OSO₂R o -OSO₂CF₃; y

20 cada uno de R, R¹ y R² es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula V; y

(f) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula J con un compuesto de fórmula E:



25 en la que cada uno de R^x, R^y y m es como se ha definido anteriormente para un compuesto de fórmula V,

en presencia de una base nucleófila impedida estéricamente, proporcionándose un compuesto de fórmula V.

Definiciones

30 Los compuestos de la presente invención incluyen los descritos anteriormente de forma general y se ilustran además por las clases, subclases y especies reveladas en la presente memoria. Como se usan en la presente memoria, se aplicarán las siguientes definiciones a menos que se indique otra

cosa. A efectos de la presente invención, los elementos químicos se identifican según la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, "Handbook of Chemistry y Physics", 75 Ed. Además, los principios generales de la Química orgánica se describen en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999 y "March's Advanced Organic Chemistry", V Ed., Ed.: Smith, M. B. y March, J., John Wiley & Sons, Nueva York: 2001, cuyo contenido se encuentra incorporado en su totalidad en la presente memoria por referencia.

A no ser que especifique de otro modo en la presente memoria, la nomenclatura usada en la presente memoria descriptiva sigue, en general, los ejemplos y las reglas establecidas en "Nomenclature of Organic Chemistry", Apartados A, B, C, D, E, F y H, Pergamon Press, Oxford, 1979, que se incorpora por referencia en la presente memoria en lo relativo a sus nombres y reglas de estructura química ejemplares para nombrar las estructuras químicas. Opcionalmente, los nombres de los compuestos se pueden generar usando un programa de nomenclatura de compuestos químicos: ACD/ChemSketch, Versión 5.09/septiembre de 2001, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, Canadá.

Los compuestos de la presente invención pueden tener centros asimétricos, ejes quirales y planos quirales (por ejemplo, según lo descrito en: E. L. Eliel y S. H. Wilen, "Stereo-chemistry of Carbon Compounds", John Wiley & Sons, Nueva York, 1994, páginas 1119-1190), y aparecen como racematos, mezclas racémicas y como diastereómeros o enantiómeros individuales, estando todos los isómeros posibles y sus mezclas, incluyendo los isómeros ópticos, incluidos en la presente invención.

El término "alifático" o la expresión "grupo alifático", como se usa en el presente documento, representa un radical de hidrocarburo monovalente que es de cadena lineal (es decir, no ramificado), ramificado o cíclico (incluyendo condensado, enlazado y policíclico espiro-condensado). Un grupo alifático puede estar saturado o puede contener una o más unidades de insaturación, pero no ser aromático. A no ser que se especifique lo contrario, los grupos alifáticos contienen 1-6 átomos de carbono. Sin embargo, en algunas realizaciones, un grupo alifático contiene 1-10 o 2-8 átomos de carbono. En algunas realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-4 átomos de carbono e, incluso en otras realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-3 átomos de carbono. Los grupos alifáticos adecuados incluyen, pero sin limitación, grupos alquilo, alquenilo y alquinilo lineales o ramificados, y sus híbridos tales como (cicloalquil)alquilo, (cicloalquenil)alquilo o (cicloalquil)alquenilo.

El término "alquilo", como se usa en el presente documento, significa un grupo alifático saturado de cadena lineal o ramificado. En un aspecto, un grupo alquilo contiene 1-10 o 2-8 átomos de carbono. Alquilo incluye, pero sin limitación,

metilo, etilo, propilo, *iso*-propilo, *n*-butilo, *sec*-butilo, *t*-butilo y similares.

El término "alquenilo", como se usa en el presente documento, significa un grupo alifático de cadena lineal o ramificado que tiene uno o más dobles enlaces carbono-carbono (es decir, $-\text{CH}=\text{CH}-$). En un aspecto, un grupo alquenilo tiene de
 5 dos a ocho átomos de carbono, e incluye, por ejemplo, y sin limitación, etenilo, 1-propenilo, 1-butenilo y similares. El término "alquenilo" engloba radicales que tienen dobles enlaces carbono-carbono en las configuraciones "*cis*" y "*trans*" o, como alternativa, en las configuraciones "*E*" y "*Z*". Si un grupo alquenilo incluye más de un doble enlace carbono-carbono, cada doble enlace carbono-carbono es
 10 independientemente un enlace doble *cis* o *trans*, o una mezcla de los mismos.

El término "alquinilo", como se usa en el presente documento, significa un radical alifático de cadena lineal o ramificado que tiene uno o más enlaces triples carbono-carbono (es decir, $-\text{CH}=\text{CH}-$). En un aspecto, un grupo alquilo tiene de
 15 dos a ocho átomos de carbono e incluye, por ejemplo, y sin limitación, 1-propinil(propargilo), 1-butinilo y similares.

Los términos "cicloalifático", "carbociclilo", "carbociclo" y "carbocíclico", usados solos o como parte de un resto mayor, se refieren a un sistema de anillos monocíclicos o bicíclicos alifáticos cíclicos saturados o parcialmente insaturados, según lo descrito en la presente memoria, que tiene de 3 a 10 miembros, en el que
 20 el sistema de anillos alifáticos está opcionalmente sustituido como se ha definido anteriormente y se describe en la presente memoria. Los grupos cicloalifáticos incluyen, sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, cicloheptilo, cicloheptenilo, ciclooctilo, ciclooctenilo y ciclooctadienilo. Los términos "cicloalifático", "carbociclilo", "carbociclo" y
 25 "carbocíclico" también incluyen anillos alifáticos que están condensados con uno o más anillos aromáticos o no aromáticos tales como decahidronaftilo, tetrahidronaftilo, decalino o biciclo[2.2.2]octano.

El término "cicloalquilo", como se usa en el presente documento, significa un sistema de anillos monocíclicos o bicíclicos alifáticos cíclicos saturados que
 30 tiene de 3-10 miembros. Un cicloalquilo puede estar opcionalmente sustituido como se describe en la presente memoria. En algunas realizaciones, un cicloalquilo tiene 3–6 carbonos.

El término "heterocicloalquilo", como se usa en el presente documento, significa un sistema de anillos alifáticos saturados o no saturados, en el que al
 35 menos un átomo de carbono está reemplazado por un heteroátomo seleccionado entre N, S y O. Un heterocicloalquilo puede contener uno o más anillos que pueden estar unidos entre sí colgando o pueden estar condensados. En un aspecto, un heterocicloalquilo es un sistema de anillos de tres a siete miembros e incluye, por ejemplo, y sin limitación, piperidinilo, piperazinilo, pirrolidinilo,
 40 tetrahidrofuranilo y similares.

El término "heteroátomo" significa uno o más de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio, e incluye cualquier forma oxidada de nitrógeno, azufre, fósforo o silicio; la forma cuaternizada de cualquier nitrógeno básico; y un nitrógeno sustituible de un anillo heterocíclico, por ejemplo, N (como en 3,4-dihidro-2H-pirrolilo), NH (como en pirrolidinilo) o NR^+ (como en pirrolidinilo *N*-sustituido).

El término "insaturado", como se usa en el presente documento, significa que un resto tiene una o más unidades de insaturación.

El término "halo" o "halógeno," como se usa en el presente documento, significa halógeno e incluye, por ejemplo, y sin limitación, flúor, cloro, bromo, yodo y similares, tanto en forma radiactiva como no radiactiva.

El término "haloalquilo", como se usa en el presente documento, significa un grupo alifático que está sustituido con uno o más átomos de halógeno. En algunas realizaciones, haloalquilo se refiere a un grupo alifático perhalogenado. En algunas realizaciones, haloalquilo se refiere a un grupo alquilo que está sustituido con uno o más átomos de halógeno. Los grupos haloalquilo ejemplares incluyen $-\text{CF}_3$, $-\text{CCl}_3$, $-\text{CF}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CF}_3$, $-\text{CH}_2(\text{CF}_3)_2$, $-\text{CF}_2(\text{CF}_3)_2$ y similares.

El término "arilo", sólo o en combinación, como se usa en la presente memoria, significa un sistema aromático carbocíclico que contiene uno o más anillos que pueden estar unidos entre sí colgando o pueden estar condensados. En realizaciones particulares, arilo es uno, dos o tres anillos. En un aspecto, el arilo tiene de cinco a doce átomos en el anillo. El término "arilo" engloba radicales aromáticos tales como fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo, bifenilo, fenantrilo, antrilo y acenaftilo. Un grupo "arilo" puede tener de 1 a 4 sustituyentes tales como alquilo inferior, hidroxilo, halo, haloalquilo, nitro, ciano, alcoxilo, alquilamino inferior y similares.

El término "heteroarilo", sólo o en combinación, como se usa en la presente memoria, significa un sistema aromático en el que al menos un átomo de carbono está reemplazado por un heteroátomo seleccionado entre N, S y O. Un heteroarilo puede contener uno o más anillos que pueden estar unidos entre sí colgando o pueden estar condensados. En realizaciones particulares, heteroarilo es uno, dos o tres anillos. En un aspecto, el heteroarilo tiene de cinco a doce átomos en el anillo. El término "heteroarilo" engloba grupos heteroaromáticos tales como triazolilo, imidazolilo, pirrolilo, pirazolilo, tetrazolilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridazinilo, indolilo, furilo, benzofurilo, tienilo, benzotienilo, quinolilo, oxazolilo, oxadiazolilo, isoxazolilo y similares. Un grupo "heteroarilo" puede tener de 1 a 4 sustituyentes tales como alquilo inferior, hidroxilo, halo, haloalquilo, nitro, ciano, alcoxilo, alquilamino inferior y similares.

Se entiende que cualquier experto habitual en la técnica puede seleccionar los sustituyentes y los patrones de sustitución de los compuestos de la presente invención para proporcionar compuestos que sean químicamente estables y que

se puedan sintetizar fácilmente mediante técnicas conocidas en la materia, así como mediante aquellos procedimientos expuestos más adelante. En general, el término “sustituido”, ya esté precedido por el término “opcionalmente” o no, significa que uno o más hidrógenos del resto designado están reemplazados por un sustituyente adecuado. A menos que se indique otra cosa, un grupo “opcionalmente sustituido” puede tener un sustituyente adecuado en cada posición sustituible del grupo y, cuando más de una posición de una estructura dada pueda estar sustituida con más de un sustituyente seleccionado del grupo especificado, el sustituyente puede ser bien igual o diferente en cada posición. Como alternativa, un grupo “opcionalmente sustituido” puede estar sin sustituir.

Las combinaciones de sustituyentes previstas por la presente memoria son preferentemente aquéllas que dan lugar a la formación de compuestos estables o químicamente viables. Si un sustituyente está sustituido con más de un grupo, se entiende que estos múltiples grupos pueden estar en el mismo átomo de carbono o en diferentes átomos de carbono, siempre y cuando se forme una estructura estable. El término “estable”, como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que no se modifican sustancialmente al someterse a condiciones que permitan su producción, detección y, en ciertas realizaciones, su recuperación, purificación y uso para uno o más objetivos revelados en la presente memoria.

Los sustituyentes monovalentes adecuados en un átomo de carbono sustituible de un grupo “opcionalmente sustituido” son independientemente halógeno; $-(CH_2)_{0-4}R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OR^\circ$; $-O(CH_2)_{0-4}R^\circ$; $-O-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}CH(OR^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}Ph$, que puede estar sustituido con R° ; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$ que puede estar sustituido con R° ; $-CH=CHPh$, que puede estar sustituido con R° ; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}$ -piridilo que puede estar sustituido con R° ; $-NO_2$; $-CN$; $-N_3$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)C(S)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)C(S)NR^\circ_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)OR^\circ$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)R^\circ$; $-C(S)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OSiR^\circ_3$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)R^\circ$; $-OC(O)(CH_2)_{0-4}SR^\circ$, $SC(S)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}SC(O)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)NR^\circ_2$; $-C(S)NR^\circ_2$; $-C(S)SR^\circ$; $-SC(S)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR^\circ_2$; $-C(O)N(O^\circ)R^\circ$; $-C(O)C(O)R^\circ$; $-C(O)CH_2C(O)R^\circ$; $-C(NOR^\circ)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}SSR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OS(O)_2R^\circ$; $-S(O)_2NR^\circ_2$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)S(O)_2NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)S(O)_2R^\circ$; $-N(OR^\circ)R^\circ$; $-C(NH)NR^\circ_2$; $-P(O)_2R^\circ$; $-P(O)R^\circ_2$; $-OP(O)R^\circ_2$; $-OP(O)(OR^\circ)_2$; SiR°_3 ; $-(alquileo\ C_{1-4}\ lineal\ o\ ramificado)O-N(R^\circ)_2$; o $-(alquileo\ C_{1-4}\ lineal\ o\ ramificado)C(O)O-N(R^\circ)_2$, en el que cada R° puede estar sustituido como se define más adelante y es independientemente hidrógeno, alifático C_{1-6} , $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$, $-CH_2$ -(anillo heteroarilo de 5-6 miembros) o un anillo saturado, parcialmente saturado o arilo de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno,

oxígeno y azufre o, a pesar de la definición anterior, dos apariciones independientes de R° , tomadas junto con su(s) átomo(s) intermedio(s), forman un anillo monocíclico o bicíclico saturado, parcialmente insaturado o arilo de 3–12 miembros que tiene 0–4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, que puede estar sustituido como se define más abajo.

Los sustituyentes monovalentes adecuados de R° (o el anillo formado tomando dos apariciones independientes de R° junto con sus átomos intermedios), son independientemente halógeno, $-(CH_2)_{0-2}R^\bullet$, $-(haloR^\bullet)$, $-(CH_2)_{0-2}OH$, $-(CH_2)_{0-2}OR^\bullet$, $-(CH_2)_{0-2}CH(OR^\bullet)_2$; $-O(haloR^\bullet)$, $-CN$, $-N_3$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)R^\bullet$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)OH$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)OR^\bullet$, $-(CH_2)_{0-2}SR^\bullet$, $-(CH_2)_{0-2}SH$, $-(CH_2)_{0-2}NH_2$, $-(CH_2)_{0-2}NHR^\bullet$, $-(CH_2)_{0-2}NR^\bullet_2$, $-NO_2$, $-SiR^\bullet_3$, $-OSiR^\bullet_3$, $-C(O)SR^\bullet$, $-(alquileo\ C_{1-4}\ lineal\ o\ ramificado)C(O)OR^\bullet$ o $-SSR^\bullet$ en los que cada $R^\bullet$ está sin sustituir o cuando está precedido por “halo” sólo está sustituido con uno o más halógenos, y se selecciona independientemente entre alifático C_{1-4} , $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5–6 miembros que tiene 0–4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre. Los sustituyentes divalentes adecuados en un átomo de carbono saturado de R° incluyen $=O$ y $=S$.

Los sustituyentes divalentes adecuados de un átomo de carbono saturado de un grupo “opcionalmente sustituido” incluyen los siguientes: $=O$, $=S$, $=NNR^\bullet_2$, $=NNHC(O)R^\bullet$, $=NNHC(O)OR^\bullet$, $=NNHS(O)_2R^\bullet$, $=NR^\bullet$, $=NOR^\bullet$, $-O(C(R^\bullet_2))_{2-3}O-$ y $-S(C(R^\bullet_2))_{2-3}S-$, en los que cada aparición independiente de $R^\bullet$ se selecciona entre hidrógeno, alifático C_{1-6} que puede estar sustituido como se define más adelante, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5-6 miembros sin sustituir que tiene 0–4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre. Los sustituyentes divalentes adecuados que están unidos a carbonos sustituibles vecinales de un grupo “opcionalmente sustituido” incluyen: $-O(CR^\bullet_2)_{2-3}O-$, en la que cada aparición independiente de $R^\bullet$ se selecciona entre hidrógeno, alifático C_{1-6} que puede estar sustituido como se define más adelante, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5-6 miembros sin sustituir que tiene 0–4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre.

Los sustituyentes adecuados del grupo alifático de $R^\bullet$ incluyen halógeno, $-R^\bullet$, $-(haloR^\bullet)$, $-OH$, $-OR^\bullet$, $-O(haloR^\bullet)$, $-CN$, $-C(O)OH$, $-C(O)OR^\bullet$, $-NH_2$, $-NHR^\bullet$, $-NR^\bullet_2$, y $-NO_2$, en los que cada $R^\bullet$ está sin sustituir o cuando está precedido por “halo” está sustituido sólo con uno o más halógenos, y es independientemente alifático C_{1-4} , $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5-6 miembros sin sustituir que tiene 0–4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre.

Los sustituyentes adecuados de un nitrógeno sustituible de un grupo

“opcionalmente sustituido” incluyen $-R^{\dagger}$, $-NR^{\dagger}_2$, $-C(O)R^{\dagger}$, $-C(O)OR^{\dagger}$, $-C(O)C(O)R^{\dagger}$, $-C(O)CH_2C(O)R^{\dagger}$, $-S(O)_2R^{\dagger}$, $-S(O)_2NR^{\dagger}_2$, $-C(S)NR^{\dagger}_2$, $-C(NH)NR^{\dagger}_2$, y $-N(R^{\dagger})S(O)_2R^{\dagger}$; en los que cada $R^{\dagger}$ es independientemente hidrógeno, alifático C_{1-6} que puede estar sustituido como se define más adelante, $-Oph$ no sustituido o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno, y azufre, o, a pesar de la definición anterior, dos apariciones independientes de $R^{\dagger}$ tomadas junto con su(s) átomo(s) intermedio(s) forman un anillo monocíclico o bicíclico saturado, parcialmente insaturado o arilo de 3-12 miembros no sustituido que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre.

Los sustituyentes adecuados del grupo alifático de $R^{\dagger}$ incluyen halógeno, $-R^{\bullet}$, $-(haloR^{\bullet})$, $-OH$, $-OR^{\bullet}$, $-O(haloR^{\bullet})$, $-CN$, $-C(O)OH$, $-C(O)OR^{\bullet}$, $-NH_2$, $-NHR^{\bullet}$, $-NR^{\bullet}_2$ o $-NO_2$, en los que cada $R^{\bullet}$ está sin sustituir o cuando está precedido por “halo” está sustituido sólo con uno o más halógenos, y es independientemente alifático C_{1-4} , $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arillo de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre.

Como se usa en la presente memoria, “equivalente de hidrazina” significa un reactivo químico que se puede usar para introducir un resto $-N-N-$ en una molécula. Los equivalentes de hidrazina incluyen hidrato de hidrazina, así como formas protegidas de hidrazina tales como hidrazina-carboxilato de *terc*-butilo.

Como se usa en la presente memoria, “grupo saliente” se refiere a un grupo funcional que es desplazado de una molécula durante una reacción química. Los grupos salientes incluyen halógenos, así como grupos sulfonato tales como tosilato y mesilato.

Como se usa en la presente memoria, la expresión “sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a aquéllos sales que según una opinión médica bien fundada, son adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales inferiores sin provocar toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similar, acorde con una relación razonable de beneficio/riesgo. Las sales farmacéuticamente aceptables son ampliamente conocidas en la técnica. Por ejemplo, S. M. Berge *et al.*, describen detalladamente sales farmacéuticamente aceptables en *J. Pharmaceutical Sciences*, 1977, 66, 1-19, estando las enseñanzas pertinentes incorporadas en la presente memoria por referencia en su totalidad. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente invención incluyen sales obtenidas a partir de bases y ácidos orgánicos e inorgánicos que son compatibles con el tratamiento de pacientes.

Los ejemplos de sales de adición de ácido no tóxicas farmacéuticamente aceptables son sales de un grupo amino formado con ácidos inorgánicos tales

como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico, o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico o mediante el uso de otros procedimientos usados en la técnica tales como el intercambio iónico. Otras sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptable incluyen sales adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, yodhidrato, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, *p*-toluenosulfonato, undecanoato, valerato y similares.

En algunas realizaciones, los ácidos inorgánicos ejemplares que forman sales adecuadas incluyen, pero sin limitación, ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico y fosfórico, y sales metálicas de ácidos tales como monohidrógeno-ortofosfato de sodio y hidrógenosulfato de potasio. Los ácidos orgánicos ilustrativos que forman las sales adecuadas incluyen ácidos mono-, di- y tricarboxílicos. Los ácidos ilustrativos de dichos ácidos son, por ejemplo, ácido acético, glicólico, láctico, pirúvico, malónico, succínico, glutárico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, maleico, hidroximaleico, benzoico, hidroxibenzoico, fenilacético, cinnámico, salicílico, 2-fenoxibenzoico, ácido *p*-toluenosulfónico y otros ácidos sulfónicos tales como ácido metanosulfónico y ácido 2-hidroxietanosulfónico. Se pueden formar sales bien de monoácido o diácido, y dichas sales pueden existir bien en forma hidratada, solvatada o sustancialmente anhidra. En general, las sales de adición de ácido de estos compuestos son más soluble en agua y diversos disolventes orgánicos hidrófilos, y en general, demuestran puntos de fusión superiores a los de sus formas de base libre.

En algunas realizaciones, las sales de adición de ácido de los compuestos de fórmula I se forman más adecuadamente a partir de ácidos farmacéuticamente aceptables, e incluyen, por ejemplo, las formadas con ácidos inorgánicos, por ejemplo, ácido clorhídrico, sulfúrico o fosfórico, y ácidos orgánicos como, por ejemplo, ácido succínico, maleico, acético o fumárico.

Se pueden usar otras sales no farmacéuticamente aceptables como, por ejemplo, oxalatos, por ejemplo, en el aislamiento de los compuestos de fórmula I para uso en laboratorio o para una posterior conversión en una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable. También se incluyen en el alcance de la invención sales de adición de base (tales como sales sodio, potasio y amonio), solvatos e hidratos de los compuestos de la invención. La conversión de una sal

de un compuesto dado en la sal del compuesto deseada se realiza mediante técnicas convencionales ampliamente conocidas por el experto en la materia.

Una "sal de adición de base farmacéuticamente aceptable" es cualquier sal de adición de base orgánica o inorgánica no tóxica de los compuestos ácidos representados por la fórmula I, o cualquiera de sus compuestos intermedios. Las bases inorgánicas ilustrativas que forman las sales adecuadas incluyen, pero sin limitación, hidróxidos de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio o bario. Las bases orgánicas ilustrativas que forman las sales adecuadas incluyen aminas orgánicas alifáticas, alicíclicas o aromáticas tales como metilamina, trimetilamina y picolina o amoníaco. La selección de la sal apropiada puede ser importante para no hidrolizar una funcionalidad éster, si la hay, en cualquier sitio de la molécula. El experto en la técnica conocerá los criterios de selección para la sal apropiada.

Las sales obtenidas a partir de bases adecuadas incluyen sales de metales alcalinos, metales alcalinotérreos, amoníaco y $N^+(\text{alquilo } C_{1-4})_4$. Las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos representativas incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen, cuando sea apropiado, cationes no tóxicos de amonio, amonio cuaternario y amina formados usando contraiones tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, alquilsulfonato inferior y arilsulfonato.

A menos que se indique otra cosa, las estructuras representadas en la presente memoria también pretenden incluir todas las formas isómeras (por ejemplo, enantiómeras, diastereómeras y geométricas (o configuracionales)) de la estructura; por ejemplo, las configuraciones *R* y *S* para cada centro asimétrico, isómeros de doble enlace *Z* y *E*, e isómeros configuracionales *Z* y *E*. Por lo tanto, los isómeros estereoquímicos sencillos, así como las mezclas enantiómeras, diastereómeras y geométricas (o configuracionales) de los presentes compuestos pertenece al alcance de la invención. A menos que se indique otra cosa, todas las formas tautoméricas de los compuestos de la invención están dentro del alcance de la invención.

Además, a menos que se indique otra cosa, las estructuras representadas en la presente memoria también pretenden incluir los compuestos que sólo se diferencian en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Pertenecen al alcance de la presente invención, por ejemplo, los compuestos producidos mediante la sustitución de un hidrógeno con deuterio o tritio, o de un carbono con un carbono enriquecido en ^{13}C o ^{14}C . Dichos compuestos son útiles, por ejemplo, como herramientas analíticas, como sondas en ensayos biológicos o como agentes terapéuticos según la presente invención.

El término "estereoisómeros" es un término general para todos los isómeros de una molécula individual que sólo se diferencian en la orientación de sus átomos en el espacio. Incluye isómeros de imagen especular (enantiómeros),

isómeros geométricos (*cis/trans*) e isómeros de compuestos con más de un centro quiral que no sean imágenes especulares entre sí (diastereómeros).

El término “tratar” o “tratamiento” significa paliar uno o más síntomas, eliminar la causa de uno o más síntomas, bien temporal o permanentemente, o
5 prevenir o retrasar la aparición de uno o más síntomas asociados con un trastorno o afección.

La expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” significa una cantidad de un compuesto que es eficaz en el tratamiento o la disminución de la gravedad de uno o más síntomas de un trastorno o afección.

10 La expresión “vehículo farmacéuticamente aceptable” significa un disolvente, dispersante, excipiente, adyuvante u otro material no tóxico que se mezcla con el ingrediente activo para permitir la formación de una composición farmacéutica, es decir, una forma de dosificación que se pueda administrar a un paciente. Un ejemplo de dicho vehículo es aceite farmacéuticamente aceptable
15 comúnmente usado para una administración parenteral. Los vehículos farmacéuticamente aceptables son ampliamente conocidas en la técnica.

Cuando se introducen elementos revelados en la presente memoria, los artículos “un”, “uno”, “una”, “el”, “la” y “dicho/a” pretenden significar que hay uno o más de los elementos. Las expresiones “que comprende”, “que tiene” y “entre los
20 que se incluyen” pretenden no ser restrictivos y significar que puede haber más elementos distintos de los elementos enumerados.

Formulación y administración

Composiciones farmacéuticamente aceptables

Otra realización de la invención es una composición que comprende un
25 compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un vehículo, adyuvante o transportador farmacéuticamente aceptable. La cantidad de compuesto de una composición de la invención es una cantidad que sea eficaz para inhibir perceptiblemente a CRM1 en una muestra biológica o en un paciente. En ciertas realizaciones, se formula una composición de la invención para
30 administrarla a un paciente en necesidad de la composición. El término “paciente”, como se usa en el presente documento, significa un animal. En algunas realizaciones, el animal es un mamífero. En ciertas realizaciones, el paciente es un paciente veterinario (es decir, un paciente mamífero no humano). En algunas realizaciones, el paciente es un perro. En otras realizaciones, el paciente es un ser
35 humano.

La expresión “transportador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable” se refiere a un transportador, adyuvante o vehículo no tóxico que no destruye la actividad farmacológica del compuesto con el que está formulado. Los transportadores, adyuvantes o vehículos farmacéuticamente aceptables que se
40 pueden usar en las composiciones de la presente invención incluyen, pero sin

limitación, intercambiadores iónicos, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas tales como albúmina de suero humano, sustancias tamponadoras tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales
5 o electrolitos, tales como sulfato de protamina, hidrogenofosfato de disodio, hidrogenofosfato de potasio, cloruro sódico, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias basadas en celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa de sodio, poliacrilatos, ceras, polímeros de bloques de polietileno-polioxipropileno, polietilenglicol y lanolina.

10 Las composiciones de la presente invención se pueden administrar oralmente, parenteralmente (incluyendo, subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica), mediante inhalación de pulverizado, tópicamente, rectalmente, nasalmente, bucalmente, vaginalmente o mediante un reservorio implantado. En algunas realizaciones, los compuestos o las composiciones proporcionados se
15 pueden administrar intravenosa y/o intraperitonealmente.

El término "parenteral", como se usa en el presente documento, incluye técnicas de inyección o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraocular, intravitreal, intra-articular, intra-sinovial, intrasternal, intratecal, intrahepática, intraperitoneal, intralesional e intracraneal. Preferentemente, las
20 composiciones se administran oral, subcutánea, intraperitoneal o intravenosamente. Las formas inyectables estériles de las composiciones de la presente invención pueden ser una suspensión acuosa u oleaginosa. Estas suspensiones se pueden formular según técnicas conocidas en la materia usando agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La
25 preparación inyectable estéril también puede ser una solución o una suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, como por ejemplo, una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y los disolventes aceptables que se pueden emplear están el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, convencionalmente, se
30 emplean aceites fijos estériles como medio disolvente o de suspensión.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden administrar oralmente en cualquier forma de dosificación oralmente aceptable, entra las que se incluyen, pero sin limitación, cápsulas, comprimidos, suspensiones acuosas y soluciones. En el caso de los comprimidos para un uso
35 oral, los vehículos comúnmente usados en lactosa o almidón de maíz. Comúnmente, también se añaden agentes lubricantes tales como estearato de magnesio. Para la administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Cuando se requieren suspensiones acuosas para un uso oral, el ingrediente activo se combina con agentes
40 emulsionantes y de suspensión. Si se desea, también se pueden añadir ciertos

agentes edulcorantes, aromatizantes o colorantes. En algunas realizaciones, se formula una formulación oral proporcionada para una liberación inmediata o una liberación sostenida/retardada. En algunas realizaciones, la composición es adecuada para una administración bucal o sublingual, incluyendo comprimidos, 5 píldoras y pastillas. Un compuesto proporcionado también puede estar en forma micro-encapsulada.

Como alternativa, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden administrar en forma de supositorios para una administración rectal. Las composiciones farmacéuticamente aceptables de la 10 presente invención también se puede administrar tópicamente, especialmente, cuando la diana del tratamiento incluye zonas u órganos fácilmente accesibles mediante la aplicación tópica, incluyendo enfermedades de los ojos, la piel o el tracto intestinal inferior. Las formulaciones tópicas adecuadas se preparan fácilmente para cada uno de estas zonas o estos órganos.

15 La aplicación tópica para el tracto intestinal inferior se puede realizar en una formulación de supositorio rectal (véase anteriormente) o en una formulación de enema adecuado. También se pueden usar parches tópicamente transdérmicos.

Para un uso oftalmológico, las composiciones farmacéuticamente aceptables se pueden formular en forma de suspensiones micronizadas o en 20 pomada tal como vaselina.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención también se pueden administrar mediante aerosol o inhalación nasal.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención se formulan para una administración intra-peritoneal.

25 La cantidad de compuestos de la presente invención que se puede combinar con los materiales transportadores para producir una composición en una forma de dosificación individual variará en función del huésped tratado y del modo de administración en particular. En una realización, se formula una composición para poder administrar una dosis de entre 0,01-100 mg/kg de peso corporal/día del inhibidor a un paciente que reciba la composición. En otra 30 realización, la dosis es de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, o de entre 1 mg y 1.000 mg/dosis, cada 4 a 120 horas, o según los requisitos del fármaco en particular. Comúnmente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se administrarán de aproximadamente 1 a 35 aproximadamente 6 veces al día.

También se ha de entender que una dosis y una pauta de tratamiento específicas para cualquier paciente en particular dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, el estado general de salud, el sexo, la dieta, el momento de la 40 administración, la tasa de eliminación, la combinación de fármacos, la opinión del

médico y la gravedad de la enfermedad concreta que se esté tratando. La cantidad de un compuesto de la presente invención en la composición también dependerá del compuesto concreto de la composición.

En algunas realizaciones, la composición incluye además uno o más
 5 agentes terapéuticos o profilácticos adicionales. Cuando las composiciones de la presente invención comprenden una combinación de un compuesto de las fórmulas descritas en la presente memoria y uno o más agentes terapéuticos o profilácticos adicionales, tanto el compuesto como el agente adicional estarán
 10 presentes a niveles de dosis de entre aproximadamente el 1 al 100%, y más preferentemente, de entre aproximadamente 5 al 95% de la dosis administrada normalmente en un régimen monoterapéutico. Los agentes adicionales se pueden administrar por separado, como parte de una pauta de dosificación múltiple, a partir de los compuestos de la presente invención. Alternativamente, los agentes
 15 adicionales pueden formar parte de una sola forma de dosificación, mezclados con un compuesto de la invención en una sola composición.

Tras mejorar la afección del paciente, se puede administrar una dosis de mantenimiento de un compuesto, una composición o una combinación de la presente invención, si es necesario. Posteriormente, una vez paliados los
 20 síntomas hasta el nivel deseado, se puede reducir la dosificación o la frecuencia de administración, o ambas cosas, en función de los síntomas, hasta un nivel en el que se mantenga mejorada la afección. Sin embargo, los pacientes pueden necesitar un tratamiento intermitente a largo plazo tras cualquier recurrencia de los síntomas de la enfermedad

Usos de los compuestos y las composiciones farmacéuticamente aceptables

25 Los compuestos y las composiciones descritos en la presente memoria son, en general, útiles para la inhibición de CRM1 y, por tanto, son útiles para tratar uno o más trastornos asociados con la actividad de CRM1. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un procedimiento para tratar un trastorno mediado por CRM1 que comprende la etapa de administrar a un
 30 paciente en necesidad del mismo un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable o composición del mismo. Los compuestos y las composiciones descritos en la presente memoria se pueden administrar a células en cultivo, p. ej., *in vitro* o *ex vivo*, o a un sujeto, p. ej., *in vivo*, para tratar, prevenir y/o diagnosticar una variedad de trastornos, incluyendo aquéllos descritos más
 35 adelante en la presente memoria.

La actividad de un compuesto utilizado en la presente invención como inhibidor de CRM1 puede analizarse *in vitro*, *in vivo* o en una línea celular. En el apartado de ejemplificación, se exponen las condiciones detalladas para analizar un compuesto utilizado en la presente invención como inhibidor de CRM1.

40 Como se usa en la presente memoria, la expresión "afección o trastorno

mediado por CRM1" o "afección o trastorno asociado con la actividad de CRM1" significa cualquier enfermedad u otra afección perjudicial en la que CRM1 desempeña un papel importante. Por consiguiente, otra realización de la presente invención se refiere al tratamiento o a la disminución de la gravedad de una o más enfermedades en las que CRM1 desempeña un papel. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona procedimientos para tratar una enfermedad asociada con la expresión o la actividad de las proteínas p53, p73, p21, pRB, p27, IκB, NFκB, c-Abl, FOXO, COX-2 en un sujeto que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en la presente memoria. En otra realización, la presente invención se refiere a un procedimiento para tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad o afección seleccionada entre un trastorno proliferativo (p. ej., cáncer), un trastorno inflamatorio, un trastorno autoinmune, una infección viral, un trastorno oftalmológico o un trastorno neurodegenerativo, procedimiento que comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo un compuesto o una composición según la presente invención. En una realización más específica, la presente se refiere a un procedimiento para tratar o disminuir la gravedad del cáncer. Los ejemplos específicos de los trastornos anteriores se exponen detalladamente a continuación.

Los cánceres que se pueden tratar con los compuestos de la presente invención incluyen, pero sin limitación, tumores malignos hematológicos (leucemias, linfomas, mielomas, síndromes mielodisplásico y mieloproliferativo) y tumores sólidos (carcinomas tales como tumores de próstata, mama, pulmón, colon, páncreas, riñón, ovario, así como de tejido blando y osteosarcomas, y tumores estromales). El cáncer de mama (CM) puede incluir cáncer de mama de tipo basal (CMTB), cáncer de mama triple negativo (CMTN) y cáncer de mama tanto basal como triple negativo. Además, el cáncer de mama puede incluir carcinoma ductal o lobular invasivo o no invasivo, carcinoma tubular, medular, mucinoso, papilar, cribriforme del pecho, cáncer de mama masculina, cáncer de mama recurrente o metastásico, tumor filloide de la mama, enfermedad del pezón de Paget.

Los trastornos inflamatorios que se pueden tratar con los compuestos de la presente invención incluyen, pero sin limitación, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, enfermedad articular degenerativa, lupus sistémico, esclerosis sistémica, síndromes de vasculitis (vaso pequeño, medio y grande), aterosclerosis, enfermedad inflamatoria del intestino, síndrome de intestino irritable, enfermedad de Crohn, colitis mucosa, colitis ulcerosa, gastritis, sepsis, psoriasis y otros trastornos inflamatorios dermatológicos (tales como eczema, dermatitis atópica, dermatitis de contacto, urticaria, esclerodermia, psoriasis y dermatosis con componentes inflamatorios agudos, pénfigo, penfigoide, dermatitis alérgica) y

síndromes de urticaria. En algunas realizaciones, la afección o el trastorno asociado con la actividad de CRM1 es esclerosis múltiple, síndrome de intestino irritable, artritis reumatoide, psoriasis u otros trastornos inflamatorios dermatológicos.

5 Las enfermedades virales que se pueden tratar con los compuestos de la presente invención incluyen, pero sin limitación, faringitis febril aguda, fiebre faringoconjuntiva, queratoconjuntivitis epidémica, gastroenteritis infantil, infecciones por Coxsackie, mononucleosis infecciosa, linfoma de Burkitt, hepatitis aguda, hepatitis crónica, cirrosis hepática, carcinoma hepatocelular, infección por
10 VHS-1 primaria (por ejemplo, gingivostomatitis en niños, tonsilitis y faringitis en adultos, queratoconjuntivitis), infección por VHS-1 latente (por ejemplo, herpes labial y úlceras bucales), infección por VHS-2 primaria, infección por VHS-2 latente, meningitis aséptica, mononucleosis infecciosa, enfermedad de inclusión citomegálica, sarcoma de Kaposi, enfermedad multicéntrica de Castleman, linfoma
15 de efusión primario, SIDA, gripe, síndrome de Reye, sarampión, encefalomiелitis postinfecciosa, paperas, lesiones epiteliales hiperplásicas (por ejemplo, verrugas comunes, planas, plantares y anogenitales, papilomas laríngeos, epidermodisplasia verruciformis), carcinoma de cuello uterino, carcinomas de células escamosas, difteria, neumonía, bronquiолitis, resfriado común, poliоmiелitis,
20 rabia, síndrome de tipo griposo, bronquiолitis grave con neumonía, sarampión alemán, rubeola congénita, varicela y herpes zóster. Las enfermedades virales que se pueden tratar con los compuestos de la presente invención también incluyen infecciones virales crónicas, entre las que se incluyen la hepatitis B y la hepatitis C.

25 Los trastornos oftalmológicos ejemplares incluyen, pero sin limitación, edema macular (edema macular diabético o no diabético), degeneración macular relacionada con la edad (formas húmeda y seca), degeneración macular disciforme relacionada con la edad, edema macular cistoide, edema palpebral, edema de la retina, retinopatía diabética, coriorretinopatía, maculopatía
30 neovascular, glaucoma neovascular, uveitis, iritis, vasculitis retinal, endoftalmitis, panoftalmitis, oftalmia metastásica, coroiditis, epitelitis pigmentaria retinal, conjuntivitis, ciclitis, escleritis, episcleritis, neuritis óptica, neuritis óptica retrobulbar, queratitis, blefaritis, desprendimiento de retina exudativo, úlcera corneal, úlcera conjuntiva, queratitis numular crónica, enfermedad oftalmológica
35 asociada con hipoxia o isquemia, retinopatía del prematuro, retinopatía diabética proliferativa, vasculopatía coroidal polipoidal, proliferación angiomasosa retinal, oclusión de arteria retinal, oclusión de vena retinal, enfermedad de Coats, vitreorretinopatía exudativa familiar, enfermedad sin pulso (enfermedad de Takayasu), enfermedad de Eales, síndrome de anticuerpos antifosfolipídicos,
40 retinopatía leucémica, síndrome de hiperviscosidad sanguínea,

macroglobulinemia, retinopatía asociada con interferón, retinopatía hipertensiva, retinopatía por radiación, deficiencia de células madre epiteliales de la córnea o cataratas.

5 Las enfermedades neurodegenerativas que se pueden tratar con un compuesto de la invención incluyen, pero sin limitación, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica (ELA/enfermedad de Lou Gehrig). En algunas realizaciones, la afección o el trastorno asociado con la actividad de CRM1 es ELA.

10 Los compuestos y las composiciones descritos en la presente memoria también se pueden usar para tratar trastornos de crecimiento tisular anómalo y fibrosis, entre los que se incluyen cardiomiopatía dilatativa, cardiomiopatía hipertrófica, cardiomiopatía restrictiva, fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, glomerulonefritis y otros trastornos renales.

15 Los compuestos y las composiciones descritos en la presente memoria también se pueden usar para tratar trastornos relacionados con la ingesta de alimentos tales como obesidad e hiperfagia. En algunas realizaciones, la afección o el trastorno asociado con la actividad de CRM1 es la obesidad.

20 En algunas realizaciones, la afección o el trastorno asociado con la actividad de CRM1 es distrofia muscular, artritis, por ejemplo, osteoartritis y artritis reumatoide, espondilitis alquilosante, lesión cerebral traumática, lesión de la médula espinal, sepsis, enfermedad reumática, aterosclerosis cancerosa, diabetes de tipo 1, diabetes de tipo 2, enfermedad de leptoespirosis renal, glaucoma, enfermedad retinal, envejecimiento, dolor de cabeza, dolor, síndrome de dolor regional complejo, hipertrofia cardíaca, debilitamiento muscular, trastornos catabólicos, obesidad, retraso del crecimiento fetal, hipercolesterolemia, enfermedad cardíaca, insuficiencia cardíaca crónica, isquemia/reperfusión, apoplejía, aneurisma cerebral, angina de pecho, enfermedad pulmonar, fibrosis quística, lesión pulmonar inducida por ácido, hipertensión pulmonar, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, síndrome de Sjogren, enfermedad de la
30 membrana hialina, enfermedad renal, enfermedad glomerular, enfermedad hepática alcohólica, enfermedades intestinales, endometriosis peritoneal, enfermedades cutáneas, sinusitis nasal, mesotelioma, ID de displasia ecodérmica anhidrótica, enfermedad de behcet, incontinencia pigmentaria, tuberculosis, asma, enfermedad de crohn, colitis, alergia ocular, apendicitis, enfermedad de paget,
35 pancreatitis, periodonitis, endometriosis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad inflamatoria pulmonar, enfermedades inducidas por sílice, apnea del sueño, SIDA, VIH-1, enfermedades autoinmunes, síndrome antifosfolipídico, lupus, nefritis lúpica, fiebre mediterránea familiar, síndrome de fiebre periódica hereditario, enfermedades de estrés psicosocial, enfermedades neuropatológicas,
40 polineuropatía amiloidótica familiar, nefropatía inflamatoria, enfermedad de

Parkinson, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, cataratas o pérdida de audición.

En otras realizaciones, la afección o el trastorno asociado con la actividad de CRM1 es traumatismo en la cabeza, uveitis, dolor inflamatorio, asma inducido por alérgenos, asma no inducido por alérgenos, nefritis glomerular, colitis ulcerosa, enterocolitis necrotizante, hiperinmunoglobulinemia D con fiebre recurrente (HIDS), síndrome periódico asociado con el receptor del TNF (SPART), síndromes periódicos asociados con criopirina, síndrome de Muckle-Wells (amiloidosis con sordera y urticaria), urticaria por resfriado familiar, enfermedad inflamatoria multisistémica de aparición neonatal (EIMAN), fiebre periódica, estomatitis aftosa, faringitis y adenitis (síndrome de PFAPA), síndrome de Blau, artritis estéril piogénica, piodermia gangrenosa, acné (PAPA), deficiencia del antagonista del receptor de la interleucina 1 (DARI), hemorragia subaracnoidea, enfermedad renal poliquística, trasplante, trasplante de órganos, trasplante de tejidos, síndrome mielodisplásico, inflamación inducida por irritantes, inflamación inducida por irritantes vegetales, inflamación inducida por hiedra venenosa/aceite de urushiol, inflamación inducida por irritantes químicos, inflamación inducida por aguijón de abeja, inflamación inducida por picadura de insecto, quemadura solar, quemaduras, dermatitis, endotoxemia, lesión pulmonar, síndrome de estrés respiratorio agudo, hepatitis alcohólica o lesión renal provocada por infecciones parasitarias..

En otra realización, un compuesto o una composición descritos en la presente memoria se puede usar para tratar o prevenir alergias y trastornos, respiratorios, entre los que se incluyen asma, bronquitis, fibrosis pulmonar, rinitis alérgica, toxicidad del oxígeno, enfisema, bronquitis crónica, síndrome de estrés respiratorio agudo y cualquier enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

Otra realización de la invención es el uso de un compuesto de fórmula I en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una afección o un trastorno asociado con la actividad de CRM1. En otros aspectos, la presente invención proporciona un uso de un compuesto de fórmula I para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad asociada con la expresión o la actividad de las proteínas p53, p73, p21, pRB, p27, I κ B, NF κ B, c-Abl, FOXO o COX-2 en un sujeto. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un uso de un compuesto de fórmula I en la preparación de un medicamento para el tratamiento de cualquier trastorno canceroso y/o neoplásico, angiogénesis, trastornos autoinmunes, trastornos y/o enfermedades inflamatorios, trastornos y/o enfermedades hormonales epigenéticos, enfermedades virales, trastornos y/o enfermedades neurodegenerativos y trastornos oftalmológicos.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un procedimiento para inhibir a CRM1 en una muestra biológica o un paciente que

comprende poner en contacto la muestra biológica con, o administrar al paciente, una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula I, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo.

Trastornos neoplásicos

5 Un compuesto o una composición descrito en la presente memoria se puede usar para tratar un trastorno neoplásico. Un “trastorno neoplásico” es una enfermedad o un trastorno caracterizado por células que tienen la capacidad de crecer o replicarse de manera autónoma, por ejemplo, una afección o un estado anómalo caracterizado por el crecimiento de células proliferativas, benigno o
10 maligno. Los ejemplos de trastornos neoplásicos incluyen: carcinoma, sarcoma (por ejemplo, tejido blando), osteosarcoma, trastornos metastásicos (por ejemplo, tumores que proceden de la próstata, cerebro, hueso, gastrointestinal, pulmón, mama, ovario, cuello uterino, páncreas, riñón, cabeza y cuello, e hígado), trastornos neoplásicos hematopoyéticos (por ejemplo, leucemias, linfomas,
15 mieloma y otros trastornos malignos de células plasmáticas) y tumores metastásicos. En una realización, el cáncer por tratar se selecciona entre cáncer de mama, ovario, cuello uterino, gastrointestinal, próstata, colon, pulmón, riñón, cerebro, hígado y páncreas. El tratamiento con el compuesto puede estar en una cantidad eficaz para mejorar al menos un síntoma del trastorno neoplásico, por
20 ejemplo, reducir la proliferación celular, reducir la masa tumoral, etc.

En una realización, el trastorno neoplásico es un cáncer de mama de tipo basal (CMTB). Los CMTB representan hasta el 15% de los cánceres de mama (CM) y, habitualmente, son cánceres de mama triple negativo (CMTN), caracterizados por la falta de ER, receptor de progesterona PR y amplificación de
25 HER-2. En una realización específica, el cáncer de mama es CMTN. Además, la mayoría de los CM asociados con BRCA1 son CMTB y CMTN, que expresan citoqueratinas basales y EGFR. El CMTB se caracteriza por un fenotipo agresivo, un alto grado histológico y malos resultados clínicos con altas tasas de recurrencia y metástasis.

Terapias de combinación

30 En algunas realizaciones, se administra un compuesto descrito en la presente memoria junto con un “segundo” agente terapéutico o tratamiento adicional. La elección del segundo agente terapéutico se puede realizar de entre cualquier agente comúnmente usado en una monoterapia para tratar la
35 enfermedad o la afección indicada. Como se usa en la presente memoria, la expresión “administrado junto con” y las expresiones relacionadas se refieren a la administración simultánea o secuencial de los agentes terapéuticos según la presente invención. Por ejemplo, se puede administrar un compuesto de la presente invención con otro agente terapéutico, simultánea o secuencialmente, en
40 formas de dosificación separadas o conjuntamente en una sola forma de

dosificación unitaria. Por consiguiente, la presente invención proporciona una sola forma de dosificación unitaria que comprende un compuesto de fórmula I, un agente terapéutico adicional y un vehículo, adyuvante o transportador farmacéuticamente aceptable.

- 5 En una realización de la invención, en la que se administra un segundo agente terapéutico a un sujeto, la cantidad eficaz del compuesto de la invención es menor de lo que sería si no se administrara el segundo agente terapéutico. En otra realización, la cantidad eficaz del segundo agente terapéutico es menor de lo que sería si no se administrara el compuesto de la invención. De este modo, se
10 pueden minimizar los efectos secundarios no deseados asociados con las altas dosis de cualquier agente. Otras posibles ventajas (incluyendo, sin limitación, mejores pautas de dosificación y/o menor coste de los fármacos) serán evidentes para los expertos en la técnica.

- Los ejemplos de tratamientos adicionales del cáncer incluyen, por ejemplo:
15 quimioterapia, terapias dirigidas, tales como terapias con anticuerpos, inhibidores de quinasas, inmunoterapia y terapia hormonal, terapia epigenética, inhibidores de proteosomas y terapias anti-angiogénicas. A continuación, se proporcionan ejemplos de cada uno de estos tratamientos.

- Los ejemplos de los agentes quimioterapéuticos usados en la terapia contra
20 el cáncer incluyen, por ejemplo, antimetabolitos (por ejemplo, ácido fólico, purina y derivados de pirimidina) y agentes de alquilación (por ejemplo, mostazas nitrogenadas, nitrosoureas, platino, alquilsulfonatos, hidrazinas, triazinas, aziridinas, veneno del huso mitótico, agentes citotóxicos, inhibidores de topoisomerasa y otros). Los ejemplos de agentes incluyen aclarubicina,
25 actinomicina, alitretinoina, altretamina, aminopterina, ácido aminolevulínico, amrubicina, amsacrina, anagrelida, trióxido arsénico, asparaginasa, atrasentán, belotecán, bexaroteno, bendamustina, bleomicina, bortezomib, busulfán, camptotecina, capecitabina, carboplatino, carbocina, carmofur, carmustina, celecoxib, clorambucilo, clometina, cisplatino, cladribina, clofarabina,
30 crisantaspasa, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daunorrubicina, decitabina, demecolcina, docetaxel, doxorubicina, efaproxiral, elesclomol, elsamitrucina, enocitabina, epirubicina, estramustina, etoglucid, etopósido, floxuridina, fludarabina, fluorouracilo (5FU), fotemustina, gemcitabina, implantes de gliadel, hidroxycarbamida, hidroxiaurea, idarrubicina, ifosfamida,
35 irinotecán, irofulven, ixabepilona, larotaxel, leucovorina, doxorubicina liposomal, daunorrubicina liposomal, lonidamina, lomustina, lucantone, mannosulfano, masoprocol, melfalán, mercaptopurina, mesna, metotrexato, aminolevulinato de metilo, mitobronitol, mitoguazona, mitotano, mitomicina, mitoxantrona, nedaplatino, nimustina, oblimersén, omacetaxina, ortataxel, oxaliplatino, paclitaxel,
40 pegaspargasa, pemetrexed, pentostatina, pirarrubicina, pixantrone, plicamicina,

porfimer sodio, prednimustina, procarbazona, raltitrexed, ranimustina, rubitecan, sapacitabina, semustina, sitimagene ceradenovec, estrataplato, estreptozocina, talaporfina, tegafur-uracilo, temoporfin, temozolomida, tenipósido, tesetaxel, testolactona, tetranitrato, tiotepa, tiazofurina, tioguanina, tipifarnib, topotecán, trabectedina, triazicuona, trietilenomelamina, triplatino, tretinoína, treosulfán, trofosfamid, uramustina, valrubicina, verteporfina, vinblastina, vincristina, vindesina, vinflunina, vinorelbina, vorinostat, zorubicina y otros agentes citostáticos o citotóxicos descritos en la presente memoria.

Ya que algunos fármacos funcionan mejor conjuntamente que solos, a menudo, se administran dos o más fármacos al mismo tiempo. Frecuentemente, se usan dos o más agentes quimioterapéuticos como terapia de combinación. En algunas realizaciones, se pueden usar agentes quimioterapéuticos (incluyendo quimioterapia de combinación) junto con un compuesto descrito en la presente memoria.

La terapia dirigida constituye el uso de agentes específicos de las proteínas no reguladas de las células cancerosas. Los fármacos de terapias dirigidas de bajo peso molecular son, en general, inhibidores de dominios enzimáticos de proteínas mutadas, sobre-expresadas o fundamentales por otro motivo de una célula cancerosa. Los ejemplos más destacados son los inhibidores de la tirosina quinasa tales como axitinib, bosutinib, cediranib, dasatinib, erlotinib, imatinib, gefitinib, lapatinib, lestaurtinib, nilotinib, semaxanib, sorafenib, sunitinib y vandetanib, y además inhibidores de quinasas dependientes de la ciclina, tales como alvociclib y seliciclib. La terapia con anticuerpos monoclonales es otra estrategia en la que el agente terapéutico es un anticuerpo que se une específicamente a una proteína sobre la superficie de las células cancerosas. Los ejemplos incluyen anticuerpo trastuzumab anti-HER2/neu (Herceptin®) típicamente usado en cáncer de mama y el anticuerpo rituximab anti-CD20 y tositumomab típicamente usados en una variedad de tumores malignos de linfocitos B. Otros ejemplos de anticuerpos incluyen cetuximab, panitumumab, trastuzumab, alemtuzumab, bevacizumab, edrecolomab y gemtuzumab. Los ejemplos de proteínas de fusión incluyen aflibercept y denileukin diftotox. En algunas realizaciones, se puede usar la terapia dirigida junto con un compuesto descrito en la presente memoria, por ejemplo, Gleevec (Vignani y Wang 2001).

La terapia dirigida también puede implicar péptidos pequeños como “dispositivos de autodirección” que se pueden unir a los receptores de la superficie celular o la matriz extracelular afectada que rodea el tumor. Los radionucleidos que están unidos a estos péptidos (por ejemplo, RGD) matan finalmente a la célula cancerosa si el nucleido se descompone en las proximidades de la célula. Un ejemplo de dicha terapia incluye BEXXAR®.

La terapia anti-angiogénica puede incluir inhibidores de quinasas dirigidos

al factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) tales como sunitinib, sorafenib, o anticuerpos monoclonales o "señuelos" de receptores del VEGF o del receptor del VEGF, incluyendo bevacizumab o VEGF-Trap, o talidomida o sus análogos (lenalidomida, pomalidomida) o agentes dirigidos a dianas angiogénicas distintas del VEGF tales como factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), angiopoyetinas, o angioestatina o endostatina.

Las terapias epigenéticas incluyen inhibidores de enzimas que controlan las modificaciones epigenéticas, específicamente ADN metiltransferasas e histona desacetilasas, que han demostrado prometedores efectos anti-tumorigénicos para algunos tumores malignos, así como oligonucleótidos antisentido y ARN pequeño de interferencia.

La inmunoterapia contra el cáncer se refiere a un conjunto diverso de estrategias terapéuticas diseñadas para inducir al propio sistema inmune del paciente a luchar contra el tumor. Los procedimientos contemporáneos para generar una respuesta inmune contra los tumores incluyen la inmunoterapia BCG intravesicular para el cáncer de vejiga superficial, la vacuna Provenge para el cáncer de próstata y el uso de interferones y otras citocinas para inducir la respuesta inmune en pacientes con carcinoma de células renales y melanoma.

El trasplante de células madre hematopoyéticas alogénicas se puede considerar una forma de inmunoterapia, pues los inmunocitos del donante, a menudo, atacarán al tumor en un efecto de injerto contra tumor. En algunas realizaciones, se pueden usar agentes inmunoterapéuticos junto con un compuesto descrito en la presente memoria.

Los agentes de terapia hormonal incluyen la administración de agonistas hormonales o antagonistas hormonales, e incluyen retinoides/ácido retinoico, compuestos que inhiben el estrógeno o la testosterona, así como la administración de progesteronas.

La descripción anterior describe la presente invención en términos generales. Se puede obtener una comprensión más completa por referencia a los siguientes ejemplos específicos. Los presentes ejemplos se describen únicamente a efectos ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la invención. Se contemplan cambios en la forma y en la sustitución de los equivalentes si las circunstancias así lo sugieren o consideran apropiado. Aunque, en la presente memoria, se hayan empleado expresiones y términos específicos, dichas expresiones y dichos términos tienen un sentido descriptivo y no restrictivo.

EJEMPLIFICACIÓN

Abreviaturas

atm	Atmósfera
ac.	Acuoso
BINAP	2,2'-Bis(difenilfosfin)-1,1'-binaftilo

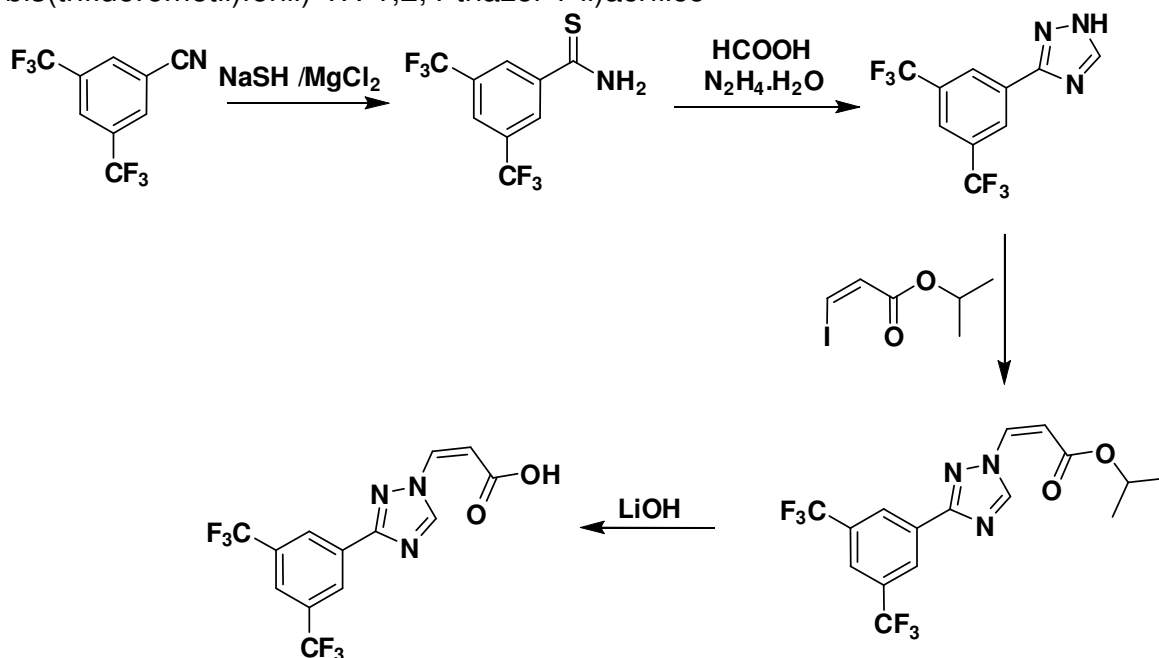
	Boc	<i>tert</i> -butoxicarbonilo
	CDI	<i>N,N'</i> -Carbonildiimidazol
	CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
	DCC	<i>N,N</i> -Diciclohexilcarbodiimida
5	DCM	Diclorometano
	DBU	Diaza(1,3)biciclo[5.4.0]undecano
	DIC	<i>N,N'</i> -Diisopropilcarbodiimida
	DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropiletilamina
	DMAP	<i>N,N</i> -Dimetil-4-aminopiridina
10	DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
	DMSO	Dimetilsulfóxido
	DPPF	Difenilfosfinoferroceno
	EA	Acetato de etilo
	EDCI	Clorhidrato de <i>N</i> -[3-(dimetilamino)propil]- <i>N'</i> -etilcarbodiimida
15	EDC	1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
	eq.	equivalente(s)
	Et ₂ O	Dietiléter
	EtOAc	Acetato de etilo
	EtOH	Etanol
20	Etl	Yodoetano
	Et	Etilo
	Fmoc	9-fluorenilmetiloxycarbonilo
	CG	Cromatografía de Gases
	h	hora(s)
25	HetAr	Heteroarilo
	HOBt	<i>N</i> -Hidroxibenzotriazol
	HBTU	hexafluorofosfato de <i>O</i> -(Benzotriazol-1-il)- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio
	CLAR	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
30	LAH	Hidruro de litio y aluminio
	EM-CL	Espectrometría de Masas con Cromatógrafo de Líquidos
	MCPBA	Ácido <i>m</i> -cloroperbenzoico
	MeCN	Acetonitrilo
	MeOH	Metanol
35	min	Minuto(s)
	Mel	yodometano
	MeMgCl	Cloruro de metilmagnesio
	Me	Metilo
	NaOAc	Acetato de sodio
40	RMN	Resonancia Magnética Nuclear

NMP	N-Metil-pirrolidinona
d.n.	Durante la noche
TA	Temperatura ambiente
Tr	Tiempo de retención
5 T3P	Anhídrido propilfosfónico
TEA	Trietilamina
THF	Tetrahidrofurano
CCF	Cromatografía de Capa Fina

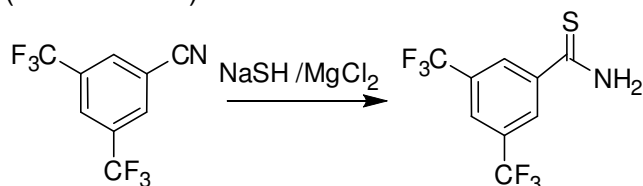
A lo largo de la siguiente descripción de los procedimientos, se entenderá que, cuando sea apropiado, se añadirán grupos protectores adecuados y, posteriormente, se retirarán de los diversos reactivos y compuestos intermedios de una manera que los expertos en la técnica de la síntesis orgánica comprenderán fácilmente. Los procedimientos convencionales para usar dichos grupos protectores, así como los ejemplos de los grupos protectores adecuados se describen, por ejemplo, en "Protective Groups in Organic Synthesis", T. W. Green, P. G. M. Wuts, Wiley-Interscience, Nueva York, (1999). También se entenderá que, en cualquier compuesto intermedio o producto final, se puede realizar una transformación de un grupo o sustituyente en otro grupo o sustituyente mediante manipulación química, mediante la ruta sintética para obtener el producto final, estando el tipo posible de transformación únicamente limitado por la incompatibilidad inherente de otras funcionalidades llevadas a cabo por la molécula en esa etapa con respecto a las condiciones y reactivos empleados en la transformación. Los expertos en la técnica de la síntesis orgánica entenderán fácilmente dichas incompatibilidades inherentes y modos de salvarlas llevando a cabo las transformaciones y las etapas sintéticas apropiadas en un orden adecuado. A continuación, se dan ejemplos de transformaciones, y se entenderá que las transformaciones descritas no sólo se limitan a los grupos o sustituyentes genéricos para las que se ejemplifican las transformaciones. En "Comprehensive Organic Transformations – A Guide to Functional Group Preparations", R. C. Larock, VHC Publishers, Inc. (1989), se dan las referencias y las descripciones sobre otras transformaciones adecuadas. En libros de texto de Química orgánica como, por ejemplo, "Advanced Organic Chemistry", March, 4th ed. McGraw Hill (1992) o "Organic Synthesis", Smith, McGraw Hill, (1994), se describen referencias y descripciones de otras reacciones adecuadas. Las técnicas para la purificación de los compuestos intermedios y los productos finales incluyen, por ejemplo, cromatografía normal y de fase inversa sobre columna o placa giratoria, recristalización, destilación y extracción el líquido-líquido o sólido-líquido, que los expertos en la técnica entenderán fácilmente. Las definiciones de los sustituyentes y grupos son como se describen para la fórmula I, a no ser que se defina algo distinto. La expresión "temperatura ambiente" significará, a menos que se indique

otra cosa, una temperatura entre 16 y 25°C. El término “reflujo” significará, a menos que se indique otra cosa, con respecto a un disolvente, una temperatura en el o por encima del punto de ebullición del disolvente.

- 5 Ejemplo 1: Síntesis del Compuesto intermedio ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico

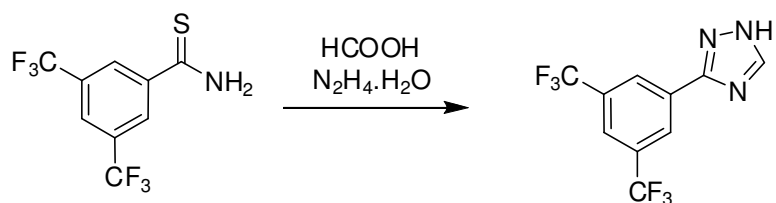


Síntesis de 3,5-bis(trifluorometil)benzotioamida:



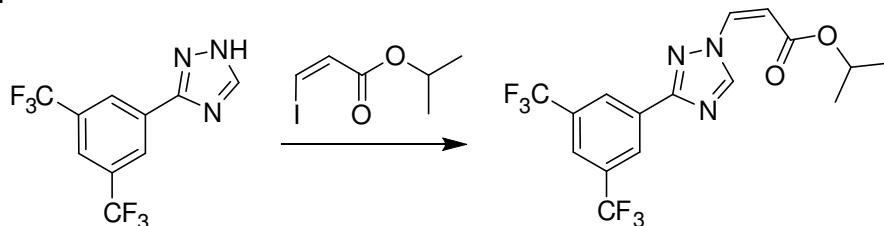
- 10 Se cargó un matraz de 2 l de fondo redondo y tres bocas con una solución de 3,5-bis(trifluorometil)benzonitrilo (200 g) en DMF (1 l). Luego se trató la solución con NaSH (123,7 g, 2,0 equiv.) y MgCl₂ (186,7 g, 1,0 equiv.) y se agitó la mezcla de reacción a TA durante 3 horas. Se vertió la mezcla en una suspensión de agua y hielo (10 l) y se extrajo el compuesto con EtOAc (3 x 1 l). Se lavaron
- 15 las capas orgánicas combinadas con salmuera saturada acuosa (3 x 100 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida, proporcionándose 205 g de la 3,5-bis(trifluorometil)benzotioamida en bruto deseada (rendimiento: 90%), que se usó sin purificación en la siguiente etapa.

- 20 Síntesis de 3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol:



Se cargó un matraz de 5 l de fondo redondo y 3 bocas con una solución de 3,5-bis(trifluorometil)benzotioamida (205,65 g) en DMF (1,03 l). Se añadió hidrato de hidrazina (73,2 ml, 2,0 equiv.) en gotas y se agitó la mezcla de reacción a TA durante 1 h. Se añadió HCOOH (1,03 l) en gotas y se calentó la mezcla de reacción a reflujo a 90°C durante 3 horas. Tras dejarla enfriar hasta la TA, se vertió la mezcla de reacción en una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (7 l) y se extrajo con EtOAc (3 x 1 l). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con salmuera saturada acuosa (3 x 500 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida (35°C, 2,67 kPa), proporcionándose 180 g de compuesto en bruto. Se agitó este material en bruto con éter de petróleo (3 x 500 ml), se filtró y se secó, obteniéndose 160 g de 3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol obtenido en forma de un sólido de color amarillo pálido (rendimiento: 75%).

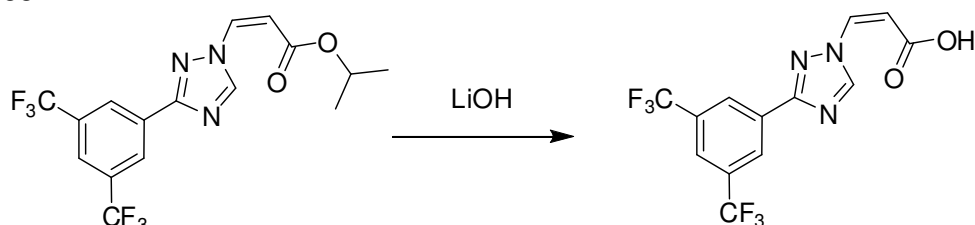
Síntesis de 3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (*Z*)-isopropilo:



Se cargó un matraz de 2 l de fondo redondo y 3 bocas con una solución de 3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol (160 g) en DMF (960 ml). Se trató la solución con DABCO (127,74 g, 2 equiv.) y se agitó durante 30 min antes de añadir 3-yodoacrilato de (*Z*)-isopropilo (150,32 g, 1,1 equiv.) en gotas. Tras aprox. 1 hora, se vertió la mezcla en una suspensión de agua y hielo (5 l) y se extrajo con EtOAc (3 x 1 l). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con salmuera saturada acuosa (3 x 100 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida (35°C, 2,67 kPa), proporcionándose 250 g de compuesto en bruto que se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice 60/120) usando un gradiente de acetato de etilo/n-hexano (la columna se empaquetó en hexano y el compuesto deseado comenzó a eluir de EtOAc al 2%/n-hexano). Se combinaron las fracciones que contenían los productos deseados, proporcionándose 138 g del compuesto deseado puro (rendimiento: 61%).

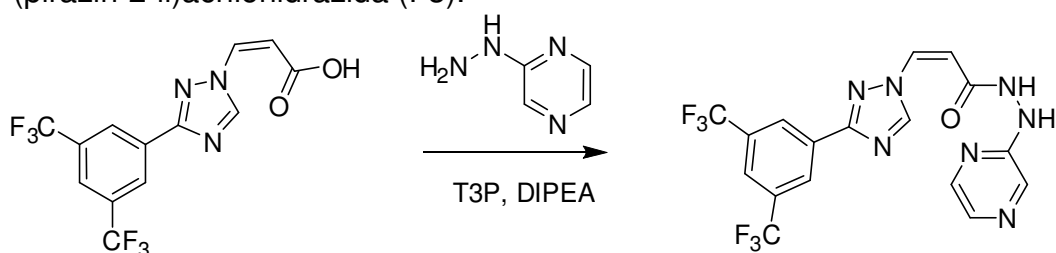
Síntesis de ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-

il)acrílico:



En un matraz de 5 l de fondo redondo y 3 bocas, se disolvió 3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (*Z*)-isopropilo (130 g, 1,0 equiv.) en THF (1,3 l). Se añadió una solución de LiOH (69,3 g, 5,0 equiv.) en agua (1,3 l) en gotas a la solución, y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 4 h antes de detenerla con 400 ml de suspensión de agua con hielo y acidificarla (pH = 2-3) con HCl acuoso diluido. Se extrajo la mezcla con EtOAc (3 x 1 l) y se lavaron las capas orgánicas combinadas con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida, proporcionándose 110 g del ácido carboxílico deseado (rendimiento: 94%) (contenido de *cis* = 90,0%, contenido de *trans* = 8,2% mediante CL-EM).

Ejemplo 2: Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(pirazin-2-il)acrilohidrazida (I-3).

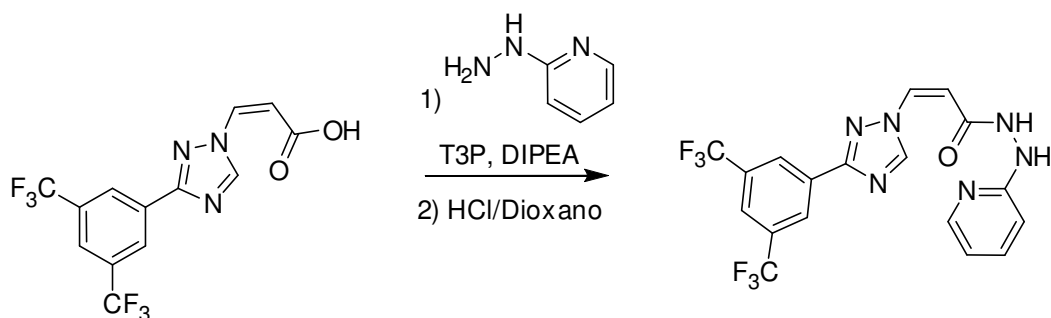


15

Se cargó un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas con una suspensión de ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,200 g) en CH₂Cl₂:AcOEt (1:1) (25 ml). Se añadió 2-hidrazinopirazina (0,062 g) a -40°C seguida de T3P (50%) (0,432 g) y DIPEA (0,147 g). Se agitó mezcla de reacción durante 30 min a -40°C antes de concentrarla a presión reducida (35°C, 2,67 kPa). Se purificó el aceite en bruto mediante CCF preparativa usando MeOH al 5% en CH₂Cl₂ como fase móvil (bajo atmósfera de amoníaco), proporcionándose 40 mg (rendimiento: 16%) de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(pirazin-2-il)acrilohidrazida. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ, 10,53 (s, 1H), 9,59 (s, 1H), 9,14 (s, 1H), 8,53 (s, 2H), 8,29 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 8,06-8,07 (m, 1H), 7,92-7,93 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,51-7,53 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 6,07-6,10 (d, J = 10,4 Hz, 1H); CL-EM para C₁₇H₁₂F₆N₇O [M+H]⁺ predicha: 444,31; encontrada: 444,49 (Tr = 2,70 min, pureza: 95,78%).

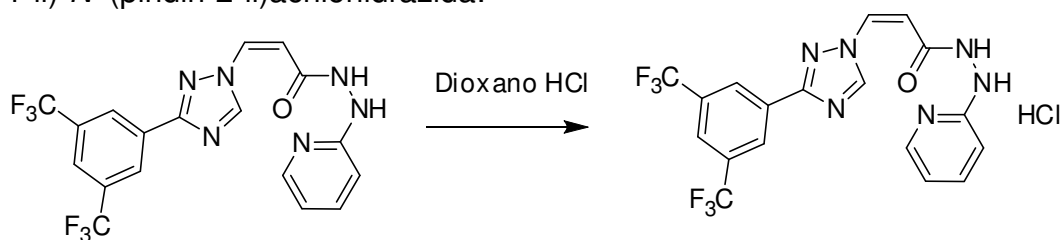
Ejemplo 3: Síntesis de clorhidrato de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(piridin-2-il)acrilohidrazida (I-4).

30



Se cargó un matraz de 500 ml de fondo redondo y 3 bocas con una suspensión de ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (10 g, 1,0 equiv.) en CH₂Cl₂:AcOEt (1:1) (200 ml). Se añadió 2-
 5 hidrazinopiridina (3,11 g) a -40°C. Se añadió T3P (50% en acetato de etilo) (21,75 g) en gotas seguido de DIPEA (7,36 g) y se agitó la mezcla de reacción durante 30 min a -40°C antes de concentrarla a presión reducida (35°C, 2,67 kPa), proporcionándose un aceite marrón en bruto que se purificó mediante cromatografía en columna (eluyéndose el compuesto con MeOH al 1,3% en
 10 CH₂Cl₂). Se combinaron las fracciones que contenían el compuesto deseado, proporcionándose 6,0 g (rendimiento: 48%) (*Z*)-3-(3-(3,5-bis-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(piridin-2-il)acrilohidrazida. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ, 10,41(s, 1H), 9,66 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,53 (s, 2H), 8,28 (s, 1H), 8,06-8,08 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 7,48-7,53 (m, 1H), 7,49-7,52 (d, J = 10,4, 1H), 6,71-6,75 (m, 1H), 6,66-6,68 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,07-6,09 (d, J = 10,4, 1H). CL-EM para C₁₈H₁₂F₆N₆O [M+H]⁺ predicha: 443,33; encontrada: 443,44 (Tr = 2,45 min, pureza: 100%).

Síntesis de clorhidrato de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(piridin-2-il)acrilohidrazida:

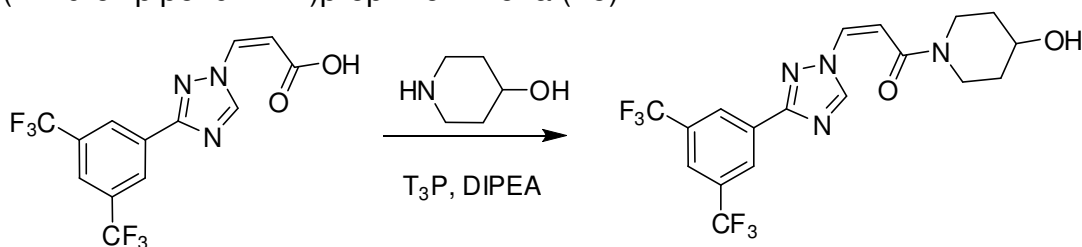


20

Se cargó un matraz de 500 ml de fondo redondo y 3 bocas con una solución de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(piridin-2-il)acrilohidrazida (5,5 g) en Et₂O (250 ml). Se enfrió la solución hasta 5°C, se trató con HCl en 1,4-dioxano, se dejó que se calentara hasta la TA y se agitó hasta que
 25 se completó, según lo mostrado mediante análisis de CCF (aproximadamente 1 h). Se filtraron los sólidos en un embudo Büchner, se lavaron con Et₂O y se secaron al vacío, proporcionándose 5,5 g (rendimiento: 92%) de clorhidrato de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(piridin-2-il)acrilohidrazida. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ, 11,26 (s, 1H), 10,89 (s, 1H), 9,55 (s, 1H), 8,52 (s, 2H), 8,28 (s, 1H), 8,03-8,07 (m, 2H), 7,62-7,59 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 7,21-7,24 (m,
 30

1H), 7,05-7,09 (m, 1H), 6,16-6,19 (d, J = 10,4 Hz, 1H), CL-EM para C₁₈H₁₃F₆N₆O [M+H]⁺ 443,33; encontrada: 443,44 (Tr = 3,54 min, pureza: 99,0%).

Ejemplo 4: Síntesis de (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)-1-(4-hidroxipiperidin-1-il)prop-2-en-1-ona (I-5).

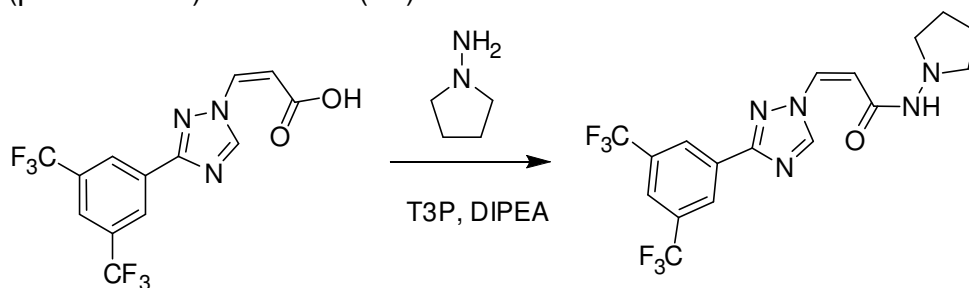


5

Se cargó un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas con una solución de ácido (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,20 g) en CH₂Cl₂ (10 ml). Se añadió piperidin-4-ol (0,07 g, 1,2 equiv.) y la solución se enfrió hasta -60°C para la adición de T3P (anhídrido propilfosfónico) (0,40 ml, 1,2 equiv.) y DIPEA (0,19 ml, 2,0 equiv.). Se agitó la mezcla de reacción durante 30 min antes de verterla en agua (50 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 50 ml). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con salmuera saturada acuosa (50 ml), se secaron sobre MgSO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida (35°C, 2,67 kPa). La purificación mediante cromatografía en columna usando sílice 60/120 y MeOH:CH₂Cl₂ como fase móvil (el compuesto deseado comenzó a eluir con MeOH al 3,0%/CH₂Cl₂) proporcionó 0,025 g (rendimiento: 10%) de (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)-1-(4-hidroxipiperidin-1-il)prop-2-en-1-ona. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ, 8,75 (s, 1H), 8,58 (s, 2H), 7,93 (s, 1H), 7,08-7,11 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 6,01-6,04 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 4,02-4,14 (m, 1H), 3,98-4,01 (m, 1H), 3,78-3,85 (m, 1H), 3,47-3,52 (s, 1H), 3,32-3,38 (s, 1H), 1,96 (s, 1H), 1,83 (s, 1H), 1,27 (s, 1H), 0,90 (s, 1H); CL-EM para la fórmula química: C₁₈H₁₇F₆N₄O₂ [M+H]⁺ 435,34; encontrada 435,24 (Tr = 2,408 min, pureza: 89,6%).

20

Ejemplo 5: Síntesis de (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)-N-(pirrolidin-1-il)acrilamida (I-6).



25

Se trató una solución fría (-40°C) de ácido (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,35 g) en CH₂Cl₂:EtOAc (1:1) (200 ml) con HCl de 1-aminopirrolidina (0,134 g). Luego se trató la mezcla con T3P (50% en EtOAc; 0,77 ml, 1,3 equiv.) seguido de la adición lenta de DIPEA (0,51 ml, 3,0 equiv.). Se agitó la mezcla de reacción durante 30 min a -40°C antes

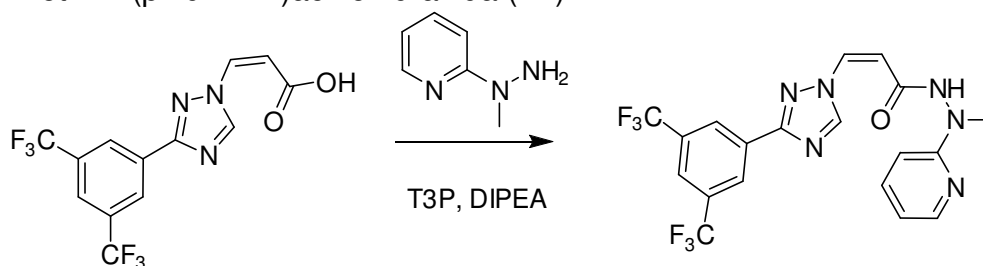
30

de detenerla con agua y hielo, y se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con salmuera saturada acuosa, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida (35°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,275 g de sólido en bruto. La purificación mediante

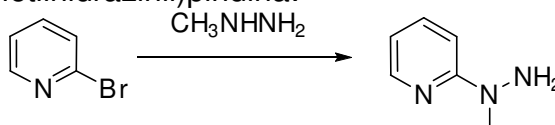
5 cromatografía en columna sobre gel de sílice (tamaño de malla 60-120) usando MeOH en CH₂Cl₂ como fase móvil proporcionó la (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N*-(pirrolidin-1-il)acrilamida deseada pura (7,0 mg rendimiento: 1,7%): RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ, 9,49 (s, 1H), 8,95 (s, 1H), 8,53 (s, 2H), 8,28 (s, 1H), 7,4-7,38 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 5,87-5,84 (d, J

10 = 10,4 Hz, 1H), 2,86-2,81 (m, 4H), 1,74-1,73 (m, 4H); CL-EM para C₁₇H₁₆F₆N₅O [M+H]⁺ 420,33; encontrada: 420,13 (Tr = 7,76 min, pureza: 92,4%).

Ejemplo 6: Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-metil-*N'*-(piridin-2-il)acrilohidrazida (I-7).



15 Síntesis de 2-(1-metilhidrazinil)piridina:



Se cargó un matraz de 25 ml de fondo redondo y 3 bocas con 2-bromopiridina (0,31 g) y metilhidrazina (5,09 g, 34,2 equiv.) en atmósfera de nitrógeno, y se agitó la mezcla y se calentó hasta la temperatura de reflujo a 80-

20 85°C durante 1 h. Se concentró la mezcla de reacción a presión reducida (40°C, 2,67 kPa), proporcionándose un aceite de color amarillo que se trató con Na₂CO₃ acuoso al 10% p/v y se extrajo con EtOAc. Se lavó la capa orgánica con salmuera saturada acuosa, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida (40°C, 2,67 kPa), proporcionándose un aceite de color amarillo (0,40 g),

25 que se usó como tal en la siguiente etapa.

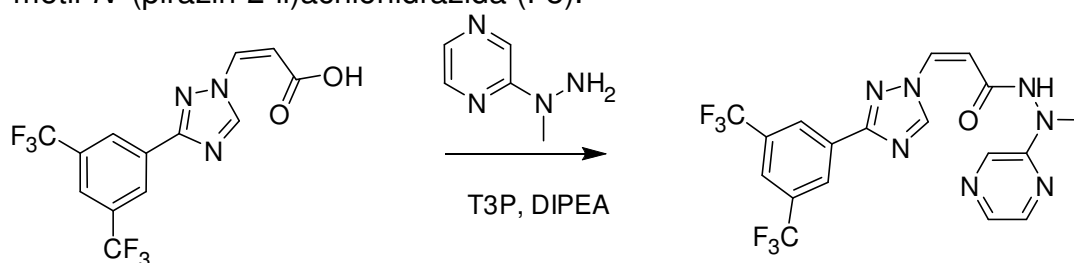
Se cargó un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas con ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,43 g), 2-(1-metilhidrazinil)piridina (0,15 g, 1,0 equiv.) en EtOAc (10 ml). Se añadieron T3P (50% en EtOAc; 1,1 g, 1,5 equiv.) y DIPEA (0,40 g, 2,5 equiv.) en atmósfera de

30 nitrógeno a -60°C y se controló el progreso de la reacción mediante CCF (usando MeOH al 10%:CH₂Cl₂ como fase móvil y visualización con luz UV). Se concentró la mezcla de reacción a presión reducida (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,65 g de sólido en bruto. La purificación se realizó en cromatografía de columna por desorción súbita combinada en CH₂Cl₂ y MeOH (el compuesto deseado comenzó

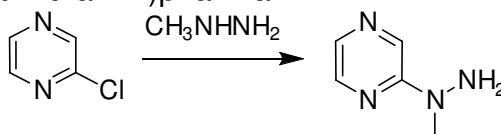
a eluir con MeOH al 3,3% en CH₂Cl₂). Las fracciones que contenían el compuesto deseado se combinaron y se concentraron a presión reducida (35°C, 2,67 kPa), proporcionándose 90,0 mg (rendimiento: 18%) de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-metil-*N'*-(piridin-2-il)acrilohidrazida.

- 5 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,89 (s, 1H), 9,79 (s a, 1H), 8,57-8,62 (d, 2H), 7,92-7,94 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 7,59-7,64 (m, 1H), 7,19-7,25 (c, 1H), 6,75-6,89 (m, 2H), 5,85-5,88 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 3,46 (d, 3H); CL-EM para C₁₉H₁₅F₆N₆O [M+H]⁺ 457,35; encontrada: 456,26 (Tr = 2,52 min, pureza: 100,0%).

10 Ejemplo 7: Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-metil-*N'*-(pirazin-2-il)acrilohidrazida (I-8).



Síntesis de 2-(1-metilhidrazinil)pirazina:



15 En un matraz de 25 ml de fondo redondo y 3 bocas, se disolvió 2-cloropirazina (0,5 g) en metilhidrazina (0,5 g, 1,5 equiv.) en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. Se añadió K₂CO₃ sólido (0,9 g, 1,5 equiv.) y se agitó la mezcla de reacción y se calentó hasta el reflujo a 80-85°C durante 1,0 h. Después, se dejó enfriar la mezcla de reacción hasta la TA y se concentró a presión reducida (40°C, 2,67 kPa), proporcionándose un aceite de color amarillo y residuo,

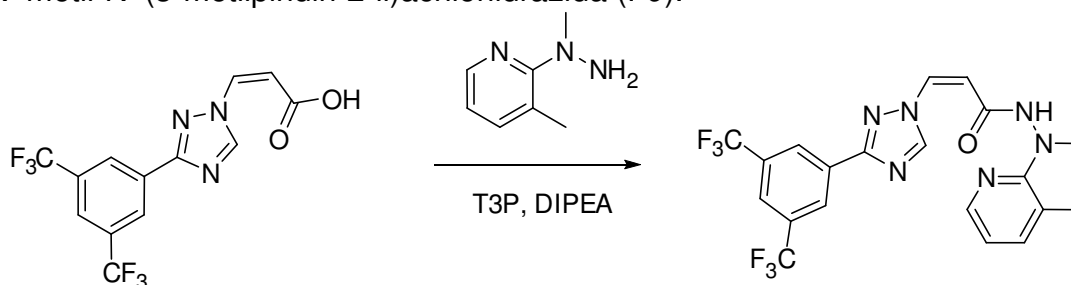
20 que se trató con Na₂CO₃ acuoso al 10% p/v y se extrajo con EtOAc. Se lavó el extracto orgánico con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida (40°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,43 g de un aceite de color amarillo que se usó como tal en la siguiente etapa.

25 Se cargó un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas con ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,3 g), 2-(1-metilhidrazinil)pirazina (0,12 g, 1,1 equiv.) y CH₂Cl₂ (10 ml). Se añadieron T3P (50% en EtOAc; 0,38 g, 1,5 equiv.) y DIPEA (0,50 g, 3,5 equiv.) en atmósfera de nitrógeno a -60°C, controlando el progreso de la reacción mediante CCF (usando MeOH al 10%:CH₂Cl₂ como fase móvil y visualizando bajo luz UV). Se concentró

30 la mezcla de reacción a presión reducida (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,265 g de sólido en bruto. La purificación mediante cromatografía en columna por desorción súbita combinada usando CH₂Cl₂:MeOH como eluyente (el compuesto deseado comenzó a eluir con MeOH al 1,5% en CH₂Cl₂) proporcionó 75,0 mg de

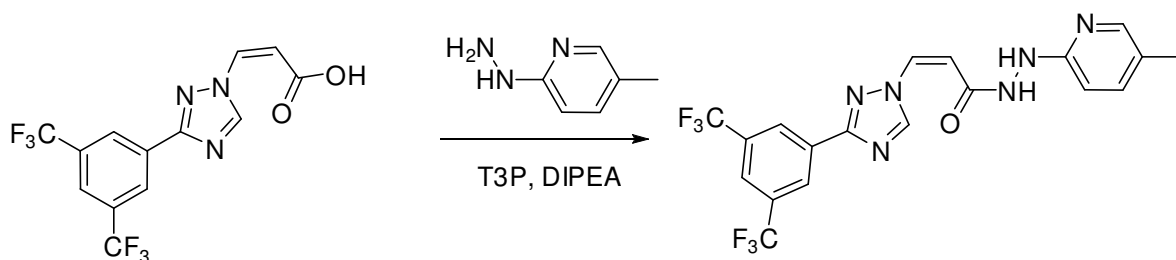
compuesto en bruto (rendimiento 23%); (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-metil-*N'*-(pirazin-2-il)acrilohidrazida: RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10,77 (s, 1H), 9,40-9,36 (s a, 1H), 8,52 (s, 2H), 8,29-8,27 (d, 2H), 8,15 (s, 1H), 7,925-7,92 (d, 1H), 7,56-7,54 (d, $J = 10,4$ Hz, 1H), 6,13-6,10 (d, $J = 10,4$ Hz, 1H), 3,43 (d, 3H); CL-EM para $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{F}_6\text{N}_7\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 458,34; encontrada: 458,24 (Tr = 2,83 min; pureza: 96,31%).

Ejemplo 8: Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-metil-*N'*-(3-metilpiridin-2-il)acrilohidrazida (I-9).



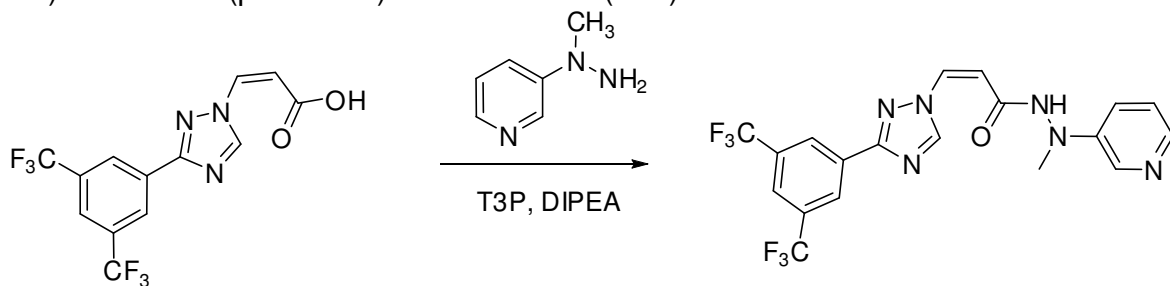
Se cargó un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas con una solución de ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,25 g) en EtOAc (20 ml). Se enfrió la solución hasta -70°C y se trató consecutivamente con 3-metil-2-(1-metilhidrazinil)piridina (0,135 g, 1,0 equiv.), T3P (50% en EtOAc; 1,4 ml, 4 equiv.) y DIPEA (0,6 ml, 6 equiv.). Se agitó la mezcla de reacción transparente a -60°C durante 4 h. Se siguió el progreso de la reacción mediante análisis de CCF usando MeOH al 2,5% en CH_2Cl_2 como fase móvil y visualizando bajo UV. Se concentró la mezcla de reacción a presión reducida (25°C , 2,67 kPa), proporcionándose un compuesto en bruto que se purificó mediante cromatografía en columna (SiO_2 de malla 60/120 y eluyendo con un gradiente de MeOH: CH_2Cl_2). El compuesto deseado comenzó a eluir con MeOH al 0,3-0,4% en diclorometano. Se combinaron las fracciones que contenían el material deseado, obteniéndose 0,21 g (rendimiento: 40%) (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-metil-*N'*-(3-metilpiridin-2-il)acrilohidrazida. RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 10,73 (s, 1H), 9,32 (s, 1H), 8,52 (s, 2H), 8,45-8,46 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 8,29 (s, 1H), 7,97-7,99 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7,48-7,50 (d, $J = 10$ Hz, 1H), 7,01-7,05 (m, 1H), 5,86-5,88 (d, $J = 10$ Hz, 1H), 3,26 (s, 3H); CL-EM para $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{F}_9\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 525,35; encontrada: 525,19 (Tr = 3,31 min, pureza 99,40%).

Ejemplo 9: Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(5-metilpiridin-2-il)acrilohidrazida (I-10).



Se cargó un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas con una solución de ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,25 g) en EtOAc (10 ml) tratado con 2-hidrazinil-5-metilpiridina (0,97 g, 1,1 equiv.). Se enfrió la mezcla hasta -60°C y se trató con T3P (anhídrido propilfosfónico; 0,85 ml, 2,0 equiv.) y DIPEA (0,5 ml, 4,0 equiv.). Se agitó la mezcla durante 30 min, luego se vertió en agua (50 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 50 ml). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con salmuera (50 ml), se secaron sobre MgSO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose un compuesto en bruto que se purificó mediante cromatografía en columna (SiO₂, malla de 60/120, MeOH:CH₂Cl₂ como fase móvil). El compuesto deseado comenzó a eluir con MeOH al 2,5%:CH₂Cl₂. Se combinaron las fracciones que contenían el compuesto deseado y se concentraron a presión reducida, proporcionándose 0,130 g (rendimiento: 40%) de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(5-metilpiridin-2-il)acrilohidrazida. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ, 10,38 (s, intercambiable, 1H), 9,65 (s, 1H), 8,54 (s, 2H), 8,40 (s, intercambiable, 1H), 8,29 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,48-7,51 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 7,33-7,36 (dd, J = 2 Hz, J = 6 Hz, 1H), 6,61-6,63 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,20-6,23 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 2,15 (s, 3H); CL-EM para C₁₉H₁₅F₆N₆O [M+H]⁺ 457,35; encontrada: 457,24 (Tr = 2,61 min, pureza: 99,13%).

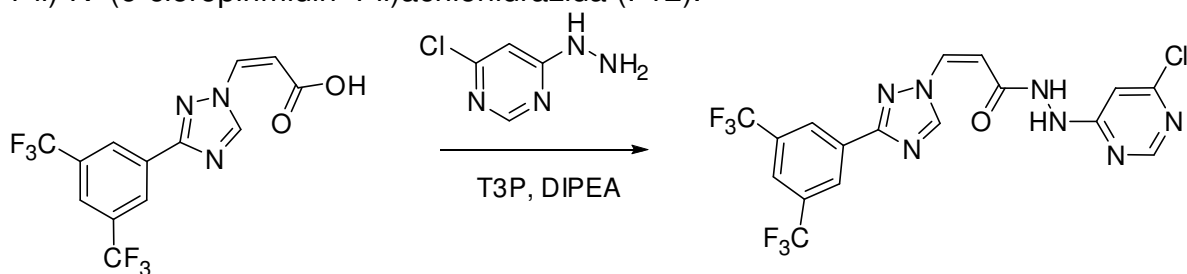
Ejemplo 10: Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-metil-*N'*-(piridin-3-il)acrilohidrazida (I-11).



Se trató un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas cargado con una solución de ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,25) en CH₂Cl₂ (12 ml) con 3-(1-metilhidrazinil)piridina (0,105 g, 1,2 equiv.). Se enfrió la mezcla a -60°C y se trató con T3P (anhídrido propilfosfónico; 0,50 ml, 1,2 equiv.) y DIPEA (0,24 ml, 2,0 equiv.), y se agitó durante 1 h. Se siguió el progreso de la reacción mediante análisis de CCF usando MeOH al 10%:CH₂Cl₂ como fase móvil y visualizando bajo luz UV. Luego se vertió la mezcla de reacción en agua

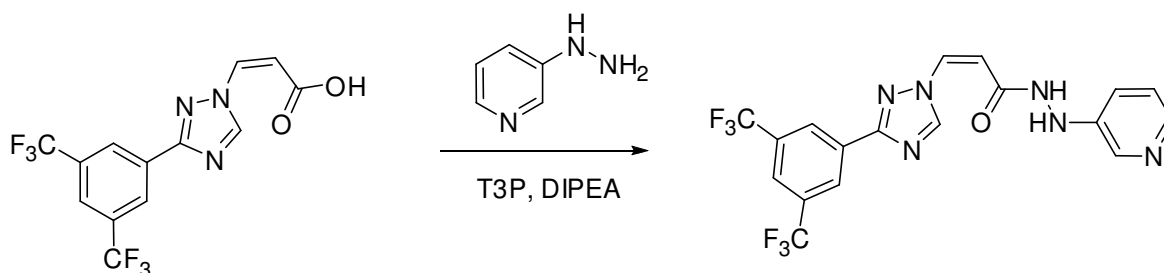
(50 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 50 ml). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con salmuera (50 ml), se secaron sobre MgSO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose compuesto en bruto que se purificó mediante cromatografía en columna (SiO₂, malla de 60/120, MeOH:CH₂Cl₂ como fase móvil). El compuesto deseado comenzó a eluir en MeOH al 3,0%:CH₂Cl₂. Se recogieron las fracciones que contenían el compuesto y se concentraron a presión reducida, proporcionándose 140 mg (rendimiento: 43%) de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis (trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-metil-*N'*-(piridin-3-il)acrilohidrazida. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ, 10,55 (s, 1H), 9,41 (s, 1H), 9,15 (s, 2H), 8,58 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 7,51-7,54 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 7,18-7,22 (m, 2H), 6,05-6,07 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 3,20 (s, 3H); CL-EM para C₁₉H₁₅F₆N₆O [M+H]⁺ 457,35; encontrada 457,19 (Tr = 2,43 min, pureza: 83,48%).

Ejemplo 11: Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(6-cloropirimidin-4-il)acrilohidrazida (I-12).



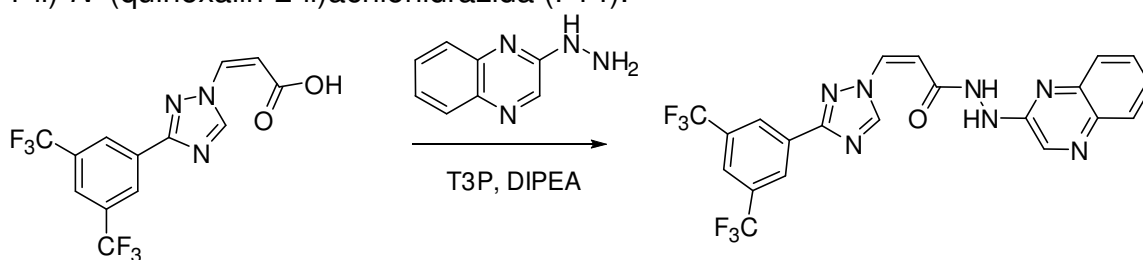
Se cargó un matraz de 25 ml de fondo redondo y 3 bocas con una solución de ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilico (0,5 g) y 4-cloro-6-hidrazinopirimidina (0,20 g, 1,0 equiv.) en EtOAc (5,0 ml). Se enfrió la mezcla hasta -40°C y se trató con T3P (2,3 ml, 2,5 equiv.) y DIPEA (0,98 ml, 4,0 equiv.). El análisis de CCF (usando MeOH al 5%-CH₂Cl₂ como eluyente) demostró el consumo del material inicial tras 30 min. Después, se diluyó la mezcla de reacción con CH₂Cl₂, se lavó con agua, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose material en bruto que se sometió a una purificación mediante CCF preparativa usando MeOH al 5%-CH₂Cl₂ como fase móvil. Esto proporcionó 250 mg (rendimiento: 36,74%) de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(6-cloropirimidin-4-il)acrilohidrazida. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ= 10,59 (s a, intercambiable, 1H), 9,85 (s a, intercambiable, 1H), 9,52 (s, 1H), 8,50 (s, 2H), 8,38 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 7,52-7,55 (d, 1H, J = 10,4 Hz), 6,69 (s, 1H), 6,05-6,08 (d, 1H, J = 10,4 Hz); CL-EM: Calculado para C₁₇H₁₁ClF₆N₇O (M+H)⁺ 478,76; encontrada: 478,09 (Tr = 2,79 min, pureza: 97,51%).

Ejemplo 12: Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(piridin-3-il)acrilohidrazida (I-13).

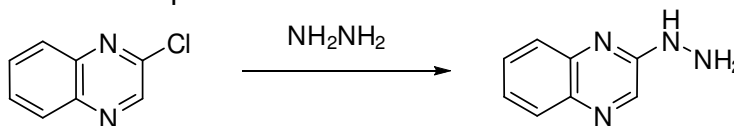


Se cargó un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas con ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,25 g) y 3-hidrazinopiridina (0,077 g, 1,0 equiv.) en EtOAc (10 ml). Se añadieron T3P (50% en EtOAc; 0,52 g, 1,2 equiv.) y DIPEA (0,27 g, 2,0 equiv.) en atmósfera de nitrógeno de -55 a -60°C. Se siguió el progreso de la reacción mediante análisis de CCF usando MeOH al 10%:CH₂Cl₂ como fase móvil y la visualización bajo luz UV. Se concentró la mezcla de reacción a presión reducida (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,475 g de un sólido en bruto. La purificación se realizó usando cromatografía en columna por desorción súbita combinada (con MeOH:CH₂Cl₂). El compuesto deseado comenzó a eluir en MeOH al 2,3% en CH₂Cl₂. Se combinaron las fracciones que contenían el compuesto y se concentraron a presión reducida (35°C, 2,67 kPa), proporcionándose 20,0 mg (rendimiento: 6%) (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(piridin-3-il)acrilohidrazida. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,35 (s, 1H), 9,66 (s, 1H), 8,53 (s, 2H), 8,28 (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 7,93-7,95 (m, 1H), 7,52-7,54 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 7,09 - 7,15 (m, 2H), 6,04-6,07 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), CL-EM para C₁₈H₁₃F₆N₆O [M+H]⁺ 443,33; encontrada: 443,19 (Tr = 2,19 min, pureza: 99,60%).

Ejemplo 13: Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(quinoxalin-2-il)acrilohidrazida (I-14).



Síntesis de 2-hidrazinilquinoxalina:

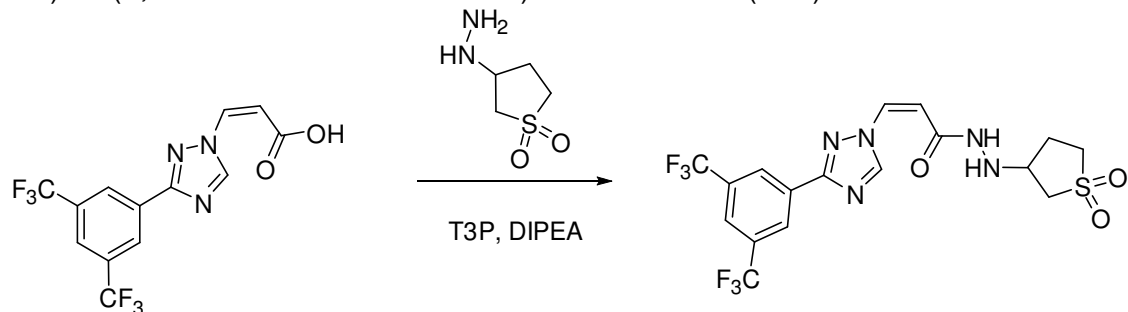


En un tubo cerrado herméticamente de 30 ml, se disolvió 2-cloroquinoxalina (1,0 g) en etanol (8 ml) y se añadió hidrato de hidrazina (8 ml) en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla y se calentó hasta la temperatura de reflujo (80°C) durante 1 h. Se siguió el progreso de la reacción mediante análisis de CCF usando MeOH al 10%:CH₂Cl₂ como fase móvil y

visualización bajo luz UV y/o con ninhidrina. Se concentró la mezcla de reacción a presión reducida (40°C, 2,67 kPa), proporcionándose 240 mg de un sólido de color blanco, que se usó como tal en la siguiente etapa.

Se cargó un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas con una solución de ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,25 g) y 2-hidrazinilquinoxalina (0,14 g, 1,2 equiv.) en EtOAc. Se añadieron T3P (50% en EtOAc; 0,83 ml, 2,0 equiv.) y DIPEA (0,5 ml, 4,0 equiv.) en atmósfera de nitrógeno de -55 a -60°C y se agitó la mezcla de reacción durante 2 h antes de concentrarla a presión reducida (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,150 g de sólido en bruto. La purificación usando cromatografía en columna por desorción súbita combinada (eluyendo con MeOH:CH₂Cl₂; el compuesto deseado comenzó a eluir con MeOH al 5% en CH₂Cl₂) proporcionó 60 mg (rendimiento: 20%) de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(quinoxalin-2-il)acrilohidrazida. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 10,851 (s, 1H), 9,89-9,87 (s, 1H), 9,67 (s, 1H), 8,49-8,54 (m, 3H), 8,26 (s, 1H), 8,28 (s, 1H), 7,86-7,88 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,45-7,66 (m, 4H), 6,17-6,20 (d, J = 10,4 Hz, 1H); CL-EM para C₂₁H₁₄F₆N₇O [M+H]⁺ 494,37; encontrada: 494,19 (Tr = 2,88 min, pureza: 100%).

Ejemplo 14: Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(1,1-dioxotetrahidrotiofen-3-il)acrilohidrazida (I-15).



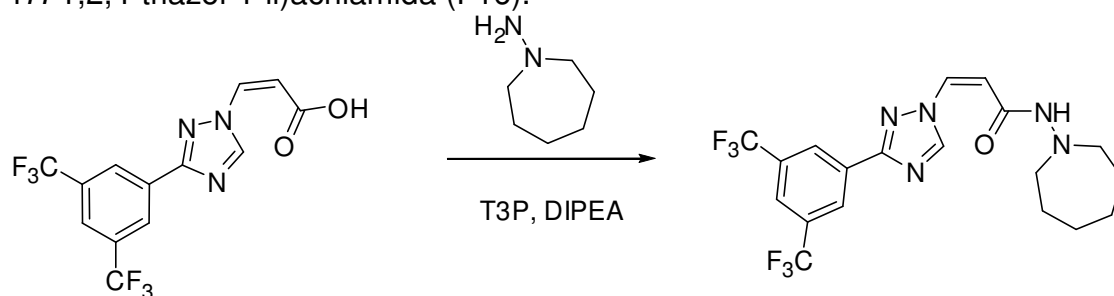
20

Se trató un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas cargado con una solución de ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,5 g) en EtOAc (20,0 ml) con 2-(1,1-dioxotetrahidrotiofen-3-il)hidrazina (0,3 g, 1,2 equiv.). Se enfrió la mezcla hasta -60°C y se trató simultáneamente con T3P (50% en EtOAc; 2,0 ml, 2 equiv.) y DIPEA (1 ml, 4 equiv.). Se agitó la mezcla de reacción durante 30 min a -60°C antes de concentrarla a presión reducida (35°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,60 g de un residuo sólido. La purificación mediante cromatografía en columna (SiO₂; elución con MeOH:CH₂Cl₂; el compuesto deseado se eluyó con MeOH al 5% en CH₂Cl₂) proporcionó 100 mg (rendimiento = 15%) de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(tetrahidrotiofen-1,1-dióxido-3-il)acrilohidrazida. RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ = 9,57 (s, 1H), 8,64 (s, 2H), 8,10 (s, 1H), 7,34-7,36 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 5,89-5,92 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 4,01 (m, 1H), 3,04-3,26 (m, 4H), 2,27-2,34 (m, 2H). CL-EM para C₁₇H₁₅F₆N₅O₃S [M+H]⁺ 484,40; encontrada: 483,39 (Tr = 2,63 min, pureza:

30

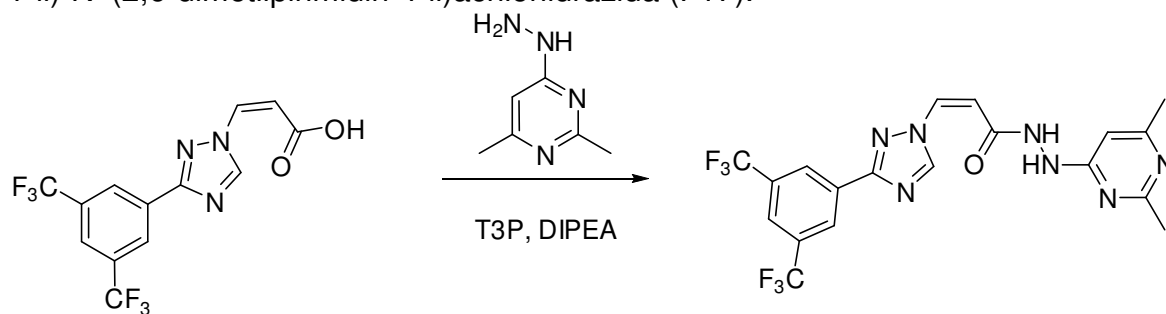
66,39%).

Ejemplo 15: Síntesis de (*Z*)-*N*-(azepan-1-il)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilamida (I-16).



- 5 Se cargó un matraz de 500 ml de fondo redondo y 3 bocas con una solución de ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,3 g) en CH₂Cl₂:EtOAc (1:1, 200 ml) y se trató la solución con azepan-1-amina (0,137 g) a temperatura ambiente. Se enfrió la mezcla a -60°C y primero se trató con T3P (50% en EtOAc, 0,78 ml) y luego con DIPEA (0,58 ml). Se agitó la mezcla
- 10 de reacción durante 30 min a -60°C antes de detenerla con agua refrigerada con hielo y extraerla con EtOAc (3 x 20 ml). Se lavaron los extractos orgánicos combinados con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida (35°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,57 g de sólido. La purificación mediante cromatografía en columna (SiO₂, MeOH:CH₂Cl₂
- 15 como fase móvil; el compuesto comenzó eluyendo con MeOH al 0,1% en CH₂Cl₂) proporcionó 90 mg (rendimiento: 24%) de (*Z*)-*N*-(azepan-1-il)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilamida. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ, 9,61 (s, 1H), 9,49 (s, 1H), 9,14 (s, 1H), 8,52 (s, 2H), 8,28 (s, 1H), 7,39-7,97 (d, J = 10 Hz, 1H), 6,52-6,49 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 5,86-5,83 (d, J = 10,4
- 20 Hz, 1H), 3,00-2,97 (m, 4H), 1,58-1,54 (m, 8H) CL-EM para C₁₉H₁₉F₆N₅O [M+H]⁺ 448,39; encontrada: 448,30 a Tr de 3,22 min; pureza (96,48%).

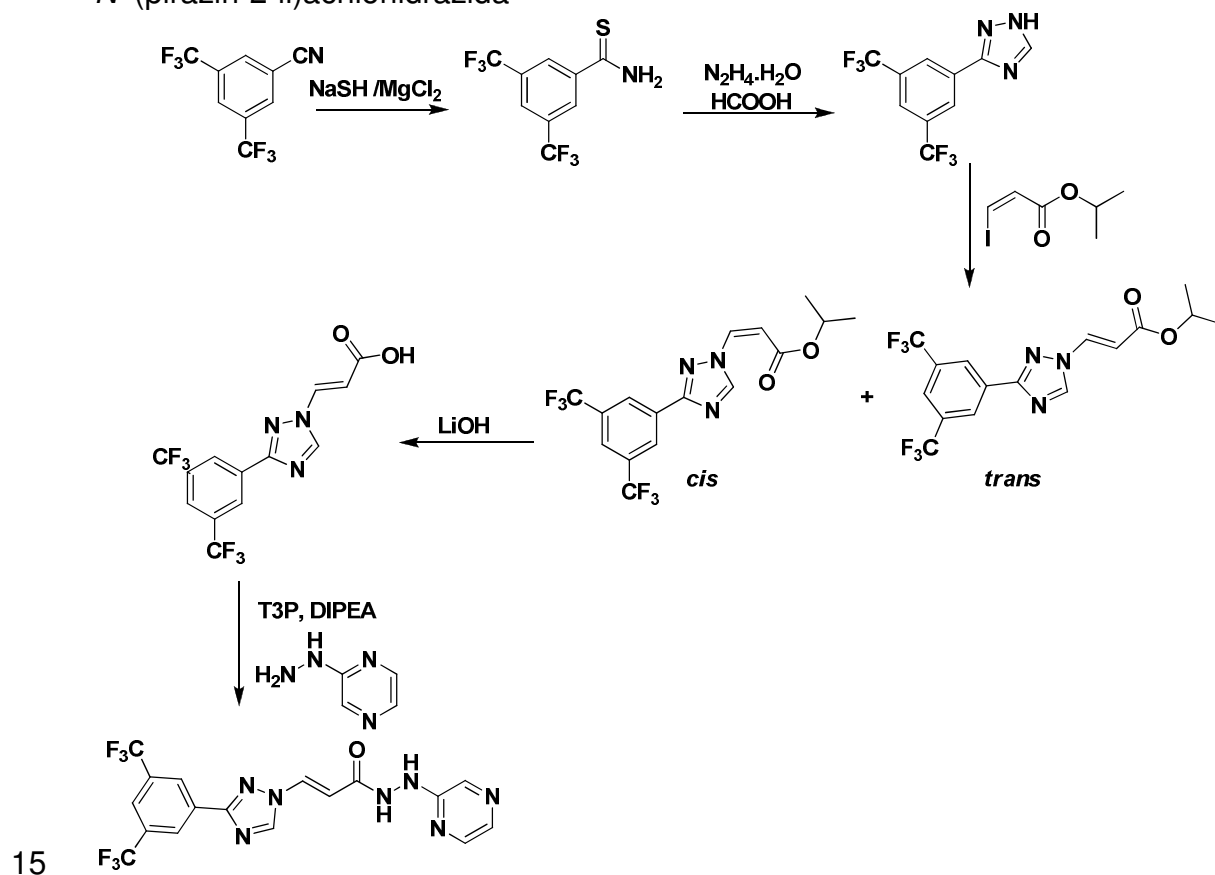
Ejemplo 16: Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N*-(2,6-dimetilpirimidin-4-il)acrilohidrazida (I-17).



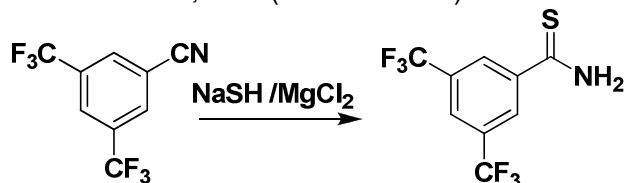
- 25 Se cargó un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas con una solución de ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,20 g) disuelto en acetato de etilo (15 ml). Se enfrió la solución hasta -40°C y se trató con 4-hidrazinil-2,6-dimetilpirimidina (0,078 g, 1 equiv.). Luego se añadieron simultáneamente T3P (50% en EtOAc; 0,7 g, 3,0 equiv.) y DIPEA (0,367 g, 4,0

equiv.), y se agitó la mezcla de reacción durante 30 min a -40°C . Después se dejó calentar la mezcla de reacción hasta la temperatura ambiente y se concentró a presión reducida (35°C , 2,67 kPa), proporcionándose 0,340 g de compuesto oleaginoso en bruto que se purificó mediante desorción súbita combinada usando MeOH: CH_2Cl_2 como fase móvil (el compuesto deseado se eluyó con MeOH al 7-8% en CH_2Cl_2), proporcionándose 50 mg (rendimiento: 18%) de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(2,6-dimetilpirimidin-4-il)acrilohidrazida. RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ , 10,54 (s, 1H), 9,19 (a, 1H), 8,54 (s, 2H), 8,30 (s, 1H), 7,52-7,55 (d, $J = 10,4$, 1H), 6,29 (s, 1H), 6,06-6,08 (d, $J = 10,4$, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), CL-EM para $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{F}_6\text{N}_7\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 472,37; encontrada: 472,24 (Tr = 2,88 min, pureza: 99,59%).

Ejemplo 17: Síntesis de (*E*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(pirazin-2-il)acrilohidrazida



Síntesis de 3,5-bis(trifluorometil)benzotioamida:

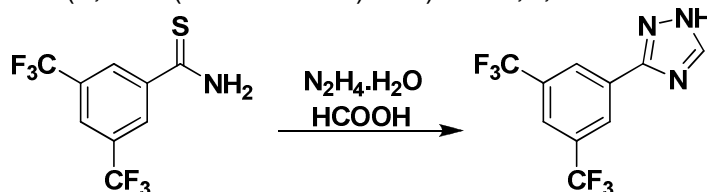


Se trató un matraz de 2 l de fondo redondo y tres bocas, cargado con una solución de 3,5-bis(trifluorometil)benzonitrilo (200 g) en DMF (1 l) con NaSH (123,7 g, 2,0 equiv.) y MgCl_2 (186,7 g, 1 equiv.). Se agitó la mezcla de reacción a TA durante 3 h antes de verterla en una suspensión de agua con hielo (10 l) y

20

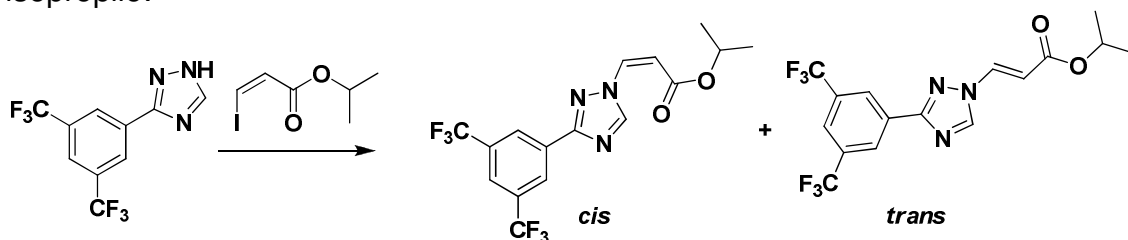
extraerla con EtOAc (3 x 1 l). Se lavaron los extractos orgánicos combinados con salmuera (3 x 100 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose 205 g de compuesto en bruto (rendimiento: 90%), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Síntesis de 3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol:



Se trató un matraz de 5 l de fondo redondo y 3 bocas, cargado con una solución de 3,5-bis(trifluorometil)benzotioamida (205,65 g) en DMF (1,03 l) con hidrato de hidrazina (73,16 ml, 2,0 equiv.) añadido en gotas. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 h antes de tratarla con HCOOH (1,028 l) añadido en gotas. Se calentó la mezcla de reacción hasta el reflujo a 90°C durante 3 h, luego se enfrió hasta la temperatura ambiente, y se vertió en solución acuosa saturada de NaHCO₃ (7 l) y se extrajo con EtOAc (3 x 1 l). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con salmuera (3 x 500 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida (35°C, 2,67 kPa), proporcionándose 180 g de un sólido. Se suspendió el sólido en éter de petróleo y se agitó la suspensión, se filtró y se secó, proporcionándose el triazol deseado en forma de un sólido de color amarillo pálido (160 g, rendimiento: 75%).

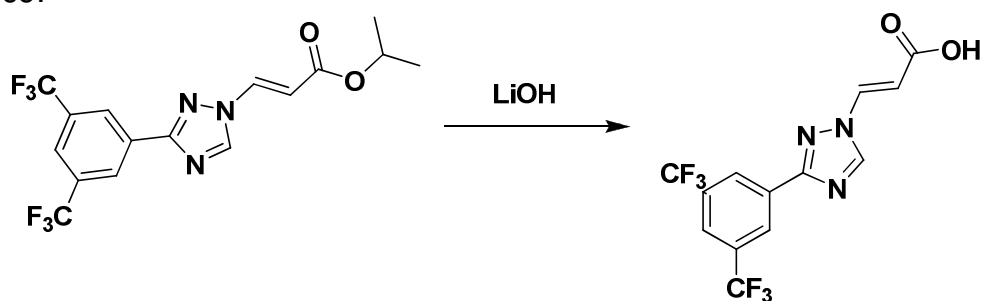
Síntesis de 3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (*Z*)-isopropilo y 3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (*E*)-isopropilo:



Se trató un matraz de 2 l de fondo redondo y tres bocas, cargado con una solución de 3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol (160 g) en DMF (0,96 l, 6V) con DABCO (127,74 g, 2 equiv.), y se agitó durante 30 min. Se añadió 3-yodoacrilato de (*Z*)-isopropilo (150,32 g, 1,1 equiv.) en gotas a la mezcla de reacción anterior y se agitó durante 1 h antes de verterla en una suspensión de agua con hielo (5 l) y extraerla con EtOAc (3 x 1 l). Se lavaron los extractos orgánicos combinados con salmuera (3 x 100 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida (35°C, 2,67 kPa), proporcionándose 250 g de compuesto en bruto. La purificación mediante cromatografía en columna (SiO₂, malla de 60/120, elución con gradiente de EtOAc:hexanos; los compuestos

deseados comenzaron a eluir con EtOAc al 2–2,5% en hexanos) proporcionó éster *cis* puro (138 g, rendimiento: 61,6%) y éster *trans* puro (11,6 g, rendimiento: 5,2%).

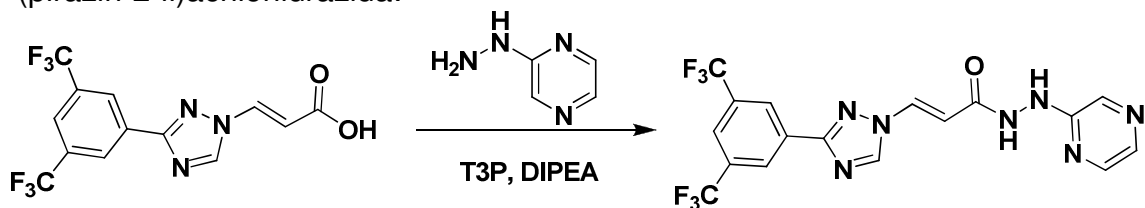
Síntesis de ácido (*E*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico:



5

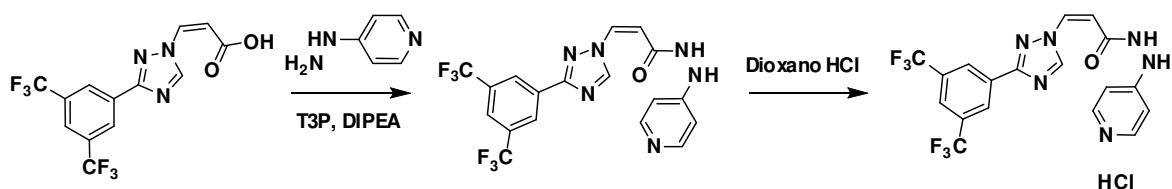
Se cargó un matraz de 500 ml de fondo redondo y 3 bocas con una solución de 3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (*E*)-isopropilo (5,0 g) en THF (50 ml). Se trató la solución con una solución de LiOH (2,66 g, 5,0 equiv.) en agua (50 ml) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 4 h antes de diluirla con 40 ml de agua, se acidificó (pH = 2-3) con HCl acuoso diluido y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Se lavó el extracto orgánico con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida, proporcionándose 2,75 g del ácido carboxílico insaturado (rendimiento: 61,6%, pureza: 99,0% mediante CL-EM).

Síntesis de (*E*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(pirazin-2-il)acrilohidrazida:



A una solución de ácido (*E*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,75 g,) en EtOAc (25 ml) y THF (12,5 ml), se añadió una solución de 2-hidrazinopirazina (0,23 g) en 12 ml de THF a temperatura ambiente. Se añadieron T3P (50% en acetato de etilo, 1,52 ml) y DIPEA (1,46 ml) en gotas y simultáneamente se agitó la mezcla de reacción durante 30 min a temperatura ambiente antes de detenerla con agua refrigerada con hielo y extraerla con EtOAc (3 x 25 ml). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida (35°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,698 g de un sólido en bruto. La tritución primero con éter de petróleo y luego con Et₂O proporcionó 275 mg (rendimiento: 29%) de (*E*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(pirazin-2-il)acrilohidrazida. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ, 10,3 (s, 1H), 9,15 (s, 2H), 8,59 (s, 2H), 8,30-8,26 (d, J = 14,8 Hz, 1H), 8,13 (s, 1H), 8,06-8,07 (m, 1H), 6,98-6,95 (d, J = 13,4 Hz, 1H); CL-EM para C₁₇H₁₂F₆N₇O [M+H]⁺ 443,31; encontrada: 444,19 (Tr = 2,625 min, pureza: 99,06%).

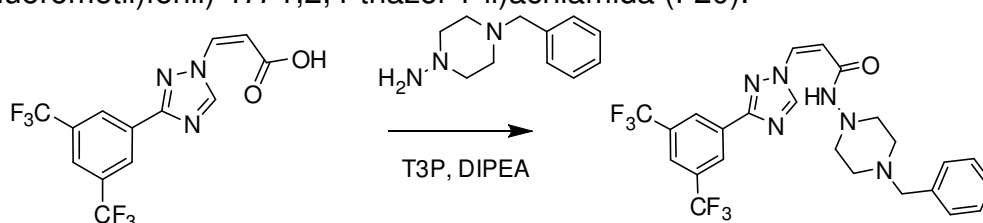
Ejemplo 18: Síntesis de clorhidrato de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(piridin-4-il)acrilohidrazida (I-19).



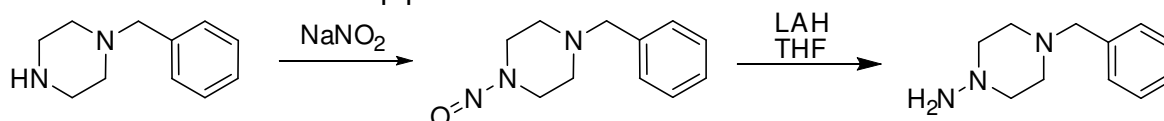
5 Se cargó un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas con ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,25 g) y EtOAc (10,0 ml). Se añadió clorhidrato de 4-hidrazinilpiridina (0,16 g, 1,2 equiv.) a -40°C seguido de la adición simultánea de T3P (50% en EtOAc, 0,85 ml, 2,0 equiv.) y
10 DIPEA (0,49 ml, 4,0 equiv.). Se agitó la mezcla de reacción durante 30 min a -40°C antes de concentrarla a presión reducida (35°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,35 g de material en bruto. La purificación mediante cromatografía en columna usando MeOH:CH₂Cl₂ como fase móvil (el compuesto se eluyó con MeOH al 4% en CH₂Cl₂) proporcionó 80 mg (rendimiento: 29,85%) de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(piridin-4-il)acrilohidrazida. RMN de
15 ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ, 10,53 (s a, NH intercambiable, 1H), 9,58 (s, 1H), 8,88 (s a, NH intercambiable, 1H), 8,84 (s, 2H), 8,29 (s, 1H), 8,09-8,11 (d, 2H), 7,52-7,54 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 6,66-6,69 (m, 2H), 6,06-6,10 (d, *J* = 14,4 Hz, H); CL-EM para C₁₈H₁₃F₆N₆O [M+H]⁺ 443,33; encontrada: 443,24 (Tr = 2,241 min, pureza: 90,17%).

20 Se cargó un matraz de 25 ml de fondo redondo y 3 bocas con una solución fría (0°C) de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(piridin-4-il)acrilohidrazida (0,08 g) en CH₂Cl₂ (5,0 ml) y se trató con HCl 4N en dioxano (0,5 ml). Se dejó calentar la mezcla de reacción hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 4 h antes de concentrarla a presión reducida (35°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,05 g (rendimiento: 40,81%) de sal HCl de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(piridin-4-il)acrilohidrazida. RMN de
25 ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,67 (s a, intercambiable, 1H), 10,67 (s, intercambiable, 1H), 9,43 (s, 1H), 8,58 (s, 2H), 8,35-8,38 (m, 4H), 7,60-7,62 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 6,92-6,96 (m, 2H), 6,11-6,13 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H); CL-EM para C₁₈H₁₃F₆N₆O [M+H]⁺ 443,33; encontrada: 443,24 (Tr = 3,00 min, pureza: 90,97%).
30

Ejemplo 19: Síntesis de (*Z*)-*N*-(4-bencilpiperazin-1-il)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilamida (I-20).



Síntesis de 4-bencilpiperazin-1-amina.



Se cargó un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas con HCl conc. y agua, y se enfrió la solución hasta 0-5°C durante la adición de NaNO₂ y piperazina de bencilo (5,0 g) en una atmósfera de nitrógeno. Se agitó la mezcla de reacción durante 2,5 h a 0-5°C antes de diluirla con agua y extraerla con EtOAc (3 x 100 ml). Se secaron los extractos orgánicos combinados sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida (40°C, 2,67 kPa), proporcionándose 4,40 g un sólido incoloro. La purificación usando cromatografía ultrarrápida combinada (elución con EtOAc al 25,5%; hexano) proporcionó 2,0 g del compuesto deseado (rendimiento: 34,3%).

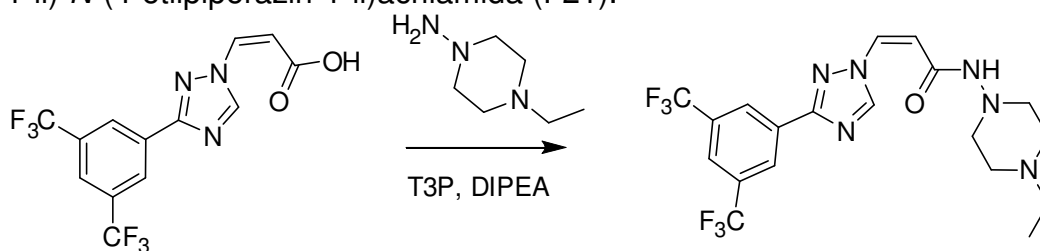
Se trató una solución fría (-70°C) de 1-bencil-4-nitroso-4-piperizina (0,8 g) en THF con exceso de LAH en una atmósfera de nitrógeno. Se dejó calentar la mezcla de reacción hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 1,0 h antes de detenerla con agua y extraerla con EtOAc (3 x 10 ml). Se secaron los extractos orgánicos combinados sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida (40°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,70 g de 4-bencilpiperazin-1-amina en forma de un sólido incoloro.

Síntesis de (*Z*)-*N*-(4-bencilpiperazin-1-il)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilamida.

Se cargó un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas con ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,220 g, 1,2 equiv.), 4-bencilpiperazin-1-amina (0,10 g, 1,0 equiv.) y EtOAc (15 ml). Se añadieron T3P (50% en EtOAc 0,99 g, 3,0 equiv.) y DIPEA (0,27 mg, 4,0 equiv.) en atmósfera de nitrógeno a la solución fría (-60°C). Se siguió el progreso de la reacción mediante análisis de CCF (SiO₂, MeOH al 15%:CH₂Cl₂ como fase móvil, visualización bajo luz UV). Se detuvo la mezcla de reacción en agua y se extrajo con acetato de etilo (3 x 15 ml). Se secaron los extractos orgánicos combinados sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,35 g de sólido en bruto. La purificación mediante desorción súbita combinada (eluyendo con MeOH al 10%/CH₂Cl₂) proporcionó 20 mg (rendimiento: 6%) de (*Z*)-*N*-(4-bencilpiperazin-1-il)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilamida. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,44-9,48 (t, 3H), 9,10 (s, 1H), 8,51 (s, 2H), 7,23-7,41 (m, 6H), 6,46-6,49 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 5,83-5,86 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 3,47 (s, 2H), 2,81 (s, 4H), 2,23-2,33 (d, 2H) CL-EM para C₂₄H₂₃F₆N₆O [M+H]⁺ 525,47; encontrada: 525,20 (Tr = 9,87 min, pureza: 100%).

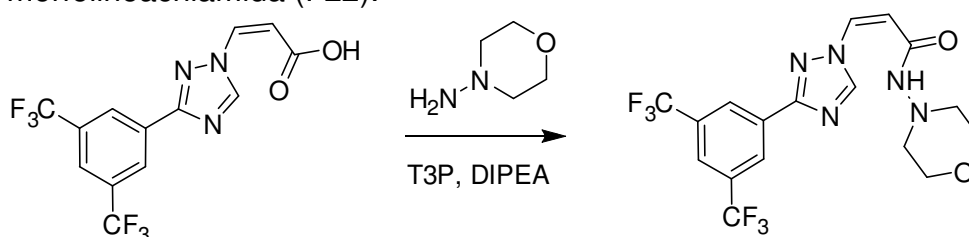
Ejemplo 20: Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-

1-il)-*N*-(4-etilpiperazin-1-il)acrilamida (I-21).



Se trató una solución fría (-40°C) de ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,25 g) en EtOAc (20 ml) con 4-etilpiperazin-1-amina (0,12 g). Se añadieron T3P (50% en EtOAc, 0,84 ml) y DIPEA (0,24 ml) simultáneamente, y se agitó la mezcla de reacción durante 30 min a -40°C antes de detenerla con agua refrigerada con hielo y extraerla con EtOAc (3 x 20 ml). Se lavaron los extractos orgánicos combinados con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida (35°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,280 g de compuesto en bruto. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida combinada (eluyendo con MeOH al 2% en CH₂Cl₂) seguida de la purificación sobre una placa de CCF preparativa (eluyendo con MeOH al 10% en CH₂Cl₂) proporcionó 60 mg de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N*-(4-etilpiperazin-1-il)acrilamida. RMN de ¹H (400 MHz, CF₃COOD) δ: 10,75 (s, 1H), 8,31-8,29 (d, J = 10,2 H), 7,98 (s, 1H), 7,21-7,23 (d, 1H), 6,08-6,10 (d, 1H), 3,52-3,54 (m, 3H), 3,36 (s, 1H), 3,11 (m, 8H), 1,19-1,22 (m, 3H) ; CL-EM para C₁₉H₂₁F₆N₆O [M+H]⁺ 463,40; encontrada: 463,23 (Tr = 2,43 min, pureza: 98,63%).

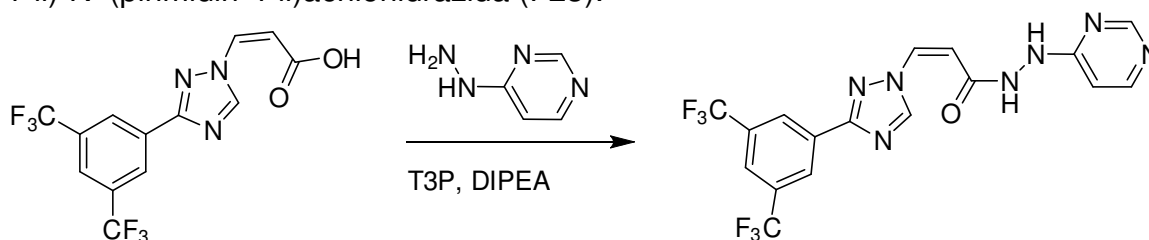
Ejemplo 21: Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N*-morfolinoacrilamida (I-22).



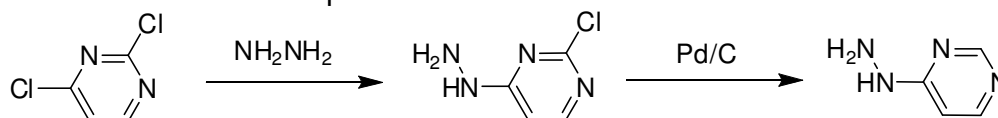
Se cargó un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas con ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,250 g), morfolin-4-amina (0,072 g, 1,0 equiv.) y EtOAc (10 ml). Se enfrió la solución hasta -60°C y se trató con T3P (50% en EtOAc; 0,63 ml, 1,5 equiv.) y DIPEA (0,24 ml, 2,0 equiv.) en una atmósfera de nitrógeno. Se siguió el progreso de la reacción mediante análisis de CCF usando MeOH al 10%:CH₂Cl₂ como fase móvil y visualización bajo luz UV. Tras completarla, se desactivó la mezcla de reacción con agua y se extrajo con EtOAc (3 x 15 ml). Se secaron los extractos orgánicos combinados sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,35 g de un sólido en bruto. La purificación (desorción súbita

combinada, elución con MeOH al 3%:CH₂Cl₂) proporcionó 100 mg (rendimiento: 33%) de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N*-morfolinoacrilamida. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ= 9,52 (s, intercambio de NH, 1H), 8,51 (s, 2H), 8,28 (s, 1H), 7,38-7,42 (m, 1H), 6,50-6,53 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 5,84-5,86 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 3,63 (s, 4H), 2,87 (s, 4H); CL-EM para C₁₇H₁₆F₆N₅O₂ [M+H]⁺ 436,33; encontrada: 436,18 (Tr = 2,64 min, pureza: 100%).

Ejemplo 22: Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N*-(pirimidin-4-il)acrilohidrazida (I-23).



10 Síntesis de 4-hidrazinilpirimidina:



Se enfrió una solución de 2,4-dicloropirimidina (2,0 g) en EtOH (25 ml) a 0-20°C y se trató con hidrazina (2,8 ml). Se siguió el progreso de la reacción mediante CCF usando MeOH al 10%:CH₂Cl₂ como fase móvil y visualizando bajo luz UV. Se concentró la mezcla a presión reducida, proporcionándose 3,1 g de 2-cloro-4-hidrazinil-pirimidina en bruto (rendimiento = 94,8%).

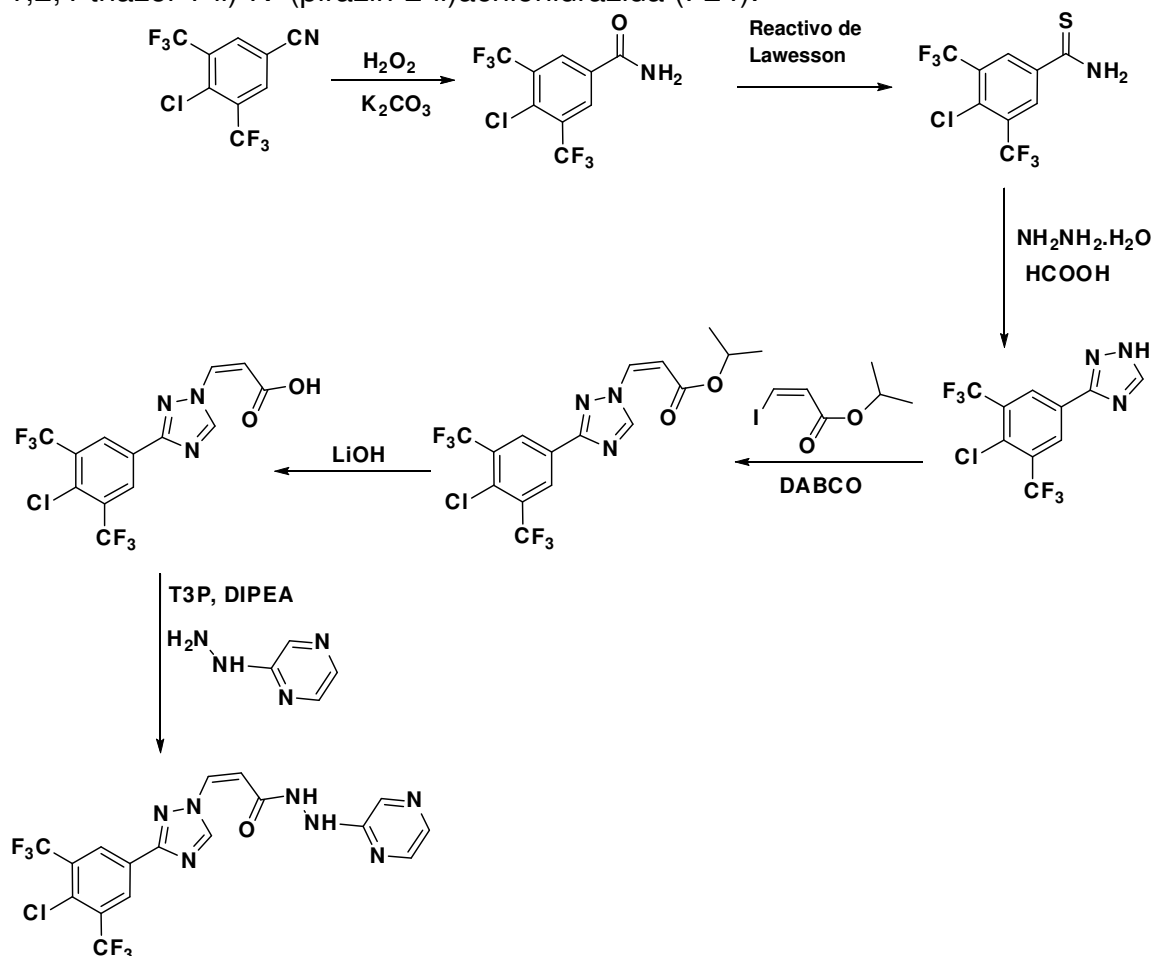
A una solución de 2-cloro-4-hidrazinil-pirimidina (200 mg) disuelta en MeOH (10 ml), se añadió Pd al 10%/C (200 mg) y se agitó la suspensión en una atmósfera de hidrógeno hasta que se observó que se había completado mediante análisis de CCF (usando MeOH al 10%:CH₂Cl₂ como fase móvil y visualizando bajo luz UV). Se filtró la mezcla a través de Celite® y se concentró a presión reducida, proporcionándose 250 mg de 4-hidrazinilpirimidina.

Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N*-(pirimidin-4-il)acrilohidrazida.

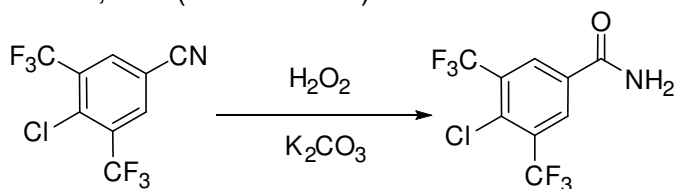
Se cargó un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas con ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (250 mg, 1,0 equiv.) y EtOAc (20,0 ml). Se añadió 4-hidrazinilpirimidina (231 mg, 3 equiv.) a -60°C seguido de la adición simultánea de T3P (50% en EtOAc; 0,84 ml, 2,0 equiv.) y DIPEA (0,24 ml, 2,0 equiv.). Se agitó la mezcla de reacción durante 30 min a -60°C antes de concentrarla a presión reducida (35°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,20 g de un sólido. La purificación mediante cromatografía en columna (eluyendo con MeOH al 5% en CH₂Cl₂) proporcionó 75 mg de material que se purificó mediante CCF preparativa (usando MeOH:CH₂Cl₂ como fase móvil), proporcionándose 13 mg (rendimiento = 5%) de (*Z*)-3-(3-(3,5-

- bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(pirimidin-4-il)acrilohidrazida. RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 10,59 (s, 1H), 9,68 (s, intercambio con NH, 1H), 9,47 (s, intercambio con NH, 1H), 8,53-8,59 (t, 2H), 8,30 (s, 1H), 8,19-8,20 (d, 1H), 7,53-7,56 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 6,66-6,67 (d, 1H), 6,06-6,09 (d, J = 10,4 Hz, 1H);
- 5 CL-EM para $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{F}_6\text{N}_7\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 444,31; encontrada: 444,19 (Tr = 2,39 min, pureza: 94,97%).

Ejemplo 23: Síntesis de (*Z*)-3-(3-(4-cloro-3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(pirazin-2-il)acrilohidrazida (I-24).

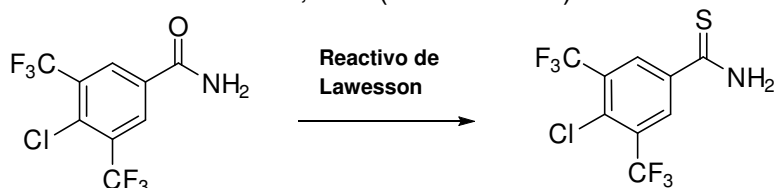


- 10 Síntesis de 4-cloro-3,5-bis(trifluorometil)benzamida:



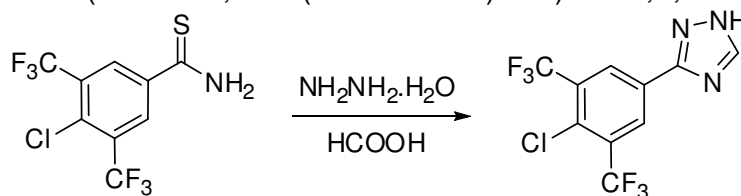
- Se trató una solución de 4-cloro-3,5-bis(trifluorometil)benzonitrilo (1,0 g) en DMSO (10 ml) con K_2CO_3 sólido (0,55 g, 1,1 equiv.) y H_2O_2 (30% v/v, 1,0 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 3 h antes de verterla en agua refrigerada con hielo (20 ml). Se filtró el precipitado y se lavó con éter de petróleo, proporcionándose 1,0 g de la amida primaria deseada en bruto (rendimiento: 90%).
- 15

Síntesis de 4-cloro-3,5-bis(trifluorometil)benzotioamida:



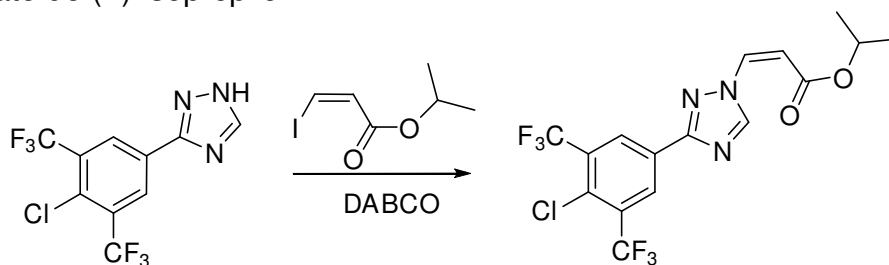
A una solución de 4-cloro-3,5-bis(trifluorometil)benzamida (1,2 g) en tolueno (20 ml), se añadió reactivo de Lawesson (3,32 g, 2,0 equiv.). Se agitó la mezcla de reacción a 90°C durante 8 h antes de enfriarla a temperatura ambiente y se filtró. Se vertió el filtrado en agua y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Se lavaron los extractos orgánicos combinados con salmuera (3 x 50 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose 2 g de compuesto en bruto. El compuesto en bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida combinada (eluyendo con EtOAc al 7%:hexano), proporcionándose 1,0 g del compuesto deseado (rendimiento: 79%).

Síntesis de 3-(4-cloro-3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol:



Se trató una solución de 4-cloro-3,5-bis(trifluorometil)benzotioamida (1 g) en DMF (10 ml) con hidrato de hidrazina (0,32 g, 2,0 equiv.) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 h antes de añadir ácido fórmico (3 ml). Se calentó la mezcla de reacción a reflujo hasta 90°C durante 3 h, luego se enfrió a temperatura ambiente, se vertió en NaHCO₃ acuoso saturado (lentamente, manteniendo la temperatura a 25-30°C) y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Se lavaron los extractos orgánicos combinados con salmuera (3 x 50 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose 1,5 g de compuesto en bruto. La purificación mediante cromatografía en columna (eluyendo con EtOAc al 40% en hexano) proporcionó 0,50 g del compuesto deseado (rendimiento: 36%).

Síntesis de 3-(3-(4-cloro-3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (*Z*)-isopropilo :

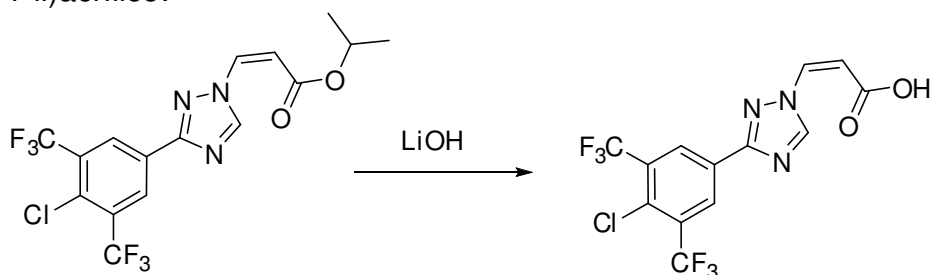


Se trató una solución de 3-(4-cloro-3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-

triazol (2,1 g) en DMF (20 ml) con DABCO (1,5 g, 2 equiv.) y se agitó la mezcla durante 30 min antes de añadir 3-yodoacrilato de (*Z*)-isopropilo (1,76 g, 1,1 equiv.). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 5 h, luego se vertió en agua refrigerada con hielo (50 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 15 ml).

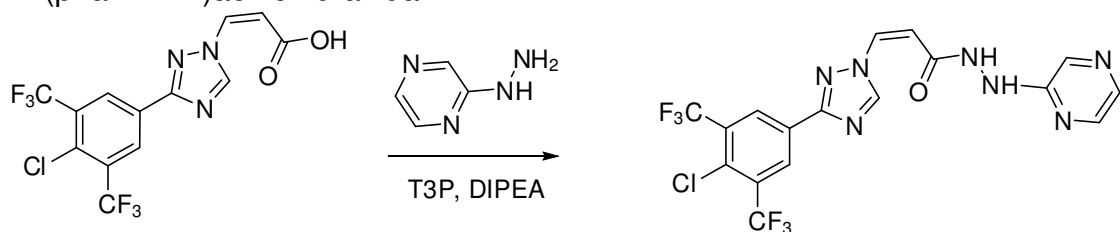
- 5 Se lavaron los extractos orgánicos combinados con salmuera (3 x 10 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose 3,0 g de compuesto en bruto. La purificación mediante cromatografía en columna (malla de 60/120, SiO₂, elución con MeOH al 1-1,2% en CH₂Cl₂) proporcionó el éster insaturado deseado (1,33 g, rendimiento: 52%).

Síntesis de ácido (*Z*)-3-(3-(4-cloro-3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico:



- 15 Se cargó un matraz de 25 ml de fondo redondo y 3 bocas con una solución de 3-(3-(4-cloro-3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (*Z*)-isopropilo (1,33 g) en 1:1 de THF:agua (26 ml). Se trató la solución con LiOH sólido (0,53 g, 4 equiv.) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 h antes de diluirla con 400 ml de agua, se acidificó a pH = 2-3 con HCl acuoso diluido y se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Se lavaron los extractos orgánicos combinados
- 20 con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida, proporcionándose 0,8 g de compuesto en bruto (rendimiento: 66%).

Síntesis de (*Z*)-3-(3-(4-cloro-3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N'*-(pirazin-2-il)acrilohidrazida:

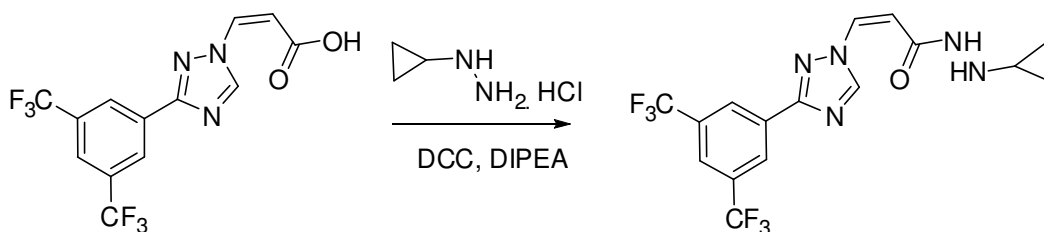


25

- En un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas cargado con una solución de ácido (*Z*)-3-(3-(4-cloro-3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,8 g) en 1:1 de EtOAc:THF (20 ml). Se enfrió la solución a -70°C y se trató secuencialmente con 2-hidrazinopirazina (0,275 g, 1,2 equiv.), T3P (50% en EtOAc; 2,5 ml, 2,0 equiv.) y DIPEA (1,44 ml, 4,0 equiv.), añadidos en gotas. Se
- 30 agitó la mezcla de reacción transparente a -60°C durante 1 h antes de

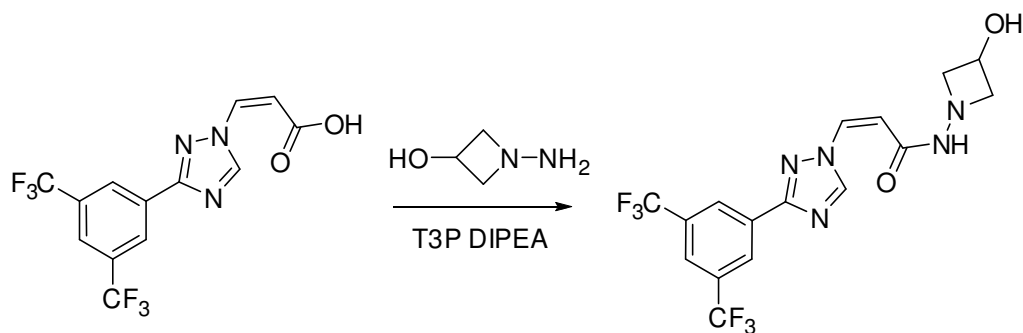
concentrarla a presión reducida (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose compuesto en bruto. La purificación mediante cromatografía en columna usando (malla de 60/120, SiO₂, elución con MeOH al 3-4% en CH₂Cl₂) proporcionó 0,30 g (rendimiento: 30%) de (*Z*)-3-(3-(4-cloro-3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N*-(pirazin-2-il)acrilohidrazida. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 10,53 (s, 1H), 9,58 (s, 1H), 9,11 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,52-7,55 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 6,08-6,11 (d, J = 10,4 Hz, 1H); CL-EM para C₁₇H₁₁ClF₆N₇O [M+H]⁺ 478,76 encontrada: 478,1 (Tr = 2,64 min, pureza: 100%).

10 Ejemplo 24: Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N*-ciclopropilacrilohidrazida (I-25).

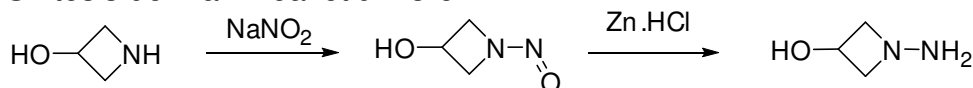


Se cargó un matraz de 100 ml de fondo redondo y 3 bocas con ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (0,50 g) y CH₂Cl₂ (25 ml). Se añadió DCC (0,29 g, 1,0 equiv.) y se enfrió la mezcla hasta 0°C para la adición consecutiva de clorhidrato de ciclopropilhidrazina (0,15 g, 1,0 equiv.) y DIPEA (0,24 ml, 1,0 equiv.). Se agitó la mezcla de reacción durante 1 h antes de verterla en agua (50 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 50 ml). Se lavaron los extractos orgánicos combinados con salmuera (50 ml), se secaron sobre MgSO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose compuesto en bruto. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida combinada (elución con MeOH al 1,5-2,5% en CH₂Cl₂) seguida de una purificación sobre una placa de CCF preparativa (eluyendo con EtOAc al 70% en hexano) proporcionó 15 mg (rendimiento: 2,6%) de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N*-ciclopropilacrilohidrazida. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ, 9,16 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,28 (s, 1H), 7,23-7,26 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 6,40-6,43 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 4,97 (s, 1H), 4,63 (s, 1H), 3,18-3,20 (m, 1H), 0,83-0,87 (m, 2H), 0,65-0,69 (m, 2H); CL-EM para la fórmula química: C₁₆H₁₄F₆N₅O [M+H]⁺ 406,31 encontrada: 406,19 (Tr = 2,74 min, pureza: 98,85%).

Ejemplo 25: Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-*N*-(3-hidroxiazetidín-1-il)acrilamida (I-26).



Síntesis de 1-aminoazetidin-3-ol:



Se trató una solución fría (15-20°C) de clorhidrato de unzetidin-3-ol (2,0 g) en agua (20 ml) con NaOH (0,8 g en 10 ml de agua) y se agitó la mezcla a 15-20°C durante 1 h. Luego se enfrió la mezcla de reacción hasta 0°C y se trató consecutivamente con una solución de NaNO₂ (1,89 g en 10 ml de agua) y ácido acético (1,3 ml). Tras agitar durante 2 h a 0-5°C, se vertió la mezcla de reacción en agua (20 ml), se acidificó a pH = 2-3 con HCl acuoso diluido y se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). Se lavaron los extractos orgánicos combinados con salmuera (20 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida, proporcionándose 0,26 g del compuesto deseado, que se usó como tal en la siguiente etapa (CL-EM pureza: 59,84%).

Se enfrió una solución de 1-nitrosoazetidin-3-ol (0,25 g) en MeOH (15 ml) hasta -75°C y se trató con HCl acuoso diluido (1,5 ml). Después se añadió polvo de cinc (1,35 g) en porciones y se agitó la mezcla de reacción a aprox. -70°C durante 3 h antes de filtrarla a través de Celite® y se concentró a presión reducida, proporcionándose 90 mg de 1-aminoazetidin-3-ol, que se usó como tal en la siguiente etapa.

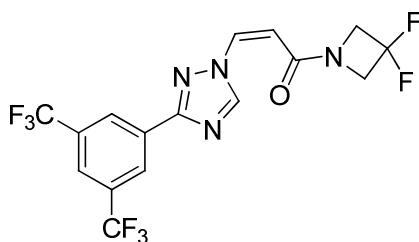
Síntesis de (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)-N-(3-hidroxiacetidin-1-il)acrilamida.

Se cargó un matraz de 50 ml de fondo redondo y 3 bocas con ácido (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (200 mg) y THF (20,0 ml). Se enfrió la solución a -60°C y se trató con una solución de 1-aminoazetidin-3-ol (65 mg, 1,3 equiv.) en THF. Se añadieron simultáneamente T3P (50% en EtOAc; 0,67 ml, 2,0 equiv.) y DIPEA (0,51 ml, 2,0 equiv.), y se agitó la mezcla de reacción durante 30 min a -60°C antes de dejarla calentar hasta la temperatura ambiente. Después, se concentró la mezcla de reacción a presión reducida (35°C, 2,67 kPa), proporcionándose 100 mg de sólido. La purificación mediante cromatografía en columna (elución con MeOH al 3% en CH₂Cl₂) proporcionó 20 mg de (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)-N-(3-hidroxiacetidin-1-il)acrilamida. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,60 (s, 1H),

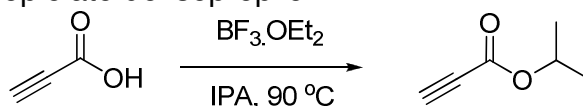
6,38 (s, 1H), 8,52 (s, 2H), 8,26 (s, 1H), 7,32-7,35 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 6,40 (d, intercambiable, 1H), 5,78-5,81 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 4,14-4,15 (d, 1H), 3,82 (m, 2H), 3,71 (m, 2H); CL-EM para la fórmula química $C_{16}H_{14}F_6N_5O_2$ $[M+H]^+$ 422,31; encontrada: 422,19 (Tr = 2,46 min, pureza: 91,49%).

- 5 EJEMPLOS 26-31: los Ejemplos 26-31 describen nuevos procedimientos sintéticos útiles en la preparación de los compuestos de la invención (por ejemplo, como precursores de compuestos de la invención tales como los compuestos descritos por la Fórmula Z anterior).

Ejemplo 26.

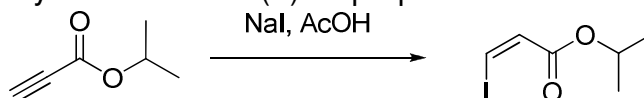


Síntesis de propiolato de isopropilo:



- 5 Se cargó un matraz de 20 l de fondo redondo y cuatro bocas dotado de un embudo de adición, un conector para termómetro y un agitador mecánico con ácido propiólico (100 g, 1 equiv.) e IPA (8 l; 8 vol). Se añadió lentamente BF₃-eterato (4,54 kg, 2,0 equiv.) desde un embudo de adición a 25°C durante un periodo de 30 minutos. Se fue aumentando gradualmente la temperatura de la
- 10 mezcla de reacción hasta 90°C y se mantuvo la masa de reacción a esa temperatura durante 3 h. La monitorización mediante CG tras 3 h demostró que la reacción se había completado. Se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se detuvo con 20 l de agua DM enfriada con hielo y se agitó durante 30 minutos. Se añadieron 10 l de diclorometano a la mezcla de reacción y se agitó la
- 15 masa de reacción durante otros 30 minutos. Se separó la capa orgánica y se volvió a extraer la capa acuosa con 5 l de diclorometano. Se lavaron las capas orgánicas combinadas con 10 l de salmuera saturada, se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se concentraron al vacío hasta de 35°C a 40°C (producto volátil), produciéndose el producto en forma de un líquido marrón (1,32 kg, 81,25%).
- 20 Pureza 89,67% (CG); RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 1,22 (d, 6H, J = 6,6 Hz), 2,85 (s, 1H), 4,98-5,05 (m, 1H).

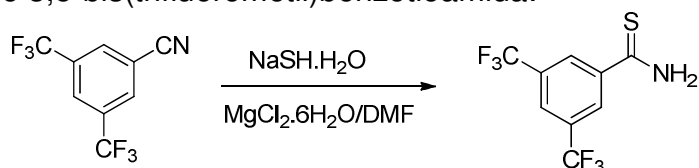
Síntesis de 3-yodoacrilato de (Z)-isopropilo:



- 25 Se cargó un matraz de 20 l de fondo redondo de cuatro bocas dotado de un embudo de adición, un conector para termómetro y un agitador mecánico con éster isopropil-propiólico (1000 g, 1 equiv.) y ácido acético (3,7 l, 3,7 vol) a 25°C, y se agitó la reacción durante 10 minutos. Se añadió yoduro de sodio (2,138 kg, 1,6 vol.) y se agitó la mezcla de reacción (se observó un color marrón oscuro). Se fue aumentando la temperatura hasta 110°C y se mantuvo la reacción a esa
- 30 temperatura durante 1,5 h. La monitorización mediante CG demostró que la reacción se había completado tras 1,5 h. Se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se detuvo con agua DM enfriada con hielo (18,75 l; 18,75 Vol) y se agitó durante 30 minutos. Se añadió MTBE (5 l) a la masa de reacción y se agitó durante otros 30 minutos. Se separó la capa orgánica y se volvió a extraer

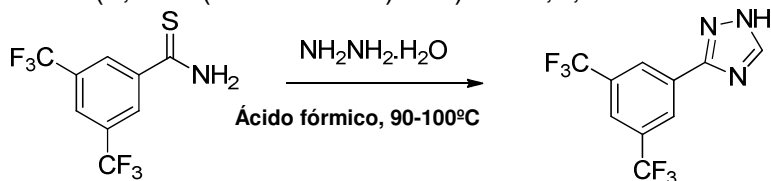
la capa acuosa con MTBE (5 l). Se lavó la capa orgánica combinada con NaHCO_3 (2 x 10 l), NaHSO_3 (2 x 5 l), solución de salmuera saturada (5,2 L, 5,2 vol), se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío a 35°C , produciendo 3-yodoacrilato de (Z)-isopropilo en forma de un líquido marrón (1,49 kg, 70%). Pureza 87,34% (CG);
 5 RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,28 (d, 6H, $J = 6,3$ Hz), 5,08-5,131 (m, 1H), 6,83 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz), 7,38 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz).

Síntesis de 3,5-bis(trifluorometil)benzotioamida:



Se cargó un matraz de 20 l y múltiples bocas dotado de un agitador de
 10 cabecera y un conector de termómetro con bis(trifluorometil)benzonitrilo (1,25 kg, 1,0 equiv.) y DMF (6,25 L, 5V), y se agitó la mezcla resultante bajo nitrógeno a temperatura ambiente (28°C). Se enfrió la mezcla de reacción hasta 10°C y se añadieron 0,775 g de $\text{NaSH.H}_2\text{O}$ (2 equiv.) durante un periodo de 10 min. Tras agitar durante 15 minutos, se añadió $\text{MgCl}_2.6\text{H}_2\text{O}$ (1,169 kg, 1,1 equiv.) en
 15 porciones durante un periodo de 15 minutos, y se agitó la reacción durante otros 35 minutos. Se controló el progreso de la reacción (solución de color verde) mediante CLAR, que demostró producto al 99,6% y benzonitrilo al 0,03%. Se enfrió la mezcla de reacción hasta $0-5^\circ\text{C}$ y se añadió HCl dil. al 30%(3,75 l) en gotas para ajustar el pH hasta 2-3. Se extrajo la masa resultante con MTBE (5 l x
 20 1). Se separaron las capas y se añadió 1 l de agua DM a la capa acuosa, que se volvió a extraer con MTBE (2,5 l x 1). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con salmuera (4,5 L x 3), se secaron y se concentraron al vacío. Se añadió hexano al sólido obtenido, se observó y se aisló el producto en forma de un sólido de color amarillo (1,400 kg, 98,0%). Pureza: 99,28% (CLAR). RMN de ^1H (300 MHz,
 25 CDCl_3) δ : 8,27 (s, 1H), 8,53(s, 2H), 10,0 (s, 1H), 10,38 (s, 1H).

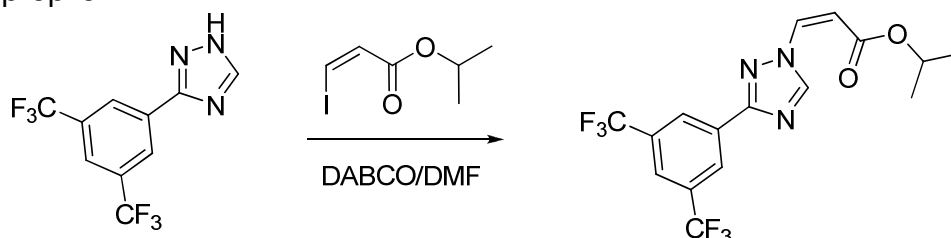
Síntesis de 3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1H-1,2,4-triazol:



Se cargó un matraz de 20 l y múltiples bocas dotado de un agitador de
 30 cabecera y un conector de termómetro con tioamida (1378 g, 1 equiv.) y DMF (6,89 L, 5V), y se agitó la mezcla bajo nitrógeno a temperatura ambiente (28°C). Se enfrió la masa de reacción hasta 10°C y se añadió hidrato de hidrazina (505,4 g, 2,0 equiv.) en gotas durante 2 horas con agitación. Se enfrió la masa de reacción hasta de 0°C a 5°C , y se añadió ácido fórmico durante un periodo de 1 hora (6,89 l, 5 vol) (se observó exotermia y la temperatura aumentó hasta 20°C).
 35 Después, se calentó la mezcla de reacción hasta de 95 a 100°C durante otras 12

- h. Se controló el progreso de la reacción mediante CLAR, que demostró la formación de producto al 99,5%. Se enfrió la masa de reacción hasta de 35 a 40°C, se añadió a 20,6 l de agua DM previamente enfriada (10 a 15°C) y se agitó durante 30 minutos. Se extrajo la masa de reacción con MTBE (8,26 l). Se volvió a extraer la capa acuosa con MTBE (5,512 l) y se lavaron las capas orgánicas combinadas con bicarbonato sódico al 10% (6,89 l, 2 vol) y salmuera (6,89 l x 3), se secaron con sulfato sódico y se concentraron al vacío. Se añadió diclorometano (2 vol) al sólido amarillo obtenido, y se agitó a de 0 a 5°C durante 1 hora, lo que, al filtrar, dio el producto en forma de un sólido de color amarillo (1156 g, 82,2%).
- 5 Pureza: 99,7% (CLAR); RMN de ^1H (300 MHz, DMSO) δ : 8,15 (s, 1H), 8,55 (s, 2H), 8,79 (s, 1H), 14,5 (s, 1H, NH).

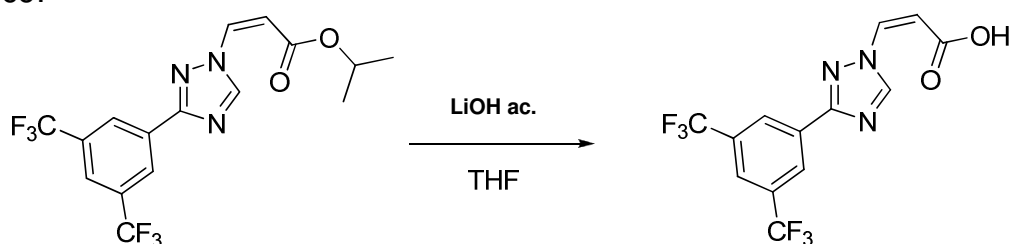
Síntesis de 3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (*Z*)-isopropilo:



- 15 Se cargó un matraz de 10 l de fondo redondo y cuatro bocas, dotado de embudo de adición, conector para termómetro, agitador mecánico y tapón, con 3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol (600 g, 1,0 equiv.), DABCO (480 g, 2,0 equiv.) y DMF (3,0 l). Se agitó la mezcla de reacción durante 30 minutos. Tras 30 minutos, se añadió una solución de éster de yodo (1024,8 g, 2,0 equiv.) en DMF
- 20 (1200 ml) en gotas durante un periodo de 1 hora. Se controló el progreso de la reacción mediante CLAR y se observó 3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (*Z*)-isopropilo: 62,36% y 3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol: 15,1%. Tras 1 hora más, se añadió un equivalente de DABCO (258 g) y se mantuvo la reacción durante otra hora. El análisis de CLAR demostró la
- 25 conversión como 3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (*Z*)-isopropilo al 75,63% y 3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol al 2%. Se inactivó la mezcla de reacción con agua DM fría (12 l), se agitó durante 15 minutos y se extrajo con acetato de etilo (2 x 6 l). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con solución de salmuera saturada (30%, 2 x 3 l), se secaron sobre
- 30 sulfato sódico anhidro (100 g) y se concentraron. Se recogió la masa en bruto (840 g) en un matraz de fondo redondo de 10 l, y se añadió metanol (1200 ml). Se mantuvo la solución a 0-5°C y se agitó durante 30 minutos. Se filtró el sólido obtenido y se lavó con metanol (200 ml), lo que generó el producto en forma de un sólido de color blanco (550 g, 65,0%). Pureza: 87,34% (CLAR); RMN de ^1H (300
- 35 MHz, CDCl_3) δ : 1,30 (d, 6H, $J = 6,0$ Hz), 5,12 (m, 1H), 5,73 (d, 1H, $J = 10,8$ Hz), 7,24 (d, 1H, $J = 10,8$ Hz), 7,91 (s, 1H), 8,58 (s, 2H), 9,70 (s, 1H). Proporción de

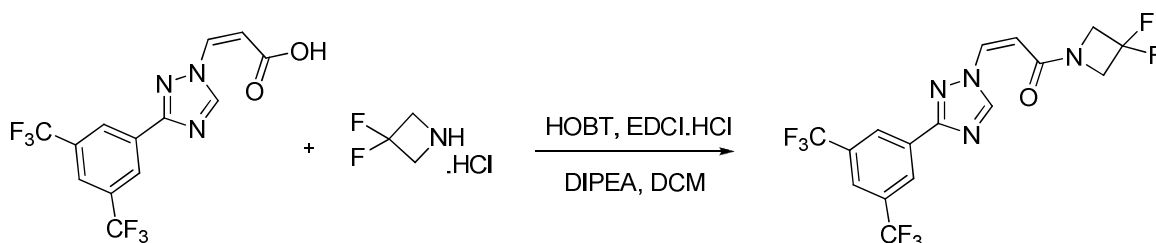
isómero *cis*:isómero *trans* de 83:8.

Síntesis de ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico:



- 5 Se cargó un matraz de 5 l de fondo redondo y cuatro bocas, dotado de embudo de adición, conector para termómetro, agitador mecánico y tapón, con THF (1,25 l) y 3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (*Z*)-isopropilo (125 g, 1 equiv.) a temperatura ambiente. Se enfrió la mezcla de reacción hasta 0°C. A la solución de reacción, se añadió solución de hidróxido de litio enfriada con hielo (66,58 g en 1,25 l de agua) durante un periodo de 30 minutos por un embudo de adición. Se elevó lentamente la temperatura de la reacción hasta 25°C y se mantuvo la masa de la reacción a esa temperatura durante 2 horas. El control mediante CLAR demostró el siguiente estado: ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico: 87,66%; ácido (*E*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico: 9,91%, 3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (*Z*)-isopropilo: 2%. Se siguió la reacción durante otros 30 minutos y se sometió a un control mediante CLAR (ácido (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico: 88,20%; ácido (*E*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrílico: 11,03%. Una vez completada la reacción, se inactivó la mezcla de reacción con agua enfriada con hielo (385 ml), y se agitó durante 30 minutos. Se ajustó el pH hasta 1-2 con ácido clorhídrico diluido (30%, 400 ml), y se extrajo la masa de la reacción con acetato de etilo (3 x 625 ml). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con solución de salmuera saturada (30%, 650 ml), se secaron sobre sulfato sódico anhidro (12,5 g) y se concentraron a presión reducida a 30-35°C. Se añadió hexano al material en bruto y se agitó durante 30 minutos. Se filtraron los sólidos obtenidos a través de un embudo de Buchner y se lavaron con hexano (250 ml). Se secó el sólido obtenido durante 30 minutos al vacío y a temperatura ambiente durante 3-4 horas. Se aisló el producto en forma de un polvo de color blanco (92,8 g, 84,36%). Pureza: 93% (CLAR); RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ: 5,98(d, 1H, J = 10,2 Hz), 7,48 (d, 1H, J = 10,2 Hz), 8,2 (s, 1H), 8,50-8,54 (m, 2H), 9,39 (s, 1H).

Síntesis de (*Z*)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-1-(3,3-difluoroazetidín-1-il)prop-2-en-1-ona:

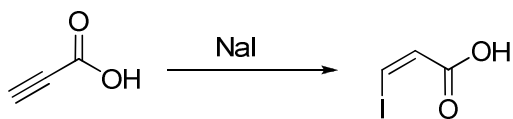


A un matraz de 3 l de fondo redondo y cuatro bocas, dotado de entrada de nitrógeno, embudo de adición, conector para termómetro y agitador mecánico, se añadió ácido (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)acrílico (100 g, 1,0 equiv.) en DCM (1,8 l, 18 vol). Se enfrió la mezcla de reacción hasta -10°C. A la solución enfriada, se añadieron HOBT (4,4 g, 0,1 equiv.), EDC·HCl (80,6 g, 1,5 equiv.) y clorhidrato de 3,3-difluoroazetidina (44 g, 1,2 equiv.). A la mezcla resultante a -10°C, se añadió DIPEA (72 ml, 1,5 equiv.) en gotas durante un periodo de 1,5 horas. Se controló el progreso de la reacción mediante análisis de CLAR que demostró la finalización de la reacción al finalizar la adición de DIPEA. Se elevó lentamente la temperatura de reacción hasta de 15°C a 20°C (~ 2h). Se inactivó la mezcla de reacción con 1 l de suspensión de agua con hielo. Se separó la capa orgánica y se extrajo la capa acuosa con DCM (400 ml x 2). Se lavó la capa orgánica con solución de salmuera saturada (2 x 500 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro (10 g) y se concentró a presión reducida (~35°C), proporcionándose compuesto en bruto. Se disolvió el compuesto en bruto así obtenido en 5 vol. de DIPE, y se agitó a TA durante 30 min y luego se filtró. El peso en bruto fue de 100 g (rendimiento = 82,39%) [*cis* al 85,07% según CLAR, *trans* al 14,36% según CLAR].

Se purificó adicionalmente el compuesto en bruto así obtenido mediante recrystalización con acetato de etilo conforme al siguiente procedimiento. A un matraz de 500 ml de fondo redondo y cuatro bocas, dotado de agitador mecánico, conector para termómetro y tapón, se añadieron 100 g de (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)-1-(3,3-difluoroazetidin-1-il)prop-2-en-1-ona. A este compuesto a TA, se añadió acetato de etilo (7 volúmenes) bajo agitación. Sin embargo, el compuesto no resultó ser completamente soluble. Por consiguiente, se calentó la solución resultante hasta 60°C, obteniéndose una solución transparente, y después, se enfrió lentamente hasta -30°C. A -30°C, se agitó la solución durante 20 min y se filtró bajo succión. Se secó el compuesto obtenido al vacío a 40-45°C durante 3-4 h, produciéndose el producto en forma de un sólido de color blanco. (*cis* al 98,9% según CLAR); (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1H-1,2,4-triazol-1-il)-1-(3,3-difluoroazetidin-1-il)prop-2-en-1-ona. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 9,57(s, 1H), 8,56(s, 2H), 7,90 (s, 1H), 7,18-7,21 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 5,61-5,65 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 4,39-4,45(m, 4H).

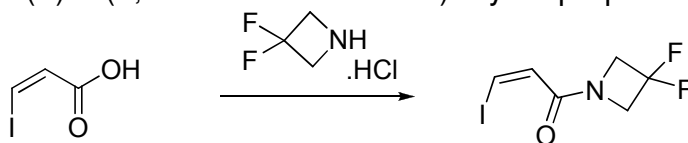
Ejemplo 27

Síntesis de ácido (Z)-3-yodoacrílico:



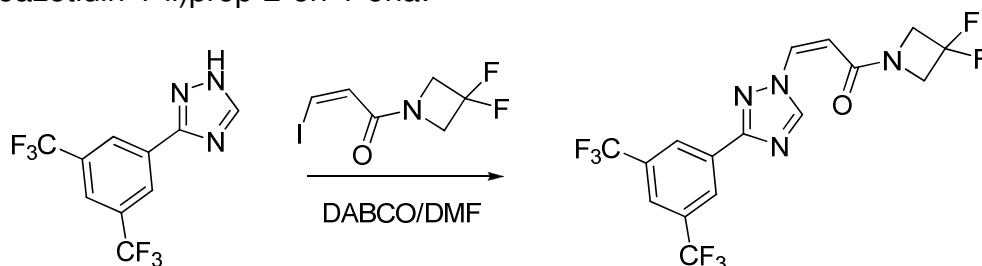
A un matraz de 250 ml de fondo redondo y tres bocas, dotado de entrada de nitrógeno, se añadió ácido propiólico (7,0 g, 1,0 equiv.) disuelto en ácido acético (70 ml, 10 vol) y yoduro de sodio (29,96 g, 2,0 equiv.). Se calentó la mezcla de reacción hasta el reflujo a 1000°C durante 2-3 h. Se siguió el progreso de la reacción mediante análisis de CCF sobre gel de sílice con MeOH al 10%:DCM como fase móvil. R_f de SM =0,3 y R_f del producto = 0,5. Se vertió la mezcla de reacción en agua enfriada con hielo (700 ml) y se neutralizó con solución saturada de bicarbonato sódico. Se extrajo la mezcla de reacción con EtOAc (3 x 100 ml). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con solución de salmuera (3 x 100 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron mediante evaporación rotatoria (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose 12,0 g de compuesto en bruto que se purificó mediante cromatografía en columna usando sílice 60/120 con MeOH:DCM como fase móvil. Se empaquetó la columna (5 x 10 cm) en DCM y se comenzó eluyendo con un gradiente de MeOH, partiendo con una recogida de las fracciones (fracciones de 50 ml) del 2% al 5% de MeOH en DCM. El compuesto comenzó a eluir con MeOH al 2% en DCM. Se combinaron las fracciones que contenían dicho perfil de CCF, obteniéndose 8,0 g del compuesto deseado (rendimiento del 40,44%).

20 Síntesis de (Z)-1-(3,3-difluoroazetidín-1-il)-3-yodoprop-2-en-1-ona:



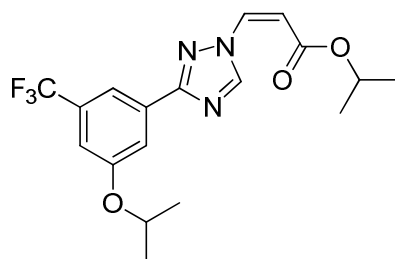
En un matraz de 25 ml de fondo redondo y 3 bocas dotado de una entrada de nitrógeno y un tabique de caucho, se disolvió ácido (Z)-3-yodoacrílico (0,250 g, 1,0 equiv.) en DCM (10 ml, 40 vol). Se enfrió la mezcla de reacción hasta 0°C, y se añadieron DIPEA (0,168 g, 1,1 equiv.), HATU (0,494 g, 1,1 equiv.) y clorhidrato de 3,3-difluoroazetidina (0,179 g, 1,1). Se agitó la mezcla de reacción a 0°C durante 2-3 h. Se siguió el progreso de la reacción mediante análisis de CCF sobre gel de sílice con acetato de etilo al 40% en hexano. Se filtró la mezcla de reacción y se concentró mediante evaporación rotatoria (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,3 g de compuesto en bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna usando sílice 60/120 con acetato de etilo al 40% en hexano como fase móvil. Se empaquetó la columna (5 x 10 cm) en acetato de etilo al 5% en hexano y comenzó eluyendo en un gradiente de acetato de etilo, partiendo con una recogida de fracciones (fracciones de 50 ml) del 20% al 30% de acetato de etilo en hexano. El compuesto comenzó a eluir con acetato de etilo al 20% en hexano. Se combinaron las fracciones que contenían dicho perfil de CCF, obteniéndose 0,18 g del compuesto deseado (rendimiento del 52,33%). Masa: [M+H]⁺ :273,8,

Síntesis de (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-1-(3,3-difluoroazetidin-1-il)prop-2-en-1-ona:



En un matraz de 25 ml de fondo redondo y 3 bocas dotado de una entrada
 5 de nitrógeno, se disolvió 3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol (0,18 g, 1,0
 equiv.) en DMF (5,0 ml, 27,0 vol), y se añadieron DABCO (0,143 g, 2,0 equiv.) y
 (Z)-1-(3,3-difluoroazetidin-1-il)-3-yodoprop-2-en-1-ona (0,192 g, 1,1 equiv.). Se
 agitó la mezcla de reacción a TA durante 2-3 h. Se siguió el progreso de la
 reacción mediante análisis de CCF sobre gel de sílice con acetato de etilo al 80%-
 10 hexano como fase móvil, R_f de SM = 0,60 y R_f del producto = 0,4. Se vertió la
 mezcla de reacción a agua con hielo (50 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml).
 Se lavaron las capas orgánicas combinadas con solución de salmuera (3 x 25 ml),
 se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron mediante evaporación
 rotatoria (25°C, 2,67 kPa), proporcionándose 0,3 g de compuesto en bruto, que se
 15 purificó mediante cromatografía en columna usando sílice 60/120 con acetato de
 etilo:hexano como fase móvil. Se empaquetó la columna (5 x 10 cm) en hexano y
 comenzó a eluir con acetato de etilo en gradiente, partiendo con una recogida de
 fracciones (fracciones de 50 ml) del 40% al 45% de acetato de etilo en hexano. El
 compuesto comenzó a eluir con acetato de etilo al 40% en hexano. Se combinaron
 20 las fracciones que contenían dicho perfil de CCF, obteniéndose 70 mg del
 compuesto deseado (rendimiento del 25,64%).

Ejemplo 28. Síntesis de 3-(3-(3-isopropoxi-5-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (Z)-isopropilo:

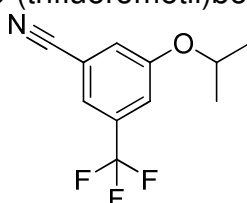


25 Síntesis de propiolato de isopropilo. A una mezcla de ácido propiónico (500
 g, 7,1 moles) en isopropanol (4.000 ml), se añadió eterato de BF_3 (2015 g, 14,2
 moles) a 10°C. Tras agitar durante 10 minutos, se calentó la mezcla de reacción a
 90°C y se agitó durante 2 horas. Se controló la finalización de la reacción
 mediante CLAR. Se llevó la mezcla de reacción hasta de 25 a 30°C y se inactivó
 30 con hielo picado, tras lo que se extrajo con diclorometano. Se lavó la capa
 orgánica con agua y luego con solución de salmuera. Se secó la capa orgánica
 sobre sulfato sódico y se concentró al vacío, dando el propiolato de isopropilo (440

g; 55%). El producto se confirmó mediante RMN de ^1H .

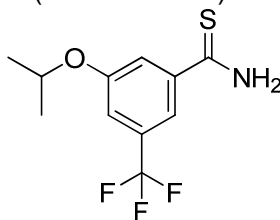
Síntesis de 3-yodoacrilato (*Z*)-isopropilo. A una mezcla de propiolato de isopropilo (350 g, 3,1 moles) en AcOH (1300 ml), se añadió NaI (930 g, 6,2 moles) a 25°C. Se calentó la mezcla de reacción hasta 115°C y se agitó durante 1,5 h. Se enfrió la mezcla de reacción hasta de 25 a 30°C y se inactivó con agua, tras lo que se extrajo con MTBE. Se lavó la capa orgánica con solución saturada de bicarbonato, bisulfito y salmuera. Se secó la capa orgánica sobre sulfato sódico y se concentró al vacío, dando el producto de 3-yodoacrilato de (*Z*)-isopropilo (626 g; 83,5%). El producto se confirmó mediante RMN de ^1H .

Síntesis de 3-isopropoxi-5-(trifluorometil)benzonitrilo:



A una mezcla de propan-2-ol (102,96 g 1,76 moles) en DMF (3200 ml, 8 vol) a 5°C, se añadió NaH (122 g, 5,08 moles). Se agitó la mezcla durante 2 horas. A esta mezcla, se añadió 3-fluoro-5-(trifluorometil)benzonitrilo (400, 2,1 moles) en gotas. Se aumentó la temperatura de la masa hasta de 25 a 30°C y se mantuvo a la misma temperatura durante 1 hora. Se controló la reacción mediante CLAR. Una vez completada, se inactivó la mezcla de reacción con agua enfriada con hielo y se extrajo con acetato de etilo. Se lavó la capa de acetato de etilo con salmuera, se secó sobre sulfato sódico y después se concentró al vacío, dando 530 g (2,31 moles; 110%) de 3-isopropoxi-5-(trifluorometil)benzonitrilo, que se tomó como tal para la siguiente etapa sin mayor purificación. pureza según la CLAR del 96,5% por área (a/a).

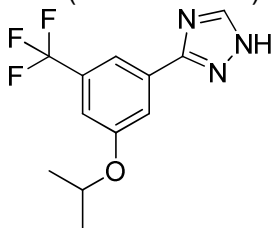
Síntesis de 3-isopropoxi-5-(trifluorometil)benzotioamida:



Se disolvió 3-isopropoxi-5-(trifluorometil)benzonitrilo (1.000 g, 4,3 moles) en DMF (4.000 ml), y se añadió hidrato de hidrógenosulfuro sódico (636 g; 8,6 moles) seguido de cloruro de magnesio hexahidratado (960,2 g, 4,7 moles). Se agitó la mezcla de reacción durante 1 h a 25 a 30°C. Se controló la finalización de la reacción mediante CCF usando acetato de etilo:hexano (2:8) como fase móvil. Se inactivó la mezcla de reacción en una suspensión de agua con hielo (250 ml) y se ajustó el pH hasta 5 mediante la adición de HCl acuoso al 10%. Se extrajo la mezcla de reacción con MTBE y se lavó con solución de salmuera al 20%. Se concentró la capa orgánica al vacío, dando 1.136 g (4,3 moles; 100%) del compuesto del título, que se tomó como tal para la siguiente etapa. CLAR pureza

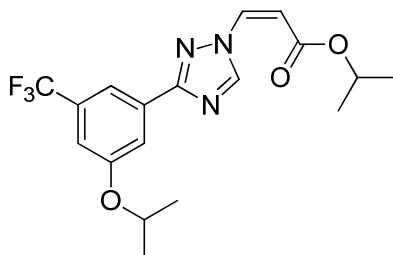
del 97,37% a/a.

Síntesis de 3-(3-isopropoxi-5-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol:



Se combinó 3-isopropoxi-5-(trifluorometil)benzotioamida (646 g; 2,74 moles) con hidrato de hidrazina (140 g; 4,4 moles) y DMF (3200 ml; 5 vol). Se agitó la mezcla durante 30 minutos y se enfrió hasta 10°C. A esta mezcla de reacción, se añadió ácido fórmico (3.200 ml) en gotas. Se calentó la mezcla de reacción hasta de 90 a 100°C y se mantuvo durante 12 h. Tras completar la reacción según CLAR, se enfrió la masa de reacción hasta de 25 a 30°C y se inactivó con agua refrigerada con hielo. Se extrajo la mezcla en MTBE. Se lavó la capa orgánica con salmuera seguida de bicarbonato sódico acuoso, y se concentró al vacío. Se siguió el residuo usando hexano, y se suspendió el residuo resultante a 10°C durante 1 hora. Se filtró el sólido obtenido y se secó durante 12 horas a de 25 a 30°C, produciéndose 550 g (2,26 moles: 82%) del producto de 3-(3-metoxi-5-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol. pureza según CLAR del 95,24% a/a.

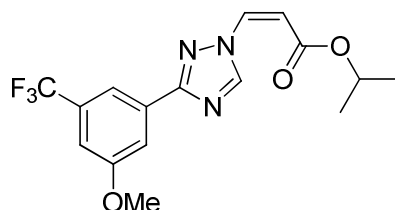
Síntesis de 3-(3-(3-isopropoxi-5-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (*Z*)-isopropilo:



Se agitó una mezcla de 3-(3-metoxi-5-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol (500 g, 1,8 moles) y DABCO (417,6 g; 3,6 moles) en DMF (1200 ml) durante 30 minutos. A esta mezcla, se añadió 3-yodoacrilato de (*Z*)-isopropilo (864 g; 3,6 moles) en DMF (1200 ml) lentamente a de 25 a 30°C, y se agitó la mezcla de reacción durante 1 hora. Tras 1 hora, se añadió DABCO (208 g; 1 equiv.), y se agitó la mezcla de reacción durante 1 hora. El análisis de CLAR mostró 3-(3-metoxi-5-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol al 9,59%, 3-(3-(3-isopropoxi-5-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (*Z*)-isopropilo: 73,76%, 3-(3-(3-isopropoxi-5-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (*E*)-isopropilo: 6,66%. Se inactivó la masa de reacción con agua, se extrajo con diclorometano y se concentró al vacío, dando el producto en bruto. Se cromatografió el producto en bruto usando un sistema de acetato de etilo-hexano en gel de sílice 60-120, dando 310 g (0,8 moles; 44%). Pureza según CLAR del 99% a/a.

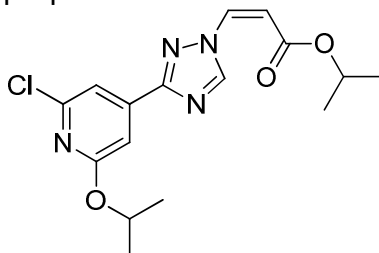
Ejemplo 29. Síntesis de 3-(3-(3-metoxi-5-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-

il)acrilato de (*Z*)-isopropilo:



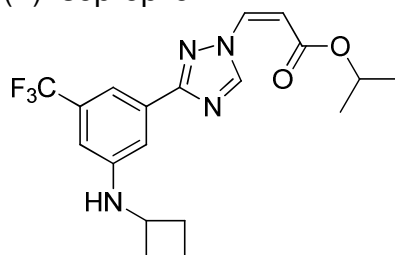
A una solución de 3-(3-metoxi-5-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol (0,50 g) (preparada según el Ejemplo 3) en DMF (1,5 ml), se añadió DABCO (2 equiv.). Se agitó la mezcla de reacción resultante durante 30 min a temperatura ambiente, y luego se añadió 3-yodoacrilato de (*Z*)-isopropilo (2,0 equiv; preparado según el Ejemplo 3). Se agitó la mezcla resultante a TA durante 3 h. Se inactivó la mezcla de reacción con agua refrigerada con hielo, y se extrajo con acetato de etilo (3 veces). Se separaron las capas orgánicas y se secó la capa orgánica combinada sobre sulfato sódico anhidro. El análisis de CL-EM y CLAR reveló isómero *cis* al 62% e isómero *trans* al 36%. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 9,72 (s, 1H), 8,02(s, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,30 (s, 1H), 7,28 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 5,71-5,73 (d, J =10,8 Hz, 1H), 5,12-5,18 (m, 1H), 3,94 (s, 3H), 1,34 (d, 6H) : EM-CL para C₁₆H₁₆F₃N₃O₃ [M+1]⁺ 355,31; encontrada: 355,92 a 4,317 min (CL-EM: 99,82%).

Ejemplo 30. Síntesis de 3-(3-(2-cloro-6-isopropoxipiridin-4-il)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (*Z*)-isopropilo:



A 2-cloro-6-isopropoxi-4-(1*H*-1,2,4-triazol-3-il)piridina (0,5 g) (preparada como en el Ejemplo 3) en 3 ml de DMF, se añadió DABCO (0,467 g, 2 equiv.) y se agitó la mezcla resultante durante 30 min. Se añadió una solución de 3-yodoacrilato de (*Z*)-isopropilo (0,990 g, 2 equiv.) (preparada según el Ejemplo 3) a la mezcla de reacción, y se agitó la mezcla resultante durante 3 h a temperatura ambiente. Se trató la mezcla de reacción como en el Ejemplo 3, obteniéndose isómero *cis* al 53% e isómero *trans* al 34%.

Ejemplo 31. Síntesis de 3-(3-(3-(ciclobutilamino)-5-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acrilato de (*Z*)-isopropilo:



A *N*-ciclobutil-3-(1*H*-1,2,4-triazol-3-il)-5-(trifluorometil)anilina (0,5 g)

(preparada como en el Ejemplo 3) en 1,5 ml de DMF, se añadió DABCO (0,188 g) y se agitó la mezcla resultante durante 30 min. Se añadió una solución de 3-yodoacrilato de (*Z*)-de isopropilo (0,404 g) (preparado como en el Ejemplo 3) a la mezcla de reacción, y se agitó la mezcla resultante durante 3 h a temperatura ambiente. Se trató la mezcla de reacción como en el Ejemplo 3, obteniéndose isómero *cis* al 44% e isómero *trans* al 20%.

Ejemplo 32: Ensayos. Los compuestos ejemplares de la invención se analizaron en paralelo con los Compuestos X-1, X2 y X-3 (representados en la Tabla 2) en diversos ensayos. Los resultados se proporcionan en la tabla 2 que figura a continuación.

Inhibición de la exportación nuclear

La capacidad de los compuestos ejemplares de la invención para inhibir la exportación nuclear mediada por CRM1 se analizó en un ensayo de RevGFP. Rev es una proteína del virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1), y contiene una señal de exportación nuclear (SEN) en su dominio C-terminal y una señal de localización nuclear (SLN) en su dominio N-terminal. La exportación nuclear de la proteína Rev depende de la ruta de NES/CRM1 clásica (Neville *et al.* 1997). La acumulación nuclear de Rev se puede observar en células tratadas con inhibidores específicos de CRM1 tales como la LMB (Kau *et al.* 2003).

De este modo, el día anterior al experimento, se sembraron células U2OS-RevGFP en placas de 384 pocillos negras de fondo transparente. Se diluyeron los compuestos en serie 1:2 en DMEM, partiendo de 40 μ M en una placa de 384 pocillos separada y luego se transfirieron a las células. Se incubaron las células con compuesto durante aproximadamente 1 h antes de realizar la fijación con formaldehído al 3,7% y la tinción de los núcleos con Hoechst 33258. Se midió la cantidad de GFP de los núcleos celulares y se determinó la CI_{50} de cada compuesto (Kau *et al.*, 2003). Los compuestos de la invención se consideran activos en el ensayo de Rev-GFP resumido anteriormente si tienen una CI_{50} de menos de aproximadamente 10 μ M, siendo los compuestos más preferidos los que tienen una CI_{50} de menos de aproximadamente 1 μ M. Los resultados del ensayo de RevGFP aparecen en la Tabla 2.

Ensayo de proliferación celular

Se usó el ensayo de proliferación celular CellTiter 96® AQueous One Solution (Promega) en línea celular de mieloma múltiple MM.1S para estudiar las propiedades citotóxicas y citostáticas de los compuestos. El ensayo se basa en la escisión de la sal tetrazolio, MTS, en presencia de un reactivo de acoplamiento electrónico PES (etosulfato de fenazina). El compuesto de tetrazolio MTS es reducido biológicamente por células en un producto de formazano coloreado que es soluble en medio de cultivo tisular. Se supone que esta conversión es realizada por el NADPH o NADH producido por enzimas deshidrogenasa en células

metabólicamente activas. Los ensayos se realizan añadiendo una pequeña cantidad del reactivo CellTiter 96® AQueous One solution directamente a los pocillos de cultivo, incubando durante 1–4 horas y luego registrando la absorbancia a 490 nm con un lector de placas de 96 pocillos. La absorbancia
5 revelada directamente se correlaciona con el número de células y su actividad metabólica.

Las células se sembraron de 5×10^3 a $1,5 \times 10^4$ células por pocillo de una placa de 96 pocillos en 100 µl de medio de cultivo recién preparado y se permitió la unión de las células adherentes durante una noche. Se diluyeron las soluciones
10 madre de los compuestos en el medio de cultivo celular, obteniéndose ocho concentraciones de cada fármaco que variaban de 1 nM a 30 µM, y se usó DMSO a menos del 1% v/v como control negativo. Se transfirieron las soluciones de fármaco resultantes sobre las células. Tras 72 h de tratamiento, se añadieron 20 µl de reactivo CellTiter 96® AQueous en cada pocillo de las placas de ensayo de 96
15 pocillos y se incubó la placa a 37°C durante 1–4 horas en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5%. Luego se registró la absorbancia de cada pocillo a 490 nm usando un lector de placas de 96 pocillos. En la mayoría de los casos, el ensayo se realizó por triplicado y los resultados se presentaron como la concentración inhibidora máxima al 50% (CI₅₀). Se representó la densidad óptica
20 frente a la concentración de compuesto y se analizó usando ecuaciones de regresión no lineal (IDBS Xlfit), y se calculó la CI₅₀ para cada compuesto.

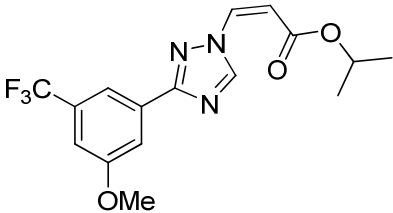
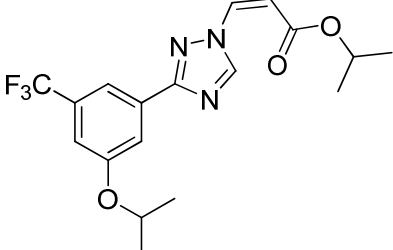
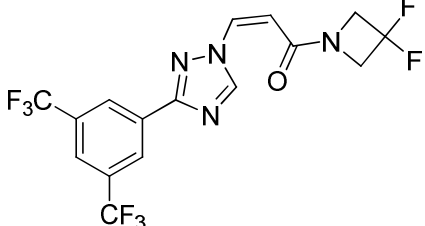
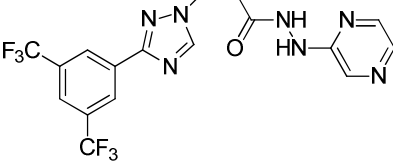
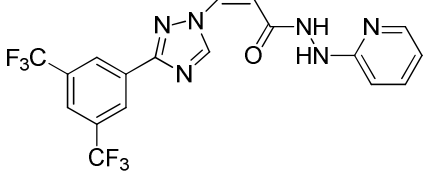
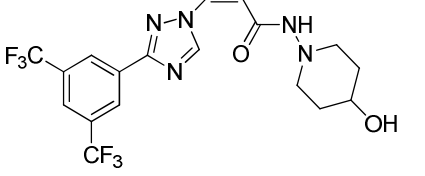
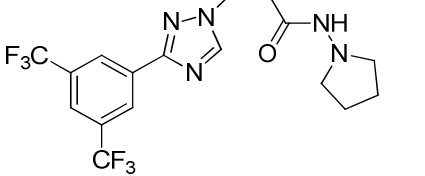
Análisis farmacocinético (FC) y determinación de la relación cerebro:plasma

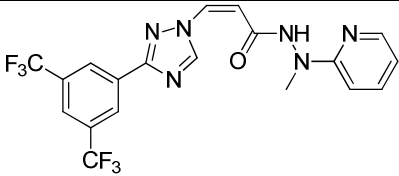
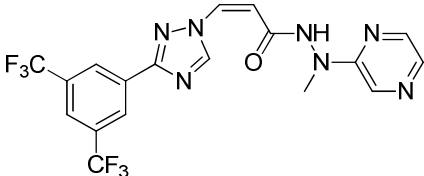
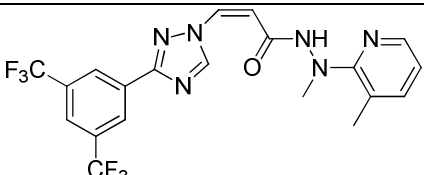
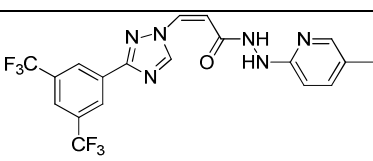
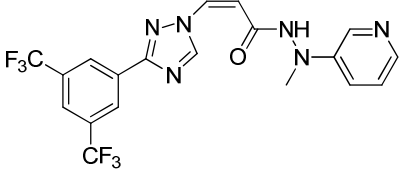
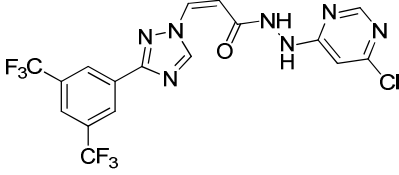
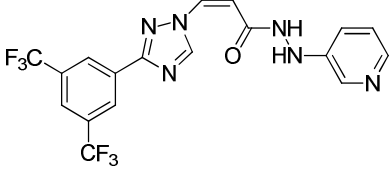
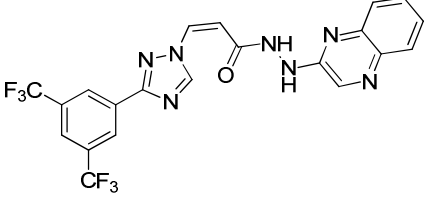
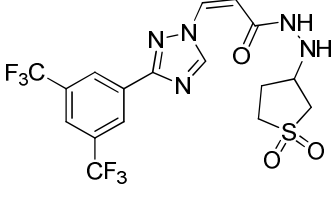
ABC. Se recogió sangre de ratones (n = 3) hasta contribuir a un total de 10 puntos temporales (predosis, 5 min, 15 min, 30 min, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 8
25 horas, 12 horas y 24 horas posteriores a la dosis). Se sangraron los ratones de manera rotativa, contribuyendo cada ratón con 3 puntos temporales en la extracción de sangre. En los puntos temporales designados, se anestesiaron los animales con isoflurano y se extrajeron aproximadamente 110 µl de sangre por punto temporal mediante punción retro-orbital en tubos de K₂EDTA (anti-
30 coagulante) previamente enfriados. Se colocaron las muestras de sangre sobre hielo húmedo y se centrifugaron (2.000 g, 5 min a 4°C), obteniéndose plasma a los 30 minutos de la extracción sanguínea. Todas las muestras fueron almacenadas a aproximadamente -80°C hasta su análisis. Antes del análisis, se mezclaron las muestras con patrón interno (dexametasona) en acetonitrilo, se sometieron a
35 movimientos vorticiales, se centrifugaron y se inyectó sobrenadante para su análisis. Se determinó la concentración de los compuestos en plasma usando una instrumentación de CL-EM-EM (API 4000, triple cuádruplo con ionización de electronebulización; columna de cromatografía en fase líquida de resolución ultra-
rápida Acuity de 18 C con MeOH y ácido fórmico como disolventes orgánicos). Se
40 calcularon los valores de ABC con el paquete informático WinNonlin Professional

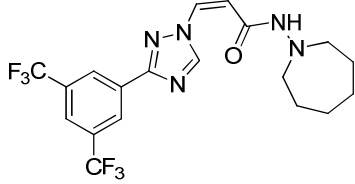
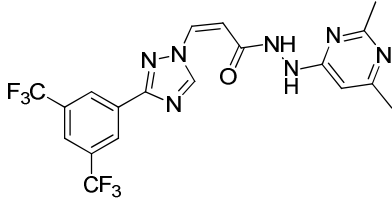
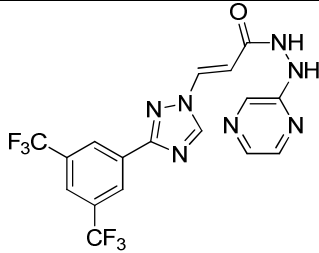
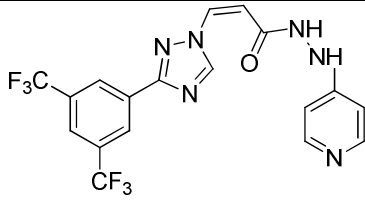
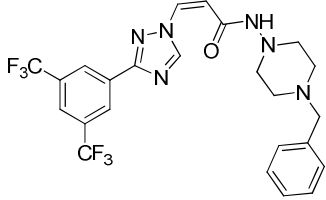
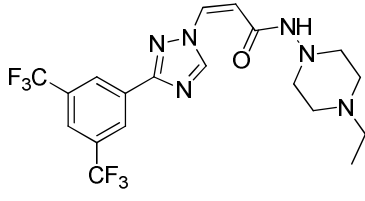
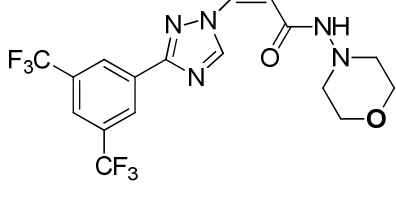
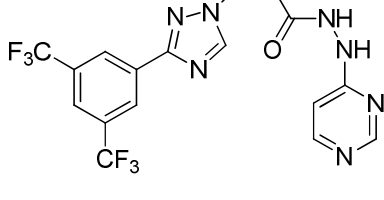
6.2, modelo farmacocinético no compartimentado NCA200.

Relación entre el cerebro y el plasma (C:P) Se aplicó la dosis (por vía oral a 10 mg/kg) a un grupo separado de ratones (n = 3) y luego se sacrificaron en el punto temporal de máxima concentración en plasma (T_{max} estimado a las 2 horas de recibir la dosis), momento en el que se recogieron plasma terminal y tejido cerebral. Tras la extracción, se aclaró el tejido cerebral con solución salina fría, se secó sobre papel filtrante, se pesó y se congeló instantáneamente colocándolo sobre hielo seco. Todas las muestras fueron almacenadas a aproximadamente -80°C hasta su análisis. En el momento del análisis, se homogenizó el tejido cerebral (solución de homogenización de PBS, pH 7,4), se mezcló con patrón interno (dexametasona) en acetonitrilo, se sometió a movimientos vorticiales, se centrifugó y se inyectó sobrenadante para el análisis de la concentración de compuesto usando una metodología de CL-EM-EM (API 4000, triple cuádruplo con ionización de electronebulización; columna de cromatografía en fase líquida de resolución ultra-rápida Acuity de 18 C con MeOH y ácido fórmico como disolventes orgánicos). Las muestras plasmáticas se trataron con un procedimiento idéntico (a excepción de la etapa de homogenización), y se calculó la concentración de compuesto en cada matriz en base a curvas estándar generadas. Los resultados del análisis FC y de la determinación de la relación C:P se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Resultados del análisis para los compuestos de Fórmula I y sus comparadores (A = valor de Cl₅₀ ≤ 1µM; B = valor de Cl₅₀ de 1-10 µM; C = valor de Cl₅₀ > 10 µm; NA = no analizado).

N.º de comp.	Estructura	Export. de Rev	Análisis de citotoxicidad	ABC _{Inf} (h·ng/ml) ⁺	C:P ⁺
X-1 ^{**}		A	A	209 [†]	NT
X-2 ^{***}		A	A	68,3 [†]	1,27 [†]
X-3		A	A	12.300	5,0
I-3		A	A	10.100	0,71
I-4		A	A	10.800	1,8
I-5		NA	A	3.850	1,4
I-6		NA	A	NA	NA

N.º de comp.	Estructura	Export. de Rev	Análisis de citotoxicidad	ABC _{Inf} (h·ng/ml) ⁺	C:P ⁺
I-7		A	A	12.200	1,5
I-8		A	A	4.600	2,1
I-9		NA	A	NA	NA
I-10		NA	A	4.170	0,77
I-11		NA	A	NA	NA
I-12		A	A	24.900	0,13
I-13		NA	A	NA	NA
I-14		NA	A	NA	NA
I-15		NA	A	NA	NA

N.º de comp.	Estructura	Export. de Rev	Análisis de citotoxicidad	ABC _{Inf} (h·ng/ml) ⁺	C:P ⁺
I-16		NA	A	NA	NA
I-17		NA	A	NA	NA
I-18		NA	A	7.140	0,28
I-19		NA	A	4.020	0,2
I-20		NA	A	NA	NA
I-21		NA	A	NA	NA
I-22		NA	A	NA	NA
I-23		NA	A	NA	NA

N.º de comp.	Estructura	Export. de Rev	Análisis de citotoxicidad	ABC _{Inf} (h·ng/ml)*	C:P*
I-24		NA	A	3.350	0,7
I-25		NA	A	NA	NA
I-26		NA	A	NA	NA

* Administrado a ratones a 10 mg/kg por vía oral.
** Compuesto 26 del documento US 2009/0275607.
*** Compuesto 44 del documento US 2009/0275607.
‡ Los valores de ABC_{Inf} para el compuesto X-1 administrado a ratones a 10 mg/kg por vía oral estaban por debajo del límite de cuantificación. Los datos presentados son para 5 mg/kg IV.
† Administrado a ratas a 10 mg/kg por vía oral.

La ABC_{Inf} para el compuesto X-1 estaba por debajo del límite de detección al administrarse a ratones a 10 mg/kg por vía oral. Cuando se administró a 5 mg/kg IV, el compuesto X-1 mostró una exposición mínima como se indica por la baja ABC_{Inf} de 209 h·ng/ml. La relación cerebro:plasma del compuesto X-1 no se determinó debido a sus niveles de exposición insignificantes al administrarse por vía oral.

La ABC_{Inf} para el compuesto X-2 se calculó en 68,3 h·ng/ml al administrarse a ratas a 10 mg/kg por vía oral. Dichos niveles de exposición son excesivamente bajos si se comparan con el compuesto X-3 y los compuestos de fórmula I de la presente invención. Sin embargo, el compuesto X-2 presenta una moderada relación cerebro:plasma. La baja ABC_{Inf} unida a una relación cerebro:plasma desdeñable sugiere que el compuesto X-2 puede atravesar la BHE a pesar de los bajos niveles de exposición. Se cree que el compuesto X-2 tendría una relación cerebro:plasma significativamente superior al aumentar su ABC_{Inf}.

La ABC_{Inf} para el compuesto X-3 se calculó en 12.300 h·ng/ml al administrarse a ratas a 10 mg/kg por vía oral, lo que indica una buena exposición. Sin embargo, el compuesto X-3 demostró una elevda relación cerebro:plasma de 5,0.

Los compuestos de Fórmula I se caracterizan por una ABC_{inf} de de más de aproximadamente 3.300 h•ng/ml, y en la mayoría de los casos, mayor de aproximadamente 3.500 h•ng/ml, y una relación C:P relativamente baja (<2,5). En general, los niveles de exposición superiores de un agente terapéutico aumentan la probabilidad de que penetre en el cerebro. Por lo tanto, es sorprendente e inesperado que los compuestos de fórmula I presenten altos niveles de ABC_{inf} y relaciones cerebro:plasma relativamente bajas.

Actividad in vivo e in vitro de los compuestos de la invención contra el cáncer de mama

Los cánceres de mama de tipo basal (CMTB) representan hasta el 15% de los cánceres de mama (CM) y, habitualmente, son cánceres de mama triple negativo (CMTN), caracterizados por la falta de ER, receptor de progesterona PR y amplificación de HER-2. Además, la mayoría de los CM asociados con BRCA1 son CMTB y CMTN, que expresan citoqueratinas basales y EGFR. El CMTB se caracteriza por un fenotipo agresivo, un alto grado histológico y malos resultados clínicos con altas tasas de recurrencia y metástasis. Se necesitan terapias adicionales. Se analizó la actividad de los compuestos de la invención, por ejemplo, del Compuesto I-3, en diversas líneas celulares de cáncer de mama *in vitro* y *in vivo*.

Inhibición de xenoinjerto de TNBC (Cáncer de Mama Triple Negativo) in vivo

Se obtuvieron células de cáncer de mama triple negativo MDA-MB-468 (ATCC #HTB-132) de la ATCC. Se cultivaron estas células en medio L-15 de Leibovitz complementado con suero fetal bovino (SFB) al 10%, penicilina y estreptomycin al 1%, y L-glutamina 2mM. Se subcultivaron las células mediante dilución a una tasa de 1:3. Se usaron cincuenta (50) ratones SCID hembra (Charles River Labs), de 5 a 6 semanas de vida, con un peso corporal medio previo al tratamiento de 19,2 gramos. Se inocularon 5×10^6 células MDA-MB-468 en los ratones SCID s.c. en el lado izquierdo. Cuando los tumores habían alcanzado un tamaño medio de entre 100 y 200 mm³, se repartieron los ratones de manera aleatoria y prospectiva entre un grupo control de vehículo de diez (10) ratones y cinco grupos de tratamiento de ocho (8) ratones por grupo. Los grupos son los siguientes:

Vehículo (Pluronic al 1% , PVP al 1% en agua destilada)
 5 UF de 50 mg/kg
 Compuesto I-3 5 mg/kg lunes (L), miércoles (X), viernes (V)
 Compuesto I-3 15 mg/kg, L, X, V
 Compuesto I-3 25 mg/kg L, X, V
 Compuesto 1-3 25 mg/kg L, martes (M).
 Todas las administraciones se realizaron por vía oral Los animales fueron

alimentados con comida para roedores Labdiet® 5053 estéril (pre-esterilizado) y se administró agua estéril a voluntad. Se midieron los tumores una vez cada dos días con microcalibradores y se calculó el volumen tumoral como (longitud x anchura x achura)/2. Se pesaron todos los animales diariamente para evaluar las diferencias de peso entre los grupos de tratamiento y controlar el bienestar de los animales. Se sometieron a eutanasia todos los animales que presentaron una pérdida mayor del 20% del peso inicial durante el estudio. También se sometieron a eutanasia todos los animales con un tumor de un volumen por encima de 1.500 mm³. Se registró diariamente la supervivencia. Las soluciones administradas se preparaban cada día. El Compuesto I-3 se suministró en forma de polvo liofilizado que contenía producto farmacológico al 67,8%, siendo el resto Pluronic F-68 y PVP K29/32. Este se preparó disolviendo el polvo liofilizado a una tasa de 6,64 mg/90 µl en agua estéril, y diluyendo en vehículo según las necesidades (Pluronic F-68 al 1% y PVP K29/32 al 1%) en agua estéril. Todas las soluciones administradas de Compuesto I-3 fueron a 0,1 ml/10 g. Se determinaron las diferencias estadísticas entre los grupos de tratamiento usando las pruebas de suma de clasificación de Whitney y ANOVA, con un valor crítico de 0,05.

El día 33 posterior a la inoculación, se extirparon los tumores. La FIG. 1 es una gráfica del volumen tumoral en función del tiempo, y muestra que el Compuesto I-3 fue eficaz de una manera dependiente de la dosis, inhibiendo del aproximadamente 60% (5 mg/kg lunes, miércoles y viernes) hasta casi el 100% del crecimiento del tumor (para 25 mg/kg, pauta de lunes y miércoles) en comparación con los animales tratados con vehículo. Además, el Compuesto I-3 fue bien tolerado.

Tras la escisión, también se tiñeron los tumores para las proteínas de supresión tumoral (PST) FOXO3a, IκB y p27, y se confirmó la ubicación nuclear de las PST mediante inmunohistoquímica.

Inhibición de la proliferación y la citotoxicidad en líneas celulares TNBC y CM luminal

Se usó el ensayo de proliferación celular CellTiter 96® AQueous One Solution (Promega) para estudiar las propiedades citotóxicas y citostáticas del Compuesto I-3 en diversas líneas celulares de TNBC y CM luminal.

Las células se sembraron de 5×10^3 a $1,5 \times 10^4$ células (dependiendo del tipo de célula) por pocillo de una placa de 96 pocillos en 100 µl de medio de cultivo recién preparado y se permitió la unión de las células adherentes durante una noche. Se diluyeron las soluciones madre de los compuestos en el medio de cultivo celular, obteniéndose ocho concentraciones de cada fármaco que variaban de 1nM a 30 µM, y se usó DMSO a menos del 1% v/v como control negativo. Se transfirieron las soluciones de fármaco resultantes sobre las células. Tras 72 h de tratamiento, se añadieron 20 µl de reactivo CellTiter 96® AQueous en cada pocillo

de las placas de ensayo de 96 pocillos y se incubó la placa a 37°C durante 1–4 horas en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5%. Luego se registró la absorbancia de cada pocillo a 490 nm usando un lector de placas de 96 pocillos. En la mayoría de los casos, el ensayo se realizó por triplicado y los resultados se

5 presentaron como la concentración inhibidora máxima al 50% (CI₅₀). Se representó la densidad óptica frente a la concentración de compuesto y se analizó usando ecuaciones de regresión no lineal (Excel Fit), y se calculó la CI₅₀ para cada línea celular frente al Compuesto I-3.

En la Tabla 3, se muestran los resultados del ensayo de proliferación

10 celular. Los resultados demuestran la potente citotoxicidad del Compuesto I-3 en nueve de las quince líneas celulares de CM analizadas. El compuesto se consideró potente en una línea celular si tenía un valor de CI₅₀ de menos de aproximadamente 1,0 µM. Las líneas celulares en las que el Compuesto I-3 tuvo un valor de CI₅₀ de menos de 1,0 µM se consideraron líneas celulares sensibles,

15 mientras que las líneas celulares en las que el Compuesto I-3 tuvo un valor de CI₅₀ de más de 1,0 µM se consideraron líneas celulares resistentes. Siete de las nueve líneas celulares sensibles fueron de TNBC. El análisis genómico en todas las líneas de CM indicó que el estado de p53, PI3K/AKT y BRCA1 ó 2 no afectó a la citotoxicidad.

20 Tabla 3. Valores de CI₅₀ para el Compuesto I-3 en diversas líneas celulares de cáncer de mama

Línea celular	Tipo	CI ₅₀ (µM)	Línea celular	Tipo	CI ₅₀ (µM)
MDA-MB-468	BaB	0,01	HCC-1569	BaA	0,96
MDA-MB-231	BaB	0,01	MDA-MB-157	BaB	1,3
DU4475	Lu	0,013	HS578T	BaB	1,5
BT-549	BaB	0,02	BT-20	BaA	1,5
MCF12A	BaB	0,15	HCC-202	Lu/HER+	5,2
MCF10A	BaB	0,18	HCC-1428	Lu	10,4
UACC812	Lu	0,59	ZR7530	Lu/HER+	19
HCC-1143	BaA	0,6			

El Compuesto I-3 induce la apoptosis e inhibe el crecimiento del CM a largo

25 *plazo*

Se evaluó la capacidad del Compuesto I-3 para inducir la apoptosis e inhibir el crecimiento a largo plazo de líneas celulares de CM seleccionadas.

Se expusieron células MDA-MB-468 de TNBC, DU4475 y HS578T de TNBC a concentraciones del Compuesto I-3 que variaron de 0 a 10 µM durante 24

30 horas. Tras 24 horas, se procesaron los extractos de células proteicas enteras en inmunotransferencias y se expusieron a anticuerpos contra las proteínas indicadas

en las Fig. 2A-2C.

Las FIG. 2A-2C son imágenes de las inmunotransferencias obtenidas de unas cuantas de las líneas celulares de cáncer de mama mas resistentes y más sensibles descritas anteriormente, que incluían MDA-MB-468 de TNBC, DU4475 y HS578T de TNBC. El estudio muestra que el Compuesto I-3 induce la apoptosis en las líneas celulares de TNBC y CM luminal (MDA-MB-468 y DU4475, respectivamente) tras 24 horas, según lo indicado por la disminución de PARP y caspasa 3, dos indicadores de la apoptosis, y el aumento de PARP escindida y caspasa 3 escindida. Por el contrario, sólo se observó un aumento desdeñable en PARP escindida y caspasa 3 escindida al tratar una línea celular resistente, HS578T, con el Compuesto I-3.

También se realizaron ensayos de crecimiento a largo plazo, en los que se trataron células MDA-MB-468, MDA-MB-231 y HS578T con Compuesto I-3 1µM y se incubaron durante 7 (HS578T) o 10 (MDA-MB-468 y MDA-MB-231) días. Al finalizar el ensayo, se retiró el medio de las células y se tiñeron las células restantes con violeta cristal. El estudio demostró que el Compuesto I-3 inhibió el crecimiento a largo plazo de las tres líneas celulares, incluyendo tanto las líneas celulares de CM sensibles (MDA-MB-468 y MDA-MB-231) como las resistentes (HS578T).

El Compuesto I-3 aumenta FOXO3a e IκB nucleares en líneas celulares de TNBC

Se expusieron células basales A MDA-MB-468 de TNBC y basales B BT-20 de TNBC a DMSO o Compuesto I-3 1µM durante 24 horas y luego se tiñeron para FOXO3a o IκB con o sin tinción nuclear con DAPI. Se examinó la ubicación en el núcleo de las células teñidas. Tras el tratamiento con el Compuesto I-3, tanto FOXO3a como IκB se localizaron en el núcleo celular, mientras que en las células tratadas con DMSO, tanto FOXO3a como IκB se localizaron en el citoplasma.

Efecto del Compuesto I-3 en las proteínas anti-apoptosis y del ciclo celular en dos líneas de TNBC

Se examinó el efecto de las concentraciones crecientes del Compuesto I-3 sobre células MDA-MB-468 y HS578T. Se expusieron las células MDA-MB-468 y HS578T a concentraciones crecientes del Compuesto I-3 durante 24 horas y se sondaron los niveles totales celulares de diversas proteínas con anticuerpos contra las proteínas indicadas en la Fig. 3.

La FIG. 3 muestra que, a pesar de la diferencia de aproximadamente 100 veces en la CI_{50} del Compuesto I-3 en las dos líneas celulares tras 72 horas (10nM frente a 1,5µM), se observó una reducción de MCL-1 en ambas líneas celulares como respuesta a las concentraciones crecientes de Compuesto I-3.

Los experimentos descritos en el Ejemplo 32 indican que la inhibición de la exportación nuclear mediada por CRM1 por los compuestos de la invención,

incluyendo el Compuesto I-3, induce a la ubicación nuclear y a la activación de proteínas de genes de supresión tumoral, produciendo una apoptosis selectiva, una citotoxicidad de las células cancerosas y una inhibición del crecimiento tumoral.

5 EJEMPLO 33: ARTRITIS INDUCIDA POR ANTICUERPOS MONOCLONALES (AIAM)

Se distribuyeron aleatoriamente ratones BalbC en jaulas el día de su llegada (-1) y se asignó cada grupo (n = 8) a los grupos de tratamiento mostrados a continuación con la siguiente pauta de dosificación:

- 10
- Vehículo: vía oral, día 4, 6, 8, 10
Dexametasona: 1 mg/kg IP, días 4, 6, 8, 10
Compuesto I-4: 4 mg/kg vía oral, Día 4, 6, 8, 10
Compuesto I-4: 7,5 mg/kg vía oral, Día 4, 6, 8, 10
Compuesto I-4: 15 mg/kg vía oral, Día 4, 6, 8, 10

- 15
- Se examinó el estado de salud de los animales al llegar. Sólo se aclimataron a las condiciones de laboratorio y se usaron en el estudio los animales que tenían un buen estado de salud general. Se administró una dieta comercial para roedores a voluntad a los animales y acceso libre a agua suministrada en cada jaula con botellas de polietileno y tubos para beber a sorbos de acero
- 20
- inoxidable. Se establecieron una condiciones ambientales controladas automáticamente para mantener la temperatura a 20-24°C con una humedad relativa (HR) del 30-70%, un ciclo de luz:oscuridad de 12:12 y 10-30 cambios de aire/h . En el estudio, se controlaron diariamente la temperatura ambiente, la HR y el ciclo de luz con un ordenador de control. Los animales recibieron un número de
- 25
- identificación único para cada animal, y el día 0 del estudio, cada animal recibió una inyección en la vena de la cola de cóctel de anticuerpos (200 ul de 10 mg/ml). El cóctel de anticuerpo fue suministrado por MD Biosciences (Catalog #: CIA-MAB-50). El día 3, tras la única administración de Acm, todos los animales recibieron una administración de LPS (200 ul de 0,5 mg/ml) mediante una única
- 30
- inyección intraperitoneal (IP). El LPS fue suministrado por MD Biosciences (Catalog #: MDLPS. 5).El día 0, se examinaron los ratones en busca de signos de respuestas artritogénicas en las articulaciones periféricas. Desde la aparición de la enfermedad, se examinó la respuesta artritogénica los días 3-8, 10 y 12 del estudio. Las reacciones artríticas se presentan para cada pata según una escala
- 35
- de 0 a 4 por orden ascendente de gravedad.

Puntuación de la artritis	Grado
Sin reacción, normal	0
Enrojecimiento e hinchazón suaves pero definidos en tobillo/muñeca o enrojecimiento e hinchazón aparentes limitados a dedos, independientemente del número de dedos afectados	1

Enrojecimiento e hinchazón moderado a grave de tobillo/muñeca	2
Enrojecimiento e hinchazón de toda la pata incluyendo los dedos	3
Extremidad inflamada al máximo incluyendo múltiples articulaciones	4

Para evitar el sufrimiento, se sometieron a eutanasia los animales encontrados en un estado moribundo, los animales con rotura cutánea en la pata artrítica o con una disminución del peso corporal mayor del 20%, así como los animales que mostraban un dolor grave y signos permanentes de estrés grave. Técnicos con experiencia en el campo de la veterinaria analizaron caso por caso el dolor o estrés grave. En síntesis, las evaluaciones se centraron en las vocalizaciones anómalas, el aislamiento del resto de animales, la imposibilidad para usar las extremidades, la respuesta anómala a la manipulación, temblores y postura. Los animales se sacrificaron mediante inhalación de CO₂ seguida de la dislocación cervical. La evaluación se basa fundamentalmente en los valores medios de la puntuación de la artritis y las mediciones del engrosamiento de la pata. También se llevó a cabo un análisis estadístico del peso corporal. Cuando fue apropiado, se aplicó un análisis de datos mediante ANOVA con un análisis post hoc de Tukey para determinar la relevancia de los efectos del tratamiento.

Como parte de este modelo, los animales perdieron peso rápidamente durante los 5-8 primeros días y comenzaron a ganar/perder peso lentamente en función de la progresión de la enfermedad. I-4 aumentó la tasa de ganancia de peso en comparación con los grupos de tratamiento con vehículo o dexametasona. La FIG. 4 es una gráfica del peso corporal medio frente al tiempo durante los días 0 a 12 en ratones artríticos BALB/c macho inducidos con anticuerpos sometidos al modelo.

Además, los animales sometidos al modelo de AIAM, por lo común, comenzaron a mostrar signos de artritis en torno al día 4, y a medida que fue progresando la enfermedad, las puntuaciones totales de artritis aumentaron en función del tiempo. El tratamiento con Compuesto I-4 disminuyó significativamente la puntuación total en comparación con el vehículo y mostraron un efecto dependiente de la dosis. La FIG. 5 es una gráfica de las puntuaciones clínicas totales medias de la artrosis en la pata frente al tiempo durante los días 0 a 12 en ratones artríticos BALB/c macho inducidos con anticuerpos sometidos al tratamiento indicado.

EJEMPLO 34: MODELO DE PSORIASIS INDUCIDO POR PMA

Se introdujeron ratones Balb/c en jaulas ventiladas individualmente en un entorno controlado (temperatura de 22 ± 1°C, humedad de 70 ± 5% y ciclo de 12 h de luz/12 h de oscuridad) en una instalación para animales. Los ratones tuvieron acceso a pienso alimentario comercialmente disponible y a agua potable tratada con UV a voluntad. Se introdujeron 4 ratones por cada jaula ventilada

individualmente. Cada animal de la jaula se identificó por una cola. Se distribuyeron aleatoriamente 8 ratones por grupo entre los diferentes grupos de tratamiento según el peso corporal. Tras la aleatorización, el peso corporal medio de todos los grupos era equivalente. El diseño del estudio fue Grupo 1: Naïve, 5 vehículo de DMSO al 1% (10-30 ul, administración tópica una vez al día), Grupo 2: PMA, vehículo de DMSO al 1% (10-30 ul, administración tópica una vez al día), Grupo 3: PMA, 10 mg/kg de I-4 en PVP/Pluronic (oral, L-X-V Día 1-Día 3-Día 5-Día 7), Grupo 4: PMA, betametasona al 0,1%– 25 mg (patrón de referencia) (administración tópica una vez al día).

10 Se aplicaron 4 ug de Forbol 12-miristato 13-acetato (PMA) en 20 ul de acetona cada día en la oreja de los ratones. A partir del día 2, la inducción con PMA de la inflamación dérmica/psoriasis se manifestó con el aumento del índice de actividad clínica de la enfermedad asociado con el aumento del engrosamiento de la oreja, la descamación de la piel de la oreja y el plegamiento de la piel de la 15 oreja. Se evaluaron los siguientes parámetros: (i) el engrosamiento de la oreja, (ii) la descamación de la piel de la oreja. Esto se basará en un índice de puntuación de 0: sin descamación; 1: descamación suave; 2: descamación moderada; 3: descamación grave. (iii) plegamiento de la piel de la oreja. Esto se basará en un índice de puntuación de 0: sin plegamiento; 1: plegamiento suave; 2: plegamiento moderado; 3: plegamiento grave. (IV) el peso de la oreja (el día del sacrificio). 20

La FIG. 6 es un gráfico de barras que proporciona la puntuación del engrosamiento de la oreja, la descamación de la piel de la oreja y el plegamiento de la piel de la oreja. Los resultados demuestran que la administración oral del Compuesto I-4 a 10 mg/kg redujo el engrosamiento medio de la oreja de una 25 manera estadísticamente relevante en comparación con el vehículo. La eficacia obtenida con I-4 fue comparable con el control positivo de betametasona. Además, el Compuesto I-4 fue bien tolerado.

EJEMPLO 35: RECONOCIMIENTO DE OBJETOS NUEVOS

Para la prueba de reconocimiento de nuevos objetos, se colocaron ratas 30 Zucker en una cámara de prueba (dimensiones: 66,04 cm x 45,72 cm x 45,72 cm; longitud x anchura x altura). Durante la prueba, no se permitió el acceso a comida ni a agua. La prueba consistió en 3 fases: a) Fase de familiarización: se colocaron las ratas individualmente en la cámara de prueba y se dejó que la exploraran libremente durante 60 min. Se registró la distancia recorrida por el animal durante 35 esta fase usando un programa informático de seguimiento (sistema AnyMaze). El objetivo de esta fase era que los animales se familiarizaran con el aparato de prueba. Esta fase de prueba se realizó el día 1. b) Fase de muestreo: el día 2, se colocaron las ratas individualmente en la cámara de prueba durante 3 min y se dejó que exploraran libremente el ruedo de prueba que contenía dos nuevos 40 objetos idénticos (p. ej., cubo metálico, cilindro de plástico) colocados en dos

esquinas de la cámara de prueba. Se registró automáticamente la distancia recorrida por el animal durante esta fase de muestreo, así como el tiempo empleado por el animal en la interacción con los nuevos objetos, usando un sistema informático de seguimiento y la observación visual. La interacción con el objeto se definió como la interacción activa con los hocicos de los animales en contacto o inmediatamente próximos al objeto. c) Fase de prueba: 1 h después de la fase de muestreo, se devolvieron las ratas individualmente a la cámara de prueba durante 3 min y se dejó que exploraran libremente el ruedo de prueba que contenía 2 objetos, uno de los objetos era el objeto presentado durante la fase de muestreo y el segundo, era un objeto nuevo exclusivo de la fase de prueba. Los 2 objetos se colocaron en las 2 mismas esquinas de la cámara de prueba usadas para la fase de muestreo. Se registró automáticamente la distancia recorrida por el animal durante la fase de prueba, así como el tiempo empleado por el animal en la interacción con el objeto nuevo y el objeto familiar, usando un sistema informático de seguimiento y la observación visual. Las puntuaciones de interacción con los objetos tanto durante la fase de muestreo como la fase de prueba se registraron independientemente por parte de 2 observadores. La puntuación final representa la diferencia de puntuación entre cada lectura. Las puntuaciones de preferencia por los objetos se presentaron como D1 (i.e., tiempo empleado explorando el objeto nuevo - tiempo empleado explorando el objeto familiar; por tanto, una puntuación positiva representa la preferencia por el objeto nuevo) y D2 (i.e., $D1/a + b$; la puntuación D1 dividida entre el tiempo de exploración total de los objetos):

La FIG. 7 proporciona un conjunto de gráficas que muestra la preferencia de ratas Zucker sin tratar y tratadas con I-4.. A partir de la FIG. 7, se puede observar que el Compuesto I-4 administrado a dosis de 0,625, 1,25 y 2,5 mg/kg indujo tendencias a mejorar el reconocimiento de nuevos objetos en ratas Zucker, y que I-4 fue bien tolerado.

EJEMPLO 36: ESTUDIO DE ALIMENTACIÓN DE RATAS ZUCKER OBESAS

Se introdujeron individualmente en jaulas de fondo de plástico ratas Zucker (fa/fa) macho y ratas Zucker delgadas macho (ambas de Charles River) de 10 semanas de vida (un punto temporal en el que las ratas fa/fa Zucker deberían mostrar una ingesta elevada de alimento, una masa corporal elevada y un perfil elevado de lípidos en plasma con respecto a sus homólogos “delgados”), y se dejó que transcurrieran 14 días para que se aclimataran. Durante este periodo, se registraron diariamente el peso corporal del animal, y las ingestas de comida y agua. Todos los animales tuvieron un acceso libre a comida estándar de laboratorio y agua durante el estudio. Una vez recogidos los datos de ingesta de referencia de los 14 días, se asignaron las ratas Zucker obesas a grupos de tratamiento en base a datos de referencia equivalentes, es decir, todas las ratas

Zucker obesas tenían ingestas de comida/agua diarias equivalente y pesos corporales equivalentes. Durante esta fase, las ratas también recibieron dos administraciones de vehículo como familiarización con el procedimiento de dosificación. Inmediatamente después de la fase de referencia, comenzó la fase de tratamiento. Se administraron el artículo de prueba y el vehículo aproximadamente 1 h antes del inicio del ciclo de oscuridad. La pauta de dosificación varió según el grupo: 5 x dosificación semanal fue de lunes-viernes. El diseño del estudio fue el siguiente: Grupo A = ratas Zucker delgadas macho: tratamiento con vehículo 5 x semana, oral, n = 6; Grupo B = ratas Zucker obesas macho, tratamiento con vehículo 5 x semana, oral, n = 6; Grupo C = ratas Zucker obesas macho, 2,5 mg/kg de I-4 5 x semana, oral, n = 6.

El peso corporal, y la ingesta de alimento y agua diarios se midieron, aproximadamente, el mismo momento del día. El día 1 y día 7 de la fase de tratamiento.

La FIG. 8A proporciona la ingesta de alimento acumulativa y media en ratas Zucker obesas y delgadas (W/O indica periodo de lavado). La administración oral de Compuesto I-4 a 2,5 mg/kg 5 x semana redujo la ingesta de alimento media y acumulativa en ratas Zucker obesas (fa/fa). El Compuesto I-4 fue bien tolerado.

La FIG. 8B proporciona el porcentaje y la media de peso corporal en ratas Zucker obesas y delgadas (W/O indica periodo de lavado). La administración oral de I-4 a 2,5 mg/kg 5 x semana redujo significativamente el aumento de peso en comparación con los controles de ratas Zucker fa/fa. En la fase de lavado de 2 días, se siguió reduciendo el peso corporal en comparación con los controles de ratas Zucker fa/fa. I-4 fue bien tolerado.

Bibliografía

- Cronshaw JM y Matunis MJ. 2004, "The nuclear pore complex: disease associations and functional correlations", *TRENDS Endocrin Metab.* 15:34-39;
- Falini B *et al.* 2006, "Both carboxi-terminus NES motif and mutated tryptophan(s) are crucial for aberrant nuclear export of nucleophosmin leukemic mutants in NPMc+ AML Blood". 107:4514-4523;
- Cai X y Liu X. 2008, "Inhibition of Thr-55 phosphorylation restores p53 nuclear localization and sensitizes cancer cells to DNA damage", *PNAS.* 105:16958-16963;
- Daelemans D, Afonina E, Nilsson J 2002, "A synthetic HIV-1 Rev inhibitor interfering with the CRM1-mediated nuclear export". *Proc Natl Acad Sci EE.UU.* 99(22):14440-5,98052-2517;
- Davis JR *et al.* 2007, "Controlling protein compartmentalization to overcome disease", *Pharmaceut Res.* 24:17-27;
- Freundt E, Yu L, Park E, *et al* 2009, "Molecular determinants for subcellular localization of the severe acute respiratory syndrome coronavirus open reading

- frame 3b protein". *J Virol* 83(13):6631-40;
- Ghildyal R, Ho A, Dias M, *et al* 2009, "The respiratory syncytial virus matrix protein possesses a Crm1-mediated nuclear export mechanism". *J Virol* 83(11):5353-62;
- 5 Ghosh CC *et al* 2008, "Analysis of nucleocytoplasmic shuttling de NF kappa B proteins in human leukocytes". *Methods Mol Biol.* 457:279-92,
- Gupta N *et al* 2008, "Retinal tau pathology in human glaucomas". *Can J Ophthalmol.* Febrero de 2008; 43(1):53-60;
- Hoshino L *et al.* 2008, "Combined effects of p53 gene therapy and
10 leptomycin B in human esophageal squamous cell carcinoma". *Oncology.* 75:113-119;
- Lain S *et al.* 1999^a, "An inhibitor of nuclear export activates the p53 response and induces the localization of HDM2 and p53 to U1A-positive nuclear bodies associated with the PODs", *Exp Cell Res.* 248:457-472;
- 15 Lain S *et al.* 1999b. "Accumulating active p53 in the nucleus by inhibition of nuclear export: a novel strategy to promote the p53 tumor suppressor function", *Exp Cell Res.* 253:315;
- Muller PA *et al.* 2009, "Nuclear-cytosolic transport of COMMD1 regulates NF-kappaB and HIF-1 activity". *Traffic* 10(5):514-27;
- 20 Mutka S, 2007, "Nuclear Export Inhibitors (NEIs) as novel cancer therapies", AACR Annual Meeting. Póster 5609;
- Mutka S, Yang W, Dong S, *et al.* 2009, "Identification of nuclear export inhibitors with potent anticancer activity in vivo". *Cancer Res.* 69: 510-7;
- Nakahara J *et al.* 2009, "Abnormal expression of TIP30 and arrested
25 nucleocytoplasmic transport within oligodendrocyte precursor cells in multiple sclerosis", *J Clin Invest.* 119:169-181;
- Noske A *et al.* 2008, "Expression of the nuclear export protein chromosomal region maintenance/exportin 1/Xpo1 is a prognostic factor in human ovarian cancer". *Cancer.* 112:1733-1743;
- 30 Pollard V y Malim M. 1998 "The HIV-1 Rev protein", *Annu Rev Microbiol* 52:491-532;
- Rawlinson S, Pryor M, Wright P, Jans D, 2009, "CRM1-mediated nuclear export of dengue virus RNA polymerase NS5 modulates interleukin-8 induction and virus production". *J Biol Chem* 284(23):15589-97;
- 35 Sanchez V, Mahr J, Orazio N, *et al*, 2007, "Nuclear export of the human cytomegalovirus tegument protein pp65 requiere ciclin-dependent kinase activity and the Crm1 exporter". *J Virol* 81(21):11730-6;
- Sorokin AV *et al.* 2007, "Nucleocytoplasmic transport of proteins". *Biochemistry* 72:1439-1457;
- 40 Terry LJ *et al.* 2007, "Crossing the nuclear envelope: hierarchical regulation

of nucleocytoplasmic transport". *Science* 318:1412-1416;

Van der Watt PJ *et al.* 2008, "The Karyopherin proteins, Crm1 and Karyopherin beta1, are overexpressed in cervical cancer and are critical for cancer cell survival and proliferation". *Int J Canc.* 124:1829-1840;

- 5 Walsh MD *et al.*, 2008, "Exportin 1 inhibition attenuates nuclear factor-kappaB-dependent gene expression". *Shock* 29:160-166;

Williams P, Verhagen J, Elliott G, 2008, "Characterization of a CRM1-dependent nuclear export signal in the C terminus of herpes simplex virus type 1 tegument protein UL47", *J Virol* 82(21):10946-52;

- 10 Yang W, 2007, "Anti-tumor activity of novel nuclear export inhibitors (NEIs) in multiple murine leukemia models". AACR Annual Meeting. Póster 5597;

Yao Y *et al.* 2009, "The expression of CRM1 is associated with prognosis in human osteosarcoma". *Oncol Rep.* 21:229-35;

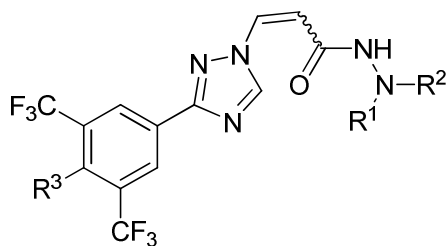
- 15 Zimmerman TL *et al.*, 2006, "Nuclear export of retinoid X receptor alfa in response to interleukin-1beta-mediated cell signaling: roles for JNK y SER260", *J Biol Chem* 281:15434-15440.

Las enseñanzas pertinentes de todas las patentes, solicitudes publicadas y referencias citadas en la presente memoria se incorporan por referencia en su totalidad.

- 20 Aunque la presente invención se haya mostrado y descrito particularmente con referencia a sus realizaciones ejemplares, los expertos en la técnica entenderán que es posible realizar diversos cambios en la forma y los detalles de la misma sin alejarse del ámbito de la invención englobada por las reivindicaciones anexas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula estructural I:



(I),

- 5 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que:

R^1 se selecciona entre hidrógeno y metilo;

R^2 se selecciona entre piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo, pirazin-2-ilo, y quinoxalin-2-ilo, pirimidin-4-ilo, 1,1-dioxotetrahidrotiofen-3-ilo y ciclopropilo, en la que R^2 está opcionalmente sustituido con uno o más

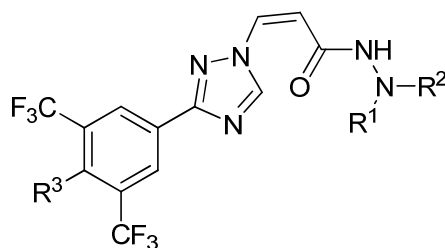
- 10 sustituyentes seleccionados independientemente entre metilo y halógeno; o

R^1 y R^2 se toman junto con sus átomos intermedios para formar 4-hidroxipiperidin-1-ilo, pirrolidin-1-ilo, azepan-1-ilo, 4-bencilpiperazin-1-ilo, 4-etilpiperazin-1-ilo, 3-hidroxiazetidin-1-ilo o morfolin-4-ilo;

R^3 se selecciona entre hidrógeno y halo; y

- 15 $\sim$ representa un enlace sencillo, en el que un doble enlace carbono-carbono unido al mismo está en una configuración (*E*) o (*Z*).

2. El compuesto según la reivindicación 1 representado por la fórmula estructural II:



(II),

20

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

3. El compuesto de la reivindicación 2, en el que:

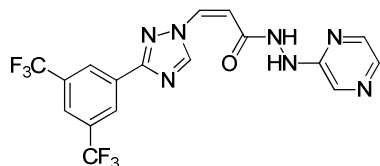
R^1 se selecciona entre hidrógeno y metilo; y

- 25 R^2 se selecciona entre piridin-2-ilo, piridin-4-ilo, pirazin-2-ilo y pirimidin-4-ilo, en el que R^2 está opcionalmente sustituido con un solo sustituyente seleccionado entre metilo y cloro; o

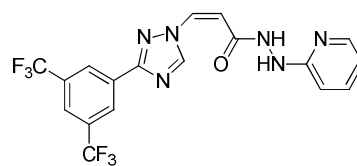
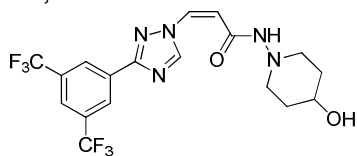
R^1 y R^2 se toman juntos para formar 4-hidroxipiperidin-1-ilo.

- 30 4. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que R^3 es hidrógeno.

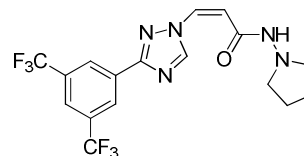
5. El compuesto según la reivindicación 1, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, que está representado por una cualquiera de las siguientes fórmulas estructurales:



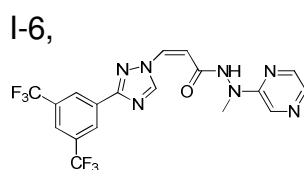
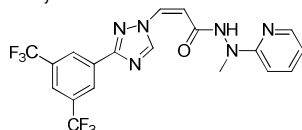
I-3,



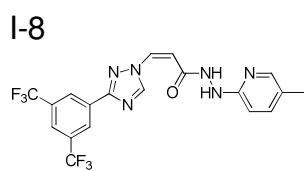
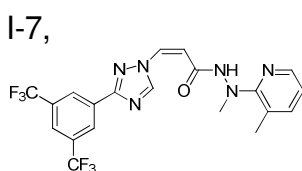
I-4



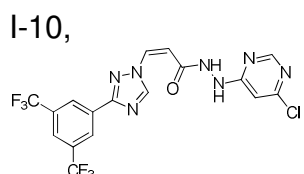
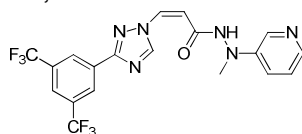
I-5,



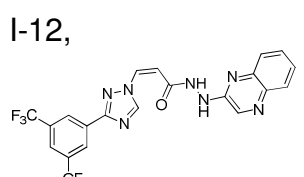
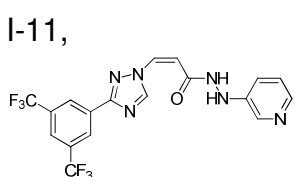
I-6,



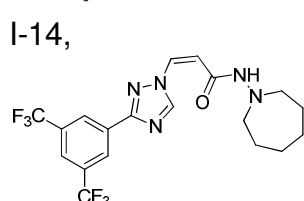
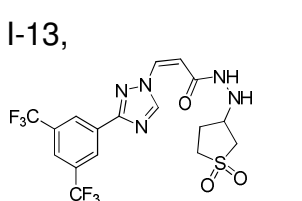
I-7,



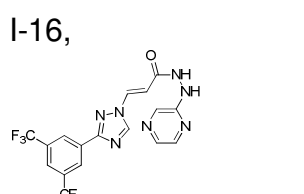
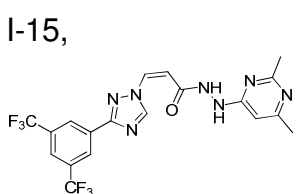
I-8,



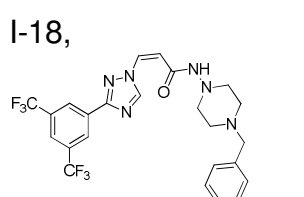
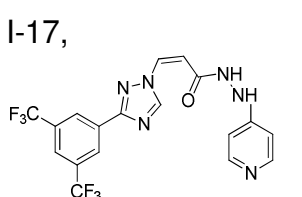
I-9,



I-10,

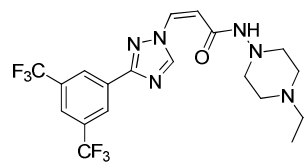


I-11,

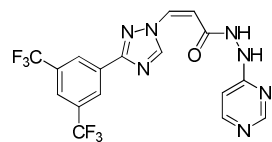


I-12,

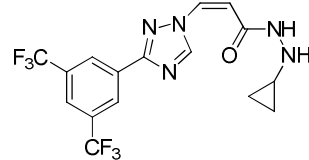




I-21,

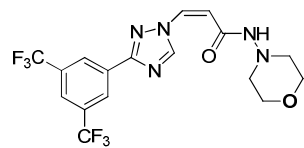


I-23,

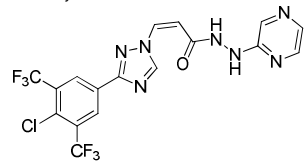


I-25

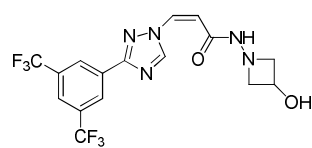
o



I-22,

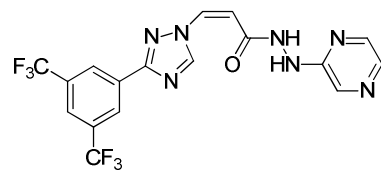


I-24,

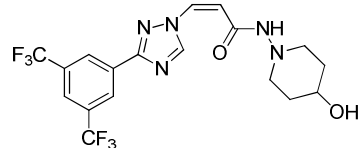


I-26,

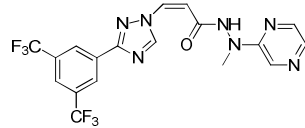
6. El compuesto según la reivindicación 1, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, que está representado por una cualquiera de las 5 siguientes fórmulas estructurales:



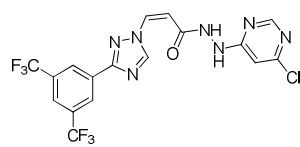
I-3,



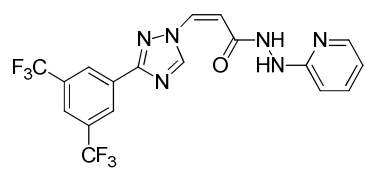
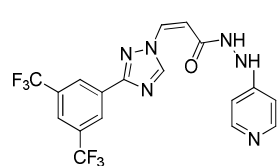
I-5,



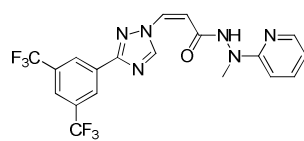
I-8



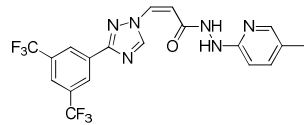
I-12,



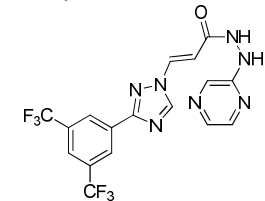
I-4



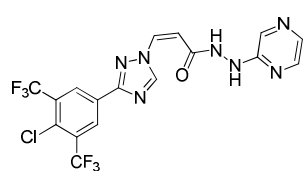
I-7,



I-10,

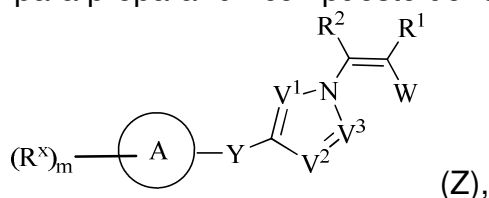


I-18,



I-19 o I-24.

7. Una composición que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 5 8. La composición de la reivindicación 7 que incluye además un segundo agente terapéutico útil para tratar el cáncer.
9. Un procedimiento para tratar un trastorno asociado con la actividad de CRM1 que comprende administrar a un sujeto en necesidad de la misma una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición según la reivindicación 7.
- 10 10. El procedimiento según la reivindicación 9, en el que el trastorno se selecciona entre un trastorno proliferativo, un trastorno inflamatorio, un trastorno autoinmune, una infección viral, un trastorno oftalmológico, un trastorno neurodegenerativo, un trastorno de crecimiento tisular anómalo, un trastorno relacionado con la ingesta de alimento, alergias y un trastorno respiratorio.
- 15 11. El procedimiento según la reivindicación 10, en el que el trastorno es cáncer.
- 20 12. El procedimiento según la reivindicación 11, en el que la composición se administra junto con un segundo agente terapéutico útil para tratar el cáncer.
- 25 13. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para su uso en el tratamiento de un trastorno asociado con la actividad de CRM1 en un sujeto en necesidad del mismo.
- 30 14. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno asociado con la actividad de CRM1.
- 35 15. Un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula Z:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que:

Anillo A es un anillo opcionalmente sustituido seleccionado entre fenilo, un anillo arilo bicíclico de 8-10 miembros, un anillo heteroarilo monocíclico de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, y un anillo heteroarilo bicíclico de 8-10 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre;

Y es enlace covalente o $-L-$;

L es un radical de hidrocarburo C_{1-8} , lineal o ramificado, saturado o insaturado bivalente, en el que una o dos unidades metileno de L están opcionalmente reemplazadas por $-NR-$, $-N(R)C(O)-$, $-C(O)N(R)-$, $-O-$, $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-C(S)-$, $-C(NOR)-$ o $-C(NR)-$;

cada R es independientemente hidrógeno o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado entre alifático C_{1-6} , fenilo, un anillo carbocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros, un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, y un anillo heteroarilo monocíclico de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o

dos grupos R del mismo nitrógeno se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre;

cada uno de V^1 , V^2 y V^3 es independientemente $C(R^y)$ o N;

cada R^x y R^y se selecciona independientemente entre $-R$, halógeno, $-O$, $-SR$, $-N(R)_2$, $-CN$, $-NO_2$, $-N_3$, $-SOR$, $-SO_2R$, $-SO_2NR$, $-C(O)R$, $-CO_2R$, $-C(O)O$, $-C(O)N(R)_2$, $-NRC(O)R$, $-OC(O)R$, $-OC(O)N(R)_2$, $-NRC(O)OR$, $-NRC(O)NR_2$ y $-NRSO_2R$;

cada R^1 y R^2 es independientemente hidrógeno, deuterio, tritio o halógeno;

W es $-CN$, haloalquilo, $-NO_2$ o $-C(=Z)R^3$;

Z es O, S o NR;

R^3 es hidrógeno, $-R$, $-OR$, $-SR$ o $-N(R^4)_2$;

cada R^4 es independientemente $-R$; o

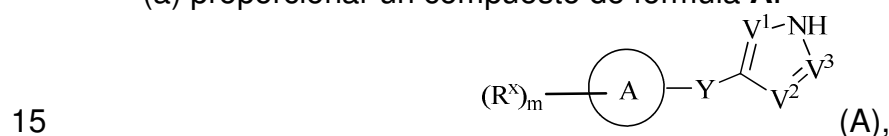
dos R^4 del mismo nitrógeno se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico

5 saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, estando el anillo así formado opcionalmente sustituido con $-(R^5)_n$;

10 cada R^5 se selecciona independientemente entre $-R$, halógeno, $-OR$, $-SR$, $-N(R)_2$, $-CN$, $-NO_2$, $-N_3$, $-SOR$, $-SO_2R$, $-SO_2NR$, $-C(O)R$, $-CO_2R$, $-C(O)OR$, $-C(O)N(R)_2$, $-NRC(O)R$, $-OC(O)R$, $-OC(O)N(R)_2$, $-NRC(O)OR$, $-NRC(O)NR_2$ y $-NRSO_2R$; y cada m y n es independientemente un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3 y 4;

que comprende las etapas de:

(a) proporcionar un compuesto de fórmula **A**:



en la que cada uno de Anillo A, R^x , Y, V^1 , V^2 , V^3 y m es como se ha definido anteriormente para el compuesto de fórmula Z; y

(b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula **A** con una olefina de fórmula B:



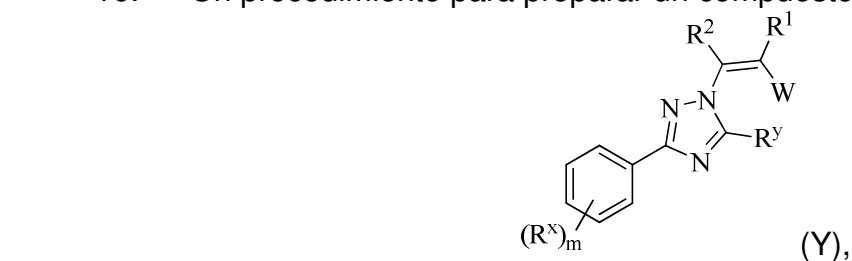
en la que:

LG es halógeno, $-OSO_2R$ o $-OSO_2CF_3$; y

25 cada uno de W, R, R^1 y R^2 es como se ha definido anteriormente para el compuesto de fórmula Z;

en presencia de una base nucleófila impedida estéricamente, formándose un compuesto de fórmula Z.

16. Un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula **Y**:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que:

cada R^x y R^y se selecciona independientemente entre $-R$, halógeno, $-OR$, $-SR$, $-N(R)_2$, $-CN$, $-NO_2$, $-N_3$, $-SOR$, $-SO_2R$, $-SO_2NR$, $-C(O)R$, $-CO_2R$, $-C(O)OR$, $-C(O)N(R)_2$, $-NRC(O)R$, $-OC(O)R$, $-OC(O)N(R)_2$,

-NRC(O)OR, -NRC(O)NR₂ y -NRSO₂R;

cada R es independientemente hidrógeno o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado entre alifático C1-6, fenilo, un anillo carbocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros, un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, y un anillo heteroarilo monocíclico de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o

dos grupos R del mismo nitrógeno se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre;

cada R¹ y R² es independientemente hidrógeno, deuterio, tritio o halógeno;

W es -CN, haloalquilo, -NO₂ o -C(=Z)R³;

Z es O, S o NR;

R³ es hidrógeno, -R, -OR, -SR o -N(R⁴)₂;

cada R⁴ es independientemente -R; o

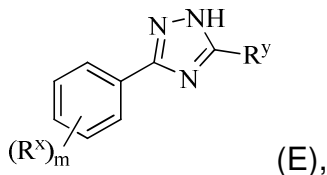
dos R⁴ del mismo nitrógeno se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, estando el anillo así formado opcionalmente sustituido con -(R⁵)_n;

cada R⁵ se selecciona independientemente entre -R, halógeno, -OR, -SR, -N(R)₂, -CN, -NO₂, -N₃, -SOR, -SO₂R, -SO₂NR, -C(O)R, -CO₂R, -C(O)OR, -C(O)N(R)₂, -NRC(O)R, -OC(O)R, -OC(O)N(R)₂, -NRC(O)OR, -NRC(O)NR₂ y -NRSO₂R; y

cada m y n es independientemente un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3 y 4;

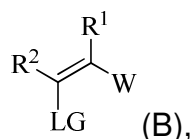
que comprende las etapas de:

(a) proporcionar un compuesto de fórmula E:



en la que cada uno de R^x , R^y y m es como se ha definido anteriormente para el compuesto de fórmula Y; y

(b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula E con una olefina de fórmula B:



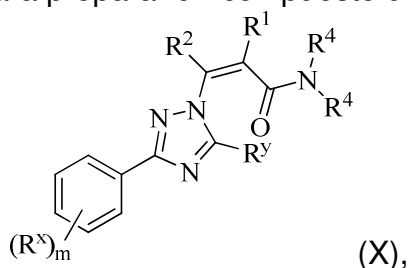
en la que:

LG es halógeno, $-\text{OSO}_2\text{R}$ o $-\text{OSO}_2\text{CF}_3$; y

cada uno de W, R, R^1 y R^2 es como se ha definido anteriormente para el compuesto de fórmula Y;

en presencia de una base nucleófila impedida estéricamente, formándose el compuesto de fórmula Y.

17. Un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula X:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que:

cada R^x y R^y se selecciona independientemente entre $-\text{R}$, halógeno, $-\text{OR}$, $-\text{SR}$, $-\text{N}(\text{R})_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{N}_3$, $-\text{SOR}$, $-\text{SO}_2\text{R}$, $-\text{SO}_2\text{NR}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}$, $-\text{CO}_2\text{R}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R})_2$, $-\text{NRC}(\text{O})\text{R}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R})_2$, $-\text{NRC}(\text{O})\text{OR}$, $-\text{NRC}(\text{O})\text{NR}_2$ y $-\text{NRSO}_2\text{R}$;

cada R es independientemente hidrógeno o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado entre alifático C1–6, fenilo, un anillo carbocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros, un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, y un anillo heteroarilo monocíclico de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o

dos grupos R del mismo nitrógeno se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre;

cada R^1 y R^2 es independientemente hidrógeno, deuterio, tritio o halógeno;
cada R^4 es independientemente $-R$; o

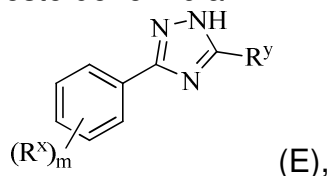
5 dos R^4 del mismo nitrógeno se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, estando el anillo así formado
10 opcionalmente sustituido con $-(R^5)_n$;

cada R^5 se selecciona independientemente entre $-R$, halógeno, $-OR$, $-SR$, $-N(R)_2$, $-CN$, $-NO_2$, $-N_3$, $-SOR$, $-SO_2R$, $-SO_2NR$, $-C(O)R$, $-CO_2R$, $-C(O)OR$, $-C(O)N(R)_2$, $-NRC(O)R$, $-OC(O)R$, $-OC(O)N(R)_2$, $-NRC(O)OR$, $-NRC(O)NR_2$ y $-NRSO_2R$; y

15 cada m y n es independientemente un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3 y 4;

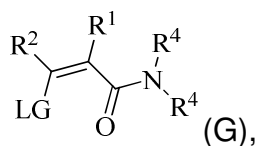
que comprende las etapas de:

(a) proporcionar un compuesto de fórmula E:



20 en la que cada uno de R^x , R^y y m es como se ha definido anteriormente para el compuesto de fórmula X; y

(b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula E con una olefina de fórmula G:



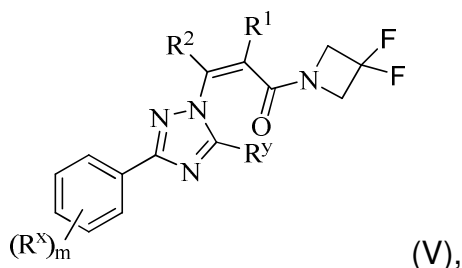
25 en la que:

LG es halógeno, $-OSO_2R$ o $-OSO_2CF_3$; y

cada uno de R , R^1 , R^2 y R^4 es como se ha definido anteriormente para el compuesto de fórmula X,

30 en presencia de una base nucleófila estéricamente impedida, formándose el compuesto de fórmula **X**.

18. Un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula **V**:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que:

cada R^x y R^y se selecciona independientemente entre $-R$, halógeno, $-O$, $-SR$, $-N(R)_2$, $-CN$, $-NO_2$, $-N_3$, $-SOR$, $-SO_2R$, $-SO_2NR$, $-C(O)R$, $-CO_2R$, $-C(O)O$, $-C(O)N(R)_2$, $-NRC(O)R$, $-OC(O)R$, $-OC(O)N(R)_2$, $-NRC(O)O$, $-NRC(O)NR_2$ y $-NRSO_2R$;

cada R es independientemente hidrógeno o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado entre alifático C1-6, fenilo, un anillo carbocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros, un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, y un anillo heteroarilo monocíclico de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o

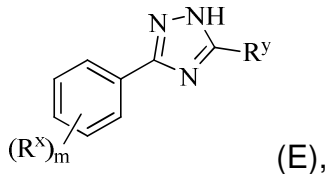
dos grupos R del mismo nitrógeno se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre;

cada R^1 y R^2 es independientemente hidrógeno, deuterio, tritio o halógeno; y

m es un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3 y 4;

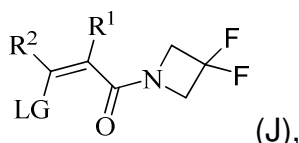
que comprende las etapas de:

(a) proporcionar un compuesto de fórmula E:



en la que cada uno de R^x , R^y y m es como se ha definido anteriormente para el compuesto de fórmula V; y

(b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula E con una olefina de fórmula J:



en la que:

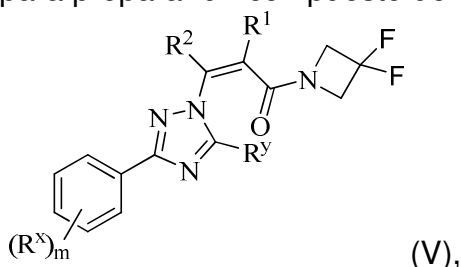
LG es halógeno, $-\text{OSO}_2\text{R}$ o $-\text{OSO}_2\text{CF}_3$; y

cada uno de R, R^1 y R^2 es como se ha definido anteriormente para el

5 compuesto de fórmula V,

en presencia de una base nucleófila estéricamente impedida, formándose el compuesto de fórmula V.

19. Un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula V:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que:

cada R^x y R^y se selecciona independientemente entre $-\text{R}$, halógeno, $-\text{O}$, $-\text{SR}$, $-\text{N}(\text{R})_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{N}_3$, $-\text{SOR}$, $-\text{SO}_2\text{R}$, $-\text{SO}_2\text{NR}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}$, $-\text{CO}_2\text{R}$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R})_2$, $-\text{NRC}(\text{O})\text{R}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R})_2$, $-\text{NRC}(\text{O})\text{O}$, $-\text{NRC}(\text{O})\text{NR}_2$ y $-\text{NRSO}_2\text{R}$;

cada R es independientemente hidrógeno o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado entre alifático C1-6, fenilo, un anillo carbocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros, un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, y un anillo heteroarilo monocíclico de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o

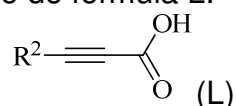
dos grupos R del mismo nitrógeno se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre;

cada R^1 y R^2 es independientemente hidrógeno, deuterio, tritio o halógeno; y

m es un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3 y 4;

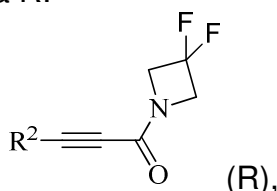
que comprende las etapas de:

(a) proporcionar un compuesto de fórmula L:



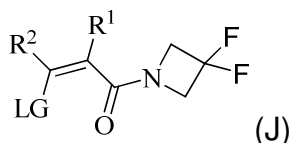
en la que R^2 es como se ha definido anteriormente para el compuesto de fórmula V;

5 (b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula L con , formándose un compuesto de fórmula R:



en la que R^2 es como se ha definido anteriormente para el compuesto de fórmula V;

10 (c) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula R, proporcionándose un compuesto de fórmula J:

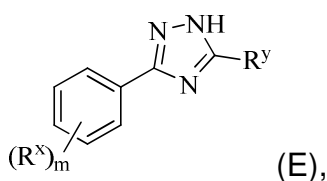


en la que:

LG es halógeno, $-\text{OSO}_2\text{R}$ o $-\text{OSO}_2\text{CF}_3$; y

15 cada uno de R, R^1 y R^2 es como se ha definido anteriormente para el compuesto de fórmula V; y

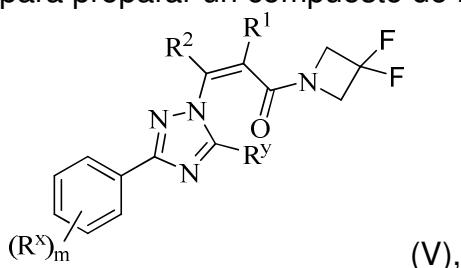
(d) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula J con un compuesto de fórmula E:



20 en la que cada uno de R^x , R^y y m es como se ha definido anteriormente para el compuesto de fórmula V,

en presencia de una base nucleófila impedida estéricamente, proporcionándose un compuesto de fórmula V.

25 20. Un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula V:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que:

cada R^x y R^y se selecciona independientemente entre $-R$, halógeno, $-O$, $-SR$, $-N(R)_2$, $-CN$, $-NO_2$, $-N_3$, $-SOR$, $-SO_2R$, $-SO_2NR$, $-C(O)R$, $-CO_2R$, $-C(O)O$, $-C(O)N(R)_2$, $-NRC(O)R$, $-OC(O)R$, $-OC(O)N(R)_2$, $-NRC(O)O$, $-NRC(O)NR_2$ y $-NRSO_2R$;

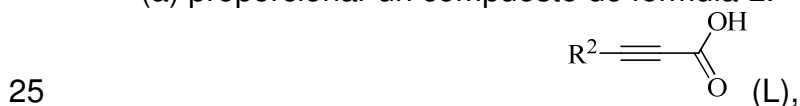
5 cada R es independientemente hidrógeno o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado entre alifático C_{1-6} , fenilo, un anillo carbocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros, un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente entre
10 nitrógeno, oxígeno y azufre, y un anillo heteroarilo monocíclico de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o

15 dos grupos R del mismo nitrógeno se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo heterocíclico saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, o un anillo heteroarilo de 5-6 miembros que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre;

20 cada R^1 y R^2 es independientemente hidrógeno, deuterio, tritio o halógeno;
y

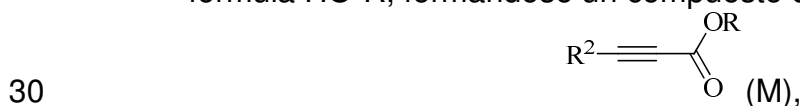
m es un número entero seleccionado entre 0, 1, 2, 3 y 4;
que comprende las etapas de:

(a) proporcionar un compuesto de fórmula L:



en la que R^2 es como se ha definido anteriormente para el compuesto de fórmula V;

(b) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula L con un alcohol que tiene la fórmula $HO-R$, formándose un compuesto de fórmula M:



en la que cada uno de R y R^2 es como se ha definido anteriormente para el compuesto de fórmula V;

(c) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula M, proporcionándose un compuesto de fórmula N:

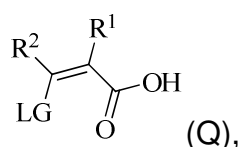


en la que:

LG es halógeno, -OSO₂R o -OSO₂CF₃; y

cada uno de R, R¹ y R² es como se ha definido anteriormente para el compuesto de fórmula V;

- 5 (d) hidrolizar dicho compuesto de fórmula N, formándose un compuesto de fórmula Q:

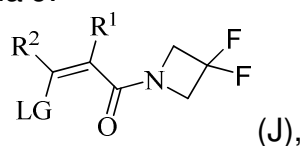


en la que:

LG es halógeno, -OSO₂R o -OSO₂CF₃; y

- 10 cada uno de R, R¹ y R² es como se ha definido anteriormente para el compuesto de fórmula V;

- (e) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula Q con , formándose un compuesto de fórmula J:

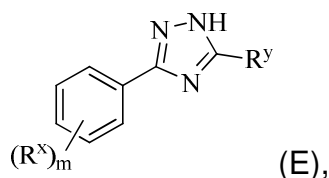


en la que:

- 15 LG es halógeno, -OSO₂R o -OSO₂CF₃; y

cada uno de R, R¹ y R² es como se ha definido anteriormente para el compuesto de fórmula V; y

- (f) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula J con un compuesto de fórmula E:



- 20 en la que cada uno de R^x, R^y y m es como se ha definido anteriormente para el compuesto de fórmula V,

en presencia de una base nucleófila impedida estéricamente, proporcionándose el compuesto de fórmula V.

25

21. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 20, en el que la base nucleófila impedida estéricamente se selecciona entre 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN), 1,4-diazabicyclo(2.2.2)octano (DABCO), N,N-diciclohexilmetilamina, 2,6-di-*terc*-butil-4-metilpiridina, quinuclidina, 1,2,2,6,6-pentametilpiperidina (PMP), 7-metil-1,5,7-triazabicyclo(4.4.0)dec-5-eno (MTBD), trifenilfosfina, tri-*terc*-butilfosfina y triciclohexilfosfina.
- 30

22. El procedimiento de la reivindicación 21, en el que la base nucleófila impedida estéricamente se selecciona entre 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN) y 1,4-diazabicyclo(2.2.2)octano (DABCO).

5

23. El procedimiento de la reivindicación 22, en el que la base nucleófila impedida estéricamente es 1,4-diazabicyclo(2.2.2)octano (DABCO).

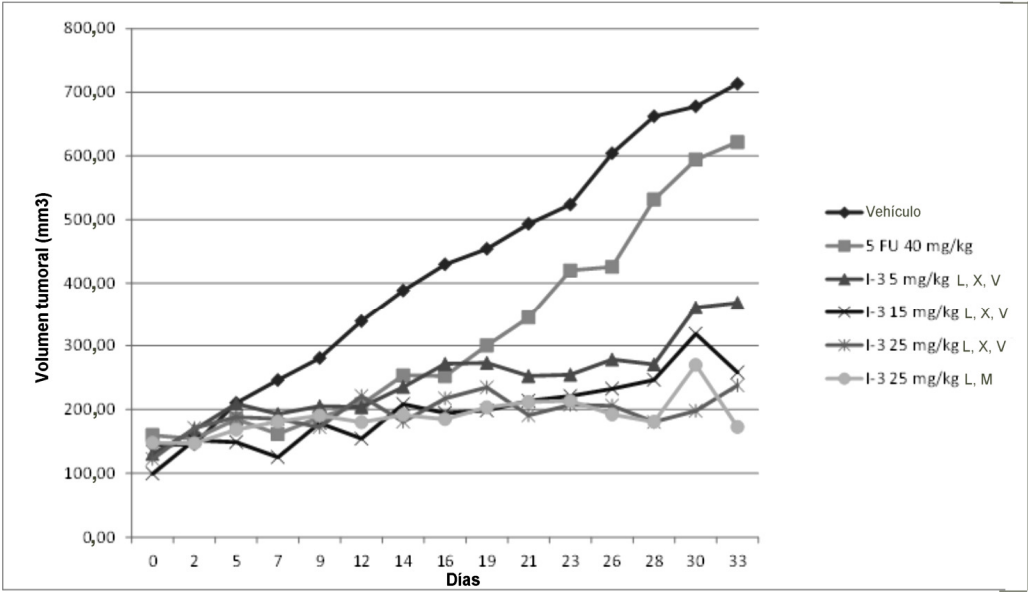


FIG. 1

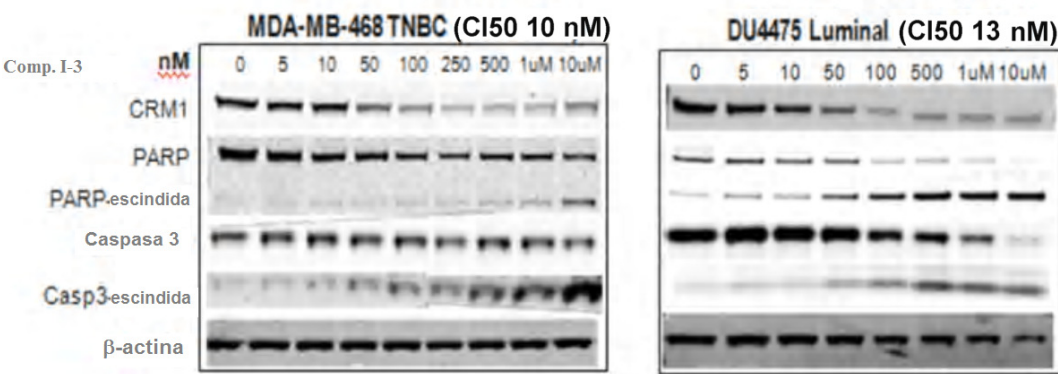


FIG. 2A

FIG. 2B

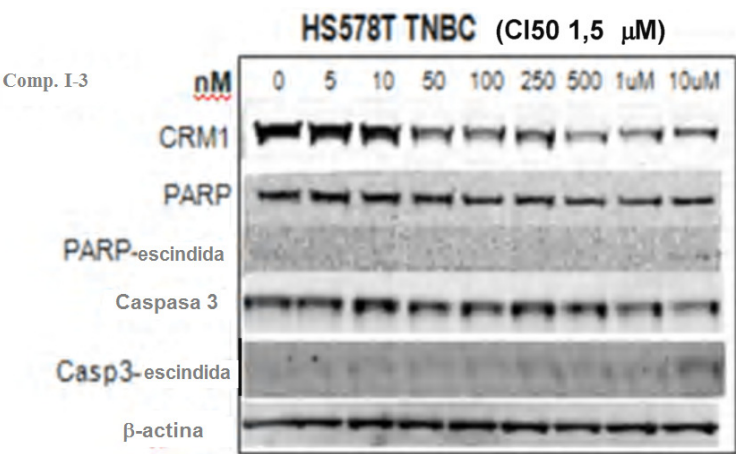


FIG. 2C

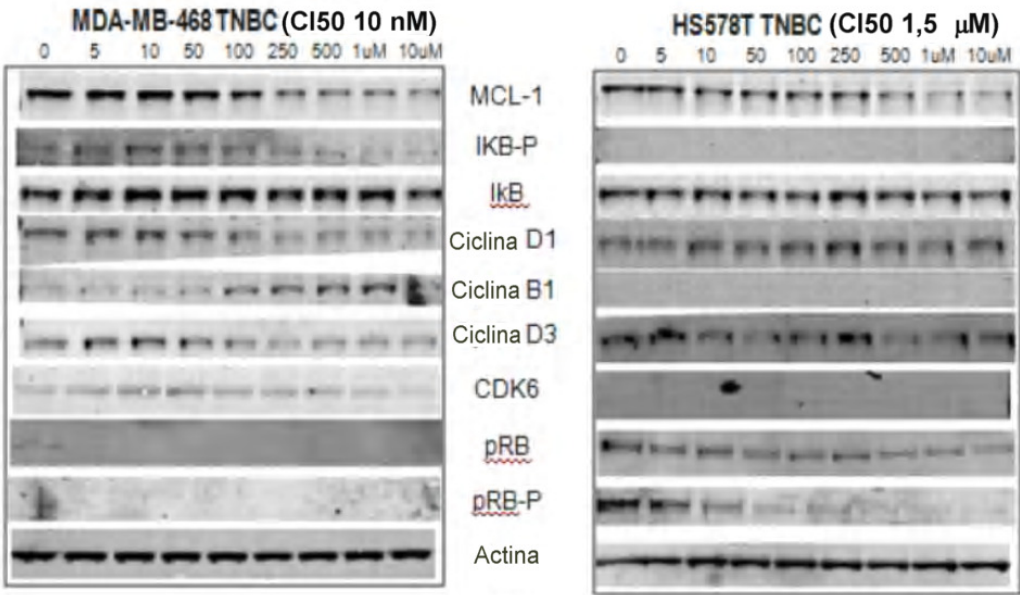


FIG. 3

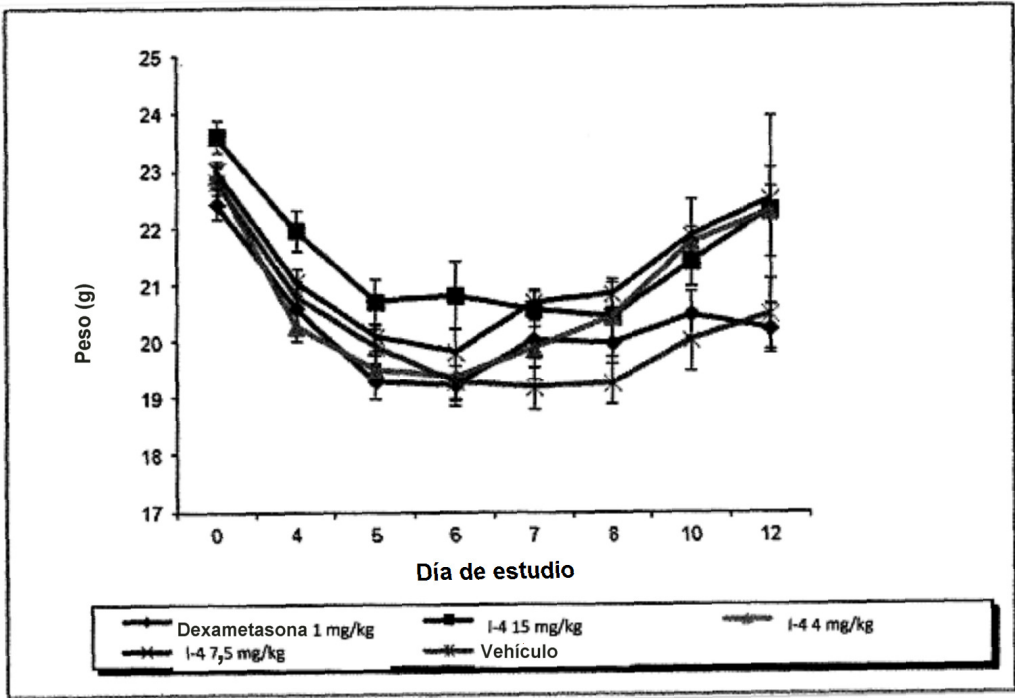


FIG. 4

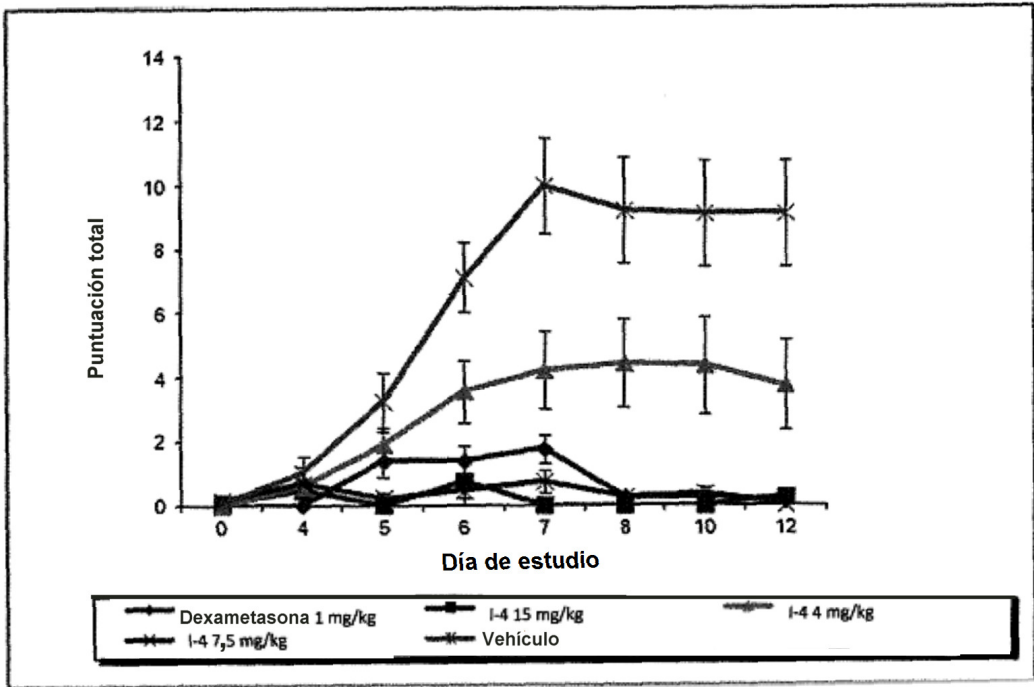


FIG. 5

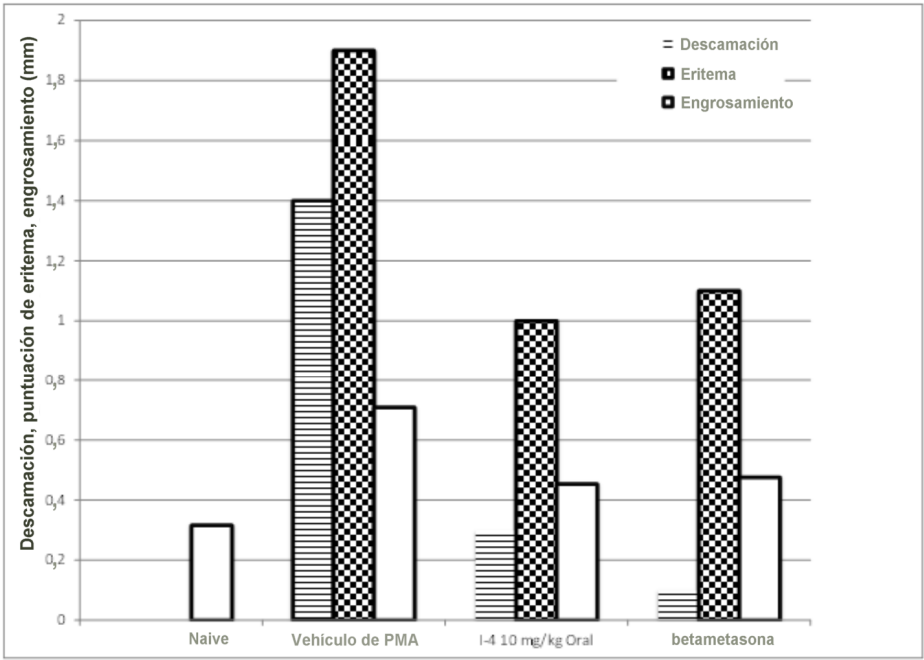


FIG. 6

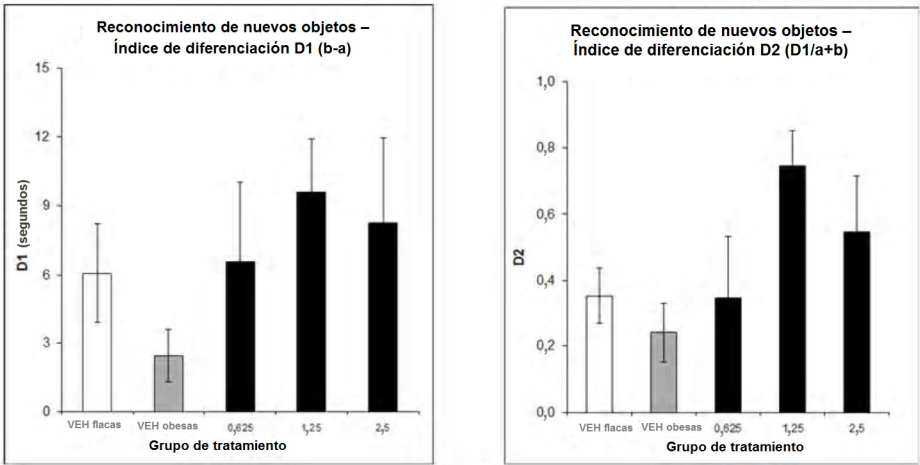


FIG. 7

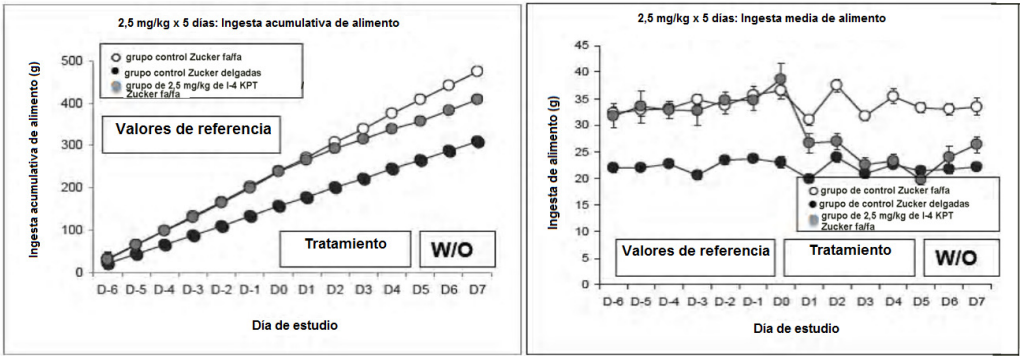


FIG. 8A

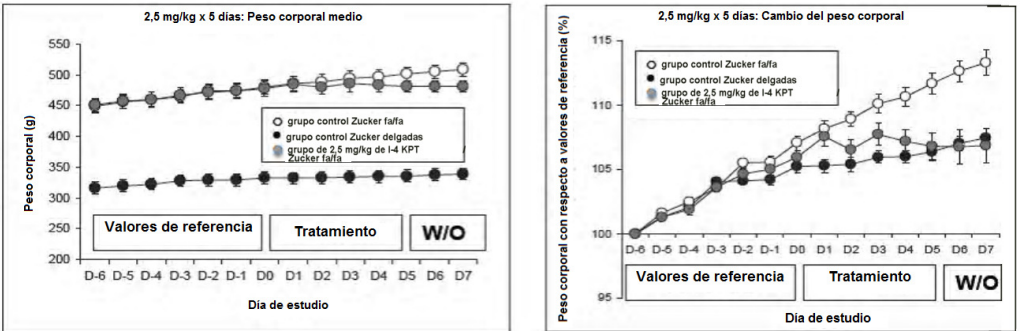
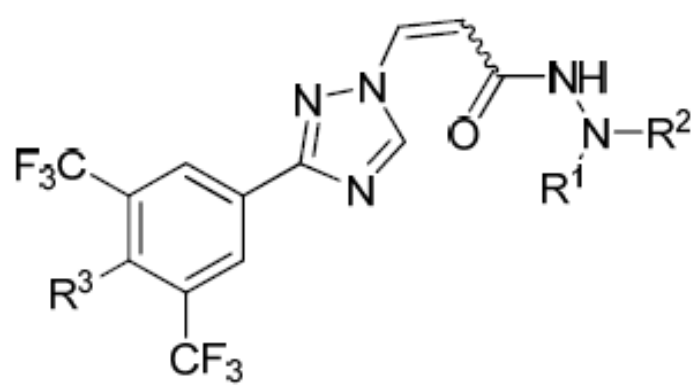


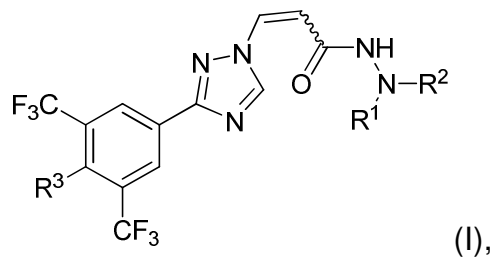
FIG. 8B



(I)

RESUMEN DE LA INVENCION

La invención se refiere, en general, a moduladores del transporte nuclear, por ejemplo, a inhibidores de CRM1 y, más concretamente, a un compuesto
5 representado por la fórmula estructural I:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que los valores y los valores alternativos para las variables son como se definen y describen en la presente memoria. La invención también incluye la síntesis y el uso de un
10 compuesto de fórmula estructural I, o una sal farmacéuticamente aceptable o una composición del mismo, por ejemplo, en el tratamiento, la modulación y/o la prevención de afecciones fisiológicas asociadas con la actividad de CRM1.